การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากมะรุม

ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *MORINGA OLEIFERA* LAM. CRUDE EXTRACT

จุฑาธิป กำแก้ว
บุษบา บัวเขียว
รุ่งวรีย์ ทองธรรมชาติ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากมะรุม

ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *MORINGA OLEIFERA* LAM. CRUDE EXTRACT

T141988

จุฑาธิป กำแก้ว
บุษบา บัวเขียว
รุ่งวรีย์ ทองธรรมชาติ

วพ. ว6247 2557
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....141988
วัน,เดือน,ปี...11 เมย. 2559
b.....
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *MORINGA OLEIFERA* LAM. CRUDE EXTRACT

CHUTHATHIP KAMKAEW
BUDSABA BUAKHIAW
RUNGWAREE THONGTHAMMACHAD

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMEMT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2014

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากมะรุม	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจุฑาธิป กำแก้ว	รหัสนักศึกษา 54050362
	นางสาวบุษบา บัวเขียว	รหัสนักศึกษา 54050400
	นางสาวรุ้งวรีย์ ทองธรรมชาติ	รหัสนักศึกษา 54050429
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
ปีการศึกษา	2557	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ	
ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากพืชมะรุม
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจุฑาธิป กำแก้ว รหัสนักศึกษา 54050362
	นางสาวบุษบา บัวเขียว รหัสนักศึกษา 54050400
	นางสาวรุ้งวรีย์ ทองธรรมชาติ รหัสนักศึกษา 54050429
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากมะรุม (ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด) จากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยาพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *B. cereus*, *S. typhimurium*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่น ๆ โดยสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณยับยั้งมากที่สุด คือ 15.80±0.09 และ 15.74±0.42 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งพบมากที่สุดในสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยาคือ 51.97±3.03 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 148.63±1.80 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แล้วพิจารณาค่า IC_{50} พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 3.481 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (CC_{50}) ของสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการมีค่า CC_{50} น้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ความเป็นพิษต่อเซลล์ มะรุม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Moringa oleifera* Lam. Crude Extract		
Students	Miss.Chuthathip	Kamkaew	Student ID 54050362
	Miss.Budsaba	Buakhiaw	Student ID 54050400
	Miss.Rungwaree	Thongthammachad	Student ID 54050429
Degree	Bachelor of Science		
Department	Biology		
Academic Year	2014		
Advisor	Dr. Suttijit Sriwatcharakul		

Abstract

The study was screen for bioactivities of *Moringa oleifora* Lam. ethanolic crude extract (leaf, pod husks and seed) collected from Samutprakarn province and Phayao province. Antimicrobial activity using agar well diffusion method exhibited that the crude extract inhibit 4 species of *B. cereus*, *S. typhimurium*, *E. coli* and *Y. enterocolitica* but not effected to *P. aeruginosa*. All crude extract give good result to inhibit *B. cereus* among them. Leaf extract from Phayao and seed extract from Samutprakarn give the widest inhibition zone 15.80±0.09 and 15.74±0.42 mm, respectively. Analysis of total phenolic and total flavonoid found that leaf extract from Phayao have 51.97±3.03 mg Gallic acid/g crude extract and 148.63±1.80 mg quercetin/g crude extract, respectively. Antioxidant activity tested by DPPH scavenging assay showed that leaf extract from Phayao has the lowest IC_{50} at 3.481 mg/ml. Cytotoxicity tested against Hela cell found that leaf extract from Samutprakarn had the lowest CC_{50} at 0.22 µg/ml.

Keyword: Antimicrobial, Cytotoxicity, *Moringa oleifora*, Antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุลวงไปด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหา รวมทั้งตรวจแก้โครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประธานกรรมการโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหาเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรรมการโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหาเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่ได้ให้ความช่วยเหลือทุกๆด้าน รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ ๆ ที่ให้กำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษ

นางสาวจุฑาธิป กำแก้ว
นางสาวบุษบา บัวเขียว
นางสาวรุ้งวรีย์ ทองธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ข
กิตติกรรมประกาศ..... ค
สารบัญ..... ง
สารบัญตาราง..... ช
สารบัญรูป..... ซ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ..... 2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ..... 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4
2.1 พฤกษศาสตร์ของมะรุม..... 4
2.2 ข้อมูลทั่วไปของมะรุม..... 5
2.2.1 คุณค่าทางอาหารของมะรุม..... 5
2.2.2 คุณค่าทางยาของมะรุม..... 7
2.2.3 ชะลอความแก่..... 7
2.2.4 ฆ่าจุลินทรีย์..... 7
2.2.5 การป้องกันมะเร็ง..... 7
2.2.6 ฤทธิ์ลดไขมันและคอเลสเทอรอล..... 8
2.2.7 ฤทธิ์ป้องกันตับ..... 8
2.3 วิธีการสกัดน้ำมันมะรุม..... 8
2.3.1 สกัดน้ำมันมะรุมโดยการเคี่ยว..... 9
2.3.2 สกัดน้ำมันมะรุมโดยการกลั่น..... 9
2.3.3 ข้อเสียของการสกัดน้ำมันมะรุมด้วยการเคี่ยวและกลั่น..... 9
2.4 ความหมายของอนุมูลอิสระ..... 10
2.5 สารต้านออกซิเดชัน..... 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 เชื้อที่ใช้ทดสอบ 16
2.6.1 เชื้อ *Bacillus cereus* 16
2.6.2 เชื้อ *Escherichia coli* 17
2.6.3 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 18
2.6.4 เชื้อ *Salmonella typhimurium* 19
2.6.5 เชื้อ *Yersinia enterocolitica* 20
2.7 เซลล์มะเร็ง Henrietta Lacks 21
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 22
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย 23
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 23
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 23
3.3 เซลล์มะเร็ง 23
3.4 สารเคมี 23
3.5 อุปกรณ์ 24
3.6 วิธีการทดลอง 25
3.6.1 กระบวนการสกัดสารจากมะรุม 25
3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 26
3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 26
3.6.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 27
3.6.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ 27
3.6.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 28
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 30
4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากมะรุม 30
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 30
4.3 ผลการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะรุม 37
4.4 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกHeLa 47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 52
5.1 สรุปผลงานวิจัย 52
5.2 ข้อเสนอแนะ 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง..... 54
ภาคผนวก..... 57
ภาคผนวก ก..... 58
ภาคผนวก ข..... 70
ภาคผนวก ค..... 93
ภาคผนวก ง..... 110

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ผลการวิจัยเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารจากส่วนต่างๆของมะรุมที่รับประทานได้ 5
2.2 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง..... 11
4.1 ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากพืชมะรุม..... 30
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุม..... 31
4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุม..... 32
4.4 ร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบมะรุม..... 35
4.5 ค่า IC_{50} ในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมะรุม..... 37
4.6 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรีย ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml 40
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TISTR 5040 ที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 mg/ml..... 41
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 mg/ml..... 42
4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 mg/ml..... 43
4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* ที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 mg/ml..... 44
4.11 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบมะรุม..... 46
4.12 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa..... 49
4.13 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (CC_{50})..... 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 แสดงลักษณะทางพฤกษาศาสตร์ของมะรุม..... 4
2.2 โครงสร้างทางเคมีของ อัลฟ่า-แคโรทีนและเบต้า-แคโรทีน..... 14
2.3 เชื้อ *Bacillus cereus*..... 17
2.4 เชื้อ *Escherichia coli*..... 18
2.5 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*..... 19
2.6 เชื้อ *Salmonella typhimurium*..... 19
2.7 เชื้อ *Yersinia enterocolitica* 20
2.8 เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa..... 21
2.9 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ..... 22
4.1 กราฟการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction)..... 36
4.2 บริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย..... 39
4.3 กราฟการเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic)..... 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชผักมีความสำคัญต่อมนุษย์ในฐานะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญมาตั้งแต่สมัยโบราณตั้งแต่มนุษย์เริ่มตั้งหลักปักฐานสร้างที่อยู่อาศัยที่แน่นอน มนุษย์ที่เริ่มปลูกพืชปลูกผักเพื่อเอาไว้กินเป็นอาหารแทนที่จะอาศัยเก็บเอาจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียว จนมาถึงปัจจุบันพืชผักที่มนุษย์เพาะปลูกเอาไว้กินก็มีการพัฒนาพันธุ์และมีมากมายหลายร้อยประเภท ที่ว่าผักเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์นั้นก็คือ ในผักมีสิ่งต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งในอาหารชนิดอื่นมีไม่พียงพอหรือไม่มี พืชผักเป็นแหล่งสำคัญของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายโดยอุดมด้วยธาตุแคลเซียมและธาตุเหล็กเป็นแหล่งที่ให้วิตามินหลายอย่าง ซึ่งร่างกายของมนุษย์จำเป็นต้องได้ธาตุอาหารไม่น้อยกว่า 10 ชนิด ในการพัฒนาและควบคุมการเจริญเติบโตให้เหมาะสมเป็นปกติ พืชผักสีเขียวเป็นแหล่งที่ดีของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น คะน้า บร็อคโคลี่ ผักกาดเขียว เป็นแหล่งของธาตุแคลเซียม ถั่วต่าง ๆ เป็นแหล่งของธาตุเหล็กและโปรตีน พืชผักประเภทหัว เช่น มันฝรั่ง มันเทศ หอมหัวใหญ่ เป็นแหล่งของธาตุฟอสฟอรัสและคาร์โบไฮเดรท พืชผักสีเขียวและสีเหลืองเป็นแหล่งของวิตามินเอ วิตามินซี ไทอามิน ไนอาซีน และกรดโฟลิค เป็นต้น

มนุษย์เราให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับเรื่องสุขภาพกันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการรับประทานอาหารของมนุษย์เราในปัจจุบันพบว่า มีความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น การรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์เป็นประจำจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง ขณะที่ผู้รับประทานอาหารประเภทพืชผักและผลไม้เป็นประจำมีความเสี่ยงน้อยกว่า โดยพืชผักและผลไม้มีวิตามิน และเกลือแร่ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในขณะที่เนื้อสัตว์มีของเสียที่เกิดจากขบวนการเผาผลาญอาหารที่เรียกว่า “อนุมูลอิสระ” (free radical) เป็นจำนวนมาก โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงจากมลพิษต่าง ๆ เช่น โอโซน โลหะหนัก ควันบุหรี่ อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของผนังเซลล์ก่อให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ เช่น โรคชรา (แก่ก่อนวัย) โรคหลอดเลือดและหัวใจขาดเลือด ผนังหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) โรคเสื่อมของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย รวมถึงการกลายพันธุ์ (mutation) ของเซลล์ซึ่งอาจพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ (บุหรัน, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) ที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อภาษาอังกฤษว่า Horse-radish หรือ Drumstick Tree จัดอยู่ในวงศ์ Moringaceae มีถิ่นกำเนิดทางประเทศเอเชียใต้ แอฟริกา และอาระเบีย ซึ่งในหลายประเทศในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนมักจะใช้เป็นยาแผนโบราณ (Fatma และคณะ, 2013) มะรุมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 3-4 เมตร ทรงต้นโปร่ง ใบเป็นแบบขนนกคล้ายกับมะขาม ออกเรียงแบบสลับ ผิวใบด้านล่างสีอ่อนกว่าด้านบน ดอกออกเป็นช่อสีขาว ดอกมี 5 กลีบ ฝักมีความยาว 20-50 เซนติเมตร ลักษณะเหมือนไม้ตีกลอง เป็นที่มาของชื่อต้นไม้ตีกลองในภาษาอังกฤษ (Drumstick Tree) เปลือกฝักอ่อนสีเขียวมีส่วนคอดและส่วนมนเป็นระยะตามความยาวของฝัก เปลือกฝักแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดมีเยื่อหุ้มลักษณะกลมสีน้ำตาล เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร เมล็ดแก่สามารถบีบน้ำมันออกมากินได้ เป็นพืชที่ปลูกง่าย เจริญเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด ต้องการน้ำและความชื้นปานกลาง ขยายพันธุ์ได้ด้วยการเพาะเมล็ดและการปักชำ การปลูกการดูแลรักษาง่าย ไม่ซับซ้อน เกษตรกรจึงมักนิยมปลูกมะรุมไว้ริมรั้วบ้านหรือหลังบ้าน 1-5 ต้น เพื่อให้เป็นผักคู่บ้านคู่ครัวแบบพอเพียงที่ไม่ต้องซื้อหา (สุธาทิพ, 2550) มีการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดและใบของมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระ และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Govardhan และคณะ, 2013) เนื่องจากมี สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ในปริมาณมาก (Sunday และคณะ, 2010)

นอกจากนี้การศึกษาทางเภสัชวิทยาได้แสดงให้เห็นว่า มะรุมสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิตต่ำ ต่อต้านจุลินทรีย์ รักษาโรคตับ เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน มีสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิดมะเร็งได้ กิจกรรมทางชีวภาพเหล่านี้น่าจะเกิดจากกระบวนการผลิตสารขั้นทุติยภูมิในมะรุม เช่น แคโรทินอยด์ วิตามิน เกลือแร่ กรดอะมิโน สเตียรอยด์ ไกลโคไซด์ อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิก (Sudha และคณะ, 2010) การศึกษานี้จึงทำขึ้นเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ที่มีต่อเซลล์มะเร็ง และหาปริมาณของสารสกัดที่น้อยที่สุดในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากเปลือกฝักติดเนื้อ เมล็ด และใบของพืช พืชมะรุม

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนจากใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จากสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม โดยวิธี DPPH radical scavenging assay และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteus reagent

3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) จากสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุมที่มีต่อเซลล์มะเร็ง

4. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากมะรุมระหว่าง 2 แหล่ง คือ จังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม จากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา โดยการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำมาทดสอบการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย Agar Well Diffusion method และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยวิธี DPPH radical scavenging assay รวมไปถึงการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยวิธี MTT assay

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น สามารถนำมาประยุกต์ใช้ด้านต่าง ๆ ได้ เช่น ด้านอาหาร ด้านการผลิตยา เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พฤกษศาสตร์ของมะรุม

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะรุม

ที่มา: http://www.marumoil.com/พฤกษาศาสตร์มะรุม/. 30 สิงหาคม 2557

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Moringa oleifera* Lam.

ชื่อสามัญ : Horse radish tree, Drumstick

วงศ์ : Moringaceae

ชื่ออื่น : กาเน้งเดิง (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี) ผักเนื้อไก่ (ฉาน-แม่ฮ่องสอน) ผักอีฮึม ผักอีฮุม มะค้อนก้อม (ภาคเหนือ) เส่ช่อยะ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เป็นไม้ยืนต้นสูง 3-6 เมตรหรือใหญ่กว่าเปลือกสีขาว รากหนานุ่ม ใบสลับแบบขนนก 2 หรือ 3 ชั้น ยาว 20-60 เซนติเมตร ใบชั้นหนึ่งมีใบย่อย 8-10 คู่ ใบแบบรูปไข่หัวกลับ รูปคู่ขนาน ใต้ใบสีเขียวอ่อน ใบอ่อนมีขนสีเทาขนาดใบยาว 1-3 เซนติเมตร ช่อดอกแบบช่อแยกแขนง ออกตามซอกใบ กลีบดอก 5 กลีบ สีขาวหรือขาวอมเหลืองแต้มสีแดงเข้าที่ใกล้ฐานด้านนอก ยาว 1.4-1.9 เซนติเมตร กว้าง 0.4 เซนติเมตร ปลายกลีบดอกกว้างกว่าโคน 4 กลีบ ตั้งตรง เกสรตัวผู้แยกจากกันสมบูรณ์ 5 อันไม่สมบูรณ์ 5 อันเรียงสลับกันมีขนสีขาว ที่โคนอับเกสรสีเหลือง เกสรตัวเมีย 1 อัน ผลยาวเป็นฝัก 3 เหลี่ยม เมล็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร 3 ปีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ข้อมูลทั่วไปของมะรุม

มะรุม จัดเป็นพืชที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เพราะสามารถใช้เป็นอาหารโดยส่วนใบ ผล (ฝัก) ดอก และผลอ่อนของมะรุมได้รับการจัดให้เป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูงในหลายประเทศ โดยเฉพาะในประเทศอินเดีย ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ฮาวาย และอีกหลายประเทศในทวีปแอฟริกา มีรายงานว่าใบของมะรุมประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน โปรตีน วิตามินซี แคลเซียม และโปแตสเซียม ปริมาณสูง ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ดี จึงช่วยยืดอายุของอาหารที่มีไขมันปริมาณสูงได้เนื่องจากมีสารต้านอนุมูล

2.2.1 คุณค่าทางอาหารของมะรุม

ใบมะรุมมีโปรตีนสูงกว่าในนมสด 2 เท่า การกินมะรุมตามชนบทของประเทศกำลังพัฒนาและประเทศโลกที่ 3 เป็นการเพิ่มโปรตีนคุณภาพสูงราคาถูกให้กับอาหารพื้นบ้านนอกจากนี้มะรุมมีธาตุอาหารปริมาณสูงเป็นพิเศษที่ช่วยป้องกันโรค นั่นคือ

วิตามินเอ บำรุงสายตามีมากกว่าแครอท 3 เท่า
วิตามินซี ช่วยป้องกันหวัด 7 เท่าของส้ม
แคลเซียม บำรุงกระดูกเกิน 3 เท่าของนมสด
โพแทสเซียม บำรุงสมองและระบบประสาท 3 เท่าของกล้วย
ใยอาหารและพลังงาน ไม่สูงมากเหมาะกับผู้ที่ควบคุมน้ำหนักอีกด้วย
น้ำมันสกัดจากเมล็ดมะรุมมีองค์ประกอบคล้ายน้ำมันมะกอกดีต่อสุขภาพอย่างยิ่ง

ตารางที่ 2.1 ผลการวิจัยเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุมที่รับประทานได้ ปริมาณ 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ผล (ฝัก)	ใบสด	ใบแห้ง
ความชื้น (%)	86.9	75	7.5
พลังงาน (calories)	26	92.0	205.0
โปรตีน (กรัม)	2.5	6.7	27.1
ไขมัน (กรัม)	0.1	1.7	2.3
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	3.7	13.4	38.2
เส้นใย (กรัม)	4.8	0.9	19.2
เกลือแร่ (กรัม)	2.0	2.3	-
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	30.0	440.0	2,003.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) ผลการวิจัยเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุมที่รับประทานได้ปริมาณ 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ผล (ฝัก)	ใบสด	ใบแห้ง
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	24.0	24.0	368.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	110.0	70.0	204.0
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	259.0	259.0	1,324.0
ทองแดง (มิลลิกรัม)	3.1	1.1	0.6
เหล็ก (มิลลิกรัม)	5.3	0.7	28.2
กรดออกซาลิก (มิลลิกรัม)	10.0	101.0	0.0
กำมะถัน (มิลลิกรัม)	137	137	870
วิตามินเอ-เบต้าแคลอทีน (มิลลิกรัม)	0.1	6.8	16.3
วิตามินบี-โคลีน (มิลลิกรัม)	423.0	423.0	-
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.05	0.21	2.6
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.07	0.05	20.5
วิตามินบี 3 (มิลลิกรัม)	0.2	0.8	8.2
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	120	220.0	17.3
วิตามินอี (มิลลิกรัม)	-	-	113.0
อาร์จินีน (มิลลิกรัม)	360	406.6	1,325
ฮีสติดีน (มิลลิกรัม)	110	149.8	623
ไลซีน (มิลลิกรัม)	150	342.4	1,325
ทริปโตแฟน (มิลลิกรัม)	80	107	425
ฟีนิลอลานีน (มิลลิกรัม)	430	310.3	1,388
เมธไธโอนีน (มิลลิกรัม)	140	117.7	350
ธรีโอนีน (มิลลิกรัม)	390	117.7	1,188
ลิวซีน (มิลลิกรัม)	650	492.2	1,950
ไอโซลิวซีน (มิลลิกรัม)	440	299.6	825
วาลีน (มิลลิกรัม)	540	374.5	1,063

ที่มา: http://www.marumoil.com/คุณค่าทางอาหารและทางยาสมุนไพรของมะรุม/ (30 สิงหาคม 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 คุณค่าทางยาของมะรุม

เนื่องจากมะรุมเป็นพืชที่มีปริมาณธาตุอาหารสูง หารับประทานได้ไม่ยาก บางประเทศได้นำใบของมะรุมมาตากแห้งแล้วบดเป็นผงให้กับเด็กเล็กและสตรีมีครรภ์รับประทาน (วรรณภา, 2552) ประเทศอินเดีย หญิงตั้งครรภ์จะรับประทานใบมะรุมเพื่อเสริมธาตุเหล็ก แต่ที่ประเทศฟิลิปปินส์และบอสวานา หญิงที่เลี้ยงลูกด้วยนมแม่จะรับประทานแกงจืดมะรุม (ภาษาฟิลิปปินส์ เรียก " มาลังเก ") เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำนมและเพิ่มแคลเซียมให้กับนมแม่ (สุธาทิพ, 2550) ใบมะรุมถือว่าเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่หารับประทานได้ง่าย พบว่าในใบจะมีทั้งวิตามินซี วิตามินอี และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะเควอเซติน (quercetin) และแคมเฟอรอล (kaempferol) อยู่ในปริมาณสูง สารเหล่านี้จะช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์จากการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบว่าสารฟลาโวนอยด์ในใบมะรุมยังช่วยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์กำจัดสารก่อมะเร็ง ด้วยเหตุนี้การบริโภคแกงส้มฝักและใบมะรุมรวมถึงผลิตภัณฑ์ชาชงอาจช่วยลดอนุมูลอิสระในร่างกายและป้องกันความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้อีกทางหนึ่ง

2.2.3 ชะลอความแก่

กล่าวกันว่ามะรุมมีฤทธิ์ชะลอความแก่ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการวิจัยเกี่ยวกับมะรุมในด้านนี้ คาดว่าเป็นการสรุปเนื่องจากมะรุมมีสารฟลาโวนอยด์สำคัญคือ รูทินและเควอเซทิน (rutin และ quercetin) สารลูทีนและกรดแคฟฟีโอลิลควินิก (lutein และ caffeoylquinic acids) ซึ่งต้านอนุมูลอิสระ ดูแลอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ จอประสาทตา ตับ และหลอดเลือดจากการเสื่อมสภาพตามอายุ การกินสารต้านอนุมูลอิสระชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์ร่างกายได้

2.2.4 ฆ่าจุลินทรีย์

สารเบนซิลไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์และเบนซิลกลูโคซิโนเลตค้นพบในปี พ.ศ. 2507 จากมะรุมมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ สนับสนุนการใช้น้ำคั้นจากมะรุมหยอดแก้ปวดหู

ปัจจุบันหลังจากการค้นพบแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหาร *Helicobactor pylori* กำลังมีการศึกษาสารจากมะรุมในการต้านเชื้อดังกล่าว

2.2.5 การป้องกันมะเร็ง

สารเบนซิลไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์ชนิดหนึ่งและสารไนอาซีไมซิน (niazimicin) จากมะรุมสามารถต้านการเกิดมะเร็งที่ถูกกระตุ้นโดยสารฟอบอลเอสเทอร์ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองในหนูพบว่า หนูที่ได้รับฝักมะรุมเป็นอาหารเกิดมะเร็งผิวหนังจากการกระตุ้นน้อยกว่ากลุ่มทดลอง โดยกลุ่มที่กินมะรุมมีเนื้องอกบนผิวหนังน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

2.2.6 ฤทธิ์ลดไขมันและคอเลสเทอรอล

จากการทดลอง 120 วัน ให้กระต่ายกินฝักมะรุมวันละ 200 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน เทียบกับยาโลวาสแตทิน 6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน และให้อาหารไขมันมาก พบว่าทั้งกลุ่มที่กินมะรุมและยาที่มีคอเลสเทอรอล ฟอสโฟไลปิด ไตรกลีเซอไรด์ VLDL LDL ปริมาณคอเลสเทอรอลต่อฟอสโฟไลปิด และ antherogenic index ต่ำลงทั้ง 2 กลุ่มมีการสะสมไขมันในตับ หัวใจ และหลอดเลือดแดง (เอออร์ตา) กลุ่มควบคุมปัจจัยด้านการสะสมไขมันในอวัยวะเหล่านี้ไม่มีค่าลดลงแต่อย่างใด ส่วนกลุ่มที่กินมะรุมพบการขับคอเลสเทอรอลในอุจจาระเพิ่มขึ้น ผู้วิจัยจึงสรุปว่าการกินมะรุมมีผลในการลดไขมันในร่างกาย

ที่ประเทศอินเดียมีการใช้ใบมะรุมลดไขมันในคนที่มีโรคอ้วนมาแต่เดิม การศึกษาการกินสารสกัดจากใบมะรุมในหนูที่กินอาหารไขมันสูงมีปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้กลุ่มทดลองมีปริมาณไขมันในตับและไตลดลง สรุปว่าการให้ใบมะรุมเพื่อลดปริมาณไขมัน ทางการแพทย์อินเดียสามารถวัดผลได้ในเชิงวิทยาศาสตร์จริง

2.6.7 ฤทธิ์ป้องกันตับ

งานวิจัยการให้สารสกัดแอลกอฮอล์ของใบมะรุม กรณีทำให้ตับหนูทดลองเกิดความเสียหายโดยยาไรแฟมไพซิน พบว่าสารสกัดจาดใบมะรุมมีฤทธิ์ป้องกันตับ โดยมีผลกับระดับเอนไซม์แอสพาเทตอะมิโนทรานสเฟอเรส อะลีนอะมิโนทรานสเฟอเรส อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส และบิลิรูบินในเลือด และมีผลกับปริมาณไลปิดและไลปิดเพอร์ออกซิเดสในตับ โดยดูผลยืนยันจากการตรวจชิ้นเนื้อตับ สารสกัดใบมะรุมและซิลิมาริน (silymarin กลุ่มควบคุมบวก) มีผลช่วยการพักฟื้นของการถูกทำลายของตับจากยาเหล่านี้

2.3 วิธีการสกัดน้ำมันมะรุม

การสกัดเย็น ด้วยเครื่องสกรูเพรส (Screw Press) น้ำมันสกัดเย็น คือ การแยกน้ำมันออกจากเมล็ดโดยไม่ใช้ความร้อนและสารเคมี แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจึงได้น้ำมันที่ใสบริสุทธิ์ และคงคุณค่าและสรรพคุณของของมะรุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการบีบอัดโดยเครื่องสกรูเพรส (Screw Press) น้ำมันมะรุมที่บีบออกมาโดยแรงบดไประหว่างสกรูในแนวนอน จนได้น้ำมันออกมา น้ำมันประเภทนี้จัดเป็นน้ำมันคุณภาพดี จะได้น้ำมันคุณภาพดี มีสี กลิ่น รส ตามธรรมชาติเพราะไม่ผ่านความร้อนเลย แต่จะมีความร้อนเกิดขึ้นจากแรงเสียดสีระหว่างการบด ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ ประมาณ 30-40% มากกว่าการสกัดด้วยไฮโดรลิก เมื่อได้น้ำมันจะต้องนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง

วิธีการสกัด เริ่มจากการนำเมล็ดมะรุมจากฝักแก่มาตากแดด เพื่อไล่ความชื้น แล้วทำการบีบด้วยเครื่องบีบอัดระบบสกรูเพรส จากเมล็ดมะรุมแห้งปริมาณ 8-12 กิโลกรัม จะสกัดได้น้ำมันมะรุม 1 ลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเครื่องด้วยข้อดีของน้ำมันมะรุมที่สกัดด้วยวิธีนี้: จะอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียวสูง ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้ช่วยล่อไขมันพวกไตรกลีเซอไรด์ และลดคอเลสเตอรอลไม่ดีอีกด้วย การสกัดน้ำมันมะรุมนั้นสามารถสกัดได้อีกหลายวิธี ดังนี้

2.3.1 สกัดน้ำมันมะรุมโดยการเคี่ยว (Rendering)

สกัดน้ำมันมะรุมโดยการเคี่ยว (Rendering) โดยการนำเมล็ดมะรุมแก่มาบดให้ละเอียด แล้วนำไปใส่กระทะ เติมน้ำสองเท่าของเนื้อเมล็ดมะรุมที่บดแล้วนำไปตั้งไฟให้เดือดแล้วหรี่ไฟลง หลังจากนั้นก็เคี่ยวกับไปพออ่อนๆ เคี่ยวจนน้ำมันแยกตัวออกมา ลอยตัวเหนือน้ำหรือเคี่ยวจนน้ำระเหยออกหมด ก็จะได้น้ำมันออกมา แล้วกรองแยกเอาน้ำมันมะรุมมาบรรจุขวด

2.3.2 สกัดน้ำมันมะรุมโดยการกลั่น

นำเมล็ดมะรุมในฝักแก่ มาบดละเอียดแล้วผสมน้ำ ต้มให้เดือด 5-10 นาที แล้วยกลงจากเตา นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วใส่ขวดหรือภาชนะที่มีทรงสูง ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อปล่อยให้น้ำมันแยกตัวเป็นชั้น จากนั้นจึงตักน้ำมันมากรองใส่ขวดเก็บไว้ ส่วนกากมะรุมที่เหลือนำไปทำปุ๋ยอินทรีย์ได้

2.3.3 ข้อเสียของการสกัดน้ำมันมะรุมด้วยการเคี่ยว และกลั่น

ไม่ค่อยเป็นที่นิยมนักเพราะคุณภาพของน้ำมันยังไม่ ค่อยดีนัก เนื่องจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน กลิ่นไม่หอมมาก บางครั้งมีกลิ่นเหม็นไหม้ปนมากับน้ำมัน สภาพของน้ำมันเปลี่ยนไป เช่น เหม็นหืนเร็ว เมื่อนำมาทาตัวจะเหนียงเหนอะหนะ ซึมผ่านผิวหนังได้ยากกว่าน้ำมันที่สกัดโดยไม่ผ่านความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ความหมายของอนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็คตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction)ต่อกันไปเรื่อยๆ โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆไป ตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น

อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $R^{\bullet}$ แทนอะตอมหรือโมเลกุลของอนุมูลอิสระที่ไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก ($R^{+\bullet}$) เช่น อนุมูล pyridinyl (NAD^{+}) และประจุลบ ($R^{-\bullet}$) เช่น อนุมูล superoxide ($O2^{-\bullet}$) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล peroxyl ($ROO^{\bullet}$) หรืออนุมูล thiyl ($RS^{\bullet}$) เป็นต้น ซึ่งจากคำจำกัดความนี้ส่งผลให้อะตอมของธาตุและสารละลายหลายชนิดถูกจัดเป็นอนุมูลอิสระด้วย เช่น คลอรีนอะตอม ($Cl^{\bullet}$) และซิลเวอร์อะตอม ($Ag^{\bullet}$) เป็นต้น

อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), Superoxide anion radical ($O2^{-\bullet}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบไอโมไลซิส (Imolysis)

$$A : B \longrightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$$

ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{-\bullet}$$

ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\bullet} + e^{-}$$

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องต่างๆในทางชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้นที่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีกหลายชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ (Peroxynitrite) ตัวอย่างอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องแสดงในตาราง 2.2

ตารางที่ 2.2 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS)	
Superoxide, Superoxide anion ($O2^{\bullet-}$)	H_2O_2, Ozone (O_3)
Hydroxyl ($HO^{\bullet}$)	Hypobromous acid (HOBr)
Hydroperoxyl ($HO_2^{\bullet}$)	Hypochlorous acid (HOCl)
Peroxyl ($RO_2^{\bullet}$)	Singlet oxygen ($O_2{}^1\Delta g$)
Alkoxyl ($RO^{\bullet}$)	Organic peroxides (ROOH)
Carbonate ($CO_3^{\bullet-}$)	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
Carbon dioxide ($CO_2^{\bullet-}$)	Peroynitrous acid (ONOOH)
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide ($NO^{\bullet}$)	Nitrous acid (HNO_2)
Nitrogen dioxide ($NO_2^{\bullet}$), ($NO_2^{-\bullet}$)	Nitrosyl cation (NO^+), Nitroxyl anion (NO^-) Dinitrogen tetroxide (N_2O_4) Dinitrogen trioxide (N_2O_3) Peroxynitrite ($ONOO^-$) Peroynitrous acid (ONOOH)
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine ($Cl^{\bullet}$)	Hypochlorous acid (HOCl) Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Other	
Thioyl radical ($RS^{\bullet}$)	

ที่มา: http://www.archive.lib.cmu.ac.th (30 สิงหาคม 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียมโปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือ สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ubiquinone, uric acid, bilirubin, albumin, sulfhydryl groups ในกรดอะมิโน cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavanoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย

สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด ดังนี้

1. Preventive antioxidant	ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ
2. Scavenging antioxidant	ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น
3. Chain breaking antioxidant	ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันบางชนิด

วิตามินเอ

ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็น Precursor ของวิตามินเอ เรียกว่า โปรวิตามินเอ มักพบในพืชผักใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง หรือสีส้มแดง

วิตามินซี

มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxyl

นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน ของวิตามินอีด้วย โดยทำให้อนุมูล α-tocopherol$^{\cdot}$ ($TO^{\cdot}$) เปลี่ยนกลับไปเป็น α-tocopherol (TOH) ดังเดิม ดังสมการ

$$TO^{\cdot} + AH^{-} \text{ ----------> } TOH + A^{\cdot}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินอี

เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ โดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันตัวอื่น ๆ เช่น วิตามินซีและซิลิเนียม เป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่ว ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอล และโทโคไทอินอล แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อย ๆ อีก 4 ชนิด ได้แก่ อัลฟ่า (α-) เบต้า (β-) แกมม่า (γ-) และเดลต้า (δ-) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูล peroxyl ดังสมการ

α- tocopherol + $LOO^{\bullet}$ ----------> α- $tocopherol^{\bullet}$ + LOOH

อนุมูล α- tocopherol• ที่เกิดขึ้น สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxyl ตัวอื่นทำให้ได้สารที่มีความเสถียร (LOO-α- tocopherol) ดังสมการ เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุด

α- $tocopherol^{\bullet}$ + $LOO^{\bullet}$ ----------> LOO- α- tocopherol

ซิลิเนียม ทองแดง และสังกะสี

เป็นสารต้านออกซิเดชันทางอ้อม เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน มีการศึกษาวิจัยที่แสดงว่าการใช้ซิลิเนียม และวิตามินอีร่วมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด ซึ่งพบได้ในอาหารตามธรรมชาติ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระจับกับไอออนโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยหน้าที่ต่าง ๆ เหล่านี้ จึงทำให้มีผลต่อการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ และทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร หรือเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกต่อไป หรือเป็นสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical product)

แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืช และพบมากในผักและผลไม้สุก (Tomas-Barberan and Robins, 1997) โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า tetraterpene skeleton ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีน (Carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) แกมม่า-แคโรทีน (γ-carotene) ไลโคปีน (lycopene) เป็นต้น และซึ่ง เบต้า-แคโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ การเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอโดยการแตกพันธะคู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุล โดยเอนไซม์ carotene deoxygenase

เมื่อเบต้า-แคโรทีน สามารถดักจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุลแล้ว โมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะอยู่ในลักษณะที่มีความเสถียร

α-carotene (β-carotene)

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β-carotene)
ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/แคโรทีน#mediaviewer/File:Alpha-carotene-2D-skeletal.svg (30 สิงหาคม 2557)

ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือ แซนโทฟิล (xanthophyll) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่นเบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein)

สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีโนลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่าง ๆ เช่น simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic ซึ่งได้แก่พวก lignin, tannin เป็นต้น รวมทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

พบว่าสารประกอบฟีโนลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีโนลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคือ อนุมูล peroxyl (Packer *et al*., 1999) โดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีโนลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีโนลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (quercetin)

สารประกอบฟีโนลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟด้วยหน้าที่ต่าง ๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป

ฟลาโวนอยด์ (ไบโอฟลาโวนอยด์)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่ง จะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่างคือ เป็นรงควัตถุ ทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจง และทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ และคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้น ต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอล และช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซี พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทย และพวกเบอร์รี่ต่าง ๆ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1. แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidin) แอนโธคลอร์ส (anthochlors) และออโรนัส (auronus)

แอนโธไซยานิดิน เป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงินขึ้นกับชนิดของพืช พบใน บลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโธคลอร์สเป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้

2. ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (flavonones) ฟลาวาน-3-ออล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และไดไฮโดรชาล์โคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม (citrus) ได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ

3. ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols)

เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์พบใน บลูเบอร์รี่ เชอรี่หวาน บร็อคโคลี่ หัวหอมชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น

4. ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid)

พบมากในพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone) เทอโรคาร์แปนส์ (terocarpans) ไอโซฟลาวาน (isoflavans) และโรทีนอยด์ (rotenoid) ได้โดยทั่วไปจะรวมถึง เจนีสทีน (genistein) ไบโอชานิน เอ (biochanin a) และไดด์ซีน (daidzein)

5. แทนนิน (tannin)

แทนนิน หรือโปรแอนโธไซยานิดิน เป็นสารประเภทโพลีฟีนอล (polyphenols) แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสามารถจับกับโปรตีนได้

2.6 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป มีทั้งชนิดที่เป็นโทษก่อให้เกิดโรคเจ็บป่วย และชนิดที่ไม่เป็นโทษต่อร่างกายหรือบางชนิดเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายของเราช่วยสร้างความสมดุล และคอยป้องกันเชื้อโรคที่เป็นอันตรายในระดับหนึ่ง แต่ในบางครั้งเมื่อร่างกายอ่อนแอลง เชื้อประจำถิ่นอาจเพิ่มจำนวนมากเกินไปจนทำให้เสียสมดุล และเกิดความผิดปกติได้

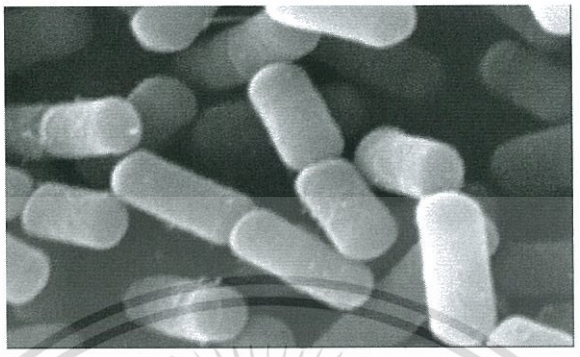
2.6.1 เชื้อ *Bacillus cereus*

เชื้อ *Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียที่พบในดินที่ก่อโรคอีกชนิดหนึ่ง คุณสมบัติคือ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง (rod) เจริญได้ดีทั้งในสภาพมีและไม่มีอากาศ ส่วนใหญ่การปนเปื้อนมักเกิดจากสปอร์ปนเปื้อนลงไปในห่วงโซ่อาหารที่ได้รับการปรุงไม่เหมาะสม เมื่อสปอร์เจริญเป็น vegetative cell จะสร้างสารพิษ (enterotoxin) และทำให้เกิดโรคเมื่อบริโภคอาหารนั้นเข้าไป ปริมาณที่ก่อโรคได้คือ มากกว่า 10^6 เซลล์ต่อกรัมอาหาร เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

องศาเซลเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส สิ่งแวดล้อมอื่นที่พบเชื้อได้นอกจากดิน ได้แก่ อากาศ ฝุ่น ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 เชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา: http://phys.org/news/2013-01-toxin-bacillus-cereus diarrhea.html (16 มกราคม 2558)

อนึ่ง enterotoxin เป็นสารพิษประเภทโปรตีน ที่ถูกสร้างโดยจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กตอนล่าง มักเป็นพิษต่อเซลล์ เยื่อบุผนังลำไส้ สวนใหญ่เป็นสารพิษที่ขับออกมาโดยแบคทีเรียที่ไปทำให้เกิดรูพรุนในเซลล์เมมเบรน มีผลทำให้เซลล์ตาย หลังจากเซลล์บุผนังลำไส้เล็กตาย ของเหลวต่าง ๆ จึงไหลออกมาทำให้เกิดอาการท้องร่วง ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สร้าง enterotoxin ได้แก่ *E. coli 0157:H7, Clostridium perfringens, Vibrio cholerae, Staphylococcus aureus, Rota virus* และ *Yersinia enterocolitica*

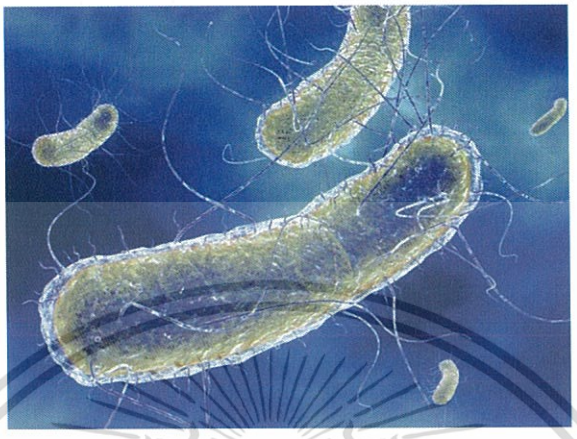
อย่างไรก็ตาม สารพิษที่สร้างโดย *B. cereus* มีสองชนิดคือ ชนิดที่ทำให้ท้องร่วง (diarrhea toxin) ซึ่งเป็น enterotoxin และชนิดที่ทำให้อาเจียน (emetic toxin)

2.6.2 เชื้อ *Escherichia coli*

เชื้อ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง (gram negative rod) ขนาด 1-2 ไมโครเมตร จัดเป็นพวก facultative anaerobic เคลื่อนที่โดย peritidhous flagella และยังพบโครงสร้างใช้ยึดเกาะเรียกว่า frimbriae แต่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสและให้กรด แล้วยังสามารถใช้น้ำตาลตัวอื่น ๆ ที่ 35 องศาเซลเซียส ย่อยสลายน้ำตาลซอร์บิทอลได้กลูคาร์โรนเดสเป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรคแต่จะทำให้เกิดโรคได้ถ้าเชื้ออยู่นอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
141988

ลำไส้ เช่น ในท่อปัสสาวะ ท่อน้ำดี ปอด เยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มสมอง และไขสันหลังในเด็กแรกเกิด เชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์ ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 เชื้อ *Escherichia coli*

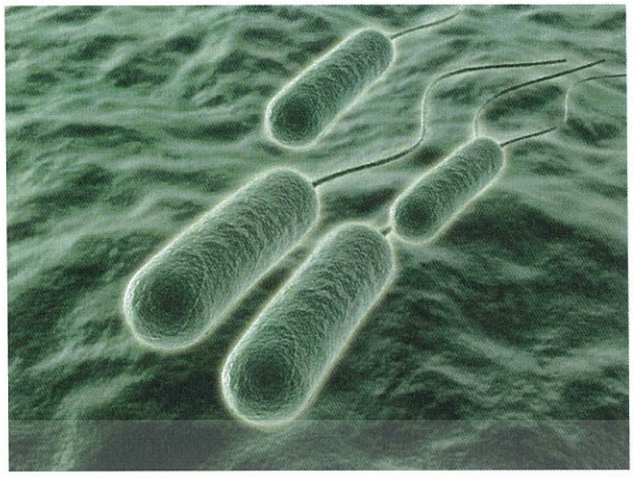
ที่มา: http://www.doctortipster.com/ (16 มกราคม 2558)

E. coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคท้องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary tract infections) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis) การรักษาและการป้องกันโรคท้องร่วงในเด็กทารก นอกจากการกินยาอีโนไมซินหรือโคลิสติน ยังต้องรีบให้น้ำเกลือเพื่อทดแทนส่วนที่สูญเสียไป หลีกเลี่ยงการได้รับเชื้อจากอาหารและน้ำดื่มที่ปนเปื้อน ควรระวังโดยการเลือกรับประทานอาหารที่ปรุงเสร็จใหม่ ๆ และยังร้อนอยู่

2.6.3 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง aerobic เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมาก ๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตจากโรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa* และเชื้อ *P. aeruginosa* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมากทำให้ยากต่อการรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

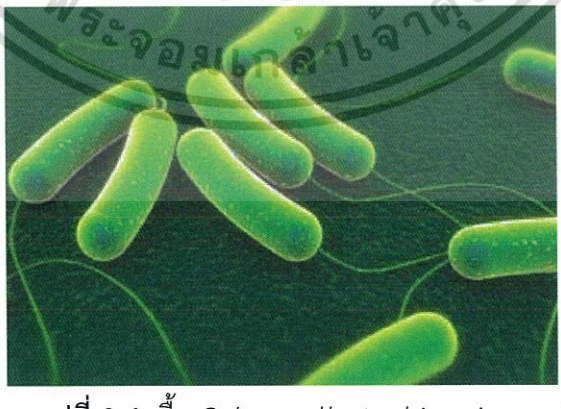


รูปที่ 2.5 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา: http://www.bioquell.asia/interface/assets/images/content/Multidrug_resistant_Pseudomonas_aeruginosa_65453743_1.jpg (16 มกราคม 2558)

2.6.4 เชื้อ *Salmonella typhimurium*

เชื้อ *Salmonella typhimurium* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่มีลักษณะรูปท่อน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ เจริญในที่มีอากาศอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 37 °C ช่วง pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 4.1-9.0 และ Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ประมาณ 0.93-0.95 ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 เชื้อ *Salmonella typhimurium*

ที่มา: http://salmonellatyphi.org/ (16 มกราคม 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.5 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

เชื้อ *Yersinia enterocolitica* เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ชนิดหนึ่งอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นท่อนสั้น (rod-shaped) มีขนาดเล็ก ขนาดประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ และเป็นแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิต่ำ (psychrotrophic bacteria) เจริญได้ดีที่ 25-30 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนได้ในตู้เย็น ถึงแม้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สามารถพบเชื้อได้ในเนื้อสัตว์ น้ำนมดิบ และอาหารดิบที่เตรียมไม่สะอาด ดังรูปที่ 2.7

รูปที่ 2.7 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

ที่มา: http://www.visualphotos.com/ (16 มกราคม 2558)

Y. enterocolitica เป็นอันตรายทางชีวภาพ (biological hazard) เป็นสาเหตุของโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ (foodbrone disease) คือ โรคเยอซินิโอซีส (Yersiniosis) มักพบในประเทศเขตหนาวปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) คือ 10^4 เซลล์ เมื่อผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหาร จะเพิ่มจำนวนในลำไส้ ทำให้เกิดโรคเยอซินิโอซีส ซึ่งเกิดจากสารพิษ enterotoxin ที่ทนต่อความร้อน เรียกว่า *Yersinia enterocolitica* heat stable toxin (YEST) จะทำให้มีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

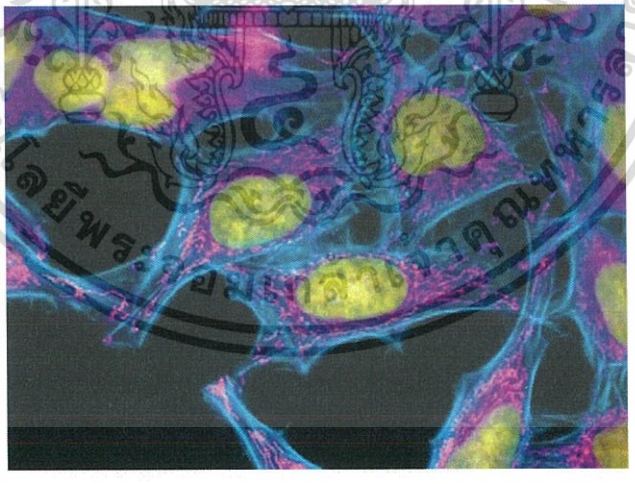
2.7 เซลล์มะเร็ง

2.7.1 เซลล์มะเร็งของ Henrietta Lacks ถูกตั้งชื่อใหม่ว่า HeLa (Henrietta Lacks)

HeLa cell มีชิ้นส่วนจีโนมของไวรัส Human papilloma virus (HPV) อยู่ในสารพันธุกรรม ซึ่งแน่นอนว่า Henrietta Lacks ติดเชื้อไวรัสดังกล่าวขณะที่เธอยังมีชีวิตอยู่และเป็นสาเหตุที่ทำให้เธอเป็น มะเร็ง HPV นั้นได้รับการพิสูจน์มาเป็นเวลาช้านานแล้วว่าเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ กระตุ้นให้เกิดมะเร็งปากมดลูกในมนุษย์ ด้วยคุณสมบัติความเป็นมะเร็งของ HeLa cell นั้นเองทำให้มันเป็นอมตะและสามารถแบ่งตัวได้อย่างไม่สิ้นสุด เซลล์มะเร็งจะถูกนำมาทดสอบกับสารที่มีคุณสมบัติในการต้านเซลล์มะเร็ง โดยการวัดค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity test) โดยดูที่ค่า ED_{50}

ED_{50} = Effective Dose $_{50}$

วิธีการดูค่า ED_{50} จะดูว่าสารทดสอบเท่าใดจึงทำให้เซลล์ตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ โดยเทียบกับกลุ่มควบคุม และก่อนที่จะทดสอบสารที่มีคุณสมบัติในการต้านเซลล์มะเร็งจะต้องทราบลักษณะและการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดเสียก่อน



รูปที่ 2.8 เซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa

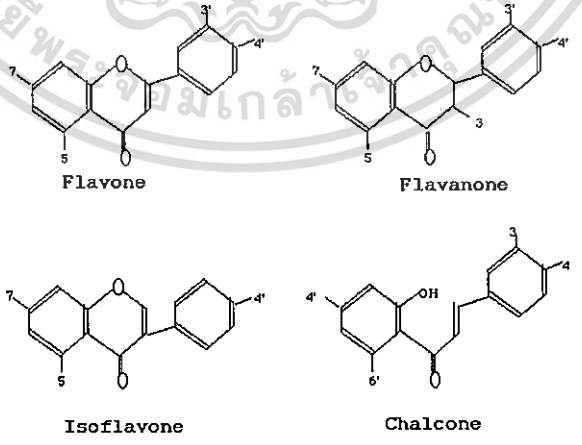
ที่มา: http://www.scimath.org/ (15 มกราคม 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Govardhan และคณะ (2013) การศึกษาคุณสมบัติของสารฟีนอลิกในสารสกัดจากเมล็ดของมะรุมพบว่า สารสกัดจากเมล็ดของมะรุมมีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 4137±32.22 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.9±0.05 และ 14.9±0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งมีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MIC) คือ 0.06-0.157 และ 0.117-0.191 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วาริน แสงกิติโกมล (2557) ศึกษาผลกระทบของมะรุมต่อการสร้าง Advanced glycation end-product และการแสดงออกของยีนที่ควบคุมเมทาบอลิซึมของไขมันในเซลล์เพาะเลี้ยง (HepG2 cell) พบว่ามีปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระ สารโพลีฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์เท่ากับ 9307±364 TE mM/kg 218±1 GE mM/ kg และ 286±12 QE mM/kg ตรวจด้วยวิธี Oxygen radical absorbance capacity, Folin Ciocalteu phenol และ Total flavonoids ตามลำดับ สารสกัดความเข้มข้น 2.5-10 mg/mL สามารถยับยั้งการสร้างสาร AGE ได้ 10-45% ความเข้มข้นของสารสกัดมะรุม 2000-3000 mg/Lเป็นพิษต่อเซลล์ตับเพาะเลี้ยง ซึ่งตรวจด้วยวิธี MTT assay สารสกัดจากมะรุมสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมเมแทบอริซึมของไขมัน โดยยีนที่ถูกยับยั้งให้มีการสร้าง mRNA ลดลงคือ HMG-CoAR, PPARα1 และ PPARγ) มีผลในการช่วยลด cholesterol และลดการสร้างไขมันสะสม เพื่อให้เกิดความสมดุลของไขมันในร่างกาย



รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่าง ๆ

ที่มา: http://www.asahi-net.or.jp/~it6i-wtnb/BNF.html (15 มกราคม 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

มะรุม (ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด) จากอำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยาและอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ เดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน ปี พ.ศ. 2557

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Bacillus cereus*	TISTR 5040	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*	ATCC 27853	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
เชื้อ *Salmonella typhimurium*	TISTR 292	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
เชื้อ *Escherichia coli*	ATCC 25922	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
เชื้อ *Yersinia enterocolitica*		ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

3.3 เซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็ง HeLa (Henrietta Lacks)

3.4 สารเคมี

แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 95 และ 99.9

2,2-diphenyl-1-picylhydrazyl (DPPH)

วิตามินอี (α – tocopherol)

3-(4,5-dimethyl thiazol-2-ly)-2,5-diphyl tetrazolium bromide (MTT)

ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsolfoxide ; DMSO)

โซเดียมคาร์บอนเนต (Sodium Carbonate; $NaCO_3$)

โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride ; NaCl)

สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate buffer saline; PBS)

Folin-Ciocalteu' s reagent

Folin Danis

กรดแกลลิก (Gallic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

McFarland standard No.0.5

Sodium dodecyl sulphate (SDS) เข้มข้นร้อยละ 10

Trypsin (GIBCO™)

ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน (Gentamicin)

ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

ซีรัม (fetal bovine serum, FBS)

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient Broth

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient Agar

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด (Mueller Hinton Agar; MHA)

อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง (Dulbecco's Modified Eagle's Medium; DMEM)

3.5 อุปกรณ์

ตู้บ่มเชื้อควบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (temperature incubator)

ตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม (laminar air flow hood)

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave)

ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เครื่องปั่น (blender)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (balance)

ชุดกรองสุญญากาศ

เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator)

เครื่องเขย่าสาร (vortex)

เครื่องไมโครเวฟ (microwave)

แผ่นทดสอบ (paper disc) Whatman เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

กระดาษกรอง Whatman No.2 4 และ 5

ปากคีบ (forceps)

ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop)

ไม้พันสำลี

ทิป (tip)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 2-20 10-100 และ 100-1,000 ไมโครลิตร

Mutichannel micropipette ขนาด 300 ไมโครลิตร

ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)

จานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร

จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

ไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (microtiter plate reader)

ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 200 500 และ 1000 มิลลิลิตร

ปิเปตแก้วขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร

ขวด vial

ขวดดูแรน (Duran) ขนาด 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร

แผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ (aluminium foil)

พาสเจอร์ปิเปต

ถาด

ลูกยาง

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 กระบวนการสกัดสารจากมะรุม

3.6.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประกอบด้วย ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด ของมะรุมอย่างละ 10 กิโลกรัม นำมาทำให้แห้งโดยอบที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่อบแห้งมาบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดแล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่บดละเอียด เก็บในภาชนะปิดฝาแน่น

3.6.1.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากพืชมะรุม

ชั่งผงของมะรุมแต่ละตัวอย่าง ๆ ละ 200 กรัม แช่ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:9) แช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน เมื่อครบกำหนดนำแต่ละตัวอย่างมากรองด้วยชุดกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวไว้ในที่มืด ส่วนกากที่เหลือนำมาแช่ใหม่อีก 3 ครั้ง นำของเหลวของแต่ละตัวอย่างมาระเหยด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกตัวทำละลายออกจากเอทานอล นำสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชาขนาดเล็กและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืช (Total Phenolic Assay)

เตรียมสารสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชมะรุมที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย หยดสารสกัดหยาบตัวอย่างลงในหลุมไมโครเพลทขนาด 96 หลุม (96 well-plate) หลุมละ 20 ไมโครลิตร จากนั้นหยดสารละลาย Folin-Ciocateu's reagent หลุมละ 100 ไมโครลิตร และหยด 7.5 เปอร์เซ็นต์ของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตลงในหลุม ๆ ละ 80 ไมโครลิตร หลังจากนั้นทิ้งไว้นาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาทำการคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชมะรุม โดยทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid (ภาคผนวก ก)

3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืช

เตรียมสารสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชมะรุมที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 550 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาทำการคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน (ภาคผนวก ก)

3.6.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชมะรุม ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

นำสารสกัดหยาบในส่วนเอทานอลที่สกัดได้จากตัวอย่างมะรุมโดยชั่งสารสกัดมา 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วละลายใน absolute ethanol 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอล 5 ระดับ ได้แก่ 0.75 1.5 3 6 และ 12 นำสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 หลุม (96-well plate) จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาณ 190 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอี (α-tocopherol) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และเอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ผลได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง รายงานผลเป็นค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การคำนวณร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging) คำนวณได้ดังสมการ

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

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังจากการบ่ม

สำหรับการประเมินค่า IC_{50} ของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับ % DPPH reduction

3.6.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ด้วยวิธี Agar well diffusion

เตรียมหัวเชื้อของเชื้อ *B. cereus*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *S. typhimurium* และ *Y. enterocolitica* โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อเจริญ หลังจากนั้น นำเชื้อมาละลายใน 0.85% Normal saline และปรับเทียบกับ Mcfarland 0.5 ใช้ไม้พันสำลีที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาทำการ swab บนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Mueller Hinton agar โดยกวาดเป็นเส้นตรงตามแนวนอนทับกัน 3 ครั้งทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ รอจนผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นใช้แท่งโลหะกลวง (cork borer) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ เจาะอาหารในจานเพาะเชื้อให้เป็นหลุมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6 มิลลิเมตร จำนวน 5 หลุมต่อ 1 จาน ใช้ออโต้ปิเปตดูดสารสกัดหยาบที่เตรียมไว้ลงในหลุม 3 หลุม เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และยาปฏิชีวนะ Gentamicin อย่างละหลุม ๆ ละ 20 ไมโครลิตร นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (inhibition zone) นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยของบริเวณการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

3.6.6.1 เตรียมเซลล์

เตรียมเซลล์ไลน์ Hela ในอาหาร DMEM เสริมด้วย 10% FBS โดยเพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร คำนวณปริมาณเซลล์มีชีวิตเพื่อใช้ทดสอบให้เพียงพอกับการทดลองแต่ละครั้ง

3.6.6.2 เตรียม Stock สารสกัดที่ใช้ทดสอบ

โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ความเข้มข้นตั้งต้น ประมาณ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5-10 มิลลิลิตร ทำการกรองด้วยแผ่นกรองที่มีช่องผ่านขนาด 0.2 ไมโครเมตร และใส่ขวดแก้วที่ปลอดเชื้อ หุ้มขวดแก้วด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยส์ (aluminum foil) เพื่อป้องกันแสง จากนั้นเก็บไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1. เตรียมละลาย MTT 50 มิลลิกรัม ใน PBS 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของ MTT เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายที่ได้มีสีเหลือง ทำการกรองด้วยชุดกรองสารขนาดช่องผ่าน 0.2 ไมโครเมตร เก็บสารละลายในขวดที่ปราศจากเชื้อ ห่อหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. เตรียมสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Hela เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล โดยเจือจางเป็นสองเท่า (two-fold dilution) ได้แก่ ความเข้มข้น 1 10 100 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ข้อควรระวัง คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ควรจะมี DMSO ไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เพราะ DMSO มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นกลุ่มควบคุมมี 2 กลุ่ม คือเซลล์ที่เลี้ยงในอาหาร และเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารผสม DMSO เพื่อเป็นการยืนยันความเป็นพิษของสารสกัดมิได้เกิดจากพิษของ DMSO

3.6.6.3 การทดสอบ

วางแผนการทดสอบโดยเตรียมแผนผังตามรูปแบบของภาชนะเพาะเลี้ยง ในที่นี้ใช้จานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม (96-well plate) ปลูกเซลล์ HeLa ลงในจานเพาะเลี้ยง โดยให้มีจำนวนเซลล์มีชีวิตเท่ากับ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ทดสอบ 3 ซ้ำ นำจากเพาะเลี้ยงที่ปลูกเซลล์เรียบร้อยแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 เป็นเวลา 1 คืน หรือ 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่ม ดูดอาหารออกแต่ละคอลัมน์ แล้วเติมสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดแต่ละความเข้มข้น ดังแผนผังที่กำหนด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มนาน 48 ชั่วโมง ใช้ DMSO สำหรับละลายผลึกฟอร์มาซาน

เมื่อบ่มเซลล์ในสารสกัดครบ 48 ชั่วโมง ดูดสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุมที่ทดสอบ ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลาย MTT ทิ้ง แล้วเติมสารละลาย DMSO 150 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน จะได้สารละลายสีม่วง

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่นของแผ่นกรองแสงเท่ากับ 570 นาโนเมตร ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสง ต้องตั้งโปรแกรมการเขย่านาน 5 นาที เพื่อให้ผลึกฟอร์มาซานละลายทั้งหมด และความเข้มของสีกระจายทั่วทั้งหลุม บันทึกค่าการดูดกลืนแสงลงในตาราง และคำนวณหาค่า % cytotoxicity ของแต่ละความเข้มข้นดังนี้ คือ

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

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (อาหาร) มาหักออกก่อน จากนั้นจึงนำไปคำนวณจากสูตรข้างต้น

จากนำผลการคำนวณค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (%Cytotoxicity) บันทึกลงในตาราง เพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากมะรุม

สารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองได้จากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา นำมาทำให้แห้งในที่ร่มเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา และบดเป็นผงให้ละเอียด แล้วสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-7 วัน นำไปกรองแล้วระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากมะรุมของจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยาในตัวทำละลายเอทานอล 95%

พืชมะรุม	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
	ปริมาณวัตถุดิบ (กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้	ปริมาณวัตถุดิบ (กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้
ใบ	200	14.641	7.32%	200	15.186	7.59%
ฝัก	200	11.417	5.70%	200	11.508	5.75%
เมล็ด	200	11.102	5.55%	200	8.792	4.39%

4.2 ผลการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะรุม

4.2.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการทดลองวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของทั้ง 2 จังหวัด ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารมาตรฐานคือ กรดแกลลิก และแบลงค์คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

765 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังรูปในภาคผนวก ก-1 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดคือ 51.97±3.03 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด คือ 17.03±5.24 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุมส่วนต่าง ๆ จากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

พื้นที่	สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	49.35^{a}±4.00
	ฝักติดเนื้อ	32.76^{c}±2.62
	เมล็ด	17.03^{e}±5.24
จังหวัดพะเยา	ใบ	51.97^{a}±3.03
	ฝักติดเนื้อ	41.49^{b}±1.51
	เมล็ด	23.15^{d}±1.51

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการทดลองวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของทั้ง 2 จังหวัด ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารมาตรฐานคือ ควอซิทิน และแบลงค์คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของควอซิทิน ดังรูปภาคผนวก ก-2 พบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือ 148.63±1.80 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการและส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุทรปราการ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด คือ 125.88±2.35 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุมส่วนต่าง ๆ จากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

พื้นที่	สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	146.67^{a}±1.36
	ฝักติดเนื้อ	142.35^{b}±1.18
	เมล็ด	123.92^{c}±2.96
จังหวัดพะเยา	ใบ	148.63^{a}±1.80
	ฝักติดเนื้อ	144.71^{ab}±2.35
	เมล็ด	125.88^{c}±2.35

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกข้างต้นให้ผลสอดคล้องกับ Alhakmani และคณะ (2013) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากดอกมะรุมโดยการทดสอบทางพฤกษเคมี พบว่า มีสารทุติยภูมิหลายชนิดในสารสกัดจากดอกมะรุม เช่น แทนนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คาไดแอกไกลโคไซด์ และอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าดอกมะรุมอุดมไปด้วยโพลีฟีนอล มีค่าเท่ากับ 19.31 ± 1.79 มิลลิกรัมต่อกรัมกรดแกลลิค และจากการศึกษาของ Singh และคณะ (2013) พบว่า สารสกัดส่วนเมล็ดของมะรุมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 4173±131.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 233.6±8.2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

ปริมาณขององค์ประกอบภายในของสารสกัดหยาบจากมะรุมที่ได้แตกต่างกัน อาจเนื่องจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมสอดคล้องกับการศึกษาของ Iqbal และ Bhanger (2006) ชี้ให้เห็นว่าของสารสกัดหยาบจากใบมะรุมที่ปลูกในพื้นที่และฤดูกาลที่ต่างกัน ทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบได้จาก Mardaan มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบที่ได้จาก Balakot Chakwal Jamshoro และ Nawabshah ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดหยาบจากใบมะรุมที่ปลูกในเดือนมีนาคม หรือ เดือนธันวาคม และปลายเดือนมิถุนายนมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเช่นกัน

4.2.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะรุมด้วยวิธี DPPH scavenging activity

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุมมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activety ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางความเข้มข้นสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากทั้ง 2 จังหวัด ให้มีความเข้มข้นเป็น 0.75 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทิ้งไว้ 30 นาที หลังจากเติมสารละลาย 0.1 mM DPPH ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีม่วงของ DPPH กลายเป็นสีเหลือง ซึ่งอัตราการเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมะรุม ดังรูปภาคผนวก ค-1 ค-2 และ ค-3 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลดลง ส่งผลให้ร้อยละในการเกิดปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH (% DPPH) ลดลงไปด้วย โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานพบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินอี แต่มากกว่าวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ยกเว้นที่ความเข้มข้น 0.75 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการ และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยาไม่มีความแตกต่างจากวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) ดังตารางที่ 4.4 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 0.75 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ซึ่งที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์มากที่สุดคือ 78.63±0.82 เปอร์เซ็นต์ และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 15.08±3.45 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ซึ่งที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์มากที่สุดคือ 37.67±3.48 เปอร์เซ็นต์ และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 2.57±2.17 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 15.74±1.60 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) กับความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ 0.52±0.26 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 82.76±1.46 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างจากความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 13.25±1.52 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างจากความเข้มข้น 3 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 0.75 1.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 42.95±2.96 เปอร์เซ็นต์ และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 10.70±2.23 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างจากความเข้มข้น 3 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 19.88±3.34 เปอร์เซ็นต์ และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 1.77±0.80 เปอร์เซ็นต์

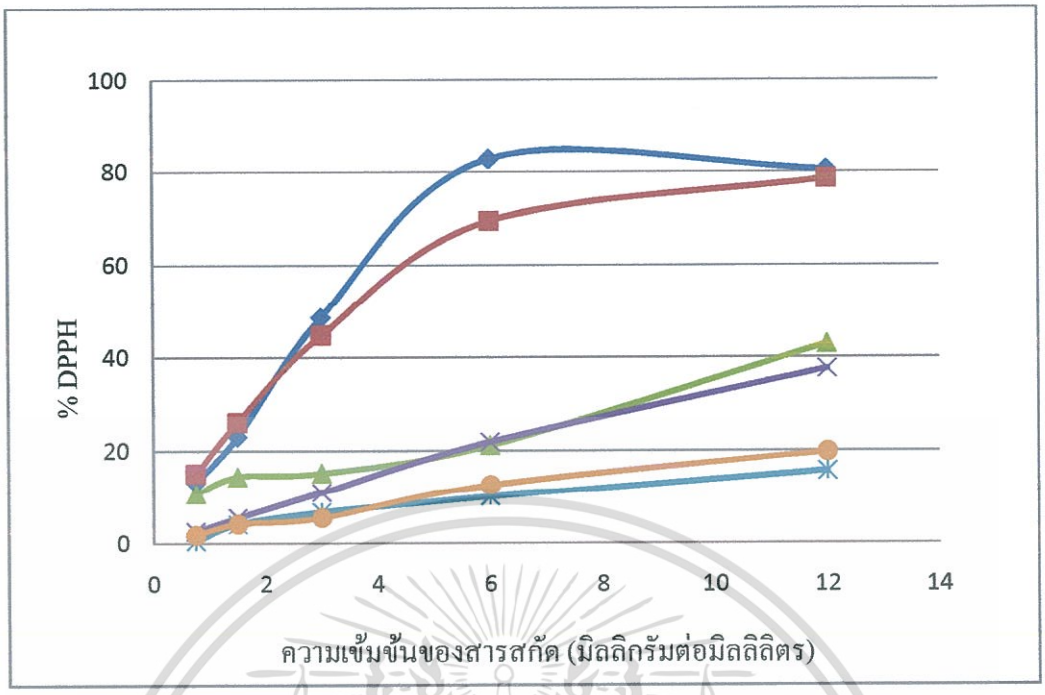
เมื่อทำการเปรียบเทียบส่วนต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัด พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 82.76±1.46 รองลงมาคือความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ 80.46±4.30 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด คือ 0.52±0.26 และจากรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากทั้ง 2 จังหวัด และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากทั้ง 2 จังหวัด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด จากจังหวัดสมุทรปราการ และจังหวัดพะเยา

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	% DPPH Reduction					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
0.75	15.08^{jk} ±3.45	2.57^{pq} ±2.17	0.52^{q} ±0.26	13.25^{jklm} ±1.52	10.70^{lm} ±2.23	1.77^{pq} ±0.80
1.5	26.17^{h} ±0.93	5.56^{op} ±2.57	4.14^{opq} ±2.13	23.12^{hi} ±1.46	14.50^{jkl} ±5.32	4.21^{opq} ±1.73
3	44.83^{f} ±2.68	11.04^{klm} ±1.63	6.80^{no} ±1.09	48.68^{e} ±3.19	15.24^{j} ±0.85	5.54^{op} ±0.38
6	69.51^{d} ±1.88	21.95^{i} ±1.59	10.13^{mn} ±0.92	82.76^{b} ±1.46	21.21^{i} ±1.02	12.64^{jklm} ±0.59
12	78.63^{c} ±0.82	37.67^{g} ±3.48	15.74^{j} ±1.60	80.46^{bc} ±4.30	42.95^{f} ±2.96	19.88^{i} ±3.34
วิตามินอี 5 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร	89.29^{a} ±0.23					
วิตามินซี 0.05 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร	2.64^{pq} ±0.93					

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction) ระหว่างสารสกัดหยาบมะรุมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.75 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ: คือ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ
คือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการ
คือ สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ

นอกจากนี้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมะรุมจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด จากทั้งสองจังหวัด ยังสามารถแสดงค่าในรูปของ IC_{50} (Inhibition concentration 50%) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบที่ลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 50 จากการทดลองสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืช มีค่า IC_{50} ดังตารางที่ 4.5 ซึ่งค่าที่ได้ มาจากการคำนวณจากรูปในภาคผนวก ข-4 ถึง ข-9

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} จากตารางที่ 4.5 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีค่า IC_{50} น้อยที่สุดคือ 3.48±0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไม่มีความแตกต่างกับสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) รองลงมาคือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อและเมล็ดจากทั้ง 2 จังหวัด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่า IC_{50} ในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด จากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

พื้นที่	สารสกัดหยาบ (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	3.97^{c}±0.14
	ฝักติดเนื้อ	15.36^{b}±1.01
	เมล็ด	31.18^{a}±4.21
จังหวัดพะเยา	ใบ	3.48^{c}±0.10
	ฝักติดเนื้อ	13.51^{b}±0.96
	เมล็ด	28.63^{a}±3.64

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองข้างต้น สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับการทดลองของ Moyo และคณะ (2012) ซึ่งได้ทำการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมะรุม โดยใช้สารสกัดจากอะซีโตนและสารสกัดจากน้ำ ซึ่งสารสกัดจากอะซีโตน สารสกัดจากน้ำ และ BHT มีค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (%DPPH) เป็น 98.24 83.56 และ 98.62% ตามลำดับ โดยสารสกัดจากอะซิโตนและ BHT เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่คล้ายกันที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยน้ำ

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากมะรุม โดยวิธี Agar well diffusion

จากการทดลองนำสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 5040, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* TISTR 292 และ *Yersinia enterocolitica*

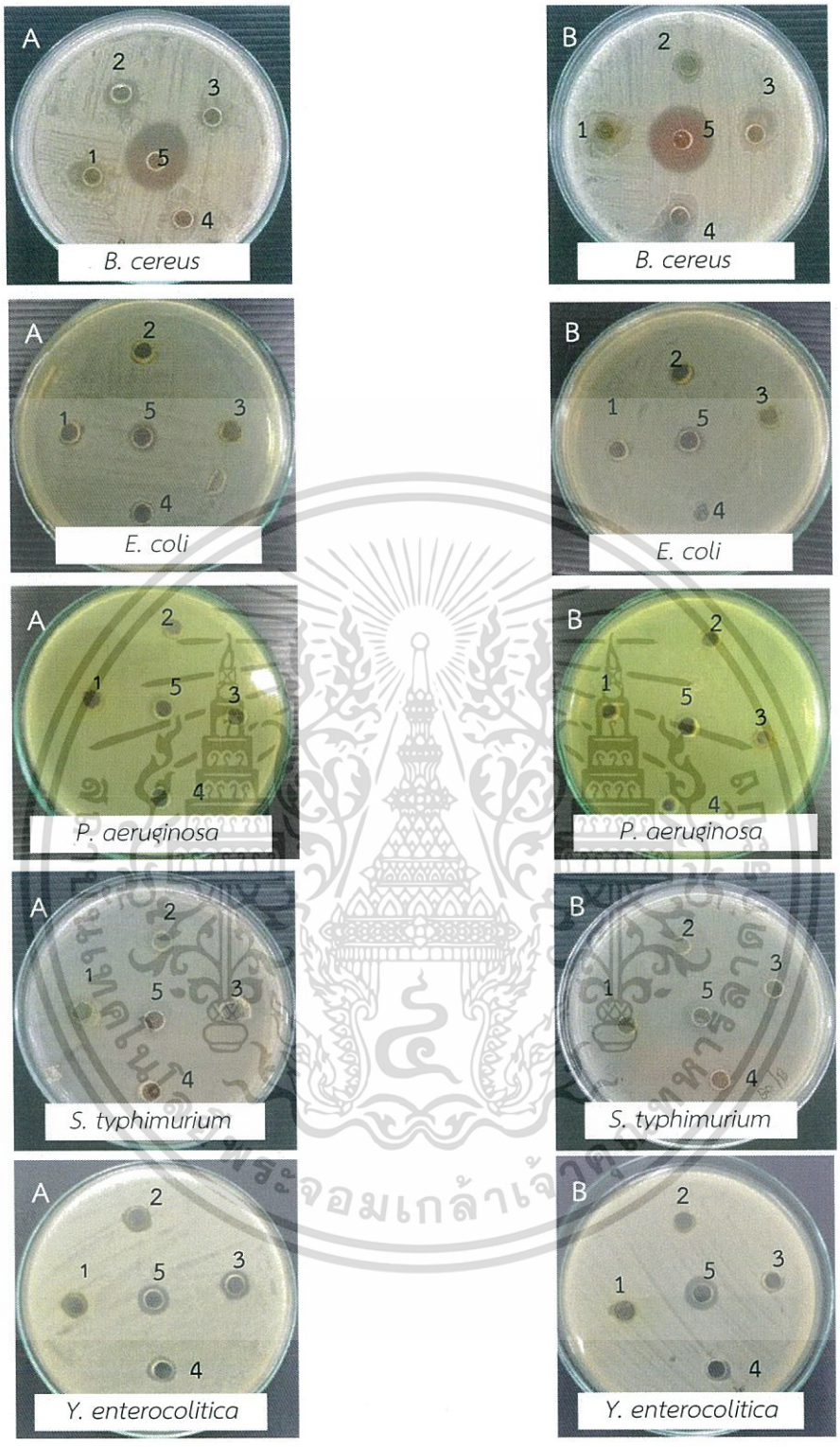
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลองโดยใช้สารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี agar well diffusion แล้ววัดความกว้างของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากมะรุมทั้ง 2 จังหวัด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *B. cereus* TISTR 5040, *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* TISTR 292 และ *Y. enterocolitica* แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ผลการทดสอบแสดงในรูปที่ 4.5

จากตารางที่ 4.6 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้มากที่สุดคือ 15.80±0.09 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.5$) กับสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ซึ่งมีบริเวณยับยั้ง 15.74±0.42 มิลลิเมตร และไม่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* โดยสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากทั้ง 2 จังหวัด และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการไม่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* โดยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) แต่มากกว่าชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ยกเว้นสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli, S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* และสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากการทดลอง ที่ความเข้มข้นของ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 4 ชนิด ได้ผลค่อนข้างดี จึงได้ทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงเป็น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 บริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หมายเลข 1 คือส่วนใบ หมายเลข 2 คือส่วนฝักติดเนื้อ หมายเลข 3 คือส่วนเมล็ด หมายเลข 4 คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หมายเลข 5 คือ ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ตัวอักษร A คือจังหวัดสมุทรปราการ และตัวอักษร B คือจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัด ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

		เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (mm)				
เชื้อแบคทีเรีย / สารสกัดหยาบ		*B. cereus*	*E. coli*	*P. aeruginosa*	*S. typhimurium*	*Y. enterocolitica*
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	14.80^{c} ±039	8.20^{hi} ±0.02	6.00^{n} ±0.00	12.53^{de} ±0.91	6.73^{lmn} ±1.27
	ฝักติดเนื้อ	12.10^{d} ±0.43	7.30^{jklm} ±0.09	6.00^{n} ±0.00	8.45^{gh} ±0.72	7.27^{jklm} ±0.39
	เมล็ด	15.74^{b} ±0.42	6.80^{klmn} ±0.14	6.00^{n} ±0.00	6.00^{n} ±0.00	7.08^{klm} ±0.19
จังหวัดพะเยา	ใบ	15.80^{b} ±0.09	9.45^{f} ±0.12	6.00^{n} ±0.00	7.64^{hijk} ±0.08	8.05^{hij} ±0.38
	ฝักติดเนื้อ	12.20^{de} ±0.21	9.20^{fg} ±1.68	6.00^{n} ±0.00	7.56^{ijkl} ±0.47	9.16^{fg} ±0.83
	เมล็ด	14.51^{c} ±0.08	8.31^{hi} ±0.10	6.00^{n} ±0.00	7.56^{ijkl} ±0.14	9.33^{f} ±0.61
Gentamicin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร		18.68^{a} ±0.13	12.21^{de} ±0.09	8.23^{hi} ±0.11	14.88^{c} ±0.14	13.00^{d} ±0.12
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์		7.02^{klm} ±0.09	6.64^{mn} ±0.08	6.00^{n} ±0.00	6.66^{mn} ±0.12	6.90^{klm} ±0.15

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุม ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TISTR 5040 ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากตารางที่ 4.7 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา มีบริเวณยับยั้ง *B. cereus* มากที่สุดคือ 15.80±0.09 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างกับสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.5$) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณการยับยั้งน้อยที่สุดคือ 8.72±0.08 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีบริเวณยับยั้งน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) แต่มากกว่าชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.5$)

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TISTR 5040 ที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ จากมะรุมทั้ง 2 จังหวัด

	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
12.5	11.16^{f}±0.09	8.72^{l}±0.08	10.40^{g}±0.23	9.11^{i}±0.07	10.05^{h}±0.15	9.16^{i}±0.07
25	10.41^{g}±0.13	10.58^{g}±0.07	13.04^{d}±0.14	12.76^{d}±0.06	10.54^{g}±0.06	10.26^{gh}±0.08
50	14.80^{c}±0.39	12.10^{e}±0.43	15.74^{b}±0.42	15.80^{b}±0.09	12.20^{e}±0.21	14.51^{c}±0.08
Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	18.68^{a}±0.13					
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	7.02^{k} ±0.09					

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมแต่ละความเข้มข้น ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากตารางที่ 4.8 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* มากที่สุดคือ 9.20±1.68 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างกันกับสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.5$) และสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ เมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เกิดบริเวณการยับยั้งของเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีบริเวณยับยั้งน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.5$) แต่ชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างกันกับสารสกัดหยาบทุกส่วนจากจังหวัดสมุทรปราการ ส่วนใบและเมล็ดจากจังหวัดพะเยา ที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.5$)

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ จากมะรุมทั้ง 2 จังหวัด

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
12.5	6.00^{g}±0.00	6.00^{g}±0.00	6.00^{g}±0.00	6.43^{fg}±0.14	6.66^{c}±0.07	6.00^{g}±0.00
25	6.00^{g}±0.00	6.00^{g}±0.00	6.00^{g}±0.00	7.20^{de}±0.21	7.46^{d}±0.07	6.66^{efg}±0.00
50	8.20^{c}±0.02	7.30^{de}±0.09	6.80^{def}±0.14	9.45^{b}±0.12	9.20^{b}±1.68	8.31^{c}±0.01
Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	12.21^{a}±0.09					
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	6.64^{efg}±0.08					

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมแต่ละความเข้มข้น ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* TISTR 292 ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากตารางที่ 4.10 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* มากที่สุดคือ 12.53±0.91 มิลลิเมตร และบริเวณที่ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อคือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดทุกความเข้มข้นจากจังหวัดสมุทรปราการ และสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีบริเวณยับยั้งน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.5$) แต่ชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างกันกับสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดพะเยา ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ จากมะรุมทั้ง 2 จังหวัด

	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
12.5	6.61^{e}±0.57	6.00^{f}±0.00	6.00^{f}±0.00	6.00^{f}±0.00	6.00^{f}±0.00	6.00^{f}±0.00
25	7.42^{d}±0.15	6.00^{f}±0.00	6.00^{f}±0.00	7.25^{d}±0.07	7.08^{de}±0.09	6.61^{e}±0.09
50	12.53^{b}±0.91	8.45±0.72^{c}	6.00^{f}±0.00	7.64^{d}±0.08	7.64^{d}±0.47	7.56^{d}±0.14
Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	14.88^{a}±0.14					
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	6.66^{e}±0.12					

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมแต่ละความเข้มข้น ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากตารางที่ 4.11 พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยามีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* มากที่สุดคือ 9.33±0.61 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างกับสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยาอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.5$) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และที่ไม่เกิดบริเวณการยับยั้งคือ สารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีบริเวณยับยั้งน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.5$) และสารสกัดหยาบทุกชนิดมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.5$)

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* ที่ความเข้มข้น 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ จากมะรุมทั้ง 2 จังหวัด

	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
12.5	6.00^{h}±0.00	6.00^{h}±0.00	6.00^{h}±0.00	6.59^{efgh}±0.53	6.29^{fgh}±0.43	6.47^{efgh}±0.12
25	6.63^{efgh}±0.04	6.21^{gh}±0.05	6.28^{fgh}±0.06	7.26^{de}±0.45	6.63^{efgh}±0.47	7.73^{cd}±0.41
50	6.73^{efgh}±1.27	7.27^{de}±0.39	7.08^{def}±0.19	8.05^{c}±0.38	9.16^{b}±0.83	9.33^{b}±0.61
Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	13.00^{a}±0.12					
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์	6.90^{efg}±0.15					

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมแต่ละความเข้มข้น ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *E. coli* มากที่สุดคือ 15.80±0.09 และ 9.45±0.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้มากที่สุดเท่ากับ 12.53±0.91 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* มากที่สุดเท่ากับ 9.33±0.61 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่สารสกัดหยาบจากมะรุมทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้

จากข้อมูลข้างต้นได้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Elumalai และคณะ (2015) ซึ่งทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดจากใบมะรุมในการทดสอบ ผลการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, P. aeruginosa* และ *E. coli* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 19.1± 0.28 16.5±0.50 และ 17.1±0.28 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และจากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของ Singh และคณะ (2013) โดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุมพบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* มากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) รองลงมาคือ *E. coli* และ *Y. enterocolitica* ตามลำดับ สามารถสรุปได้ว่า สกัดหยาบจากมะรุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งเกิดจากความแตกต่างกันของโครงสร้างผนังเซลล์ชั้น peptidoglycan จากการซึมผ่านของสารเข้าออกเซลล์ และฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดอีกด้วย

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากมะรุม โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวก (Gentamicin) เพียงชนิดเดียว ทำให้ไม่ครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองซึ่งมีทั้งแกรมบวกและลบ ทำให้การเปรียบเทียบผลการทดลองไม่น่าเชื่อถือ เนื่องจากยาปฏิชีวนะ Gentamicin จำเพาะกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ดังนั้นควรใช้ชุดควบคุมที่จำเพาะต่อแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม

4.3.5 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย (minimal Inhibitory Concentration, MIC)

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียข้างต้น สามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ 3 ชนิด คือ *E. coli, S. typhimurium* และ *Y. enterocolitica* ดังตารางที่ 4.11 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) โดยพบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบและส่วนฝัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา มีค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา มีค่า MIC ของเชื้อ *Y. enterocolitica* เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นกัน ส่วนสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ และสารสกัดหยาบทุกส่วนจากจังหวัดพะเยา มีค่า MIC ของเชื้อ *S. typhimurium* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.11 ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยาในการยับยั้งแบคทีเรีย

สารสกัดหยาบ / เชื้อแบคทีเรีย		(ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร		
		E. coli	*S. typhimurium*	*Y. enterocolitica*
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	50	25	25
	ฝักติดเนื้อ	50	50	25
	เมล็ด	50	NC	25
จังหวัดพะเยา	ใบ	12.5	25	12.5
	ฝักติดเนื้อ	12.5	25	12.5
	เมล็ด	50	25	12.5

หมายเหตุ: NC คือ ไม่เกิดบริเวณการยับยั้ง

จากข้อมูลข้างต้นสอดคล้องกับการทดลองของ Singh และคณะ (2013) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *Y. enterocolitica* เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการศึกษาของ Arora และ Onsare (2014) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากฝักติดเนื้อมะรุมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*และ *S. typhimurium* เท่ากับ 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ไม่สามารถหาค่า MIC ของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 5040 ได้ เนื่องจากต้องเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงอีก เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่ง Singh และคณะ (2013) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* ให้ค่า MIC ที่ได้ เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปากมดลูก (HeLa) โดยวิธี MTT

จากการทดลองเพื่อวิเคราะห์หาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด จากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา โดยวิธี MTT ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 1 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับสารสกัดที่ใช้ทดลอง โดยเจือจางสารสกัดที่ใช้ให้มีความเข้มข้น 1 10 100 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี MTT วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุมทั้งสองจังหวัด ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.12 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลดลง ส่งผลให้ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (%Cytotoxic) ลดลงไปด้วย และเมื่อทำการเปรียบเทียบส่วนต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัด พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุดคือ 80.03±0.85 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุดคือ 7.53±3.53 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันกับสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 76.69±2.59 และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 55.43±2.48 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) แต่ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) กับความเข้มข้น 1 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 53.29±0.39 และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 17.91±0.71 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) แต่ที่ความเข้มข้น 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 40.32±4.30 และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 7.53±3.53 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) แต่ที่ความเข้มข้น 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 80.03±0.85 และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 47.35±1.67 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 59.18±2.23 และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 25.74±2.85 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยาที่ความเข้มข้น 1 10 100 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด คือ 50.90±1.64 ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คือ 10.22±1.94

เมื่อทำการเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษทั้งหมดจากสารสกัดหยาบ 6 ตัวอย่างพบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด รองลงมาคือส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ ส่วนฝักติดเนื้อจากทั้ง 2 จังหวัด และส่วนเมล็ดจากทั้ง 2 จังหวัด ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.3

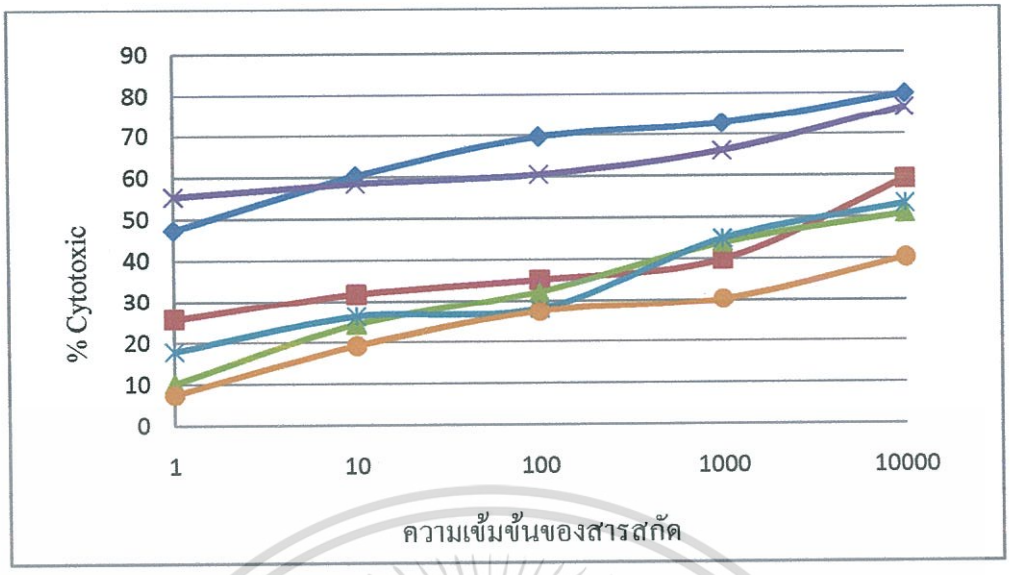
นอกจากนี้ค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ของสารสกัดหยาบมะรุมจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อและเมล็ด จากทั้ง 2 จังหวัด สามารถแสดงในรูปของค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (Cytotoxic concentration 50%; CC_{50}) จากการทดลองสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืช มีค่า CC_{50} ดังตารางที่ 4.13 ซึ่งค่าที่ได้ มาจากการคำนวณจากรูปภาคผนวก ง-1 ถึง ง-6 พบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ มีค่า CC_{50} ต่ำที่สุดคือ 0.22±0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกับสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการ และสารสกัดหยาบทุกส่วนจากจังหวัดพะเยา อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ มีค่า CC_{50} สูงที่สุดคือ 75,275.47±17,134.98 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนต่าง ๆ จากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	% Cytotoxic					
	จังหวัดสมุทรปราการ			จังหวัดพะเยา		
	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด	ใบ	ฝักติดเนื้อ	เมล็ด
1	$55.43^{fg} \pm 2.48$	$17.91^{q} \pm 0.71$	$7.53^{r} \pm 3.53$	$47.35^{ij} \pm 1.67$	$25.74^{op} \pm 2.85$	$10.22^{r} \pm 1.94$
10	$58.49^{ef} \pm 1.95$	$26.30^{op} \pm 4.10$	$19.18^{q} \pm 2.65$	$60.35^{e} \pm 0.85$	$31.86^{lmn} \pm 2.89$	$24.37^{p} \pm 1.64$
100	$60.53^{e} \pm 2.16$	$28.00^{mnop} \pm 2.89$	$27.42^{nop} \pm 0.54$	$69.63^{cd} \pm 1.94$	$35.15^{l} \pm 0.86$	$32.26^{lm} \pm 3.27$
1000	$66.11^{d} \pm 1.81$	$44.90^{j} \pm 3.86$	$30.29^{mno} \pm 3.66$	$72.79^{bc} \pm 1.70$	$39.91^{k} \pm 2.46$	$43.91^{jk} \pm 5.00$
10000	$76.69^{ab} \pm 2.59$	$53.29^{gh} \pm 0.39$	$40.32^{k} \pm 4.30$	$80.03^{a} \pm 0.85$	$59.18^{ef} \pm 2.23$	$50.90^{hi} \pm 1.64$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางแสดงถึงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.3 กราฟการเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ระหว่างสารสกัดหยาบมะรุมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 1 10 100 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

หมายเหตุ: คือ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ
คือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการ
คือ สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา
คือ สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ

ตารางที่ 4.13 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (CC_{50}) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนต่าง ๆ จากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

	สารสกัดหยาบ	ค่า CC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	0.22^{b} ±0.00
	ฝักติดเนื้อ	$1,224^{b}$ ±249.97
	เมล็ด	$75,275.47^{a}$ ±17,134.98
จังหวัดพะเยา	ใบ	0.89^{b} ±0.31
	ฝักติดเนื้อ	$2,893.10^{b}$ ±798.06
	เมล็ด	$6,052^{b}$ ±2,304.38

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของมะรุมจากส่วนต่าง ๆ ของทั้ง 2 จังหวัด มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของสารสกัดจากใบมะรุมกับการอยู่รอดของเซลล์ KB ทดสอบโดยวิธี MTT สารสกัดจากใบมะรุมสามารถยั้งการแพร่กระจายของเซลล์ KB ได้อย่างมีนัยสำคัญ และขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบ สรุปผลการศึกษาพบว่า สารสกัดที่ใช้ในความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษในเซลล์ปกติแสดงผลยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญในการแพร่กระจายของเซลล์ KB มากกว่า 85% (Sreelatha และคณะ, 2011) และสารสกัดหยาบของใบมะรุม ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหยาบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง HEK-293 cell ได้ (Vongsak และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากมะรุมสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ ของมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยพบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากทั้ง 2 จังหวัดมีฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมดสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์พบว่า สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีค่าสูงที่สุดคือ 51.97±3.03 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 148.63±1.80 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลดลงส่งผลให้ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงไปด้วย โดยสารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยามีค่าสูงที่สุด มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดคือ 3.481 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานพบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินอี แต่มากกว่าวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium* และ *Y. enterocolitica* แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากทั้งสองจังหวัดพบว่า สารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าชุดควบคุมเชิงบวก แต่มากกว่าชุดควบคุมเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ยกเว้นสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* และสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝักติดเนื้อและเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* นอกจากนี้ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลดลงส่งผลให้ค่าร้อยละความเป็นพิษของต่อเซลล์ (% Cytotoxic) ลดลงไปด้วย โดยสารสกัดหยาบส่วนใบของมะรุมจากจังหวัดพะเยา มีค่าร้อยละความเป็นพิษของต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกมากที่สุดคือ 80.03±0.85 และโดยสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดหยาบส่วนใบของมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการมีค่า CC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.22±0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อการเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 จังหวัด ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดหยาบของมะรุมจากจังหวัดพะเยามีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง สูงกว่าสารสกัดหยาบของมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ ยกเว้นฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 จังหวัด ที่ต่างกันนี้อาจเกิดจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมหลายอย่าง เช่น สภาพภูมิประเทศ สภาพภูมิอากาศ ปริมาณน้ำฝน และฤดูกาลที่ทำการเพาะปลูก เป็นต้น

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากมะรุมที่แตกต่างกัน เกิดจากกระบวนการผลิตสารขั้นทุติยภูมิในมะรุม เช่น วิตามิน เกลือแร่ ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิก เป็นต้น ทำให้องค์ประกอบภายในของสารสกัดหยาบจากมะรุมในแต่ละส่วน (ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของมะรุม) แตกต่างกัน ทั้งนี้มะรุมยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ดี ซึ่งช่วยในการเสริมสร้างสุขภาพและช่วยลดภาวะเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระหรือภาวะเครียดออกซิเดชั่นในมนุษย์เราได้ นอกจากนี้อาจมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำสารสกัดหยาบจากมะรุม มาประยุกต์ใช้ในด้านอาหาร โภชนาการ เครื่องสำอาง เภสัชกรรม และทางการแพทย์

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดสารสกัดหยาบจากมะรุม อาจเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เพื่อสกัดสาร

2. ควรศึกษาสารสกัดหยาบจากมะรุมกับเซลล์ไลน์ชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เพื่อศึกษาความพิษต่อเซลล์มะเร็ง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

รุจิรา สัมมะสุต. 2551. “รุมรัก(ษ์) ในคุณค่าของมะรุม”. **วารสารเคหการเกษตร.** 32(2): 207-208.

วาริน แสงกิติโกมล. 2557. “ผลกระทบของมะรุมต่อการสร้าง Advanced glycation end-product และการ แสดงออกของยีนที่ควบคุมเมทาบอลิซึมของไขมันในเซลล์เพาะเลี้ยง (HepG2 cell)”. **บทความวิจัย.** ภาควิชาเคมีคลีนิก จุฬาลงกรณ์มหาวิทลัย.

วรรณภา เสนาดี. 2552. “มะรุมพืชผักเป็นยาราคาเยา”. **วารสารเคหการเกษตร.** 32(12): 167-170.

สุธาทิพ ภมรประวัติ. 2550. “มะรุมลดไขมันป้องกันมะเร็ง”. **หมอชาวบ้าน.** 29(338): 28-32.

Alhakmani, F., Kumar, S. and Khan, S.A. 2013. “Estimation of total phenolic content, *in-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*”. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(8): 623-627.

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A.H. 2007. “*Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses”. *Phytother Res.* 21: 17-25.

Arora, D.S. and Onsare, J.G. 2014. “*In vitro* antimicrobial evaluation and phytoconstituents of *Moringa oleifera* pod husks”. *Industrial Crops and Products.* 52: 125– 135.

Auwal, M., Tijjani, A., Sadiq, M., Saka, S., Mairiga, I. and Shuaibu, A. 2013. “Antibacterial and haematological activity of *Moringa oleifera* aqueous seed extract in Wistar albino rats”. *Sokoto J Vet Sci.* 11(1): 28-37.

Kumbhare, M.R., Guleha, V. and Sivakumar, T. 2012. “Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and *in-vitro* antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*”. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 144-150.

Iqbal , S. and Bhanger, M.I. 2006. “Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan”. *Journal of Food Composition and Analysis.* 19: 544-551.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Mahajan, S.G. and Mehta, A.A. 2010. "Immunosuppressive activity of ethanolic extract of seeds of *Moringa oleifera* Lam. in experimental immune inflammation". *J Ethnopharmacol*. 130(1): 183-186.

Sreelathaa, S., Jeyachitrab, A. and Padmac, P.R. 2011. "Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells". *Food and Chemical Toxicology*. 49: 1270–1275

Sudha, P., Asdaq, S.M., Dhamingi, S.S. and Chandrakala, G.K. 2010. "Immunomodulatory activity of methanolic leaf extract of *Moringa oleifera* in animals". *Indian J Physiol Pharmacol*.54(2): 133140.

Pontual, E.V., Carvalho, B.E.A., Bezerra, R.S., Coelho, L.C.B., Napoleao, T.H., Paiva, and P.M.G., et al. 2012. "Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringa oleifera* flowers. *Food Chem*. 135(3): 1848–1854.

Vongsak, B., Sithisarn, P. and Gritsanapan, W., 2013. "Bioactive content and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage condition". *Industrail Crops and Products*. 49: 419-421.

Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y. and Gritsanapan, W., et al. 2013. "Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method". *Industrial Crops and Products*. 44: 566–571.

[Online]. Available: http://www.bangkapi.ac.th/MediaOnLine/weerawanWMD/unit5_part13.htm. (09 September, 2014)

[Online]. Available: http://www.who.int/medicinedocs/pdf/whozip57e/whozip57e.pdf. (15 May, 2013)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com. (30 August, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com/คุณค่าทางอาหารและทางยาสมุนไพรของมะรุม. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com/งานวิจัยด้านการป้องกันและการรักษาโรคของมะรุม/. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com/งานวิจัยอื่นๆ จากต่างประเทศ/. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com/พฤกษศาสตร์มะรุม/. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www.marumoil.com/วิธีการสกัดน้ำมันมะรุม/. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www. marumoil.com/มะรุมกับงานวิจัยในประเทศไทย/. (30 August, 2014)

[Online].Available:http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=41 &year=2552. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://www.crdc.kmutt.ac.th/Data%202009/Data/CRDC%203/Journal%20CRDC%203/JC3%20PDF/49-52.pdf. (30 August, 2014)

[Online]. Available: http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC5005029.pdf. (30 August, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ (Total Phenolic)

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยมีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าดูดแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1 Folin-Ciocalteu reagent

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็น

1.3 สารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1 0.1 0.01 และ 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

2.4 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

2.6 นำมาตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับปริมาณกรดแกลลิในหน่วยไมโครกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

3.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครกรัม ใส่ลงใน 96 well plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 10 5 2.5 1.25 0.625 และ 0.3125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

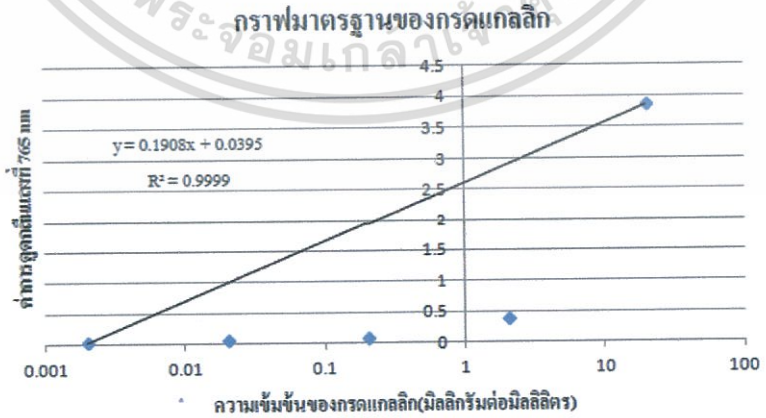
3.4 จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร

3.5 เติม Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

3.6 บ่ม 30 นาที แล้วนำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ตาราง ก-1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

สารสกัดหยาบ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm		
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	0.069	0.066	0.068
	ฝักติดเนื้อ	0.074	0.075	0.073
	เมล็ด	0.078	0.080	0.082
จังหวัดพะเยา	ใบ	0.066	0.068	0.066
	ฝักติดเนื้อ	0.071	0.070	0.071
	เมล็ด	0.077	0.078	0.078
ค่าเฉลี่ย Blank		0.126		



รูปที่ ก-1 ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณ

กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก Y = 0.1908x+0.0395

เมื่อ Y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้

X คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่คำนวณจากกราฟมาตรฐาน หน่วย ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนหน่วยจากไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

Y	=	0.1908x+0.0395
0.057	=	0.1908x+0.0395
x	=	(0.057-0.0395)/0.1908
x	=	0.091

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.002 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณฟีนอลิกในสารสกัด 0.002 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 0.091 ไมโครกรัม ถ้าสารสกัด 1,000 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 45,859 ไมโครกรัม หรือ 45.86 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ก-2 ปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดหยาบส่วน ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

สารสกัดหยาบ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	45.86	53.72	48.48	49.35
	ฝักติดเนื้อ	32.76	30.14	35.38	32.76
	เมล็ด	22.27	17.03	11.79	17.03
จังหวัดพะเยา	ใบ	53.72	48.48	53.72	51.97
	ฝักติดเนื้อ	40.62	43.24	40.62	41.49
	เมล็ด	24.90	22.27	22.27	23.15

4. การวิเคราะห์หาสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

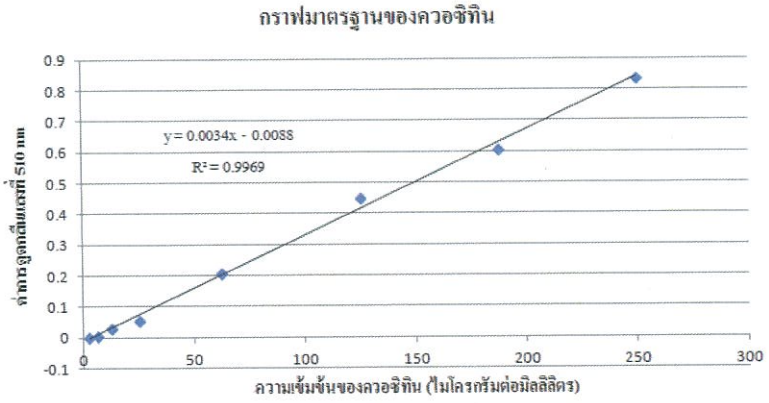
การเตรียมกราฟมาตรฐานควอซิทิน

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ระดับความเข้มข้น 1,000 750 500 250 100 50 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.6.3 แต่ใช้สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซิทินกับค่าดูดกลืนแสงของควอซิทินจะได้สมการเส้นตรง เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่มีในสารสกัด

ตาราง ก-3 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ดของทั้ง 2 จังหวัด

สารสกัดหยาบ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm		
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	0.274	0.274	0.272
	ฝักติดเนื้อ	0.277	0.276	0.278
	เมล็ด	0.295	0.293	0.290
จังหวัดพะเยา	ใบ	0.270	0.273	0.272
	ฝักติดเนื้อ	0.273	0.275	0.277
	เมล็ด	0.291	0.293	0.289
ค่าเฉลี่ย Blank		0.310		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-2 ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของควอซิทิน

วิธีการคำนวณ

กราฟมาตรฐานสารควอซิทิน Y = 0.0034x-0.0088

เมื่อ Y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้

X คือ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่คำนวณจากกราฟมาตรฐาน หน่วย µg/ml

หลังจากนั้นทำการเปลี่ยนหน่วยจาก µg/ml เป็นหน่วย mg/gของสารสกัด

ตัวอย่างการคำนวณ

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานควอซิทิน

Y = 0.0034x-0.0088

0.036 = 0.0034x-0.0088

x = (0.036+0.0088)/0.0034

x = 36.47

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัด 0.25 mg มีปริมาณเนื้อสารของควอซิทินเท่ากับ 36.47 ไมโครกรัม ถ้าสารสกัด 1,000 มิลลิกรัม มีปริมาณเนื้อสารของควอซิทินเท่ากับ 145,882 ไมโครกรัม หรือ 145.88 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ก-4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบส่วน ใบ ฝัก ติดเนื้อ และเมล็ด ของทั้ง 2 จังหวัด

สารสกัดหยาบ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	ใบ	145.88	145.88	148.24	146.67
	ฝักติดเนื้อ	142.35	43.53	141.18	142.35
	เมล็ด	121.18	123.53	127.06	123.92
จังหวัดพะเยา	ใบ	150.59	147.06	148.24	148.63
	ฝักติดเนื้อ	147.06	144.71	142.35	144.71
	เมล็ด	125.88	123.53	128.24	125.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-5 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	.235	.653	-.905	4	.417	-2.62000	2.89652	-10.66203	5.42203
	Equal variances not assumed			-.905	3.723	.420	-2.62000	2.89652	-10.90351	5.66351
pod	Equal variances assumed	.350	.586	-4.930	4	.008	-8.68000	1.76076	-13.56865	-3.79135
	Equal variances not assumed			-4.930	3.261	.013	-8.68000	1.76076	-14.03824	-3.32176
seed	Equal variances assumed	1.723	.260	-1.942	4	.124	-6.11667	3.14977	-14.86184	2.62851
	Equal variances not assumed			-1.942	2.334	.173	-6.11667	3.14977	-17.97202	5.73869

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	Samut	3	49.3533	4.00212	2.31062
	Phayao	3	51.9733	3.02532	1.74667
pod	Samut	3	32.7600	2.62000	1.51266
	Phayao	3	41.4400	1.56090	.90118
seed	Samut	3	17.0300	5.24000	3.02532
	Phayao	3	23.1467	1.51843	.87667

ตารางที่ ก-6 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

Oneway

Descriptives

Total phenol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leafS	3	49.3533	4.00212	2.31062	39.4115	59.2951	45.86	53.72
podS	3	32.7600	2.62000	1.51266	26.2516	39.2684	30.14	35.38
seedS	3	17.0300	5.24000	3.02532	4.0131	30.0469	11.79	22.27
leafP	3	51.9733	3.02532	1.74667	44.4580	59.4886	48.48	53.72
podpP	3	41.4400	1.56090	.90118	37.5625	45.3175	40.46	43.24
seedP	3	23.1467	1.51843	.87667	19.3747	26.9187	22.27	24.90
Total	18	35.9506	13.55659	3.19532	29.2090	42.6921	11.79	53.72

ANOVA

P\Total phenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2995.813	5	599.163	55.967	.000
Within Groups	128.467	12	10.706		
Total	3124.280	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Total phenol

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
seedS	3	17.0300				
seedP	3		23.1467			
podS	3			32.7600		
podp]P	3				41.4400	
leafS	3					49.3533
leafP	3					51.9733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.346

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ก-7 แสดงผลการเปรียบเทียบสารประกอบปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบมะรุมส่วน ใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด

T-Test

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	Samut	3	146.6667	1.36255	.78667
	Phayao	3	148.6300	1.79703	1.03751
pod	Samut	3	142.3533	1.17500	.67839
	Phayao	3	144.8267	2.17735	1.25709
seed	Samut	3	123.8567	2.97517	1.71771
	Phayao	3	125.8833	2.35500	1.35966

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	.228	.658	-1.508	4	.206	-1.96333	1.30203	-5.57834	1.65168
	Equal variances not assumed			-1.508	3.728	.211	-1.96333	1.30203	-5.68462	1.75795
pod	Equal variances assumed	.795	.423	-1.731	4	.158	-2.47333	1.42846	-6.43937	1.49270
	Equal variances not assumed			-1.731	3.074	.180	-2.47333	1.42846	-6.95818	2.01151
seed	Equal variances assumed	.248	.645	-.925	4	.407	-2.02667	2.19071	-8.10906	4.05573
	Equal variances not assumed			-.925	3.800	.410	-2.02667	2.19071	-8.23762	4.18428

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ก-8 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการและพะเยา

Oneway

Descriptives

flavonoid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leafS	3	146.6667	1.36255	.78667	143.2819	150.0514	145.88	148.24
podS	3	142.3533	1.17500	.67839	139.4345	145.2722	141.18	143.53
seedS	3	123.8567	2.97517	1.71771	116.4659	131.2474	121.18	127.06
leafP	3	148.6300	1.79703	1.03751	144.1659	153.0941	147.06	150.59
podP	3	144.8267	2.17735	1.25709	139.4178	150.2355	142.71	147.06
seedP	3	125.8833	2.35500	1.35966	120.0332	131.7335	123.53	128.24
Total	18	138.7028	10.41450	2.45472	133.5238	143.8818	121.18	150.59

ANOVA

phenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1792.641	5	358.528	84.014	.000
Within Groups	51.210	12	4.267		
Total	1843.851	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

flavonoid

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
seedS	3	123.8567		
seedP	3	125.8833		
podS	3		142.3533	
podP	3		144.8267	144.8267
leafS	3			146.6667
leafP	3			148.6300
Sig.		.253	.168	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1.1 ชั่งสารสกัดหยาบส่วนใบ ฝัก และเมล็ดของมะรุม อย่างละ 12 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด eppendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมเอทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสารสกัดหยาบแต่ละส่วนเป็น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2 นำมาเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงทีละครึ่ง (two-fold dilution) จนได้ความเข้มข้นเป็น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

โดยการชั่ง DPPH 0.039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

หมายเหตุ: 1. ควรเตรียมสารละลาย DPPH ทันทีก่อนนำไปใช้

2. คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุล DPPH= 394.33)

$$cv/1000 = g/MW$$

$$g = (cv \times MW)/1000$$

$$= (0.1 \times 100 \times 394.33)/1000$$

$$= 0.39$$

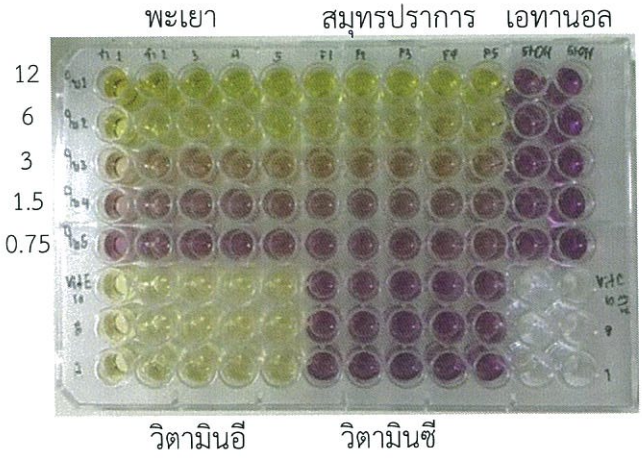
3. การเตรียมสารละลายวิตามินอี (Alpha-tocopherol)

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

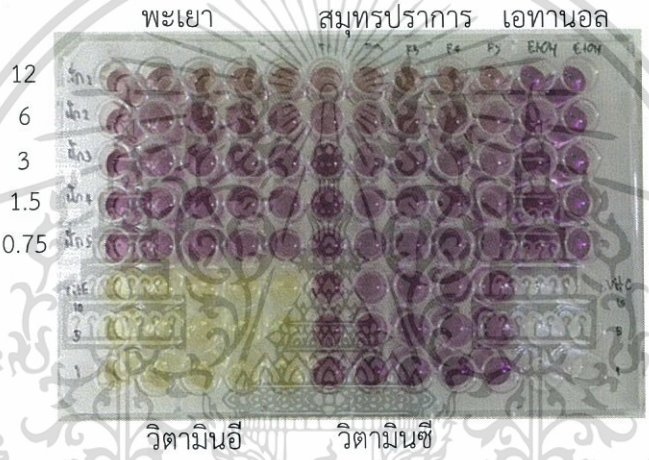
4. การเตรียมสารละลายวิตามินซี

การเตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ L-ascorbic aciderol ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร โดยใช้ Absolute Ethanol เป็นตัวทำละลาย

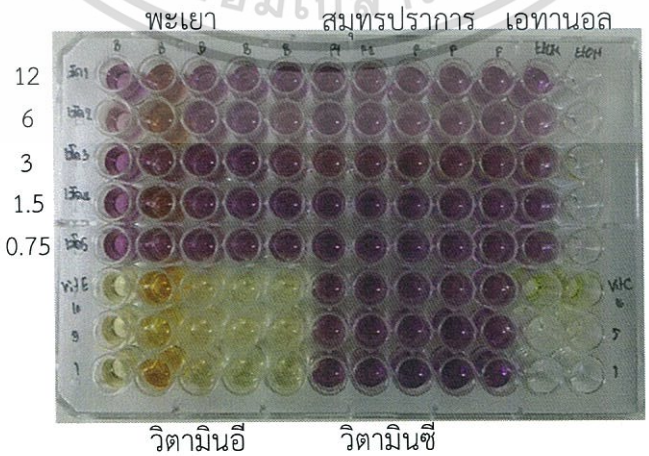
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-1 การเกิดปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของ DPPH ในสารสกัดหยาบส่วนใบ



รูปที่ ข-2 การเกิดปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของ DPPH ในสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อ



รูปที่ ข-3 การเกิดปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระของ DPPH ในสารสกัดหยาบส่วนเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	12	0.101	0.109	0.106
	6	0.153	0.158	0.140
	3	0.277	0.282	0.257
	1.5	0.363	0.369	0.360
	0.75	0.436	0.418	0.412
จังหวัดพะเยา	12	0.090	0.079	0.012
	6	0.091	0.087	0.077
	3	0.267	0.256	0.236
	1.5	0.377	0.387	0.373
	0.75	0.435	0.428	0.420
ค่าเฉลี่ย Blank		0.493		

ตารางที่ ข-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อ ที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	12	0.318	0.315	0.287
	6	0.375	0.389	0.388
	3	0.43	0.446	0.437
	1.5	0.46	0.479	0.455
	0.75	0.467	0.486	0.485
จังหวัดพะเยา	12	0.264	0.287	0.291
	6	0.383	0.387	0.393
	3	0.424	0.443	0.416
	1.5	0.405	0.399	0.447
	0.75	0.422	0.427	0.448
ค่าเฉลี่ย Blank		0.492		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ด ที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	12	0.378	0.374	0.388
	6	0.402	0.410	0.404
	3	0.417	0.426	0.418
	1.5	0.422	0.441	0.434
	0.75	0.45	0.448	0.448
จังหวัดพะเยา	12	0.377	0.347	0.36
	6	0.393	0.392	0.397
	3	0.428	0.425	0.425
	1.5	0.437	0.436	0.423
	0.75	0.444	0.439	0.446
ค่าเฉลี่ย Blank			0.451	

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดหยาบส่วนใบจากสมุทรปราการ ซ้ำที่ 1 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสมการ % DPPH radical = [(A-B)/A] x 100

= [(0.493-0.436)/0.493] x 100

= 79.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-4 แสดงค่าร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	12	79.51	77.89	78.50	78.63
	6	68.97	67.95	71.60	69.51
	3	43.81	42.80	47.87	44.83
	1.5	26.37	25.15	26.98	26.17
	0.75	11.56	15.21	18.46	15.08
จังหวัดพะเยา	12	81.74	83.98	75.66	80.46
	6	81.54	82.35	84.38	82.76
	3	45.84	48.07	52.13	48.68
	1.5	23.53	21.50	24.34	23.12
	0.75	11.76	13.18	14.81	13.25

ตารางที่ ข-5 แสดงค่าร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

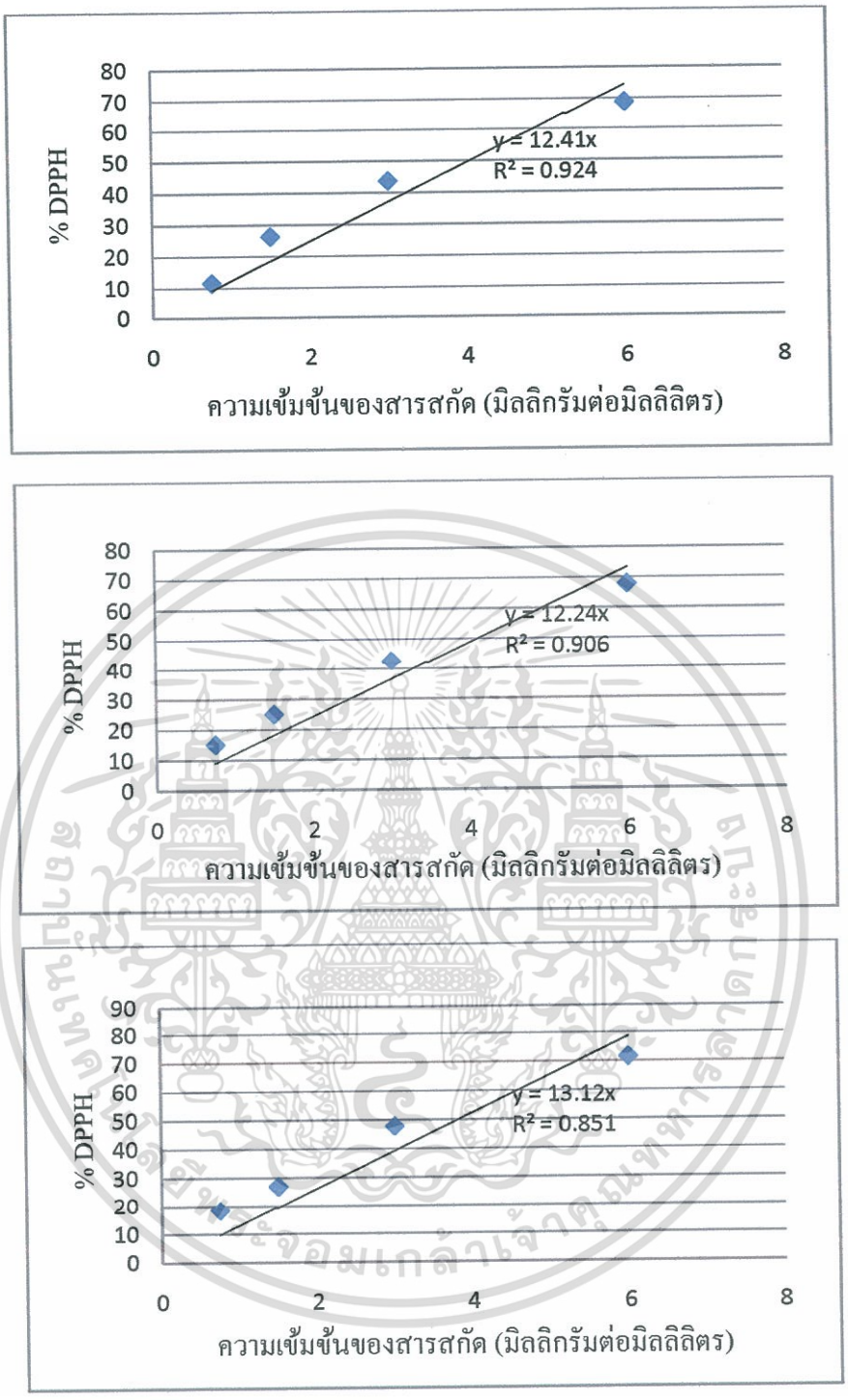
สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	12	35.37	35.98	41.67	37.67
	6	23.78	20.93	21.14	21.95
	3	12.60	9.35	11.18	11.04
	1.5	6.50	2.64	7.52	5.56
	0.75	5.08	1.22	1.42	2.57
จังหวัดพะเยา	12	46.34	41.67	40.85	42.95
	6	22.15	21.34	20.12	21.21
	3	17.68	18.90	9.15	15.24
	1.5	13.82	14.23	15.45	14.50
	0.75	9.96	13.21	8.94	10.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-6 แสดงค่าร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดที่ความเข้มข้น 1.5 3 6 และ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

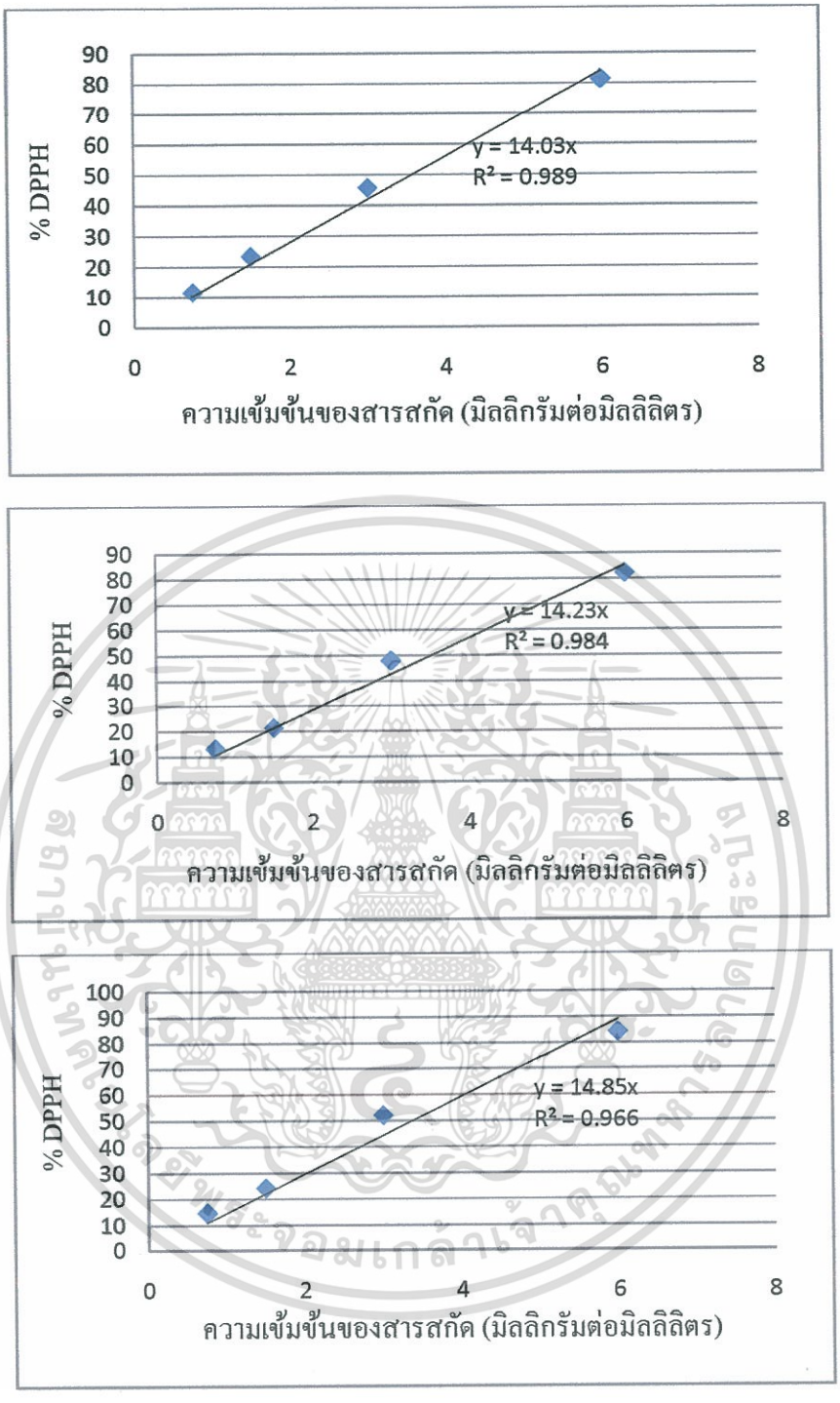
สารสกัดหยาบส่วนเมล็ด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	12	16.19	17.07	13.97	15.74
	6	10.86	9.09	10.42	10.13
	3	7.54	5.54	7.32	6.80
	1.5	6.43	2.22	3.77	4.14
	0.75	0.22	0.67	0.67	0.52
จังหวัดพะเยา	12	16.41	23.06	20.18	19.88
	6	12.86	13.08	11.97	12.64
	3	5.10	5.76	5.76	5.54
	1.5	3.10	3.33	6.21	4.21
	0.75	1.55	2.66	1.11	1.77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



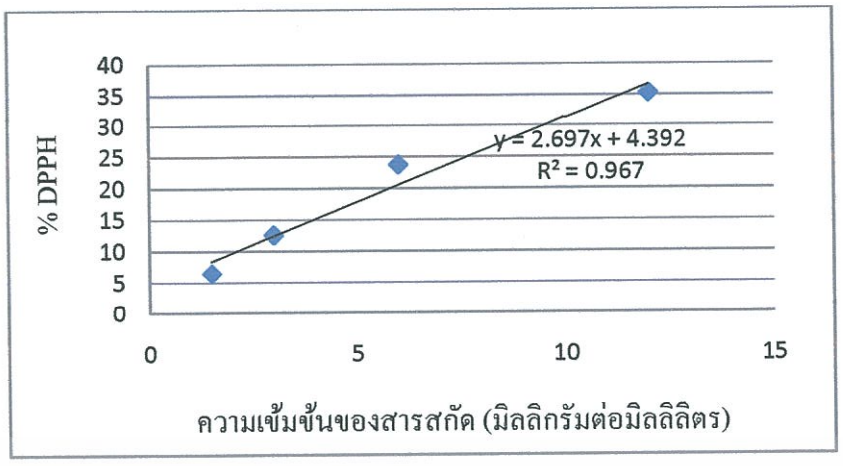
รูปที่ ข-4 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนใบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

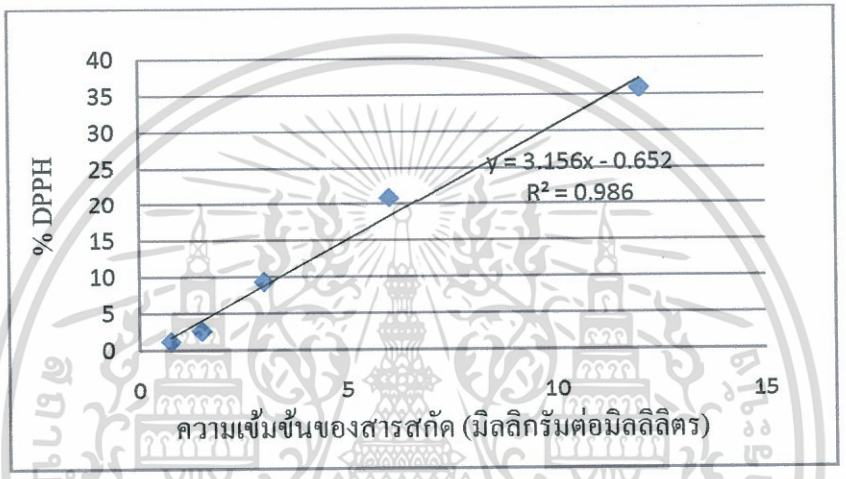
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

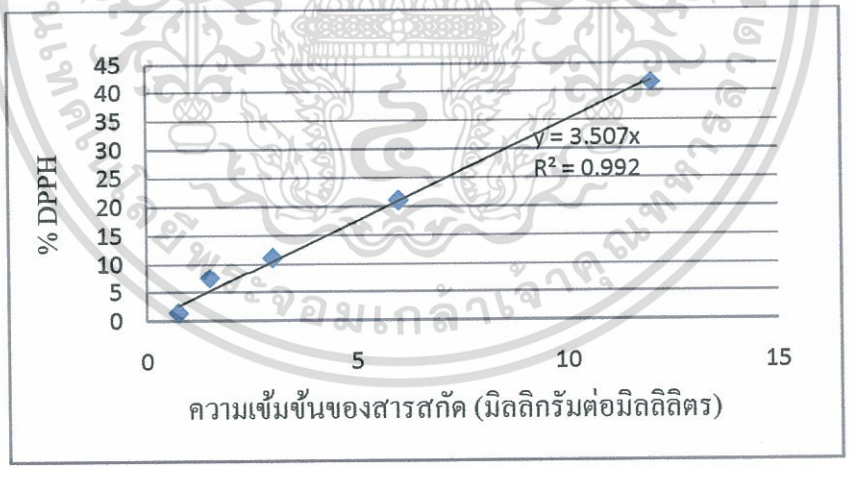


รูปที่ ข-5 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนใบมะรุมจากจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

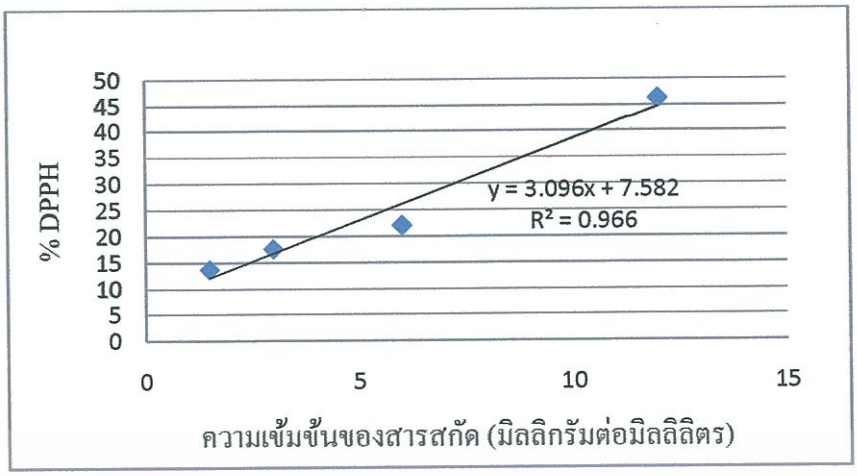


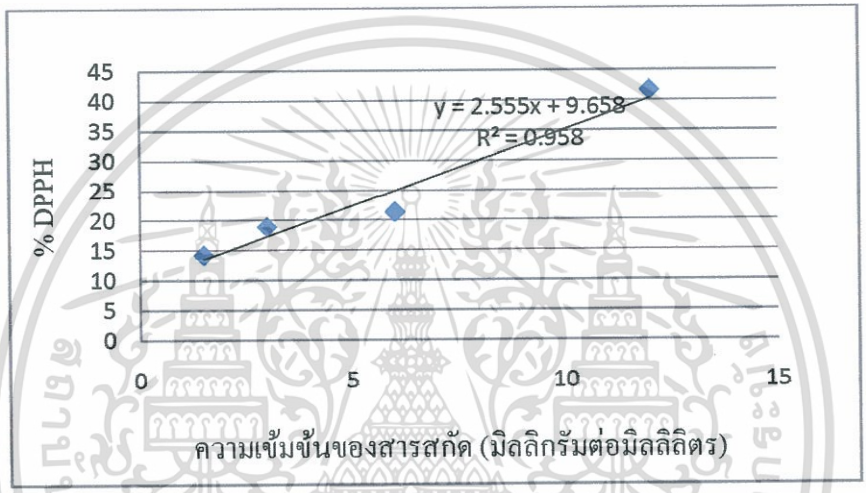


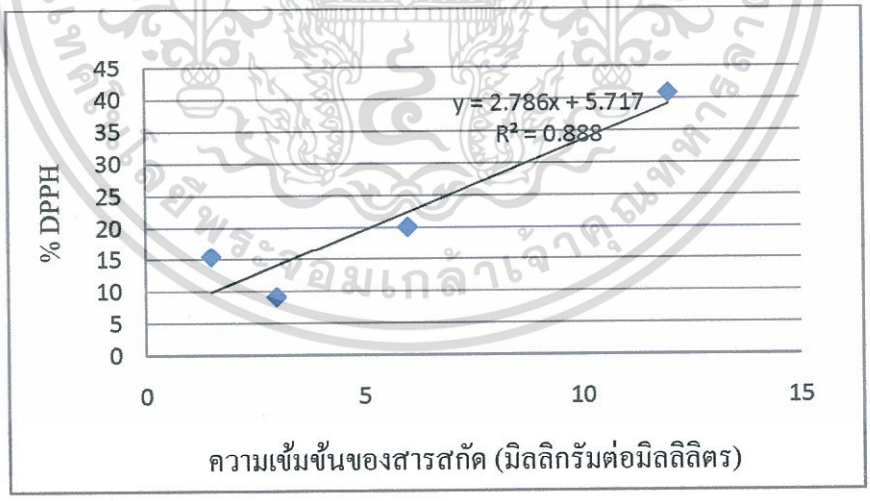


รูปที่ ข-6 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

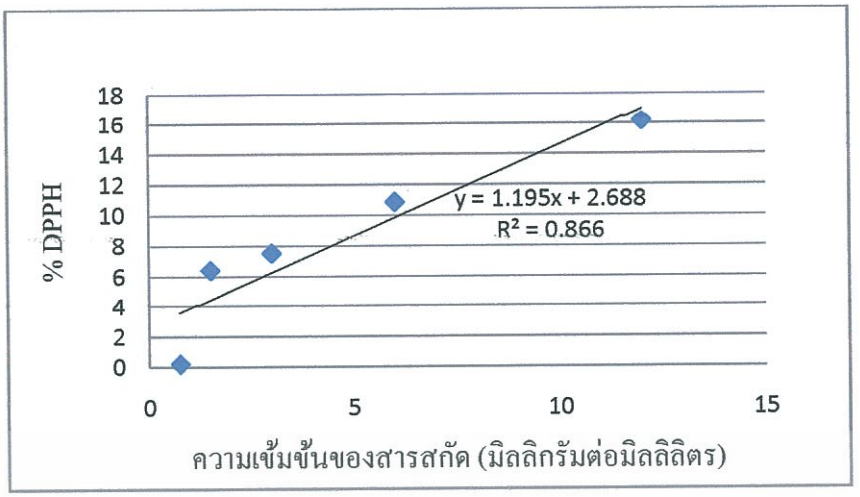


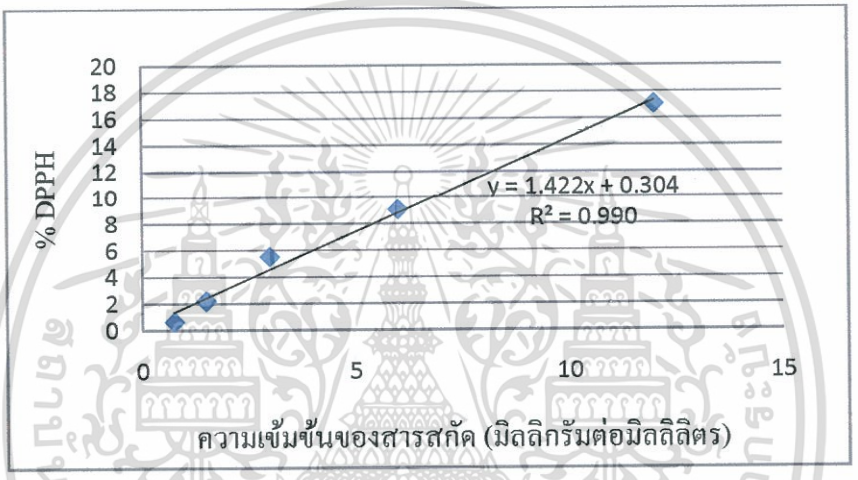


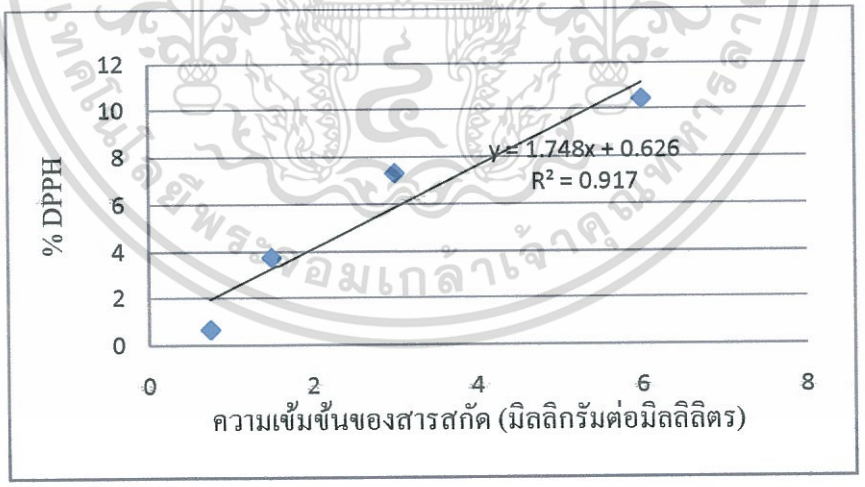


รูปที่ ข-7 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อมะรุมจากจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

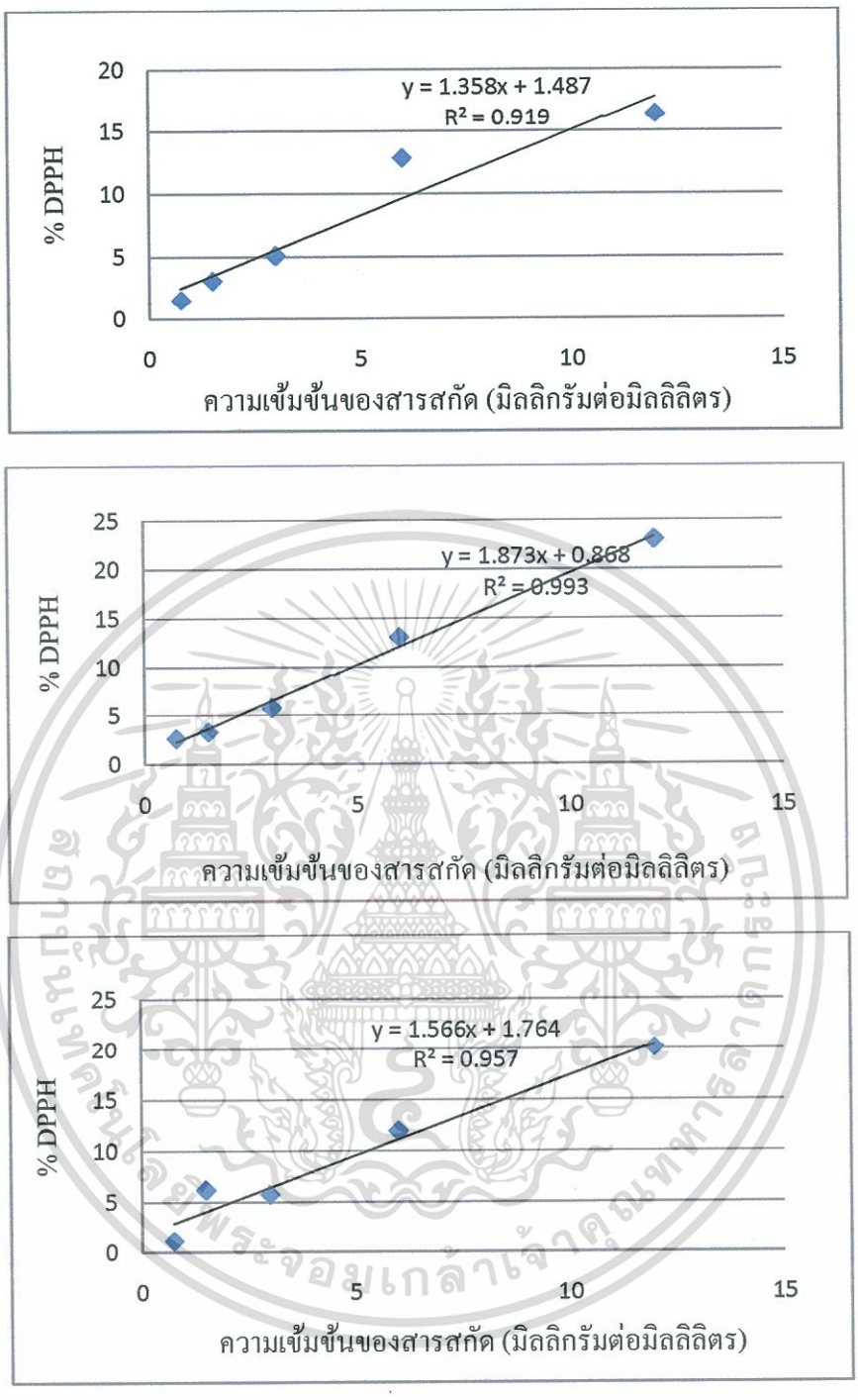






รูปที่ ข-8 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-9 กราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดมะรุมจากจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

จากกราฟแสดงค่ามาตรฐานต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบส่วนใบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ ซ้ำที่ 1

จากสมการ $y = 9.895x + 10.12$

คำนวณหาค่า x โดยแทนค่า y = 50 ดังนี้

$x = (y-10.12)/9.895$

$= (50-10.12)/9.895$

$= 4.030$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-7 แสดงผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนของมะรุม และแต่ละความเข้มข้นที่ทำการทดลอง

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	.785	.383	-.291	28	.773	-2.92200	10.03736	-23.48260	17.63860
	Equal variances not assumed			-.291	27.353	.773	-2.92200	10.03736	-23.50454	17.66054
hull	Equal variances assumed	.697	.411	-1.104	28	.279	-5.16200	4.67578	-14.73991	4.41591
	Equal variances not assumed			-1.104	27.750	.279	-5.16200	4.67578	-14.74380	4.41980
seed	Equal variances assumed	1.802	.190	-.584	28	.564	-1.34400	2.29979	-6.05491	3.36691
	Equal variances not assumed			-.584	26.525	.564	-1.34400	2.29979	-6.06674	3.37874
12	Equal variances assumed	5.032	.035	1.035	22	.312	13.82800	13.36061	-13.88021	41.53621
	Equal variances not assumed			.931	12.165	.370	13.82800	14.85337	-18.48623	46.14223

Independent Samples Test (ต่อ)

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
6	Equal variances assumed	3.169	.089	.429	22	.672	6.25022	14.57830	-23.98332	36.48376
	Equal variances not assumed			.397	13.257	.698	6.25022	15.75860	-27.72724	40.22769
3	Equal variances assumed	26.045	.000	-.574	22	.572	-7.17356	12.50646	-33.11036	18.76325
	Equal variances not assumed			-.478	9.851	.643	-7.17356	14.99390	-40.65067	26.30355
1.5	Equal variances assumed	58.449	.000	-1.515	22	.144	-17.23467	11.37596	-40.82697	6.35764
	Equal variances not assumed			-1.187	8.470	.268	-17.23467	14.52409	-50.40639	15.93706
0.75	Equal variances assumed	76.137	.000	-2.023	22	.055	-22.81200	11.27372	-46.19225	.56825
	Equal variances not assumed			-1.562	8.202	.156	-22.81200	14.60717	-56.35256	10.72856

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	smutprakan	15	46.8507	25.28619	6.52887
	phayao	15	49.7727	29.52690	7.62381
hull	smutprakan	15	15.7587	13.39952	3.45974
	phayao	15	20.9207	12.18183	3.14533
seed	smutprakan	15	7.4653	5.50581	1.42160
	phayao	15	8.8093	7.00155	1.80779
twen	smutprakan	15	51.1013	25.97091	6.70566
	phayao	9	37.2733	39.76066	13.25355
six	smutprakan	15	41.1080	30.25288	7.81126
	phayao	9	34.8578	41.05922	13.68641
three	smutprakan	15	25.3187	18.55985	4.79213
	phayao	9	32.4922	42.62243	14.20748
one	smutprakan	15	14.8153	9.47801	2.44721
	phayao	9	32.0500	42.94931	14.31644
zero	smutprakan	15	8.4247	6.30395	1.62767
	phayao	9	31.2367	43.54861	14.51620

ตารางที่ ข-8 ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH) ของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12 6 3 1.5 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

DPPH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-12	3	78.6767	.81101	.46824	76.6620	80.6913	77.89	79.51
leaf-S-6	3	69.5067	1.88325	1.08730	64.8284	74.1849	67.95	71.60
leaf-S-3	3	44.8267	2.68355	1.54935	38.1604	51.4930	42.80	47.87
leaf-S-1.5	3	26.1667	.93179	.53797	23.8520	28.4814	25.15	26.98
leaf-S-0.75	3	15.0767	3.45193	1.99297	6.5016	23.6517	11.56	18.46
pod-S-12	3	37.6733	3.47463	2.00608	29.0419	46.3048	35.37	41.67
pod-S-6	3	21.9500	1.58830	.91701	18.0044	25.8956	20.93	23.78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives (ต่อ)

DPPH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pod-S-3	3	11.0433	1.62930	.94068	6.9959	15.0908	9.35	12.60
pod-S-1.5	3	5.5533	2.57405	1.48613	-.8410	11.9476	2.64	7.52
pod-S-0.75	3	2.5733	2.17314	1.25466	-2.8250	7.9717	1.22	5.08
seed-S-12	3	15.7433	1.59754	.92234	11.7748	19.7118	13.97	17.07
seed-S-6	3	10.1233	.92154	.53205	7.8341	12.4126	9.09	10.86
seed-S-3	3	6.8000	1.09672	.63319	4.0756	9.5244	5.54	7.54
seed-S-1.5	3	4.1400	2.12925	1.22932	-1.1493	9.4293	2.22	6.43
seed-S-0.75	3	.5200	.25981	.15000	-.1254	1.1654	.22	.67
leaf-P-12	3	80.4600	4.30516	2.48559	69.7654	91.1546	75.66	83.98
leaf-P-6	3	82.7567	1.46302	.84468	79.1223	86.3910	81.54	84.38
leaf-P-3	3	48.6800	3.18906	1.84120	40.7579	56.6021	45.84	52.13
leaf-P-1.5	3	23.7167	2.04505	1.18071	18.6365	28.7969	21.50	25.53
leaf-P-0.75	3	13.2500	1.52620	.88115	9.4587	17.0413	11.76	14.81
pod-P-12	3	42.9533	2.96146	1.70980	35.5967	50.3100	40.85	46.34
pod-P-6	3	21.2033	1.02188	.58998	18.6648	23.7418	20.12	22.15
pod-P-3	3	15.2433	5.31212	3.06695	2.0473	28.4394	9.15	18.90
pod-P-1.5	3	14.5000	.84788	.48952	12.3938	16.6062	13.82	15.45
pod-P-0.75	3	10.7033	2.22994	1.28746	5.1639	16.2428	8.94	13.21
seed-P-12	3	19.8833	3.33491	1.92541	11.5990	28.1677	16.41	23.06
seed-P-6	3	12.6367	.58774	.33933	11.1767	14.0967	11.97	13.08
seed-P-3	3	5.5400	.38105	.22000	4.5934	6.4866	5.10	5.76
seed-P-1.5	3	4.2133	1.73298	1.00054	-.0916	8.5183	3.10	6.21
seed-P-0.75	3	1.7733	.79877	.46117	-.2109	3.7576	1.11	2.66
VitE	3	89.2933	.23671	.13667	88.7053	89.8814	89.02	89.43
VitC	3	2.6433	.93179	.53797	.3286	4.9580	1.83	3.66
Total	96	26.2445	26.56757	2.71154	20.8614	31.6276	.22	89.43

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66735.880	31	2152.770	432.574	.000
Within Groups	318.506	64	4.977		
Total	67054.386	95			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ

Duncan[a]

conS	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.75	3	.5200					
VitC	3		2.6433				
1.5	3		4.1400				
3	3			6.8000			
6	3				10.1233		
12	3					15.7433	
VitE	3						89.2933
Sig.		1.000	.150	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

conS	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
VitC	3	2.6433					
0.75	3		13.2500				
1.5	3			23.7167			
3	3				48.6800		
12	3					80.4600	
6	3					82.7567	
VitE	3						89.2933
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.249	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

conS	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
VitC	3	2.6433				
0.75	3		10.7033			
1.5	3		14.5000			
3	3		15.2433			
6	3			21.2033		
12	3				42.9533	
VitE	3					89.2933
Sig.		1.000	.054	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

conS	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.75	3	1.7733				
VitC	3	2.6433				
1.5	3	4.2133	4.2133			
3	3		5.5400			
6	3			12.6367		
12	3				19.8833	
VitE	3					89.2933
Sig.		.082	.303	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan[a]

crude	N	1	14	15	16	17
seed-S-0.75	3	.5200				
seed-P-0.75	3	1.7733				
pod-S-0.75	3	2.5733				
VitC	3	2.6433				
seed-S-1.5	3	4.1400				
seed-P-1.5	3	4.2133				
seed-P-3	3					
pod-S-1.5	3					
seed-S-3	3					
seed-S-6	3					
pod-P-0.75	3					
pod-S-3	3					
seed-P-6	3					
leaf-P-0.75	3					
pod-P-1.5	3					
leaf-S-0.75	3					
pod-P-3	3					
seed-S-12	3					
seed-P-12	3					
pod-P-6	3					
pod-S-6	3					
leaf-P-1.5	3					
leaf-S-1.5	3					
pod-S-12	3					
pod-P-12	3					
leaf-S-3	3					
leaf-P-3	3		00			
leaf-S-6	3			69.5067		
leaf-S-12	3				78.6767	
leaf-P-12	3				80.4600	80.4600
leaf-P-6	3					82.7567
VitE	3					89.2933
Sig.		.079	00	1.000	.331	.212	1.000

Means for groups in homogeneo

a. Uses Harmonic Mean Sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-8 ผลค่า IC_{50} ในการดักจับอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนของมะรุม และแต่ละความเข้มข้นที่ทำการทดลอง

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	.846	.410	4.906	4	.008	.49333	.10055	.21415	.77252
	Equal variances not assumed			4.906	3.540	.011	.49333	.10055	.19925	.78742
pod	Equal variances assumed	.040	.852	2.290	4	.084	1.84333	.80481	-.39118	4.07785
	Equal variances not assumed			2.290	3.990	.084	1.84333	.80481	-.39347	4.08013
seed	Equal variances assumed	.195	.681	.792	4	.473	2.54333	3.21184	-6.37417	11.46083
	Equal variances not assumed			.792	3.921	.474	2.54333	3.21184	-6.44572	11.53239

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	Samut	3	3.9733	.14364	.08293
	Phayao	3	3.4800	.09849	.05686
pod	Samut	3	15.3567	1.01046	.58339
	Phayao	3	13.5133	.96028	.55442
seed	Samut	3	31.1767	4.20406	2.42722
	Phayao	3	28.6333	3.64330	2.10346

ตารางที่ ข-8 ผลการเปรียบเทียบค่า IC_{50} ในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 จังหวัด

Oneway

Descriptives

IC50

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leafS	3	3.9733	.14364	.08293	3.6165	4.3302	3.81	4.08
podS	3	15.3567	1.01046	.58339	12.8465	17.8668	14.26	16.25
seedS	3	31.1767	4.20406	2.42722	20.7332	41.6201	26.39	34.27
leafP	3	3.4800	.09849	.05686	3.2353	3.7247	3.37	3.56
podP	3	13.5133	.96028	.55442	11.1279	15.8988	12.54	14.46
seedP	3	28.6333	3.64330	2.10346	19.5829	37.6838	25.28	32.51
Total	18	16.0222	11.27098	2.65660	10.4173	21.6272	3.37	34.27

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2093.754	5	418.751	76.319	.000
Within Groups	65.843	12	5.487		
Total	2159.596	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

IC50

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
leafP	3	3.4800		
leafS	3	3.9733		
podP	3		13.5133	
podS	3		15.3567	
seedP	3			28.6333
seedS	3			31.1767
Sig.		.801	.354	.208

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร Nutrient agar medium (NA)

Nutrient broth	8.0	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย Nutrient broth ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ให้ได้ 6.8-7 ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร นำไปผสมวุ้นแล้วต้มจนละลาย เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

2. สูตรอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA)

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

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

ปรับ pH 7.3 ± 0.2

เตรียมโดยทำการชั่งอาหาร 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารละลายมาตรฐาน McFarland No.5 (CLSI, 2006)

0.048 M $BaCl_2$	0.5	มิลลิลิตร
0.18 M H_2SO_4	99.5	มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน McFarland No.0.5 สามารถเตรียมได้โดยใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมโดยการเติมน้ำใส่ขวดปรับปริมาตรเล็กน้อยประมาณ 20-30 มิลลิลิตรจากนั้นปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไปปริมาตร 1 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. แบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมโดยชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1.00 กรัม ละลายในน้ำประมาตร 20-30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. นำทั้งสองสารที่เตรียมไว้มาผสมกัน โดย McFarland นั้นจะต้องเตรียมใส่หลอดแก้วฝาเกลียว

หมายเหตุ: McFarland ที่เตรียมเสร็จแล้วให้พันหลอดฝาเกลียวด้วยพาราฟิล์ม เก็บให้พ้นแสง หากเก็บไว้นานแบเรียมคลอไรด์จะตกตะกอน ก่อนใช้ควรนำมาเขย่าก่อน และเมื่อนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้เท่ากับ 0.08-0.13 สามารถเก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะรุมจากทั้ง 2 จังหวัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B.cereus	Equal variances assumed	.023	.886	8.023	4	.001	2.70000	.33655	1.76558	3.63442
	Equal variances not assumed			8.023	3.969	.001	2.70000	.33655	1.76270	3.63730
E.coli	Equal variances assumed	2.306	.204	16.908	4	.000	.90000	.05323	.75221	1.04779
	Equal variances not assumed			16.908	2.197	.002	.90000	.05323	.68957	1.11043
S.typhi	Equal variances assumed	.299	.614	6.072	4	.004	4.08667	.67299	2.21816	5.95518
	Equal variances not assumed			6.072	3.801	.004	4.08667	.67299	2.17903	5.99430
Y.entero	Equal variances assumed	6.988	.057	-.701	4	.522	-.54000	.77056	-2.67940	1.59940
	Equal variances not assumed			-.701	2.373	.546	-.54000	.77056	-3.40269	2.32269

Group Statistics

	Marum	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
B.cereus	leafS	3	14.8000	.39357	.22723
	podS	3	12.1000	.43000	.24826
E.coli	leafS	3	8.2000	.02000	.01155
	podS	3	7.3000	.09000	.05196
P.aer	leafS	3	6.0000	.00000[a]	.00000
	podS	3	6.0000	.00000[a]	.00000
S.typhi	leafS	3	12.5367	.91358	.52746
	podS	3	8.4500	.72395	.41797
Y.entero	leafS	3	6.7367	1.27594	.73667
	podS	3	7.2767	.39145	.22600

a. t cannot be computed because the standard deviations of both groups are 0.

ตารางที่ ค-2 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-B	3	14.8000	.39357	.22723	13.8223	15.7777	14.52	15.25
leaf-S-E	3	8.2000	.02000	.01155	8.1503	8.2497	8.18	8.22
leaf-S-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-S-S	3	12.5367	.91358	.52746	10.2672	14.8061	11.51	13.26
leaf-S-Y	3	6.7367	1.27594	.73667	3.5670	9.9063	6.00	8.21
pod-S-B	3	12.1000	.43000	.24826	11.0318	13.1682	11.62	12.45
pod-S-E	3	7.3000	.09000	.05196	7.0764	7.5236	7.21	7.39
pod-S-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-S-S	3	8.4500	.72395	.41797	6.6516	10.2484	7.84	9.25
pod-S-Y	3	7.2767	.39145	.22600	6.3043	8.2491	6.83	7.56
seed-S-B	3	15.7400	.42226	.24379	14.6911	16.7889	15.28	16.11
seed-S-E	3	6.8000	.14000	.08083	6.4522	7.1478	6.66	6.94
seed-S-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives (ต่อ)

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
seed-S-S	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-Y	3	7.0800	.19287	.11136	6.6009	7.5591	6.86	7.22
leaf-P-B	3	15.8000	.09849	.05686	15.5553	16.0447	15.72	15.91
leaf-P-E	3	9.4500	.12530	.07234	9.1387	9.7613	9.33	9.58
leaf-P-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-P-S	3	7.6400	.08000	.04619	7.4413	7.8387	7.56	7.72
leaf-P-Y	3	8.0533	.38004	.21942	7.1093	8.9974	7.62	8.33
pod-P-B	3	12.2000	.21000	.12124	11.6783	12.7217	12.05	12.44
pod-P-E	3	9.2000	1.68199	.97110	5.0217	13.3783	8.15	11.14
pod-P-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-P-S	3	7.5667	.47258	.27285	6.3927	8.7406	7.20	8.10
pod-P-Y	3	9.1600	.83624	.48280	7.0827	11.2373	8.47	10.09
seed-P-B	3	14.5100	.08888	.05132	14.2892	14.7308	14.41	14.58
seed-P-E	3	8.3100	.10536	.06083	8.0483	8.5717	8.21	8.42
seed-P-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-P-S	3	7.5600	.14933	.08622	7.1890	7.9310	7.39	7.67
seed-P-Y	3	9.3300	.61000	.35218	7.8147	10.8453	8.72	9.94
Gen-B	3	18.6800	.13748	.07937	18.3385	19.0215	18.53	18.80
Gen-E	3	12.2100	.09849	.05686	11.9653	12.4547	12.13	12.32
Gen-P	3	8.2300	.11358	.06557	7.9479	8.5121	8.10	8.31
Gen-S	3	14.8800	.14000	.08083	14.5322	15.2278	14.72	14.98
Gen-Y	3	13.0000	.12000	.06928	12.7019	13.2981	12.88	13.12
EtOH-B	3	7.0200	.09165	.05292	6.7923	7.2477	6.94	7.12
EtOH-E	3	6.6400	.08185	.04726	6.4367	6.8433	6.55	6.71
EtOH-P	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
EtOH-S	3	6.6600	.12767	.07371	6.3428	6.9772	6.55	6.80
EtOH-Y	3	6.9000	.15000	.08660	6.5274	7.2726	6.75	7.05
Total	120	9.2005	3.42987	.31310	8.5805	9.8205	6.00	18.80

ANOVA

inhibition

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1383.436	39	35.473	172.234	.000
Within Groups	16.477	80	.206		
Total	1399.913	119			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

B. cereus

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
EtOH	3	7.0200				
podS	3		12.1000			
podP	3		12.2000			
seedP	3			14.5100		
leafS	3			14.8000		
seedS	3				15.7400	
leafP	3				15.8000	
Gen	3					18.6800
Sig.		1.000	.663	.216	.793	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

E. coli

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
EtOH	3	6.6400				
seedS	3	6.8000				
podS	3	7.3000	7.3000			
leafS	3		8.2000	8.2000		
seedP	3		8.3100	8.3100		
podP	3			9.2000	9.2000	
leafP	3				9.4500	
Gen	3					12.2100
Sig.		.221	.068	.071	.618	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

P. aeruginosa

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
leafS	3	6.0000	
podS	3	6.0000	
seedS	3	6.0000	
leafP	3	6.0000	
podP	3	6.0000	
seedP	3	6.0000	
EtOH	3	6.0000	
Gen	3		8.2300
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

S. typhimurium

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
seedS	3	6.0000				
EtOH	3	6.6600				
seedP	3		7.5600			
podP	3		7.5667			
leafP	3		7.6400			
podS	3			8.4500		
leafS	3				12.5367	
Gen	3					14.8800
Sig.		.094	.841	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Y.enterocolitica

Duncan[a]

Marum	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
leafS	3	6.7367			
EtOH	3	6.9000	6.9000		
seedS	3	7.0800	7.0800		
podS	3	7.2767	7.2767		
leafP	3		8.0533		
podP	3			9.1600	
seedP	3			9.3300	
Gen	3				13.0000
Sig.		.341	.051	.741	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibition

Duncan[a]

crude	N	Subset for alpha = 0.05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
leaf-S-P	3	6.0000													
pod-S-P	3	6.0000													
seed-S-P	3	6.0000													
seed-S-S	3	6.0000													
leaf-P-P	3	6.0000													
pod-P-P	3	6.0000													
seed-P-P	3	6.0000													
EtOH-P	3	6.0000													
EtOH-E	3	6.6400	6.6400												
EtOH-S	3	6.6600	6.6600												
leaf-S-Y	3	6.7367	6.7367	6.7367											
seed-S-E	3	6.8000	6.8000	6.8000	6.8000										
EtOH-Y	3		6.9000	6.9000	6.9000										
EtOH-B	3		7.0200	7.0200	7.0200										
seed-S-Y	3		7.0800	7.0800	7.0800										
pod-S-Y	3		7.2767	7.2767	7.2767	7.2767									
pod-S-E	3		7.3000	7.3000	7.3000	7.3000									
seed-P-S	3			7.5600	7.5600	7.5600	7.5600								
pod-P-S	3			7.5667	7.5667	7.5667	7.5667								
leaf-P-S	3				7.6400	7.6400	7.6400	7.6400							
leaf-P-Y	3					8.0533	8.0533	8.0533							
leaf-S-E	3						8.2000	8.2000							
Gen-P	3						8.2300	8.2300							
seed-P-E	3						8.3100	8.3100							
pod-S-S	3							8.4500	8.4500						
pod-P-Y	3								9.1600	9.1600					
pod-P-E	3								9.2000	9.2000					
seed-P-Y	3									9.3300					
leaf-P-E	3									9.4500					
pod-S-B	3										12.1000				
pod-P-B	3										12.2000	12.2000			
Gen-E	3										12.2100	12.2100			
leaf-S-S	3										12.5367	12.5367			
Gen-Y	3											13.0000			
seed-P-B	3												14.5100		
leaf-S-B	3												14.8000		
Gen-S	3												14.8800		
seed-S-B	3													15.7400	
leaf-P-B	3													15.8000	
Gen-B	3														18.6800
Sig.		.076	.138	.060	.057	.069	.084	.057	.058	.483	.290	.050	.352	.872	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-50	3	14.8000	.39357	.22723	13.8223	15.7777	14.52	15.25
leaf-S-25	3	10.4100	.13454	.07767	10.0758	10.7442	10.26	10.52
leaf-S-12.5	3	11.1600	.09644	.05568	10.9204	11.3996	11.05	11.23
pod-S-50	3	12.1000	.43000	.24826	11.0318	13.1682	11.62	12.45
pod-S-25	3	10.5800	.07000	.04041	10.4061	10.7539	10.53	10.66
pod-S-12.5	3	8.7200	.08718	.05033	8.5034	8.9366	8.66	8.82
seed-S-50	3	15.7400	.42226	.24379	14.6911	16.7889	15.28	16.11
seed-S-25	3	13.0400	.14799	.08544	12.6724	13.4076	12.87	13.14
seed-S-12.5	3	10.4000	.23643	.13650	9.8127	10.9873	10.23	10.67
leaf-P-50	3	15.8000	.09849	.05686	15.5553	16.0447	15.72	15.91
leaf-P-25	3	12.7600	.06557	.03786	12.5971	12.9229	12.69	12.82
leaf-P-12.5	3	9.1100	.07211	.04163	8.9309	9.2891	9.03	9.17
pod-P-50	3	12.2000	.21000	.12124	11.6783	12.7217	12.05	12.44
pod-P-25	3	10.5400	.06083	.03512	10.3889	10.6911	10.50	10.61
pod-P-12.5	3	10.0500	.15716	.09074	9.6596	10.4404	9.87	10.16
seed-P-50	3	14.5100	.08888	.05132	14.2892	14.7308	14.41	14.58
seed-P-25	3	10.2600	.08185	.04726	10.0567	10.4633	10.17	10.33
seed-P-12.5	3	9.1600	.07211	.04163	8.9809	9.3391	9.10	9.24
Gen	3	18.6800	.13748	.07937	18.3385	19.0215	18.53	18.80
EtOH	3	7.0200	.09165	.05292	6.7923	7.2477	6.94	7.12
Total	60	11.8520	2.83195	.36560	11.1204	12.5836	6.94	18.80

ANOVA

inhibition

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	471.629	19	24.823	640.913	.000
Within Groups	1.549	40	.039		
Total	473.178	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

%Cytotoxic

Duncan[a]

cytotoxic	N	Subset for alpha = 0.05																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
seed-S-1	3	7.5233																	
seed-P-1	3	10.2133																	
pod-S-1	3		17.9167																
seed-S-10	3		19.1767																
seed-P-10	3			24.3733															
pod-P-1	3			25.7367	25.7367														
pod-S-10	3			26.3033	26.3033														
seed-S-100	3			27.4200	27.4200	27.4200													
pod-S-100	3			28.0033	28.0033	28.0033	28.0033												
seed-S-1000	3				30.2867	30.2867	30.2867												
pod-P-10	3					31.8567	31.8567	31.8567											
seed-P-100	3						32.2567	32.2567											
pod-P-100	3							35.1433											
pod-P-1000	3								39.9100										
seed-S-10000	3								40.3200										
seed-P-1000	3								43.9033	43.9033									
pod-S-1000	3									44.9000									
leaf-P-1	3									47.3533	47.3533								
seed-P-10000	3										50.8967	50.8967							
pod-S-10000	3											53.2867	53.2867						
leaf-S-1	3												55.4333	55.4333					
leaf-S-10	3													58.5000	58.5000				
pod-P-10000	3													59.1800	59.1800				
leaf-P-10	3														60.3533				
leaf-S-100	3														60.5367				
leaf-S-1000	3															66.1133			
leaf-P-100	3															69.6400	69.6400		
leaf-P-1000	3																72.7933	72.7933	
leaf-S-10000	3																	76.6967	76.6967
leaf-P-10000	3																		80.0367
Sig.		.208	.553	.132	.058	.058	.070	.147	.078	.128	.099	.263	.314	.099	.388	.100	.141	.070	.119

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-4 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-50	3	8.2000	.02000	.01155	8.1503	8.2497	8.18	8.22
leaf-S-25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-S-50	3	7.3000	.09000	.05196	7.0764	7.5236	7.21	7.39
pod-S-25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-50	3	6.8000	.14000	.08083	6.4522	7.1478	6.66	6.94
seed-S-25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-P-50	3	9.4500	.12530	.07234	9.1387	9.7613	9.33	9.58
leaf-P-25	3	7.2000	.21656	.12503	6.6620	7.7380	6.97	7.40
leaf-P-12.5	3	6.4300	.14107	.08145	6.0796	6.7804	6.30	6.58
pod-P-50	3	9.2000	1.68199	.97110	5.0217	13.3783	8.15	11.14
pod-P-25	3	7.4600	.07937	.04583	7.2628	7.6572	7.40	7.55
pod-P-12.5	3	6.6600	.07211	.04163	6.4809	6.8391	6.58	6.72
seed-P-50	3	8.3100	.10536	.06083	8.0483	8.5717	8.21	8.42
seed-P-25	3	6.6600	.09644	.05568	6.4204	6.8996	6.55	6.73
seed-P-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gen	3	12.2100	.09849	.05686	11.9653	12.4547	12.13	12.32
EtOH	3	6.6400	.08185	.04726	6.4367	6.8433	6.55	6.71
Total	60	7.2260	1.59736	.20622	6.8134	7.6386	6.00	12.32

ANOVA

inhibition

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	144.565	19	7.609	50.928	.000
Within Groups	5.976	40	.149		
Total	150.541	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

inhibition

Duncan[a]

crude	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
leaf-S-25	3	6.0000						
leaf-S-12.5	3	6.0000						
pod-S-25	3	6.0000						
pod-S-12.5	3	6.0000						
seed-S-25	3	6.0000						
seed-S-12.5	3	6.0000						
seed-P-12.5	3	6.0000						
leaf-P-12.5	3	6.4300	6.4300					
EtOH	3	6.6400	6.6400	6.6400				
pod-P-12.5	3	6.6600	6.6600	6.6600				
seed-P-25	3	6.6600	6.6600	6.6600				
seed-S-50	3		6.8000	6.8000	6.8000			
leaf-P-25	3			7.2000	7.2000			
pod-S-50	3			7.3000	7.3000			
pod-P-25	3				7.4600			
leaf-S-50	3					8.2000		
seed-P-50	3					8.3100		
pod-P-50	3						9.2000	
leaf-P-50	3						9.4500	
Gen	3							12.2100
Sig.		.085	.305	.072	.062	.729	.433	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-5 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-50	3	12.5367	.91358	.52746	10.2672	14.8061	11.51	13.26
leaf-S-25	3	7.4667	.09866	.05696	7.2216	7.7117	7.40	7.58
leaf-S-12.5	3	6.6167	.57292	.33077	5.1935	8.0399	6.08	7.22
pod-S-50	3	8.4500	.72395	.41797	6.6516	10.2484	7.84	9.25
pod-S-25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-P-50	3	7.6400	.08000	.04619	7.4413	7.8387	7.56	7.72
leaf-P-25	3	7.2500	.07550	.04359	7.0625	7.4375	7.18	7.33
leaf-P-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-P-50	3	7.6400	.08000	.04619	7.4413	7.8387	7.56	7.72
pod-P-25	3	7.0867	.10066	.05812	6.8366	7.3367	6.98	7.18
pod-P-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-P-50	3	7.5600	.14933	.08622	7.1890	7.9310	7.39	7.67
seed-P-25	3	6.6100	.09849	.05686	6.3653	6.8547	6.53	6.72
seed-P-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gen	3	14.8800	.14000	.08083	14.5322	15.2278	14.72	14.98
EtOH	3	6.6600	.12767	.07371	6.3428	6.9772	6.55	6.80
Total	60	7.4198	2.28136	.29452	6.8305	8.0092	6.00	14.98

ANOVA

inhibition

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	303.485	19	15.973	178.146	.000
Within Groups	3.586	40	.090		
Total	307.071	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

inhibition

Duncan[a]

crude	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
pod-S-25	3	6.0000					
pod-S-12.5	3	6.0000					
seed-S-50	3	6.0000					
seed-S-25	3	6.0000					
seed-S-12.5	3	6.0000					
leaf-P-12.5	3	6.0000					
pod-P-12.5	3	6.0000					
seed-P-12.5	3	6.0000					
seed-P-25	3		6.6100				
leaf-S-12.5	3		6.6167				
EtOH	3		6.6600				
pod-P-25	3		7.0867	7.0867			
leaf-P-25	3			7.2500			
leaf-S-25	3			7.4667			
seed-P-50	3			7.5600			
leaf-P-50	3			7.6400			
pod-P-50	3			7.6400			
pod-S-50	3				8.4500		
leaf-S-50	3					12.5367	
Gen	3						14.8800
Sig.		1.000	.081	.052	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-6 ผลการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

inhibition

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-50	3	6.7367	1.27594	.73667	3.5670	9.9063	6.00	8.21
leaf-S-25	3	6.6300	.04359	.02517	6.5217	6.7383	6.60	6.68
leaf-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
pod-S-50	3	7.2767	.39145	.22600	6.3043	8.2491	6.83	7.56
pod-S-25	3	6.2100	.05292	.03055	6.0786	6.3414	6.15	6.25
pod-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
seed-S-50	3	7.0800	.19287	.11136	6.6009	7.5591	6.86	7.22
seed-S-25	3	6.2800	.06557	.03786	6.1171	6.4429	6.21	6.34
seed-S-12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
leaf-P-50	3	8.0533	.38004	.21942	7.1093	8.9974	7.62	8.33
leaf-P-25	3	7.2600	.45398	.26211	6.1322	8.3878	6.75	7.62
leaf-P-12.5	3	6.5933	.53799	.31061	5.2569	7.9298	6.22	7.21
pod-P-50	3	9.1600	.83624	.48280	7.0827	11.2373	8.47	10.09
pod-P-25	3	6.6300	.17349	.10017	6.1990	7.0610	6.48	6.82
pod-P-12.5	3	6.2900	.04359	.02517	6.1817	6.3983	6.24	6.32
seed-P-50	3	9.3300	.61000	.35218	7.8147	10.8453	8.72	9.94
seed-P-25	3	7.7333	.41429	.23919	6.7042	8.7625	7.26	8.03
seed-P-12.5	3	6.4700	.12288	.07095	6.1647	6.7753	6.33	6.56
Gen	3	13.0000	.12000	.06928	12.7019	13.2981	12.88	13.12
EtOH	3	6.9000	.15000	.08660	6.5274	7.2726	6.75	7.05
Total	60	7.2817	1.66134	.21448	6.8525	7.7108	6.00	13.12

ANOVA

inhibition

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	155.255	19	8.171	43.070	.000
Within Groups	7.589	40	.190		
Total	162.844	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

inhibition

Duncan[a]

crude	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
leaf-S-12.5	3	6.0000							
pod-S-12.5	3	6.0000							
seed-S-12.5	3	6.0000							
pod-S-25	3	6.2100	6.2100						
seed-S-25	3	6.2800	6.2800	6.2800					
pod-P-12.5	3	6.2900	6.2900	6.2900					
seed-P-12.5	3	6.4700	6.4700	6.4700	6.4700				
leaf-P-12.5	3	6.5933	6.5933	6.5933	6.5933				
leaf-S-25	3	6.6300	6.6300	6.6300	6.6300				
pod-P-25	3	6.6300	6.6300	6.6300	6.6300				
leaf-S-50	3	6.7367	6.7367	6.7367	6.7367				
EtOH	3		6.9000	6.9000	6.9000				
seed-S-50	3			7.0800	7.0800	7.0800			
leaf-P-25	3				7.2600	7.2600			
pod-S-50	3				7.2767	7.2767			
seed-P-25	3					7.7333	7.7333		
leaf-P-50	3						8.0533		
pod-P-50	3							9.1600	
seed-P-50	3							9.3300	
Gen	3								13.0000
Sig.		.088	.106	.061	.059	.100	.374	.635	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยใช้เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela cell)

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) ที่มี $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

โดยนำอาหาร DMEMมี $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตรแล้วปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8-7.0 จากนั้นนำมากรองผ่าน Membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน เพื่อทำการฆ่าเชื้อ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียม Phosphate Buffer Solution (PBS) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

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

นำสารเคมีที่ทำการเตรียมไว้ใส่ลงในบีกเกอร์และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตรใช้แท่งแก้วให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมไปทำการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งให้เย็น แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเตรียมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ชั่งสาร MTT ปริมาตร 100 มิลลิกรัมละลายด้วย 1%PBS ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	0.076	0.163	0.167
	1000	0.122	0.149	0.142
	100	0.144	0.148	0.133
	10	0.156	0.115	0.128
	1	0.15	0.094	0.081
จังหวัดพะเยา	10000	0.075	0.069	0.071
	1000	0.091	0.189	0.183
	100	0.109	0.139	0.143
	10	0.145	0.116	0.102
	1	0.195	0.103	0.099
control		0.359		

ตารางที่ ง-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	0.113	0.126	0.121
	1000	0.185	0.172	0.173
	100	0.193	0.188	0.191
	10	0.21	0.194	0.197
	1	0.213	0.228	0.214
จังหวัดพะเยา	10000	0.075	0.069	0.183
	1000	0.091	0.103	0.143
	100	0.109	0.116	0.102
	10	0.145	0.139	0.099
	1	0.195	0.189	0.071
control		0.359		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ด	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	0.111	0.119	0.103
	1000	0.122	0.135	0.132
	100	0.135	0.136	0.134
	10	0.156	0.148	0.147
	1	0.179	0.166	0.171
จังหวัดพะเยา	10000	0.092	0.171	0.164
	1000	0.094	0.138	0.14
	100	0.123	0.122	0.133
	10	0.144	0.107	0.112
	1	0.166	0.094	0.088
control		0.186		

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ ซ้ำที่ 1 ที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสมการ % Cytotoxicity = [(A-B/A)] x 100

= [(0.359-0.076)/ 0.359] x 100

= 78.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 แสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	78.83	73.82	77.44	76.69
	1000	66.02	67.97	64.35	66.11
	100	59.89	58.77	62.95	60.54
	10	56.55	58.50	60.45	58.50
	1	58.22	54.60	53.48	55.43
จังหวัดพะเยา	10000	79.11	80.78	80.22	80.04
	1000	74.65	71.31	72.42	72.79
	100	69.64	67.69	71.59	69.64
	10	59.61	61.28	60.17	60.35
	1	45.68	47.35	49.03	47.35

ตารางที่ ง-5 แสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

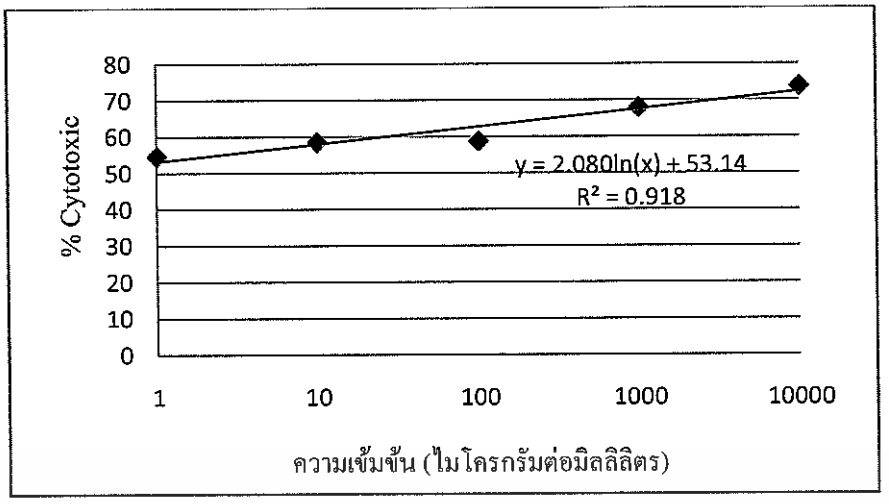
สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	53.06	53.74	53.06	53.29
	1000	43.20	49.32	42.18	44.90
	100	26.87	25.85	31.29	28.00
	10	22.45	25.85	30.61	26.30
	1	18.71	17.35	17.69	17.91
จังหวัดพะเยา	10000	61.56	57.14	58.84	59.18
	1000	37.07	41.50	41.16	39.91
	100	34.35	36.05	35.03	35.15
	10	28.57	34.01	32.99	31.86
	1	27.55	22.45	27.21	25.74

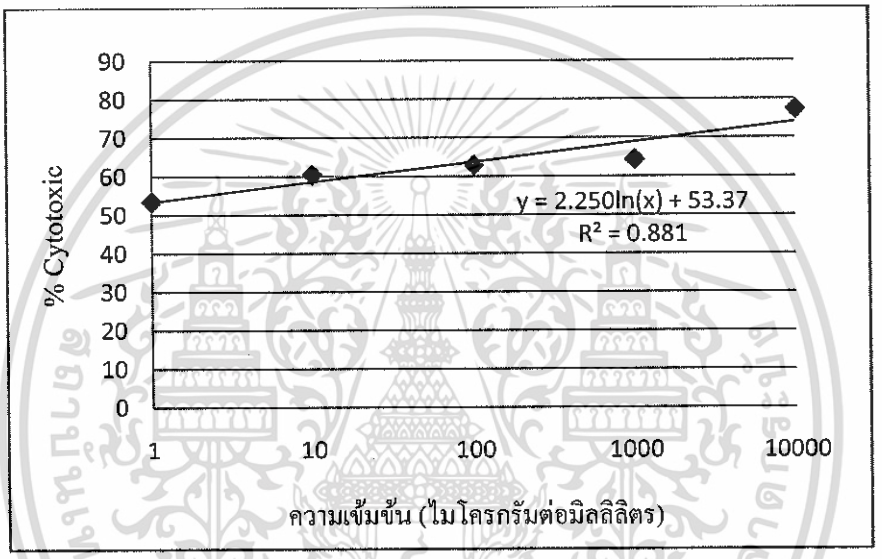
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 แสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดหยาบส่วนใบ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
จังหวัดสมุทรปราการ	10000	40.32	36.02	44.62	40.32
	1000	34.41	27.42	29. 03	30.29
	100	27.42	26.88	27.96	27.42
	10	16.13	20.43	20.97	19.18
	1	3.76	10.75	8.06	7.53
จังหวัดพะเยา	10000	50.54	49.46	52.69	50.90
	1000	49.46	42.47	39.78	43.91
	100	33.87	34.41	28.49	32.26
	10	22.58	25.81	24.73	24.37
	1	10.75	8.06	11.83	10.22

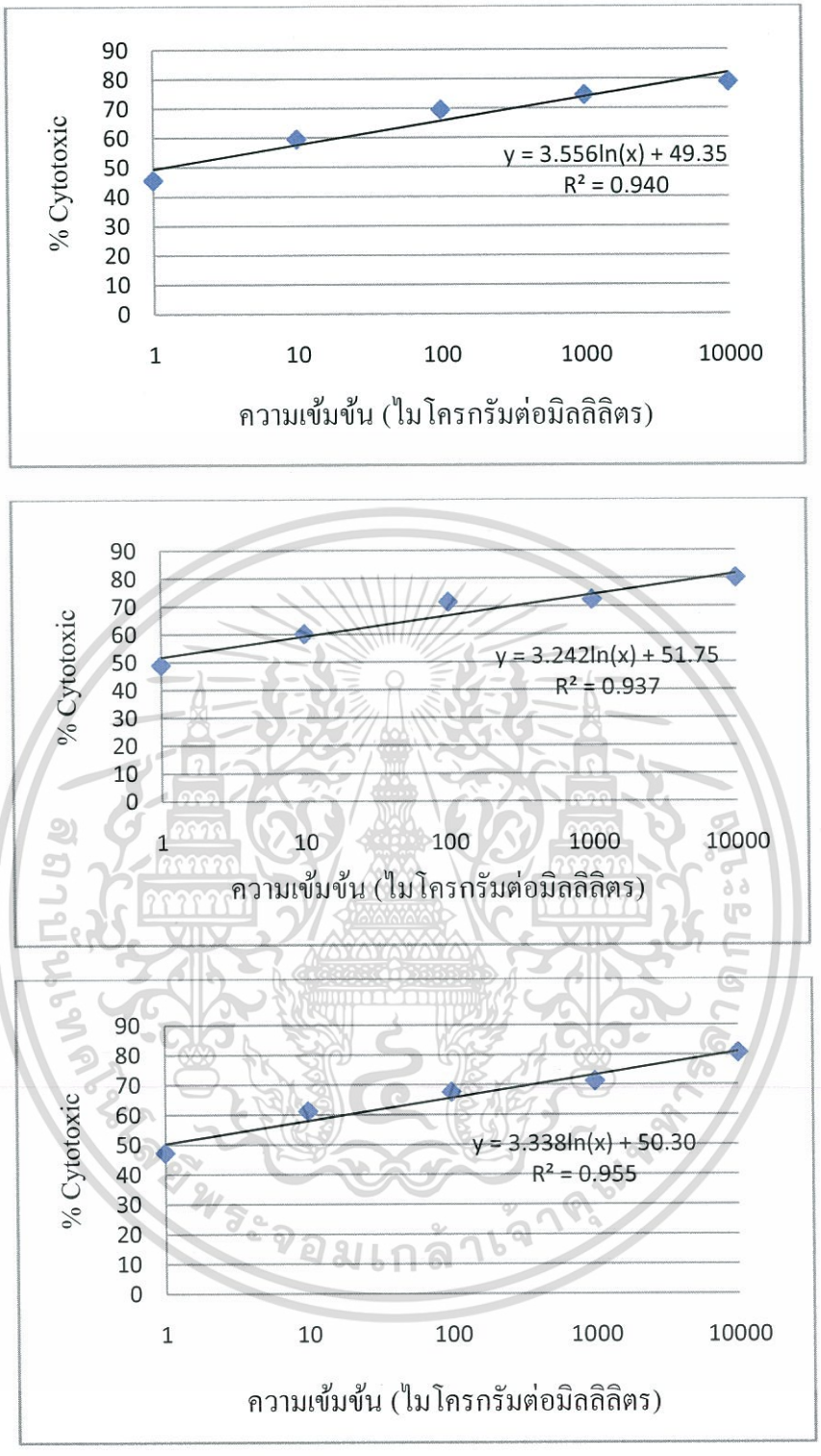
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





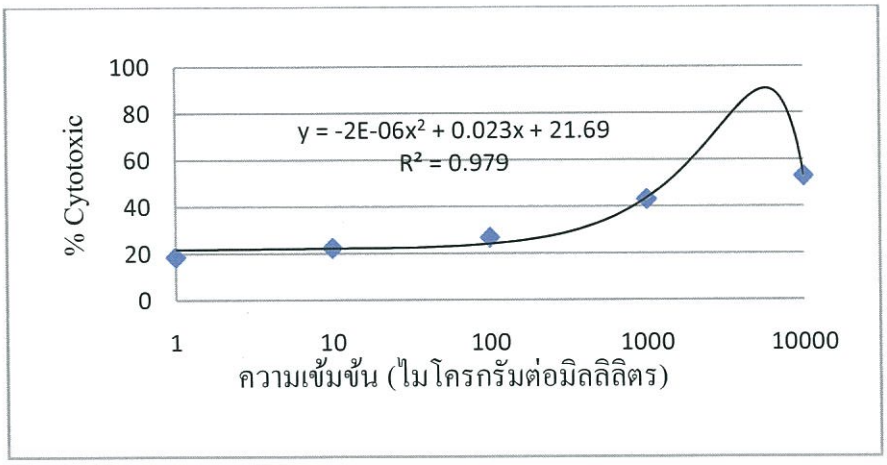
รูปที่ ง-1 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนใบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

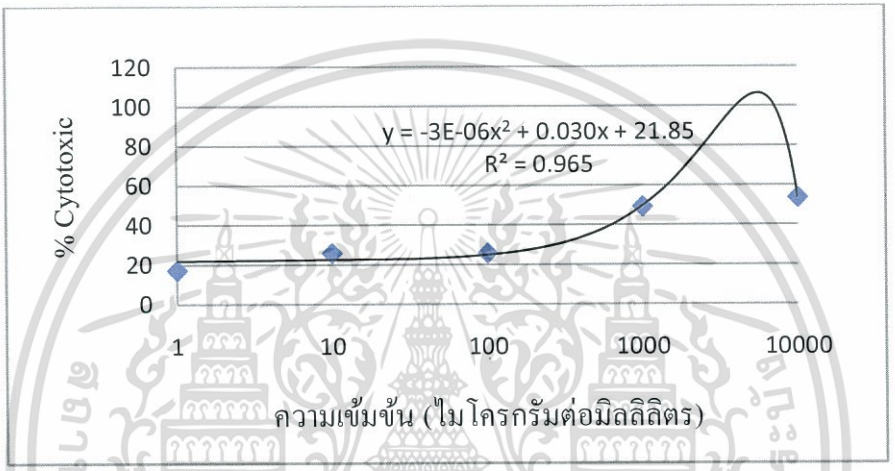
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

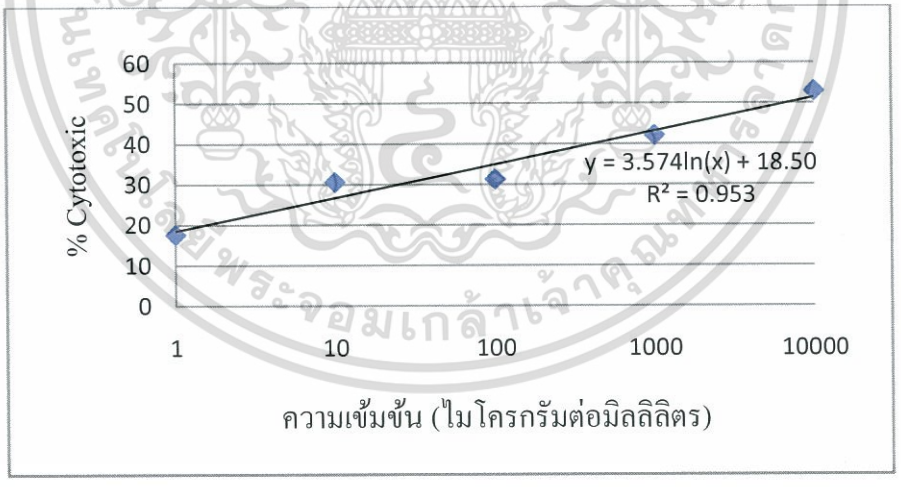


รูปที่ ง-2 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนใบมะรุมจากจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

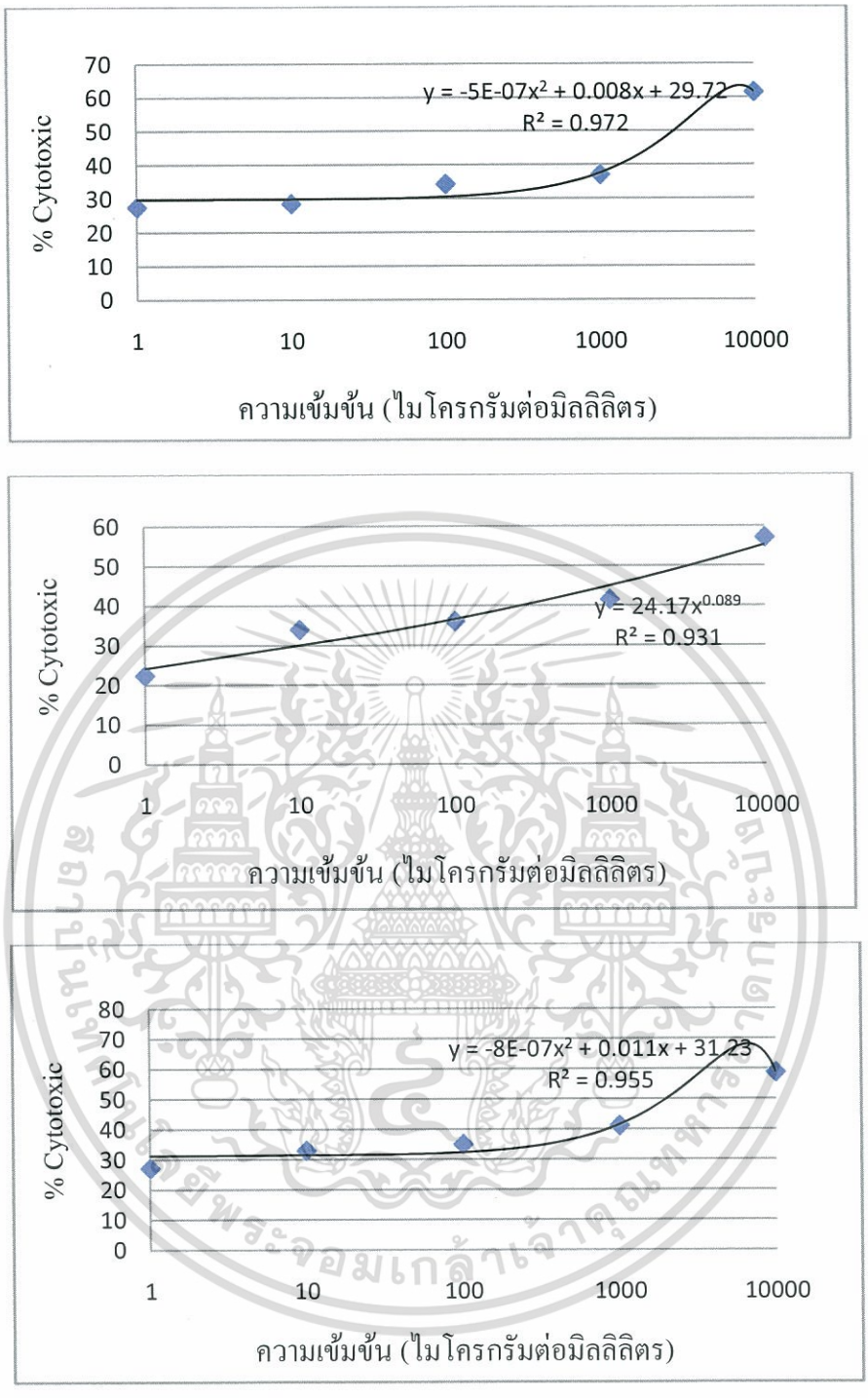






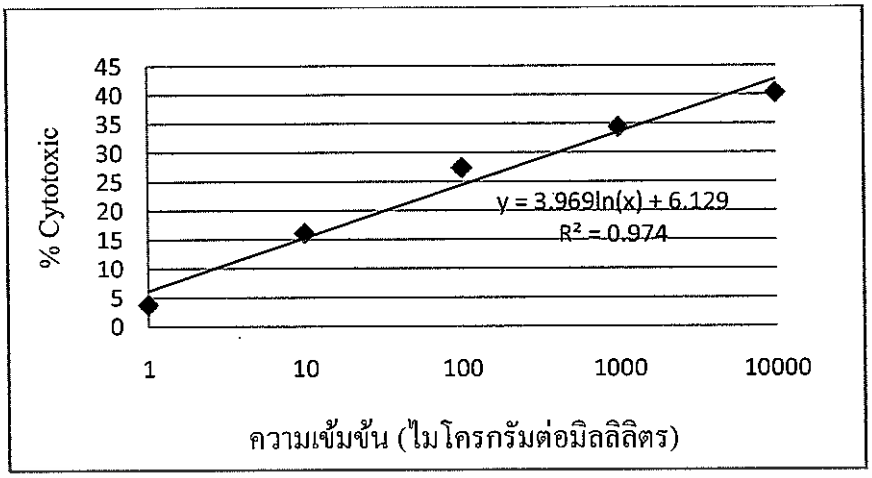
รูปที่ ง-3 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

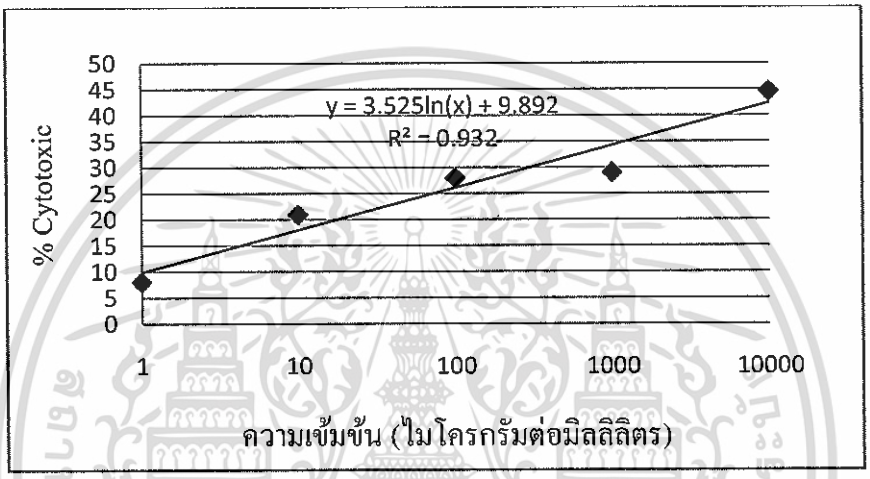
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-4 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อมะรุมจากจังหวัดพะเยา

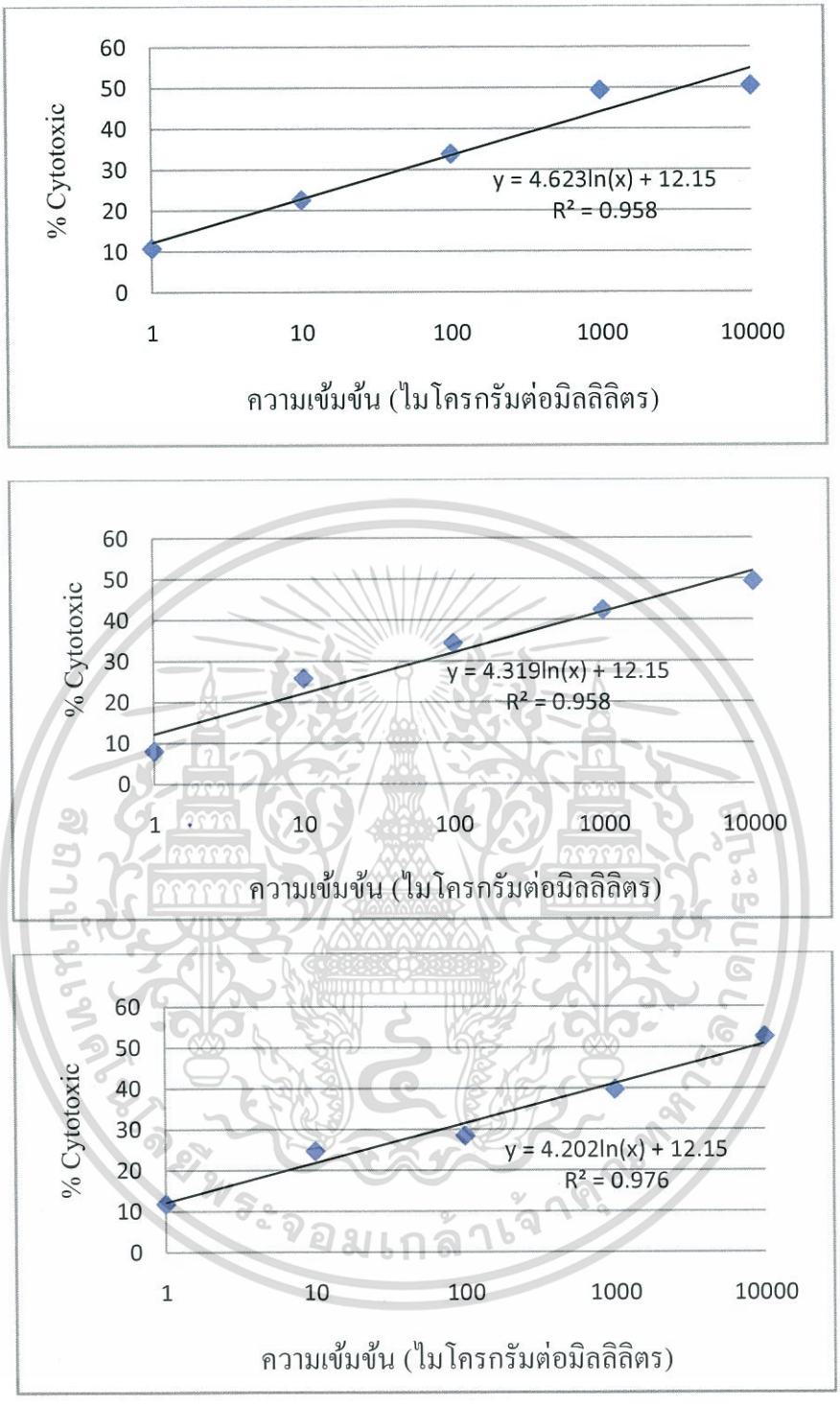
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ ง-5 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-6 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดมะรุมจากจังหวัดพะเยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-7 ผลการเปรียบเทียบค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดหยาบมะรุมจากจังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดพะเยา

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	3.059	.091	-.704	28	.487	-2.57933	3.66357	-10.08381	4.92515
	Equal variances not assumed			-.704	24.638	.488	-2.57933	3.66357	-10.13023	4.97156
hull	Equal variances assumed	1.458	.237	-.914	28	.369	-4.28333	4.68812	-13.88650	5.31984
	Equal variances not assumed			-.914	27.511	.369	-4.28333	4.68812	-13.89419	5.32753
seed	Equal variances assumed	1.532	.226	-1.497	28	.146	-7.38333	4.93283	-17.48778	2.72111
	Equal variances not assumed			-1.497	26.404	.146	-7.38333	4.93283	-17.51537	2.74870

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	smutprakan	15	63.4560	7.96717	2.05711
	phayao	15	66.0353	11.74097	3.03150
hull	smutprakan	15	34.0820	13.66782	3.52902
	phayao	15	38.3653	11.95270	3.08617
seed	smutprakan	15	24.9453	11.73154	3.02907
	phayao	15	32.3287	15.07857	3.89327

ตารางที่ ง-8 ผลการเปรียบเทียบค่าร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ (% Cytotoxic) ของสารสกัดยาบมะรุมที่ความเข้มข้น 10,000 1,000 100 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Oneway

Descriptives

%cytotoxic

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-S-10000	3	76.6967	2.58639	1.49326	70.2717	83.1216	73.82	78.83
leaf-S-1000	3	66.1133	1.81180	1.04605	61.6126	70.6141	64.35	67.97
leaf-S-100	3	60.5367	2.16373	1.24923	55.1617	65.9117	58.77	62.95
leaf-S-10	3	58.5000	1.95000	1.12583	53.6559	63.3441	56.55	60.45
leaf-S-1	3	55.4333	2.47744	1.43035	49.2790	61.5876	53.48	58.22
pod-S-10000	3	53.2867	.39260	.22667	52.3114	54.2619	53.06	53.74
pod-S-1000	3	44.9000	3.86166	2.22953	35.3071	54.4929	42.18	49.32
pod-S-100	3	28.0033	2.89167	1.66950	20.8200	35.1866	25.85	31.29
pod-S-10	3	26.3033	4.09885	2.36647	16.1212	36.4854	22.45	30.61
pod-S-1	3	17.9167	.70777	.40863	16.1585	19.6749	17.35	18.71
seed-S-10000	3	40.3200	4.30000	2.48261	29.6382	51.0018	36.02	44.62
seed-S-1000	3	30.2867	3.66052	2.11340	21.1934	39.3799	27.42	34.41
seed-S-100	3	27.4200	.54000	.31177	26.0786	28.7614	26.88	27.96
seed-S-10	3	19.1767	2.65227	1.53129	12.5881	25.7653	16.13	20.97
seed-S-1	3	7.5233	3.52577	2.03560	-1.2352	16.2818	3.76	10.75
leaf-P-10000	3	80.0367	.84996	.49073	77.9252	82.1481	79.11	80.78
leaf-P-1000	3	72.7933	1.70101	.98208	68.5678	77.0189	71.31	74.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives (ต่อ)

%cytotoxic

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf-P-100	3	69.6400	1.95000	1.12583	64.7959	74.4841	67.69	71.59
leaf-P-10	3	60.3533	.84996	.49073	58.2419	62.4648	59.61	61.28
leaf-P-1	3	47.3533	1.67500	.96706	43.1924	51.5143	45.68	49.03
pod-P-10000	3	59.1800	2.22953	1.28722	53.6415	64.7185	57.14	61.56
pod-P-1000	3	39.9100	2.46538	1.42339	33.7857	46.0343	37.07	41.50
pod-P-100	3	35.1433	.85565	.49401	33.0178	37.2689	34.35	36.05
pod-P-10	3	31.8567	2.89167	1.66950	24.6734	39.0400	28.57	34.01
pod-P-1	3	25.7367	2.85141	1.64626	18.6534	32.8200	22.45	27.55
seed-P-10000	3	50.8967	1.64427	.94932	46.8121	54.9813	49.46	52.69
seed-P-1000	3	43.9033	4.99664	2.88481	31.4910	56.3157	39.78	49.46
seed-P-100	3	32.2567	3.27318	1.88977	24.1256	40.3877	28.49	34.41
seed-P-10	3	24.3733	1.64427	.94932	20.2887	28.4579	22.58	25.81
seed-P-1	3	10.2133	1.94145	1.12090	5.3905	15.0362	8.06	11.83
Total	90	43.2021	19.79935	2.08703	39.0552	47.3490	3.76	80.78

ANOVA

crude

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34487.162	29	1189.212	177.453	.000
Within Groups	402.094	60	6.702		
Total	34889.256	89			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดสมุทรปราการ

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1	3	55.4333			
10	3	58.5000	58.5000		
100	3		60.5367		
1000	3			66.1133	
10000	3				76.6967
Sig.		.121	.287	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดสมุทรปราการ

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1	3	17.9167			
10	3		26.3033		
100	3		28.0033		
1000	3			44.9000	
10000	3				53.2867
Sig.		1.000	.482	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดสมุทรปราการ

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1	3	7.5233			
10	3		19.1767		
100	3			27.4200	
1000	3			30.2867	
10000	3				40.3200
Sig.		1.000	1.000	.300	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

สารสกัดหยาบส่วนใบจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1	3	47.3533				
10	3		60.3533			
100	3			69.6400		
1000	3				72.7933	
10000	3					80.0367
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

สารสกัดหยาบส่วนฝักติดเนื้อจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1	3	25.7367			
10	3		31.8567		
100	3		35.1433		
1000	3			39.9100	
10000	3				59.1800
Sig.		1.000	.121	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบส่วนเมล็ดจากจังหวัดพะเยา

Duncan[a]

CON	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1	3	10.2133				
10	3		24.3733			
100	3			32.2567		
1000	3				43.9033	
10000	3					50.8967
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-9 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (CC_{50}) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนต่าง ๆ จากจังหวัดสมุทรปราการและ พะเยา

T-Test

Group Statistics

	CITY	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
leaf	Samut	2	.2200	.00000	.00000
	Phayao	3	.8967	.31021	.17910
pod	Samut	3	3058.4600	3180.62165	1836.33277
	Phayao	3	2893.1033	798.06553	460.76335
seed	Samut	2	75275.4750	17134.98629	12116.26500
	Phayao	3	6052.4100	2304.38744	1330.43871

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
leaf	Equal variances assumed	2.730	.197	-2.926	3	.061	-.67667	.23122	-1.41251	.05918
	Equal variances not assumed			-3.778	2.000	.063	-.67667	.17910	-1.44728	.09395
pod	Equal variances assumed	8.169	.046	.087	4	.935	165.35667	1893.25669	-5091.16660	5421.87993
	Equal variances not assumed			.087	2.251	.938	165.35667	1893.25669	-7169.67757	7500.39091
seed	Equal variances assumed	153.840	.001	7.530	3	.005	69223.06500	9192.81359	39967.42936	98478.70064
	Equal variances not assumed			5.679	1.024	.107	69223.06500	12189.09122	-77273.12611	215719.25611

127

ตารางที่ ง-10 ผลการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (CC_{50}) ของสารสกัดหยาบมะรุมส่วนใบ ฝักติดเนื้อ และเมล็ด

Oneway

Descriptives

Samut

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leafS	2	.2200	.00000	.00000	.2200	.2200	.22	.22
podS	2	1224.9650	249.96932	176.75500	-1020.9202	3470.8502	1048.21	1401.72
seedS	2	75275.4750	17134.98629	12116.26500	-78676.2687	229227.2187	63159.21	87391.74
leafP	3	.8967	.31021	.17910	.1260	1.6673	.58	1.20
podP	3	2893.1033	798.06553	460.76335	910.5987	4875.6080	1996.15	3524.65
seedP	3	6052.4100	2304.38744	1330.43871	327.9943	11776.8257	3595.09	8165.03
Total	15	11989.3700	26213.66882	6768.34018	-2527.2759	26506.0159	.22	87391.74

ANOVA

Samut

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9314625600.125	5	1862925120.025	54.870	.000
Within Groups	305564460.063	9	33951606.674		
Total	9620190060.188	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

CC_{50}

Duncan[a,b]

marum2	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
leafS	2	.2200	
leafP	3	.8967	
podS	2	1224.9650	
podP	3	2893.1033	
seedP	3	6052.4100	
seedS	2		75275.4750
Sig.		.318	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.400.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้