รายงานการวิจัย

การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกัน ที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac

Evaluation of Anti-Free Radical and Modulation of Some Thai Medicinal Plants in BALB/cMlac Mice

สุรางค์รัตน์ พันแสง และคณะ

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2560

รหัสโครงการสัญญา PCRU_2560_N013

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac

Evaluation of Anti-Free Radical and Modulation of Some Thai Medicinal Plants in BALB/cMlac Mice

สุรางค์รัตน์ พันแสง	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
พวงผกา แก้วกรม	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปอแก้ว พรมเพชร	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สมเพียร ฟักทอง	นักวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
แสงจันทร์ สอนสว่าง	นักวิชาการศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดยงบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาโดยผ่านความเห็นชอบจาก
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2560

ชื่องานวิจัย การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac
ชื่อผู้วิจัย สุรางค์รัตน์ พันแสง
ผู้ร่วมวิจัย พวงผกา แก้วกรม
ปอแก้ว พรมเพชร
แสงจันทร์ สอนสว่าง
สมเพียร ฟักทอง
สาขาวิชา ชีววิทยา
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ **ปีเสร็จวิจัย** 2561

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac สมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ กุ่มน้ำ (*Crateva religiosa* Ham.) ผักตบไทย (*Monochoria hastata* (L.) Solms.) ผักแพว (*Polygonum odoratum* Lour.) ผักกูด (*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.) และควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) การศึกษาปริมาณพฤกษเคมี พบว่า สารสกัดจากชิ้นส่วนของรากควายเก้าแม่ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด โดยมีสารฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 20.0848±0.7524 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด และมีปริมาณสาร ฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 13.7264±0.0449 มิลลิกรัมสมมูลของเคทเทคินต่อ 100 กรัมสารสกัด นอกจากนี้สารดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} เท่ากับ 0.1427±0.0015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ค่า ABTS (IC_{50} เท่ากับ 0.0911±0.0120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดที่มีประสิทธิภาพต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ได้ดี ได้แก่ สารสกัดจากผักกูด ผักแพว กุ่มน้ำ และผักตบไทย ตามลำดับ การให้สารสกัดจากรากของ ควายเก้าแม่ และยอดของผักกูดเป็นประจำทุกวัน เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ สารสกัดดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดพิษที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทดลอง แต่สารสกัดจากผักกูดส่งผลให้จำนวนเม็ดเลือดขาวลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

คำสำคัญ : ต้านอนุมูลอิสระ/ ฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกัน/ สมุนไพร / หนู Balb/cMlac

Title Evaluation of Anti-Free Radical and Modulation of Some Thai Medicinal Plants in Balb/cMlac Mice
Researcher Surangrat Punsaeng
Co-Researcher Puangpaka Kaewkrom
Pokaew Promphet
Sangjan Sonsawang
Sompian Fagtong
Major Biology
Phetchabun Rajaphat University **Year of research completed** 2018

Abstract

The objective of this research were to evaluate anti-free radical, investigate antibacterial activities and modulate the effect of some Thai medicinal plants in immune system of Balb/cMlac Mice. Five Thai medicinal plants were investigated *i.e*. *Crateva religiosa* Ham., *Monochoria hastata* (L.) Solms., *Polygonum odoratum* Lour., *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. and *Hiptage candicans* Hook.f.. Bioactive compounds content and their bioactivities, which were free radical scavenging activity and antibacterial activity of ethanolic crude extract, from these medicinal plants were determined. The highest content of total phenolics and flavonoids were found in the crude extract of *Hiptage candicans* Hook.f. The concentration of total phenolics and flavonoids in this plant were 20.0848±0.7524 mg GAE/100 mg and 13.7264±0.0449 mg CE/100 mg, respectively. Moreover, crude extract of *Hiptage candicans* Hook.f. had a high effective on free radical scavenging activities of DPPH (The IC_{50} value were 0.1427±0.0015 mg/ml). ABTS assays; the IC_{50} value were 0.0911±0.0120 mg/ml, which had not effected on antibacterial. *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. had a strong antibacterial activity to against *Bacillus cereus*, following by *Polygonum odoratum* Lour., *Crateva religiosa* Ham. and *Monochoria hastata* (L.) Solms., respectively. The root of *Hiptage candicans* Hook.f. and shoot of *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. extraction were given orally to Balb/cMlac mice within two and four weeks. The result did not show any toxicity sign during the experimental period.

Keywords : Anti-Free Radical / Modulation / Medicinal Plants / Balb/cMlac Mice

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่ายที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแก่ผู้วิจัย ขอขอบพระคุณพระอาจารย์วิโรจน์ สิริปัญโญ สำนักสงฆ์ดอยนางแล ต.ดงขวาง อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ ขอขอบพระคุณคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ในการพิจารณารับรองการใช้สัตว์ทดลอง ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยพะเยา ในการดำเนินการเกี่ยวกับสัตว์ทดลองทั้งหมดตามมาตรฐานสัตว์ทดลอง และคุณสุมาริน กลับคำ ในการติดต่อขอเข้าพื้นที่เพื่อเก็บตัวอย่างพืช รวมทั้งขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

สุรางค์รัตน์ พันแสงและคณะ

14 สิงหาคม 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญตาราง.....ฉ
สารบัญรูป.....ช
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....2
1.4 ระยะเวลาในการวิจัย.....2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
1.7 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย.....4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....5
2.1 ความหมายของพืชสมุนไพร.....5
2.2 ความสำคัญของพืชสมุนไพร.....5
2.3 ประโยชน์ของพืชสมุนไพร.....6
2.4 การสกัดสารจากพืช.....7
2.5 อนุมูลอิสระ.....8
2.6 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ.....9
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ.....11
2.8 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ.....12
2.9 ผักที่นำมาศึกษา.....14
2.10 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....21
ตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร.....21
ตอนที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผักพื้นบ้าน.....21
ตอนที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย.....23
ตอนที่ 4 ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac.....23

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย.....27
ตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดจากผักพื้นบ้าน.....27
ตอนที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผักพื้นบ้าน.....28
ตอนที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย.....33
ตอนที่ 4 ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac ...36
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....38
5.1 สรุป.....38
5.2 ข้อเสนอแนะ.....38
บรรณานุกรม.....39
ภาคผนวก.....45
ประวัตินักวิจัย.....60

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ....12
4.1 เปอร์เซ็นต์สารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง....27
4.2 แสดงปริมาณฟินอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์....29
4.3 แสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS....31
4.4 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านต่อแบคทีเรียทดสอบ....34
4.5 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง (MIC) และทำลาย (MBC) แบคทีเรีย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)....35
4.6 แสดงน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดทุกวันเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์....36
4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดทุกวัน เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์....37

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1.1 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย....4

2.1 แสดงลักษณะของกุ่มน้ำ....14

2.2 แสดงลักษณะของผักกูด....15

2.3 แสดงลักษณะของผักแพว....16

2.4 แสดงลักษณะของผักตบไทย....17

2.5 แสดงลักษณะของควายเก้าแม่....18

4.1 Fingerprints ของสารสกัดผักพื้นบ้าน 7 สารสกัด....32

4.2 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านต่อเชื้อแบคทีเรีย *B.cereus*....34

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สภาพเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทยที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ประชากรมีพฤติกรรมเลียนแบบการบริโภคและวิถีการดำรงชีวิตที่คล้ายคลึงกับสังคมตะวันตกมากขึ้น ปัญหาที่ตามมา คือ ร่างกายได้รับสารพิษในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ผนังหลอดเลือดแข็งตัว เกิดการอักเสบ การทำลายเนื้อเยื่อ ความเสื่อมชราของร่างกาย และก่อให้เกิดการกลายของเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน โรคหัวใจ หลอดเลือด โรคข้ออักเสบ และโรคมะเร็ง เป็นต้น ร่างกายมนุษย์ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึม ถือเป็นกระบวนการเผาผลาญสารอาหารในร่างกายของสิ่งมีชีวิตและเป็นผลให้เกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจน ในสภาพปกติร่างกายจะมีระบบควบคุมป้องกันอนุมูลอิสระที่เรียกว่า “ระบบแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant defense system)” แต่ถ้าร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติได้ เรียกว่า “เกิดภาวะความเครียดของออกซิเจน (Oxidative stress)” โดยอนุมูลอิสระที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นก่อให้เกิดความเสียหายและเป็นอันตรายต่อร่างกาย และนำไปสู่การก่อการกลาย ดังนั้นการใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิแดนท์จะช่วยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ได้ สารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่เป็นจำนวนมากทั้งที่มีอยู่ในธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ขึ้น และจากงานวิจัยของกรรณิการ์ เทพมงคลและคณะ (2556) พบว่า ใบจิกมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 30.27 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด และจากการตรวจวัดเชิงคุณภาพ พบว่า พญาดาบหัก ใบจิก ผักหวาน เสม็ดแดง และชำมะเลียง มีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ และพบสารฟลาโวนอยด์และแทนนินในเสม็ดแดง รวมทั้งฟลาโวน ฟลาโวนอล และแซนโทนในพืชทุกชนิด

ดังนั้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสาเหตุการเกิดโรคต่าง ๆ ถือเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง โดยเฉพาะการหาสารจากธรรมชาติมาใช้บำบัดรักษาหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคนั้นจึงมีความสำคัญมาก โรคที่เกิดขึ้นดังที่กล่าวมาแล้วนั้น มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชัน ด้วยเหตุดังกล่าวจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องหาหนทางหลีกเลี่ยงและป้องกันมิให้เกิดโรคเหล่านั้นขึ้น ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นมีความหลากหลายของระบบนิเวศและพันธุ์ไม้ต่างๆ อย่างอุดมสมบูรณ์ เช่น ผักกุ่มหรือบุกผักกุ่มเขา มีฤทธิ์ลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดระดับน้ำตาลในเลือด แก้ท้องเสีย ต้านเชื้อแบคทีเรีย กระตุ้น cAMP และ cGMP ทำให้เกิดอาการแพ้ ยับยั้งการก่อเกิดมะเร็ง ต้านเนื้องอก ยับยั้งเอนไซม์ trypsin ต้านพิษของสีแดง (amaranth) ลดการดูดซึมของวิตามินอี การรับประทาน glucomannan มากๆ จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังของทางเดินอาหาร (www.frynn.com, 2015: ออนไลน์) ผักกูด ใบของผักกูดใช้ต้มน้ำดื่มหรือกินสด ช่วยแก้ไข้ตัวร้อน แก้พิษอักเสบ บำรุงสายตา ลดความดันโลหิตสูง คอเลสเตอรอลในเม็ดเลือด (www.onab.go.th, 2015: ออนไลน์) ผักตบไทย ใบ ขับปัสสาวะ ขับพิษร้อน ใช้ทาฝี นำใบมาตำผสมกับผักกระเฉดเอาน้ำดื่มแก้เบื่อเมา ต้น มีรสจืด แก้พิษในร่างกาย ขับลม ใช้ต้นสดตำพอก แก้แผลอักเสบ ใช้เป็นยาทาหรือ

พอก ถอนพิษ แก้ปวดแสบปวดร้อน (www.phargarden.com, 2015: ออนไลน์) ผักแพว ใบ ช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทาน ช่วยชะลอวัย ป้องกันและต่อต้านมะเร็ง ช่วยป้องกันโรคหัวใจ ช่วยเจริญอาหาร (www.thaiherbal.org, 2014: ออนไลน์)

แต่ปัจจุบันยังขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มารองรับถึงการนำพืชกินอย่างน้อย 4 ชนิดมาใช้ในทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวของพืชกินได้ โดยการตรวจสอบเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลต่าง ๆ หาความสามารถในการรีดิวซ์ รวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวม เพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการนำพืชดังกล่าวไปใช้บริโภค หรือเพื่อการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ต่อไป รวมทั้งสามารถใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์นำไปสู่การใช้อาหารเป็นยารักษาโรคหรือใช้ในรูปผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่ได้จากธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สามารถพบได้ในท้องถิ่น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรอย่างน้อย 4 ชนิด รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cAJcl

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยนี้แบ่งเป็น 4 ขั้นการทดลอง ได้แก่

1.3.1 การเตรียมสารสกัดสมุนไพร อย่างน้อย 4 ชนิด จากอำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย

1.3.2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร อย่างน้อย 4 ชนิด

(1) การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

(2) การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

(3) การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity)

(4) การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'–azobis (3-ethylbenzthiazoline-6sulfonic acid)

(5) Thin Layer Chromatography (TLC) Fingerprints

1.3.3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

1.3.4 ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cAJcl

1.4 ระยะเวลาในการวิจัย

ระยะเวลาในการวิจัยใช้เวลา 11 เดือน

ตั้งแต่ 1 พฤศจิกายน พ.ศ.2559-30 กันยายน พ.ศ. 2560

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

สมุนไพรท้องถิ่น (Thai local herb) คือ พันธุ์ไม้ที่อยู่ในท้องถิ่นนั้น ๆ ที่สามารถนำมาใช้ปรุงหรือประกอบเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ และใช้ในการส่งเสริมสุขภาพร่างกายได้

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือ โมเลกุลหรืออะตอมที่ไม่เสถียรเนื่องจากขาดอิเล็กตรอน ซึ่งโดยปกติในร่างกายของเรามีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ ในกรณีที่ร่างกายมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากการถูกอนุมูลอิสระแย่งจับ จะทำให้โมเลกุลของเซลล์ในร่างกายไม่เสถียร ขาดความสมดุล ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์ร่างกายเสียหายได้

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) คือ สารที่มีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination) คือ การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

หนู BALB/cMlac ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Mus Musculus* สายพันธุ์ : BALB/ cMlac
แหล่งที่มา : บริษัท โนมูระ สยาม อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ผู้แทนจำหน่ายหนูซึ่งเป็นสายพันธุ์มาจาก CLEA ประเทศญี่ปุ่น

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

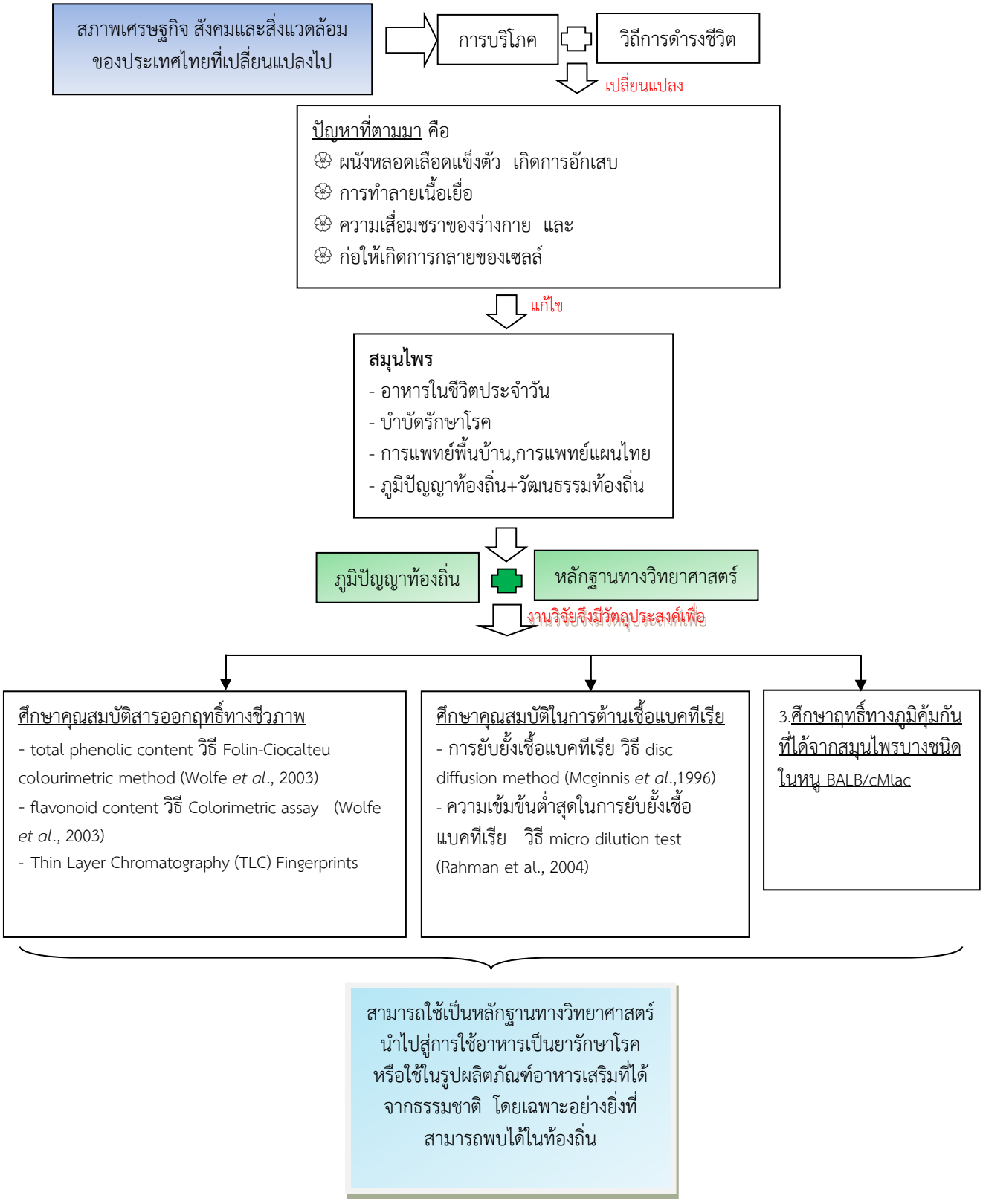
1.6.1 ทราบปริมาณสารสกัดและเปอร์เซ็นต์สารสกัดชั้นเอทานอลที่ได้ต่อน้ำหนักสมุนไพรแห้ง

1.6.2 วิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและตรวจสอบคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร

1.6.3 คุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

1.6.4 ตรวจสอบฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสารสกัดสมุนไพร

1.7 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายของพืชสมุนไพร

คำว่า สมุนไพร ตาม พระราชบัญญัติยา หมายถึง “ยาที่ได้จากพืช สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังไม่ได้ผสม ปรุง หรือเปลี่ยนสภาพ” เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล ฯลฯ ซึ่งยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใด ๆ แต่ในทางการค้าสมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปต่าง ๆ เช่น ถูกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กลง บดเป็นผงละเอียด หรืออัดเป็นแท่ง แต่ในความรู้สึกของคนทั่ว ๆ ไป เมื่อกล่าวถึงสมุนไพรมักจะนึกถึงเฉพาะต้นไม้ที่นำมาใช้เป็นยาเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าสัตว์ หรือแร่ มีการนำมาใช้น้อย และใช้ในโรคบางชนิดเท่านั้น

ดังนั้น พืชสมุนไพร หมายถึง พันธุ์ไม้ต่าง ๆ ที่สามารถนำมาใช้ปรุงหรือประกอบเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ใช้ในการส่งเสริมสุขภาพร่างกายได้

2.2 ความสำคัญของพืชสมุนไพร

1. ความสำคัญในด้านสาธารณสุข พืชสมุนไพรเป็นผลผลิตจากธรรมชาติ ที่มนุษย์รู้จักนำมาใช้เป็นประโยชน์ เพื่อการรักษาโรคภัยไข้เจ็บตั้งแต่โบราณกาลแล้ว เช่น ในเอเชียก็มีหลักฐานแสดงว่ามนุษย์รู้จักใช้พืชสมุนไพรมากว่า 6,000 ปี แต่หลังจากที่ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ มีการพัฒนาเจริญก้าวหน้ามากขึ้น มีการสังเคราะห์ และผลิตยาจากสารเคมี ในรูปที่ใช้ประโยชน์ได้ง่าย สะดวกสบายในการใช้มากกว่าสมุนไพร ทำให้ความนิยมใช้ยาสมุนไพรลดลงมาเป็นอันมาก เป็นเหตุให้ความรู้วิทยาการด้านสมุนไพรขาดการพัฒนา ไม่เจริญก้าวหน้าเท่าที่ควร ในปัจจุบันทั่วโลกได้ยอมรับแล้วว่าผลที่ได้จากการสกัดสมุนไพร ให้คุณประโยชน์ดีกว่ายา ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ ประกอบกับในประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติ อันอุดมสมบูรณ์ มีพืชต่าง ๆ ที่ใช้เป็นสมุนไพรได้อย่างมากมายนับหมื่นชนิด ยังขาดก็แต่เพียงการค้นคว้าวิจัยในทางที่เป็นวิทยาศาสตร์มากขึ้นเท่านั้น ความตื่นตัวที่จะพัฒนาความรู้ด้านพืชสมุนไพร จึงเริ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง มีการเริ่มต้นนโยบายสาธารณสุขขั้นมูลฐานอย่างเป็นทางการของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2522 โดยเพิ่มโครงการสาธารณสุขขั้นมูลฐานเข้าในแผนพัฒนาการสาธารณสุข ตามแผนพัฒนา การเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 4 (พ.ศ. 2520-2524) ต่อเนื่องจนถึงแผนพัฒนาการเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2535-2539) โดยมี กลวิธีการพัฒนาสมุนไพรและการแพทย์แผนไทยในงานสาธารณสุขมูลฐาน คือ

(1) สนับสนุนและพัฒนาวิชาการและเทคโนโลยีพื้นบ้านอันได้แก่ การแพทย์แผนไทย เภสัช กรรมแผนไทย การนวดไทย สมุนไพร และเทคโนโลยีพื้นบ้าน เพื่อใช้ประโยชน์ในการแก้ไขปัญหา สุขภาพของชุมชน

(2) สนับสนุนและส่งเสริมการดูแลรักษาสุขภาพของตนเองโดยใช้สมุนไพร การแพทย์พื้นบ้าน การนวดไทย ในระดับบุคคล ครอบครัว และชุมชน ให้เป็นไปอย่างถูกต้องเป็นระบบสามารถปรับประสานการดูแลสุขภาพแผนปัจจุบันได้ อาจกล่าวได้ว่าสมุนไพรสำหรับ

สาธารณสุขมูลฐานคือสมุนไพรที่ใช้ในการส่งเสริมสุขภาพ และการรักษาโรค/อาการเจ็บป่วยเบื้องต้น เพื่อให้ประชาชนสามารถพึ่งตนเองได้มากขึ้น

2. ความสำคัญในด้านเศรษฐกิจ ในปัจจุบันพืชสมุนไพรจัดเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ต่างประเทศกำลังหาทางลงทุนและคัดเลือกสมุนไพรไทยไปสกัดหาตัวยาเพื่อรักษาโรคบางโรคและมีหลายประเทศที่นำสมุนไพรไทยไปปลูกและทำการค้าขายแข่งกับประเทศไทย สมุนไพรหลายชนิดที่เราส่งออกเป็นรูปของวัตถุดิบคือ กระวาน ขมิ้นชัน เร่ว เปล้าน้อยและมะขามเปียกเป็นต้น ซึ่งสมุนไพรเหล่านี้ตลาดต่างประเทศยังคงมีความต้องการอีกมาก และในปัจจุบันกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ให้ความสนใจในการศึกษาเพิ่มขึ้นและมีโครงการวิจัยบรรจุไว้ในแผนพัฒนาระบบการผลิต การตลาดและการสร้างงานในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 6 (พ.ศ. 2530-2534) เพื่อหาความเป็นไปได้ในการพัฒนาคุณภาพและแหล่งปลูกสมุนไพรเพื่อส่งออก โดยกำหนดชนิดของสมุนไพรที่มีศักยภาพ 13 ชนิด คือ มะขามแขก กานพลู เทียนเกล็ดหอย ดองดึง เร่ว กระวาน ชะเอมเทศ ขมิ้น จันทร์เทศ ใบพลู พริกไทย ดีปลี และน้ำผึ้ง

2.3 ประโยชน์ของพืชสมุนไพร

1. สามารถรักษาโรคบางชนิดได้ โดยไม่ต้องใช้ยาแผนปัจจุบัน ซึ่งบางชนิดอาจมีราคาแพงและต้องเสียค่าใช้จ่ายมาก อีกทั้งอาจหาซื้อได้ยากในท้องถิ่นนั้น

2. ให้ผลการรักษาได้ดีใกล้เคียงกับยาแผนปัจจุบัน และให้ความปลอดภัยแก่ผู้ใช้มากกว่าแผนปัจจุบัน

3. สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่นเพราะส่วนใหญ่ได้จากพืชซึ่งมีอยู่ทั่วไปทั้งในเมืองและ ชนบท

4. มีราคาถูก สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการซื้อยาแผนปัจจุบัน ที่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศเป็นการลดการขาดดุลทางการค้า

5. ใช้เป็นยาบำรุงรักษาให้ร่างกายมีสุขภาพแข็งแรง

6. ใช้เป็นอาหารและปลูกเป็นพืชผักสวนครัวได้ เช่น กะเพรา โหระพา ขิง ข่า ตำลึง

7. ใช้ในการถนอมอาหารเช่น ลูกจันทร์ ดอกจันทร์และกานพลู

8. ใช้ปรุงแต่ง กลิ่น สี รส ของอาหาร เช่น ลูกจันทร์ ใช้ปรุงแต่งกลิ่นอาหารพวก ขนมปัง เนย ไส้กรอก แฮม เบคอน

9. สามารถปลูกเป็นไม้ประดับอาคารสถานที่ต่าง ๆ ให้สวยงาม เช่น คูน ชุมเห็ดเทศ

10. ใช้เป็นยาฆ่าแมลงในสวนผัก, ผลไม้ เช่น สะเดา ตะไคร้ หอม ยาสูบ

11. เป็นพืชที่สามารถส่งออกทำรายได้ให้กับประเทศ เช่น กระวาน ขมิ้นชัน เร่ว

12. เป็นการอนุรักษ์มรดกไทยให้ประชาชนในแต่ละท้องถิ่น รู้จักช่วยตนเองในการ นำพืชสมุนไพรในท้องถิ่นของตนมาใช้ให้เกิดประโยชน์ตามแบบแผนโบราณ

13. ทำให้คนเห็นคุณค่าและกลับมาดำเนินชีวิตใกล้ชิดธรรมชาติยิ่งขึ้น

14. ทำให้เกิดความภูมิใจในวัฒนธรรม และคุณค่าของความเป็นไทย

2.4 การสกัดสารจากพืช

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

1. การเตรียมตัวอย่างแบบสด พืชสดสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้ดี โดยนำพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์ เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และป้องกันไม่ให้สารเคมีในพืชเกิดการเปลี่ยนแปลง

2. การเตรียมตัวอย่างแบบแห้ง เป็นการป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ในพืชสด การเตรียมตัวอย่างแบบแห้งควรทำให้แห้งด้วยวิธีที่รวดเร็วและใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะอุณหภูมิสูงจะทำให้สาระสำคัญเกิดการเปลี่ยนแปลงได้

3. ระยะเวลาที่ใช้ในการทำให้พืชแห้ง โดยทั่วไปดอก ใบ และยอด จะใช้อุณหภูมิประมาณ 20-40 องศาเซลเซียส ส่วนเปลือกและรากจะใช้อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส

4. พืชแห้งควรเก็บในที่แห้ง มืด เย็น และมีอากาศหมุนเวียน และหลีกเลี่ยงการเก็บสมุนไพรไว้เป็นเวลานาน

2.4.2 การทำให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กลง

1. การหั่นหรือการตัดพืชแห้งควรตัดตามยาว (longitudinal cut) หรือตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยม (rectangular or cubical cut) ก่อนทำการบด โดยเลือกใช้เครื่องบดแบบต่าง ๆ ตามชนิดของวัตถุดิบและขนาดที่ต้องการหลังจากบด เช่น รากหรือหัว ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของพืชที่สามารถแตกหักได้ง่าย นิยมใช้เครื่องบดชนิดค้อน (driven hammer mill) ส่วนเครื่องบดชนิดตัด (cutting mills) เหมาะสำหรับย่อยใบ และรากที่เหนียวมีเส้นใย

2. พืชสด ใช้การหั่น (slicing) โดยใช้มีด หรือพืชที่แช่ในแอลกอฮอล์ อาจใช้เครื่องปั่น (blender) นอกจากนี้อาจทำการย่อยโดยใช้เอนไซม์ (enzyme disintegration) หรือใช้สารเคมี (chemical disintegration)

3. การลดขนาดของพืชให้เป็นผงละเอียด ควรนึกถึงโครงสร้างของพืชเป็นหลัก ถ้าเป็นโครงสร้างแข็งแรง เช่น รก เนื้อไม้ ควรบดให้มีขนาดเล็ก เนื่องจากน้ำยาสกัดแทรกซึมเข้าไปได้ยากกว่าพวกที่มีโครงสร้างอ่อนนุ่ม เช่น ใบ ดอก

4. การย่อยชิ้นส่วนพืชให้มีขนาดเล็กมากเกินไปจะก่อให้เกิดผลเสียได้ เช่น การอุดตันในเครื่องกรองในขบวนการสกัด และทำให้ได้องค์ประกอบที่ไม่ต้องการมาก เนื่องมาจากเซลล์แตกมากเกินไป

2.4.3 วิธีการสกัดสารจากพืช

การสกัดแยกสาระสำคัญจากสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดสารเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดก็ตาม หรือใช้ตัวทำละลายใด องค์ประกอบที่ได้จะเป็นของผสมหรือที่เรียกว่า “สารสกัดหยาบ (Crude extract)” สารสกัดหยาบเป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด ซึ่งจะมีทั้งที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically active constituents) หรือที่เรียกว่า “สาระสำคัญ (Active constituents) และที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacologically inactive constituents) หรือเรียกว่า “สารเฉื่อย (Inert substances)

1. น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิด บางครั้งอาจใช้กรด ด่าง เติมลงไปในน้ำยาสกัดเพื่อปรับค่าความเป็นกรด ด่างของน้ำยาสกัดให้มีความเหมาะสมมากขึ้น ตัวทำละลายอื่น ๆ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม

2. วิธีมาเซอเรชัน (Maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยการหมักพืชสมุนไพรกับตัวทำละลายจนกระทั่งเนื้อเยื่อของพืชอ่อนนุ่มและน้ำยาสกัดแทรกซึมเข้าไปละลายประกอบภายในสมุนไพร กระบวนการหมักวิธีนี้จะกระทำในภาชนะปิดสนิท ทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารสกัดออกจากการให้มากที่สุด วิธีนี้ดี คือ สารดังกล่าวไม่ถูกความร้อน และเหมาะสำหรับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อไม่แข็งมากนัก เช่น ใบ ดอก

3. การทำให้สารสกัดเข้มข้น (Concentration) เมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมกันมาก ได้แก่

(1) การระเหย (Free Evaporation) คือ การทำให้แห้งด้วยหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือ Hot plate

(2) การกลั่นสุญญากาศ (Distillation in vacuum) เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยการระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสูญญากาศ เรียกเครื่องนี้ว่า “Rotary evaporator” ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ Distillation flask, เครื่องควบแน่น (Condenser) และ Receiving flask

(3) การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำใช้ Lyophilize หรือเครื่องทำให้แห้ง (Freeze dryer)

4. โครมาโทกราฟี (Chromatography) เป็นวิธีแยกองค์ประกอบต่างๆ ออกจากกันได้ดีและนิยมใช้อย่างแพร่หลาย โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัว (Distribution of partition) ของสารตัวอย่างระหว่างเฟส 2 เฟส ที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน คือ Mobile phase กับ Stationary phase ประโยชน์ของโครมาโทกราฟ คือ

(1) ใช้แยกสารแต่ละชนิดออกจากสารผสม
(2) ตรวจความสม่ำเสมอของสารตัวอย่าง
(3) ทำสารให้บริสุทธิ์
(4) ตรวจเอกลักษณ์ของสาร
(5) ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ
(6) ตรวจสารปนเปื้อน

2.5 อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมโมเลกุลหรือสารประกอบที่มีอิเลคตรอนเดี่ยวอยู่ในออบิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้หมายรวมถึง อะตอมของไฮโดรเจนและอิออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเลคตรอน

จำนวน 2 อิเลคตรอน แต่ละอิเลคตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเลคตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คืออิเลคตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A• อนุมูล A–– • และอนุมูล A+• โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเลคตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเลคตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยา สามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่าง อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (O_2––•) อนุมูลไฮดรอกซี(•OH) อนุมูลอัลคอกซี(RO•) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO_2•) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก

2.6 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในร่างกายและภายนอกร่างกาย (เจนจิรา จิรัมย์และประสงค์ สีหานาม, 2554) ดังนี้

2.6.1 ปัจจัยภายในร่างกาย ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตมีปฏิกิริยามากมายที่เกี่ยวกับการสร้างและการสลายโมเลกุลของสาร ซึ่งเป็นสาเหตุหลักทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่

(1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto oxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

ระยะเหนี่ยวนำ (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีอุณหภูมิหรือแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

$$RH + \text{initiator} \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) (1) แล้วทำปฏิกิริยากับกรดไขมันต่อเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) (2) และอนุมูลอิสระ ถ้ามีความร้อนหรือแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาก็จะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

$$R^{\bullet} + O \longrightarrow ROO^{\bullet} \quad (1)$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad (2)$$

ระยะสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร

$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow RR$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2$$

(2) ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง การทำงานของเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิด ที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่

เอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (xanthine oxidase : XO) ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโพแวนธีน (hypoxanthine) เป็นแซนธีน (xanthine) และแซนธีนเป็นกรดยูริก (uric acid) พร้อม ๆ กับเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$)

$$\text{Hypoxanthine} + O_2 + H_2O \longrightarrow \text{xanthine} + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

$$\text{Xanthine} + O_2 + H_2O \longrightarrow \text{uric acid} + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

(3) กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว ในขั้นตอนการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนกินเข้ามาในร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึงโมเลกุลออกซิเจน (O_2) มาใช้เป็นจำนวนมาก เพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ โดยการทำงานของเอนไซม์ NADPH ออกซิเดส ที่อยู่บริเวณเยื่อบุชั้นนอกของเม็ดเลือดขาว

$$2O_2 + NADPH \longrightarrow 2O_2^{\bullet-} + NADP^{+} + H^{+}$$

(4) โลหะทรานสิชัน (transition metal) โลหะทรานสิชัน 2 ชนิด คือ เหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกาย สามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิล จากซุปเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ในปฏิกิริยา Fenton (Fenton's reaction)

$$H_2O_2 + O^{2\bullet-} + Fe^{2+} + Cu^{2+} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + O_2$$

2.6.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย

ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และเมโธทรีเสต (methotrexate)

รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (x-ray) รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ และก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไปกับออกซิเจนที่ละลายน้ำอยู่ในเซลล์ได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น

ควันบุหรี่ ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO) ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และเพอรอกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตรตตะคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก

โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ แต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่มีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ เช่น Amino acid, Ascorbic acid, Carotenoids, Flavonoids, Tannins,Tocopherols เป็นต้น โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระ แบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. Primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิค(Phenolic compounds) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติและสังเคราะห์ (Natural and synthetic tocopherol) alkyl gallate BHA BHT TBHQ และอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าว ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน

2. Oxygen scavenger สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิค หรือวิตามินซี เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3. Secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้ได้แก่ dilauryl thiopropionate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่ สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4. Enzymic antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ auxiliary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจนโดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H2O2)

5. Chelating agent หรือ sequestrant สารในกลุ่มนี้ เช่น กรดซิตริคกรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

2.8 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

สานต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะที่มาจากพืช ผัก เครื่องเทศ องุ่น และสมุนไพรได้รับความสนใจ และศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องมาจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิด ได้แก่

2.8.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปกิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนไป สารสังเคราะห์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพและคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดเนื่องมาจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค

2.8.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สารในกลุ่มนี้ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านนุมูลอิสระดังกล่าวพบได้จากจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางอาหาร ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์ ซึ่งจะแสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Antioxidant compound	Perceived health benefit
β-Carotene, lutein	Antimutagenic
	Protective against breast cancer
Bromophenol	α-Glucosidase inhibition
Carraggeenan, oligosaccharide	Anti-tumor
Fucoidan	Anti-HIV
	Ameliorales hyperoxaluria
	Anticancer
	Protection against neurodegenerative disorder
Fucophlorethols	Chemopreventive effects
Fucoxanthin	Antiangiogenic
	Protective effects against retinol deficiency

ตารางที่ 2.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ต่อ)

Antioxidant compound	Perceived health benefit
Galactan sulfate	Anti-viral
Phlorotannins	Anti-inflammatory
	Bactericide
	Inhibits H_2O_2 mediated DNA damage
	Hypertension
Phycoerythrin	Amelioration of diabetic complication
Polyphenols	Vascular chemoprotection
	Antiproliferation
	Antimicrobial
	α-Glucosidase inhibition
Porphyran, shinorine	Delays aging process

ที่มา : เจนจิรา จิรัมย์และประสงค์ สีหานาม, 2554

2.9 ผักที่นำมาศึกษา

1. กุ่มน้ำ (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2539)

ชื่อสามัญ Crataeva

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Crateva religiosa* Ham.

วงศ์ CAPPARACEAE หรือ CAPPARIDACEAE

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะของกุ่มน้ำ

ที่มา : MedThai, 2017

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้นขนาดกลาง ใบประกอบแบบนิ้วมือ มีใบย่อย 3 ใบ หูใบเล็ก ร่วงง่าย ใบย่อยรูปใบหอกหรือรูปขอบขนาน ปลายค่อย ๆ เรียวแหลม โคนสอบ ใบย่อยอยู่ด้านข้าง โคนใบเบี้ยวเล็กน้อย แผ่นใบค่อนข้างหนาเป็นมัน ด้านล่างสีอ่อนกว่าด้านบน ดอกแบบช่อกระจะถี่ ออกที่ยอด ช่อหนึ่งมีหลายดอก กลีบเลี้ยงรูปไข่ ปลายแหลม กลีบดอกสีขาวค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง รูปค่อนข้างกลมหรือรูปรี โคนกลีบเป็นเส้นคล้ายก้าน ผลสีนวล รูปรี

สรรพคุณ

ราก ขับหนอง บำรุงธาตุ แก้ปวดท้อง ขับโลหิตระดู รักษาโรคที่เกี่ยวกับน้ำเหลือง ขับลม

เปลือก แก้สะอึก ขับลม ขับเหงื่อ แก้ริดสีดวง แก้กระษัย บำรุงธาตุ

กระพี้ แก้ริดสีดวงทวารหนัก

แก่น แก้นิ่ว ขับเหงื่อ

ดอก แก้เจ็บในคอ แก้เจ็บตา ตาแดง

ผล แก้ไข้

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ต้านการเกิดนิ่ว (Anan *et al*., 1994) กระตุ้นเอนไซม์ pyrophosphatase ยับยั้งเอนไซม์ acid phosphatase, alkaline phosphatase, glycolate oxidase, lactate dehydrogenase ต้านการเกิด oxalate ในปัสสาวะ (Varalakshmi *et al*., 1990)

2. ผักกูด

ชื่อสามัญ Paco fern, Small vegetable fern, Vegetable fern

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diplazium esculentum*

วงศ์ ATHYRIACEAE

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของผักกูด

ที่มา : MedThai, 2017

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักกูดเป็นเฟิร์นขนาดใหญ่ที่มีเหง้าตั้งตรง และมีความสูงมากกว่า 1 เมตรขึ้นไป เหง้าปกคลุมไปด้วยใบเกล็ด เกล็ดมีขนาดกว้างประมาณ 1 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 1 เซนติเมตร สีน้ำตาล ขอบใบเกล็ดหยักเป็นซี่ ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้น มีความยาวได้มากกว่า 1 เมตรและกว้างมากถึง 50 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวอ่อน ผักกูดสามารถนำมาปรุงเป็นอาหารได้ มักขึ้นอยู่ตามริมน้ำหรือพื้นที่ชุ่มน้ำ

สรรพคุณ

ใบของผักกูดใช้ต้มน้ำดื่มหรือกินสด ช่วยแก้ไข้ตัวร้อน แก้พิษอักเสบ บำรุงสายตา บำรุงโลหิต แก้โลหิตจาง ป้องกันเลือดออกตามไรฟันและขับปัสสาวะ ลดความดันโลหิตสูง ลดคอเลสเตอรอล มีสารบีตาแคโรทีนและธาตุเหล็กสูง

3. ผักแพว

ชื่อสามัญ Vietnamese coriander

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Polygonum odoratum* Lour.

วงศ์ POLYGONACEAE

รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะของผักแพว

ที่มา : MedThai, 2017

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นผักพื้นบ้านจำพวกพืชล้มลุก ที่มีลักษณะใบเรียวยาวและมีกลิ่นแรงชนิดหนึ่ง ผักแพวเป็นผักที่อยู่ในวงศ์ Polygonaceae มีลักษณะลำต้นคล้ายต้นไผ่ มีข้อตามต้นเหมือนเป็นปล่องไผ่ มีใบยาวรี ปลายแหลมเหมือนใบไผ่ เกิดเองตามธรรมชาติตามที่ชื้นพื้นราบ ตามแอ่งน้ำต่าง ๆ นอกจากนั้นยังพบขึ้นตามป่า ตามโคนกอไผ่อีกด้วย มีอายุเพียงปีเดียว กินยอด กินใบได้ตลอดลำต้น เพราะใบอ่อน เส้นใยไม่หยาบกระด้าง ขยายพันธุ์ด้วยการชำกิ่งเท่านั้น

มีใบเป็นใบเดี่ยว ออกสลับ ลักษณะของใบเป็นรูปหอกหรือรูปหอกแกมรูปไข่ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 2.5-3 เซนติเมตร และยาวประมาณ 5.5-8 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลมคล้ายใบไผ่แต่บางกว่า ขอบใบเรียบ ฐานใบเป็นรูปลิ่ม ก้านใบสั้นมีหู ใบลักษณะคล้ายปลอกหุ้มรอบลำต้นอยู่บริเวณเหนือข้อของลำต้น ดอกเป็นช่อ ช่อดอกมีดอกย่อยขนาดเล็กสีขาวนวลหรือชมพูม่วง

สรรพคุณ

ใบผักแพวอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่ช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานโรคให้กับร่างกาย และช่วยในการชะลอวัย ป้องกันและต่อต้านมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจ ลำต้นผักแพวใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ราก ต้น ใบ และดอก นำมาปรุงเป็นยาได้ ใช้รักษาริดสีดวงทวาร

4. ผักตบไทย

ชื่อสามัญ Monochria

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Monochoria hastata* (L.) Solms

วงศ์ PONTEDERIACEAE

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะของผักตบไทย

ที่มา : MedThai, 2017

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี อาศัยอยู่ในน้ำ สูง 0.5-2 เมตร เหง้ายาว มีกาบใบแก่ห่อหุ้ม ใบเป็นรูปสามเหลี่ยม ยาว 9.5-26 เซนติเมตร ปลายใบแหลมหรือแหลมยาว โคนใบเป็นเงี่ยงลูกศร ขอบใบเรียบ แผ่นใบด้านบนเป็นมันเงา ก้านใบที่ออกจากโคนยาว 30-90 เซนติเมตร ใบที่มีช่อดอกยาว 50-90 เซนติเมตร ก้านใบยาว 7-10 เซนติเมตร ดอกเป็นช่อดอกออกเป็นช่อกระจุกสั้นๆ คล้ายช่อแบบช่อซี่ร่ม ยาว 2-6 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 1-3 เซนติเมตร กลีบรวมสีม่วงอ่อน มี 6 กลีบ กลีบใหญ่ 3 กลีบ กลีบขนาดเล็ก 3 กลีบ รูปไข่ รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก ยาว 1-1.6 เซนติเมตร เกสรเพศผู้มี 6 อัน อันใหญ่ 1 อัน อับเรณูยาว 0.5-0.6 เซนติเมตร สีม่วง อันเล็ก 5 อัน อับเรณูยาว 0.3-0.4 เซนติเมตร สีเหลือง รังไข่มี 3 ช่อง เกลี้ยง ก้านเกสรเพศเมียรูปเส้นด้าย มีขนสั้นๆ ช่วงปลาย ผลแบบแคปซูล

สรรพคุณ

ต้น รสจืด มีสรรพคุณเป็นยาแก้พิษในร่างกาย ขับลม ต้นสดใช้ตำพอกแก้แผลอักเสบ หรือใช้เป็นยาทาหรือพอกถอนพิษ แก้อาการปวดแสบปวดร้อน ใบ ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ยาทาแก้ฝีเป็นยาขับพิษร้อน

5. ควายเก้าแม่หรือกำลังช้างเผือก

ชื่อสามัญ โนรา พญาช้างเผือก สะเลา กะลังจ่าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hiptage candicans* Hook.f.

วงศ์ MALPHIGIACEAE

รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะของควายเก้าแม่

ที่มา : สุรางค์รัตน์ พันแสง, 2561

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้กึ่งพุ่มหรือไม้เถาขนาดใหญ่ เนื้อแข็ง ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 3-7 เซนติเมตร ยาว 5-15 เซนติเมตร โคนใบสอบ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ดอกสีขาวมีแต้มสีเหลืองที่ด้านใน กลิ่นหอมจางๆ ออกเป็นช่อตามซอกใบหรือปลายกิ่ง ช่อดอกยาว 9-22 เซนติเมตร กลีบรองดอก 5 กลีบ มีกลีบหนึ่งจะมีต่อมนูน กลีบดอก 5 กลีบ ขนาดไม่เท่ากัน กลีบข้างจะพับกลับ เกสรผู้ 10 อัน มี 1 อัน ยาวเป็นพิเศษ ผลเป็นผลแห้ง สีแดง มี 3 ปี เมื่อแก่ไม่แตก

สรรพคุณ

แก่นใช้ดอกเป็นยาบำรุงกำลัง เปลือกตำพอกรักษาแผลสด ใบแก้โรคผิวหนัง และนิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประสงค์ เทียนบุญ (2553: 69-76) กล่าวว่า สารอาหารต้านอนุมูลอิสระ (วิตามินอี วิตามินซี เบต้าคาโรทีน) มีส่วนสำคัญต่อสุขภาพ ช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคมะเร็ง โรคต้อกระจก ช่วยเพิ่มภูมิต้านทานโรคและยังช่วยชะลอความแก่ชรา

วริศรา ชื่นอารมณ์ อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ (2553: 621-624) ได้ศึกษา สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม (Suaeda maritima) ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล และ ปิโตรเลียมอีเธอร์ นำมาวิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azinobis(3-ethlbenzothaiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) พบว่า สารสกัดชะครามจากส่วนใบสีเขียวด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ให้ค่า DPPH และ ABTS เท่ากับ 401.30 และ 174.96 mg/L Trolox equivalent/g DW ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) โดยวิธี Folin-ciocalteau Phenol Test ของสารสกัดชะคราม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ107.59 mg GAE/ 100 g DW

วังเซ็ง สิทธิกิจโยธินและดวงฤดี เชิดวงศ์เจริญสุข (2554: 47-55) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว พบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวความเข้มข้น 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอลอยู่ในช่วง 0.233 ± 0.001 ถึง 1.09 ± 0.04 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมีร้อยละการยับยั้งสาร Diphenyl ถึง 2-picrylhydrazyl (DPPH) อยู่ในช่วง 41.01 ± 4.92 ถึง 91.64 ± 1.38 โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอล อยู่ในช่วง -0.04 ± 0.006 ถึง 1.06 ± 0.009 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 3.2 ± 3.3 ถึง 90.49 ± 0.27 จากการเปรียบเทียบสรุปได้ว่า (1) สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีปริมาณฟีนอลและร้อยละการยับยั้งสาร DPPH มากกว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2) ปริมาณสารประกอบฟีนอลสัมพันธ์กับร้อยละการยับยั้งสาร DPPH และ (3) สารฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด

สุวรรณี แสนทวีสุขและคณะ (2555: 480-483) ทำการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด พบว่า ใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุด 56.254 มิลลิกรัมต่อกรัม มีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ IC_{50} 2.610 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ Escherichia coli และ Staphylococcus aureus ได้ดีที่สุด คือ 79.690 เปอร์เซ็นต์ และ 29.770 เปอร์เซ็นต์

สุพัฒน์ ศรีสวัสดิ์และคณะ (2556 : 14-27) ศึกษาพืชสมุนไพรประจำถิ่นและภูมิปัญญาการประยุกต์ใช้สำหรับการแพทย์พื้นบ้าน ในจังหวัดชายแดนภาคใต้ ผลการศึกษาพบว่า มีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่นิยมนำมาใช้ในรักษาโรคหรือกลุ่มอาการผิดปกติของร่างกายและ แต่ละชนิดที่นำมาใช้จะมีสรรพคุณหลายอย่าง แต่จะมีชื่อเรียกของชนิดและพันธุ์พืชสมุนไพรที่แตกต่างจากท้องถิ่นอื่นๆ และยังพบว่ามีเพียงไม่กี่ชนิดที่นำมาใช้กับโรคหรือกลุ่มอาการที่เหมือนกัน ประชาชนมีความรู้เรื่องการใช้พืชสมุนไพรรักษาโรคอยู่ในเกณฑ์ที่ดี และสนใจในเรื่องการใช้สมุนไพร ภูมิปัญญาการใช้พืชสมุนไพร

มักเป็นเรื่อง การบำบัดรักษาอาการป่วยพื้นฐานในชีวิตประจำวันซึ่งเป็นอาการ กลุ่มอาการและโรคที่ไม่รุนแรงนัก คือ ท้องผูก ท้องเสีย แผลในกระเพาะ ไอ เจ็บคอ ขับเสมหะ

บุหลัน พันธุ์สวรรค์ (2556: 275-286) กล่าวไว้ว่า วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพที่นิยม ได้แก่ การทำให้เกิดสีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ส่วนวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช การฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ

นันทิยา สมภาร และคณะ (2557 : 60-71) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวในหลอดทดลองและในร่างกายของหนูแรท พบว่า ผักแพวมีค่า EC50 = 50.25 ± 0.61 mg/ml วิตามินอี และ Butylatedhydroxytoluene (BHT) มีค่า EC50 = 14.79 ±0.78 mg/ml และ 19.71±0.79 mg/ml ตามลำดับ

สุชาดา มานอกและปวีณา ลิ้มเจริญ (2558: 106-117) ตรวจสอบสสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพร 46 ชนิดมรตำรับยาหอมเทพจิตร พบว่า ดอกกานพลูแสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (IC_{50}=0.240 ppm) เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสมุนไพรโกฏฐพุงปลา มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุด โดยมีค่า VEAC และ TEAC เท่ากับ 2.714 และ 2.109 mM/g ตามลำดับ

บัณฑรวรรณ ธุระพระ และคณะ (2559: 80-91) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาระสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากส้มโอ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ทับทิมสยาม ทองดีและขาวน้ำผึ้ง พบปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก แอนโทไซยานินและฤทธิ์ต้านออกวิเดชันจากสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของส้มโอทั้งสามสายพันธุ์

ปารมี สงขัย และวรางคณา สมพงษ์ (2560: 86-100) ศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแทนนินของสารสกัดจากใบพืช 10 ชนิด (กุยช่าย บรอกโคลี บัวบก โหระพา ตำลึง ชะมวง ยอ โหระพา กะเพราแดง ผักแพว และย่านาง) พบว่า ผักแพว มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแทนนินสูงสุด เท่ากับ 197.86±3.15 mg GAE/g DW และ 171.77±3.30 mg GAE/g DW

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผักอย่างน้อย 4 ชนิด รวมทั้งการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac

สถานที่ศึกษาภาคสนาม เก็บตัวอย่างสมุนไพรจากพื้นที่เขตจังหวัดเพชรบูรณ์

สถานที่ศึกษาในห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

โครงการวิจัยนี้แบ่งเป็น 4 ขั้นการทดลอง ได้แก่

ตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร

1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำสมุนไพรแห้ง 5 ชนิด ได้แก่ ผักกุ่ม ผักกูด ผักแพว ผักตบไทย และควายเก้าแม่ มาทำการบดให้ละเอียด และเก็บไว้ในถุงพลาสติก

1.2 วิธีการสกัดสารจากสมุนไพร

นำสมุนไพรแห้งทั้ง 4 ชนิดมาทำการสกัดเย็นโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล จำนวน 3 ซ้ำ การสกัดทำโดยนำสมุนไพรแห้งใส่ลงใน flask ตัวอย่างละ 100 กรัม เติมตัวทำละลายเอทานอล 1,000 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10) ลงให้ท่วมตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน แยกสารละลายที่สกัดได้มากรองด้วย กระดาษกรอง (Whatman No.4) ทำการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลจนครบ 3 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้ง มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล (ethanolic crude extract) นำสารสกัดที่ได้มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตอนที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe et al. (2003) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/1g of crude extract)

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content) โดยวิธี Colorimetric assay ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Wolfe et al. (2003) โดยใช้เคทเทคินเป็นสารมาตรฐาน และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของเคทเทคินต่อสารสกัด 1 กรัม Total flavonoid content (mg CE/1g of crude extract)

2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) โดยวิธีของ Karagozler et al. (2008) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer รุ่น UV-9200 (Rayleigh, China) คำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม
A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50

2.4 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2,2'–azobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS radical scavenging activity) โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Re et al. (1999) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer คำนวณค่า % Inhibition ABTS ดังสมการ

$$\text{\% Inhibition ABTS} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม
A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % Inhibition ABTS ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆมาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า% Inhibition ABTS ลดลงร้อยละ 50

2.5 Thin Layer Chromatography (TLC) Fingerprints เป็นการจัดทำ TLC Fingerprints เพื่อใช้เปรียบเทียบในการศึกษาครั้งต่อไป ซึ่งตรวจสอบโดยอาศัยการแยกของสารด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

- โดย Adsorbent ที่ใช้เป็นชนิด silica gel GF254
- นำไป development ใน Solvent system ที่เหมาะสม ซึ่งทำในระบบปิด โดยระบบที่ใช้แยกสารสกัด คือ n – Butanol: Acetic acid: Water ในอัตราส่วน 4: 3: 1
- จากนั้นนำแผ่น TLC ออกจากTank ที่ใช้เป็นระบบปิด แล้วทำให้แห้ง
- พ่นด้วย 1 % Methanolic ferric chloride สารมาตรฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบคือ Tannic acid, Catechol

ตอนที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

3.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วย วิธี disc diffusion method (Mcginnis et al., 1996) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus epidermidis* เชื้อแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 2 ชนิดได้แก่ *Escherichai coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ลงบนอาหารทดสอบ Muller-Hinton agar (Merck, Germany) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร/จาน โดยใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในสารละลายเชื้อที่ต้องการทดสอบซึ่งเตรียมให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No.5 บิดให้แห้งพอหมาด ๆ และกระจายสารละลายเชื้อ ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ให้ส่วนผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นวางแผ่น paper disc ที่หยดสารทดสอบความเข้มข้น 200,000 ppm ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสที่เกิดขึ้น บันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

3.2 การตรวจหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยั้บยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี micro dilution test และยืนยันผลการทดสอบด้วยวิธี Resazurin Microtiter Assay Plate Method (Rahman et al., 2004) โดยปิเปตอาหาร Tryptone soy agar (Difco, United States) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุม จากนั้นเจือจางสารทดสอบด้วยวิธี two-fold dilution ให้สารทดสอบมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20-8,192 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุม โดยหลุมที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น Positive control และหลุมที่ใส่เฉพาะเชื้อแบคทีเรีย เป็น Negative control บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การตรวจผลทำโดยตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารทดสอบโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเติมสารละลาย resazurin ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ (MIC) โดยการสังเกตหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย resazurin ซึ่งแสดงถึงไม่มีการเติบโตของเชื้อรายงานประสิทธิภาพของสารทดสอบเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) การตรวจหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ (MBC) ปิเปตอาหารผสมทดสอบและเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละหลุม จำนวน 10 ไมโครลิตรไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Tryptone soy agar บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจผลโดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ รายงานประสิทธิภาพของสารทดสอบเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ตอนที่ 4 ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac

สัตว์ทดลอง

เตรียมสัตว์ทดลอง ติดต่อซื้อหนูทดลอง สายพันธุ์ BALB/cMlac เพศผู้ อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 20±0.1 กรัม จากบริษัท โนมูระ สยาม อินเตอรีเนชั่นแนล จำกัด จากนั้นเลี้ยงต่อในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองในศูนย์วิจัยสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยพะเยา โดยเลี้ยงอย่างน้อย 1 สัปดาห์

ก่อนการทดลอง เลี้ยงอย่างอิสระภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีการควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นที่เหมาะสม และมี dark : light cycle เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง หนูทุกตัวได้รับอาหารเม็ด (C.P.MICE Food) และน้ำดื่มสะอาดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อตลอดระยะเวลาการศึกษา มีการเปลี่ยนวัสดุรองนอนทุก ๆ 2-3 วัน แบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 กลุ่มหนู ได้รับสารสกัด HCR

กลุ่มที่ 3 กลุ่มหนู ได้รับสารสกัด DES

ทำการป้อนสารสกัด (เข็มป้อน เบอร์ 18 ขนาดความยาว 3 นิ้ว) เป็นเวลาติดต่อกัน 4 สัปดาห์ (pre-treatment) ป้อนเวลา 8.00-9.00 น. และบันทึกผลการทดลอง โดยการชั่งน้ำหนักหนูทุกสัปดาห์

ในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 เก็บตัวอย่างเลือดจากหนู กลุ่มละ 5 ตัว หลังจากนั้นบรรเทาความเจ็บปวดโดยการฉีดสาร Pentobarbital sodium ขนาดที่ใช้ 40 mg/kg BW นำตัวอย่างเลือดมาศึกษาจำนวนของเม็ดเลือดขาวแยกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 40x นับจำนวนเม็ดเลือดขาวจำนวน 100 เซลล์ต่อ 1 สไลด์ของ Blood smear ทำให้ครบ 3 สไลด์ต่อหนู 1 ตัว จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

การวิเคราะห์ผลการวิจัย

นำเสนอข้อมูลโดยการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบ และข้อมูลในเชิงปริมาณ โดยแสดงผลในรูปของตาราง กราฟ แผนภูมิ และทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว One-way analysis of variance (One-way ANOVA) และ Duncan' s Multiple Range Test (DMRT)

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร

จากการนำสมุนไพรแห้ง จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ ผักกุ่ม ผักกูด ผักแพว ผักตบไทยและควายเก้าแม่ ชนิดละ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง หมักด้วยเอทานอล 50% ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และนำไประเหยเอทานอลออกโดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) แล้วนำมาทำให้แห้งอีกครั้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer) ชั่งน้ำหนักของสารสกัดและ % สารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 % สารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง

สมุนไพร	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	% สารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง
T1= *Crateva religiosa* Ham. (กุ่มน้ำ=เปลือก)	100	3.2613
T2= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ใบ)	100	5.1512
T3= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ลำต้น)	100	5.9438
T4= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ราก)	100	9.8858
T5= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)	100	12.6768
T6= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)	100	9.1285
T7= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)	100	9.1775

จากตารางที่ 4.1 พบว่า ส่วนดอกของผักตบไทย (*Monochoria hastata* (L.) Solms.) เปอร์เซ็นต์สารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง มากที่สุด คือ 12.6768 กรัม และ 12.6768 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รองลงมา คือ ส่วนของรากของควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) และส่วนของยอดผักกูด (*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.) และผักแพว (*Polygonum odoratum* Lour.) ตามลำดับ จากรายงานของ Hade *et al*.,(2016, 189-196) พบว่า เปลือกของกุ่มน้ำ ปริมาณ 9 กรัมน้ำหนักแห้ง สกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตซ์ (soxhlet) ใช้เมทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวสกัด เปอร์เซ็นต์สารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง เท่ากับ 7.29 และ 5.77 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Wagay *et al. (*2017: 343-354) นำส่วนเปลือกของกุ่มน้ำสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตซ์ (soxhlet) ใช้คลอโรฟอร์ม 50% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน เปอร์เซ็นต์สารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง เท่ากับ 5.33±0.10, 15.85±0.21 และ 3.24±0.13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

แสดงให้เห็นว่า ถ้าจะใช้ส่วนเปลือกของกุ่มน้ำ ควรใช้สารสกัดเป็นเมทานอลจะส่งผลให้ได้เปอร์เซ็นต์สารสกัดมากกว่าที่ใช้ 50%เอทานอล คลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์และไดคลอโรมีเทนเป็นตัวสกัด

นันทิยา สมภารและคณะ (2557: 60-71) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวในหลอดทดลองและในร่างกายของหนูแรท พบว่าสารสกัดชั้น ethanol ที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง ของสารสกัดผักแพว คือ 1.012 เปอร์เซ็นต์

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549: 76-88) นำส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร 8 ชนิดมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย ethyl acetate และ ethanol ได้สารสกัดชั้น ethyl acetate และ ethanol ทั้งหมด 36 สารสกัด โดยชิ้นส่วนรากของแมงลักคา (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.) ในสารสกัดชั้น ethanol ได้เปอร์เซ็นต์สารสกัดมากที่สุด เท่ากับ 29.02 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ส่วนใบของตูมกาขาว (*Strychnos nux-blanda* A.W. Hill) และมะพอก (*Parinari anamense* Hance.) ตามลำดับ

ตอนที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิกทั้งหมด (total phenolic content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสมุนไพร ได้แก่ กุ่มน้ำ ควายเก้าแม่ ผักตบไทย ผักแพว และผักกูด คำนวณได้จาก linear regression equation ของกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิก ($Y=0.0581x-0.0293$, $R^2=0.9977$) พบว่า สารสกัดสมุนไพร 7 ตัวอย่างมีปริมาณฟินอลิกแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยสารสกัดชิ้นส่วนรากของควายเก้าแม่มีปริมาณฟินอลิกทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ 20.0848±0.7524 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากชิ้นส่วนลำต้น และใบของควายเก้าแม่ ตามลำดับ

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (flavonoid content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสมุนไพร ได้แก่ กุ่มน้ำ ควายเก้าแม่ ผักตบไทย ผักแพว และผักกูด คำนวณได้จาก linear regression equation ของกราฟสารมาตรฐานเคทเทคิน ($Y=0.1411x-0.1375$, $R^2=0.9999$) พบว่า สารสกัดสมุนไพร 7 ตัวอย่างมีปริมาณฟลาโวนอยด์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยสารสกัดชิ้นส่วนรากของควายเก้าแม่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เท่ากับ 13.7264±0.0449 มิลลิกรัมสมมูลของเคทเทคินต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากชิ้นส่วนลำต้น และใบของควายเก้าแม่ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์

สมุนไพร	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100mg of crude extract)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg CE/100mg of crude extract)
T1= *Crateva religiosa* Ham. (กุ่มน้ำ=เปลือก)	2.1225±0.1183	1.1233±0.0051
T2= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ใบ)	8.3239±0.2127	4.7356±0.0050
T3= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ลำต้น)	11.4688±0.2211	8.0496±0.0225
T4= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ราก)	20.0848±0.7524	13.7264±0.0449
T5= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)	1.9694±0.0397	1.0432±0.0005
T6= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)	5.2438±0.1564	1.8625±0.0011
T7= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)	2.2933±0.0934	1.1658±0.0010

จากรายงานการวิจัยของ Licayan *et.al.* (2016: 164-169) ศึกษาสารพฤกษเคมี, ฟลาโวนอยด์, ฟีนอลิก และกิจกรรมออกซิเดชันของสมุนไพร 4 ชนิด (*Hiptage benghalensis*, *Antigonon leptopus*, *Macroptillium atropureum* และ *Dioscorea bulbifera*) ในฟิลิปินส์ พบว่า สมุนไพรทั้ง 4 ชนิดมีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ โดย *Hiptage benghalensis* ประกอบไปด้วยสาร Alkaloids, Carbohydrates, Flavonoids, Reducing sugars, Saponins และ Steroids โดยมีปริมาณสารฟีนอลิก 25.56±0.160 mg GAE/g DW ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 93.29±4.215 mg Quercetin/g DW

Diplazium esculentum ประกอบด้วยสารสเตอรอยด์ (steroids), ไตรเตอร์ฟีนอล (triterpenoids), ฟีนอล (phenol), ฟลาโวนด์ (flavones) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Anderson *et. al*., 2003: 292-29) นอกจากนั้น Jayanta *et.al*. (2017: 195-203) ยังพบว่า *Diplazium esculentum* ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฟีนอล (phenol), ฟลาโวนอยด์ (flavonoids), ซาโปนิน (sanins), อัลคาลอยด์ (alkaloids), ไตรเทอร์พีน (triterpenes) และแอนทราควิโนน (anthraquinones)

Polygonum odoratum มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มของฟีนอลเมื่อวิเคราะห์โดย HPLC ประกอบไปด้วย Gallic acid, G-resorcyclic acid, Chlorogenic, p-coumaric acid, Ferulic acid, Ellagic acid, Quercetin, Luteolin, Kaempferol และ Apigenin โดยมีมีปริมาณฟีนอลทั้งหมด 13.03±0.61 GAE/mg/g DW และปริมาณฟลาโวนอยด์ 4.92±0.629 mg/g DW (Somananda *et.al*.,2014: 94-97)

Monochoria vaginalis สารพฤกษเคมีในส่วนของดอก (Flower) ประกอบไปด้วย Carbohydrates, Protein, Amino acid, Alkaloids, Saponins, Phenolic compounds, Tannis, Flavonoids, Glycosides และในส่วนของใบและราก มีปริมาณฟีนอล เท่ากับ 16.91±0.66 และ 14.63±0.64 GAE g/100g ตามลำดับ ปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 24.33±1.45 และ 16.30±0.62 QE g/100g extract) ตามลำดับ และปริมาณแทนนิน เท่ากับ 11.5±0.85 และ 1.88±1.30 GAE g/100g ตามลำดับ (Chandran *et.al*.,2011: 1-11)

Crateva religiosa สารพฤกษเคมีในส่วนของ (Stem) ประกอบไปด้วย Alkaloids, Flavonoids, Saponins และ Phenols เท่ากับ 1.90±0.17, 1.18±0.24, 1.28±0.25 และ 1.06±0.17 g/100g DW ตามลำดับ (Wagay et.al., 2017: 343-354) และจากรายงานของ Hade *et.al*. (2016: 189-196) พบว่า *Crateva nurvala* ในส่วนของ (Stem) เมื่อสกัดด้วยเมทานอล ประกอบไปด้วย Terpenoid, Steroid และ Terpenoids, Phenols, Flavonoids, Alkaloids, Tannins และ Saponins เมื่อสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ประกอบไปด้วย Terpenoid, Steroid และ Terpenoids และ Alkaloids

2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

ในการตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ การวิจัยนี้เลือกใช้วิธี DPPH และ ABTS assay ในการทดสอบโดยรายงานผลเป็นค่า IC_{50} หมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากผลการศึกษาสารสกัดสมุนไพร 7 ตัวอย่าง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยพบว่า สารสกัดชิ้นส่วนรากของควายเก้าแม่ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Licayan *et.al*. (2016: 164-169) โดย *H. benghalensis* (84.64%) มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันดีที่สุด รองลงมาคือ *A. leptopus* (68.21%), *M. atropureum* (26.62%) และ *D. bulbifera* (19.04%) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดในสารสกัด (ตารางที่ 4.1) สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยสารประกอบฟินอลิกเป็นสารต้านอนุมูลิสระที่ทำหน้าที่เป็น free radical terminators ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxyl group ที่สามารถใช้จับกับอนุมูลอิสระได้ ดังนั้น เมื่อสารสกัดจากสมุนไพรมีปริมาณฟินอลิกสูง ส่งผลให้สมุนไพรชนิดนั้นมีแนวโน้มในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงด้วย

การตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS จากผลการศึกษาสารสกัดสมุนไพร 7 ตัวอย่าง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยพบว่า สารสกัดชิ้นส่วนรากของควายเก้าแม่ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT

ตารางที่ 4.3 แสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

สมุนไพร	DPPH IC_{50} (mg/ml)	ABTS IC_{50} (mg/ml)
T1= *Crateva religiosa* Ham. (กุ่มน้ำ=เปลือก)	5.7920±0.0011	0.8421±0.0051
T2= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ใบ)	0.3322±0.0023	0.2115±0.0340
T3= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ลำต้น)	0.2489±0.0005	0.1201±0.0263
T4= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ราก)	0.1427±0.0015	0.0911±0.0120
T5= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)	10.5273±0.0020	1.0133±0.0035
T6= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)	0.5619±0.0075	0.3002±0.0193
T7= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)	2.8188±0.0076	0.4420±0.0120
BHT	0.3229±0.0173	0.0226±0.0070

Kaushik *et.al*., (2012: 228-231) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Diplazium esculentum* โดยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดน้ำของ *Diplazium esculentum* 7.6 mM/dry wt มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และโพลีฟีนอลเป็นสารประกอบที่สำคัญของพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Wichi, 1988: 717-723)

Semwal *et.al.*, (2013: 2-5) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของพืชในกลุ่มเทอริโดไฟต์ (Pteridophytes) จำนวน 5 ชนิด พบว่า *Diplazium esculentum* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 0.32±0.12 mg/ml) ซึ่งดีกว่า *Adiantum lunulatum*, *Pteris vittata*, *Equisetum romosissimum* และ *Ampelopteris prolifera*

Jayanta *et.al.,*(2017:195-203) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ *Diplazium esculentum* โดยวิธี DPPH, ABTS , metal chelating และ superoxide พบว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.8, 4.6, 1.09 และ 2.24 mg/ml ตามลำดับ

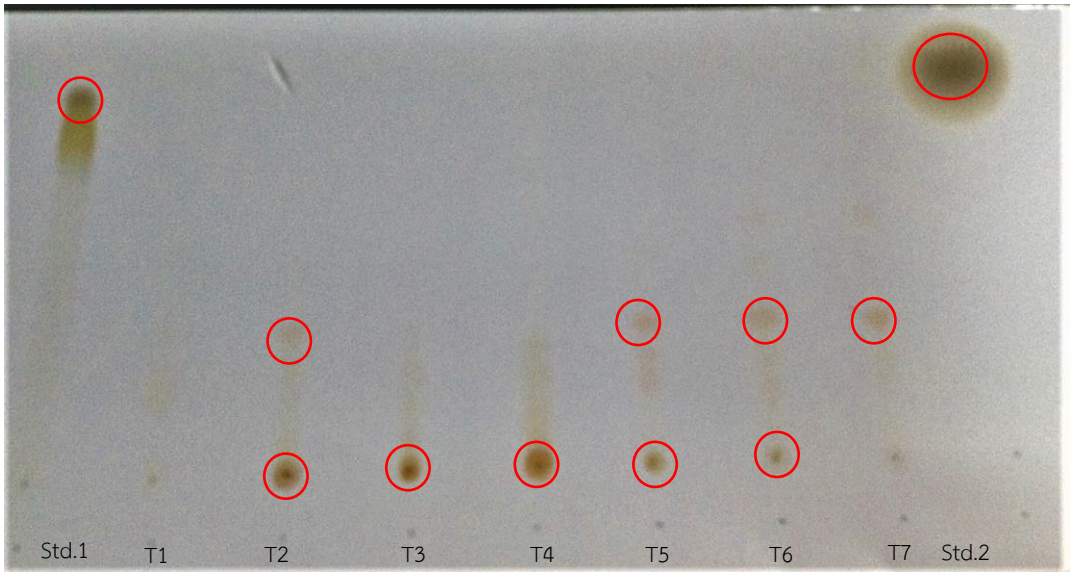
Somananda *et.al*., (2014: 94-97) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Polygonum odoratum* โดยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 190.19±0.424 µg/ml

Chandran *et.al*., (2011: 1-11) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Monochoria vaginalis* วิธี ABTS พบว่า ส่วนของใบและรากของ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 5,060.4±1,488.1 และ 2,472.2±462.5 µmol/g

Hade *et.al*.,(2016: 189-196) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Crateva nurvala* สกัดด้วยเมทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยวิธี DPPH มีค่า IC50 เท่ากับ 363.125±13.25 และ 518.55±12.19 µg/ml

2.4 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นและ Thin Layer Chromatography (TLC)

จากการทำ Thin Layer Chromatography เป็นการตรวจสอบโดยอาศัยการแยกของสาร โดยระบบที่ใช้ คือ n-butanol : acetic acid : water ในอัตราส่วน 4 : 3 : 1 โดย fingerprints และสารมาตรฐานที่ใช้ คือ Tannic acid, Catechol แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 Fingerprints ของสารสกัดสมุนไพร 7 ตัวอย่าง

Std1= Tannic acid

T1= *Crateva religiosa* Ham.(กุ่มน้ำ=เปลือก)

T2= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)

T3= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)

T4= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)

T5= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ใบ)

T6= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ลำต้น)

T7= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ราก)

Std2=catechol

จากภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า *Polygonum odoratum* Lour. และ *Monochoria hastata* (L.) Solms. มีจุดเกิดขึ้น 1 จุด ซึ่งตรงกัน (R_f = 0.90) และส่วนของราก *Hiptage candicans* Hook.f. (Rf = 2.70) ส่วน *Monochoria hastata* (L.) Solms., ส่วนของลำต้นและใบ *Hiptage candicans* Hook.f. มีจุดเกิดขึ้น 2 จุด จากรายงานการวิจัยพบว่า *Diplazium esculentum* ประกอบด้วยสาร ฟีนอล (phenol) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Anderson *et. al*., 2003: 292-29 และ Jayanta *et.al*., 2017: 195-203) สารออกฤทธิ์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มของฟีนอลเมื่อวิเคราะห์โดย HPLC ประกอบไปด้วย Gallic acid, G-resorcyclic acid, Chlorogenic, p-coumaric acid, Ferulic acid, Ellagic acid, Quercetin, Luteolin, Kaempferol และ Apigenin (Somananda *et.al.,*2014: 94-97)

Hiptage benghalensis ประกอบไปด้วยสาร Alkaloids, Carbohydrates, Flavonoids, Reducing sugars, Saponins และ Steroids (Licayan *et.al*., 2016: 164-169)

Monochoria vaginalis สารพฤกษเคมีในส่วนของดอก (Flower) ประกอบไปด้วย Carbohydrates, Protein, Amino acid, Alkaloids, Saponins, Phenolic compounds, Tannis, Flavonoids, Glycosides (Chandran *et.al.,*2011: 1-11)

Crateva religiosa สารพฤกษเคมีในส่วนของ (Stem) ประกอบไปด้วย Alkaloids, Flavonoids, Glycosides และ Terpenoids (Wagay *et.al.,* 2017: 343-354) และสกัดด้วยเมทานอล ประกอบไปด้วย Terpenoid, Steroid and Terpenoids, Phenols, Flavonoids, Alkaloids, Tannins และ Saponins สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ประกอบไปด้วย Terpenoid, Steroid and Terpenoids และ Alkaloids (Hade *et.al*., 2016: 189-196)

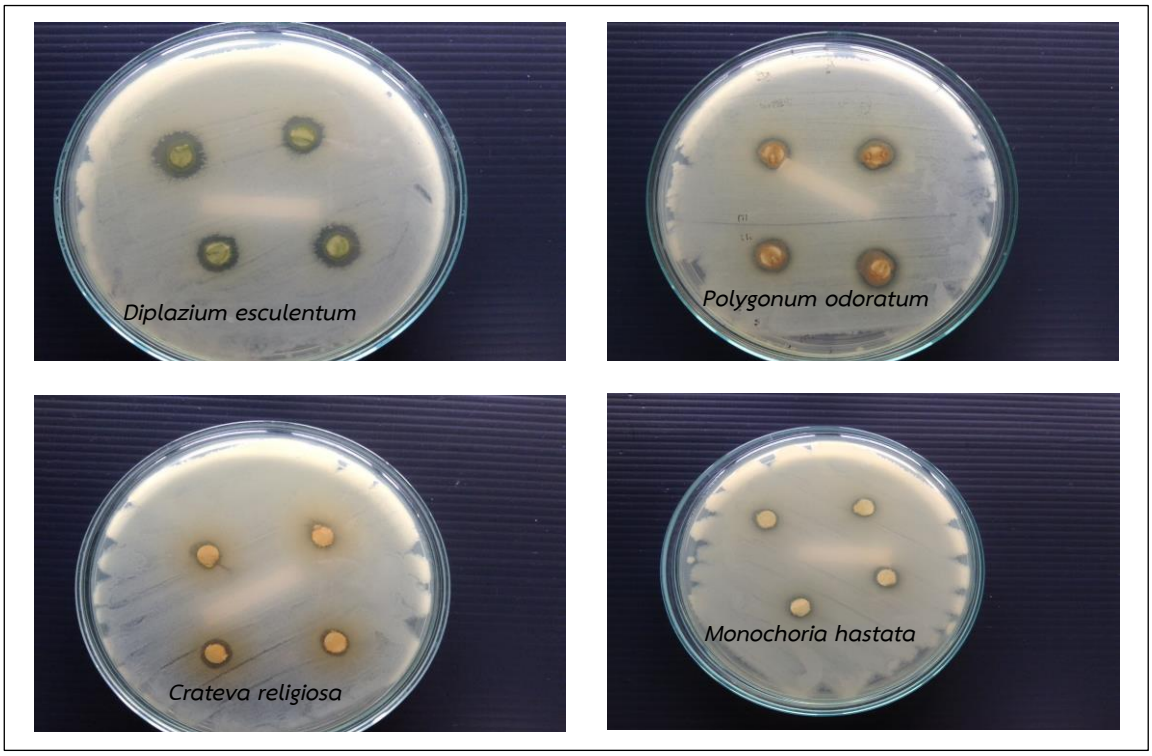
ตอนที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ผลจากการตรวจสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพร 5 ชนิด 7 ตัวอย่าง ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus* (TISTR1395) และ *Staphylococcus epidermidis* (TISTR518) เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Escherichai coli* (TISTR074) และ *Pseudomonas aeruginosa* (TISTR1287) พบว่า สารสกัดจากเปลือกกุ่มน้ำ ดอกผักตบไทย และส่วนยอดของผักแพวและผักกูด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยสารสกัดจากส่วนยอดผักกูดมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อ *B.cereus* ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบทุกชนิดไม่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากสมุนไพรต่อแบคทีเรียทดสอบ

สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	B.cereus	*S.epidermidis*	*E.coli*	*P.aeruginosa*
T1= *Crateva religiosa* Ham. (กุ่มน้ำ=เปลือก)	2.25±0.25	NI	NI	NI
T2= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ใบ)	NI	NI	NI	NI
T3= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ลำต้น)	NI	NI	NI	NI
T4= *Hiptage candicans* Hook.f. (ควายเก้าแม่=ราก)	NI	NI	NI	NI
T5= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)	1.75±0.50	NI	NI	NI
T6= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)	3.75±0.50	NI	NI	NI
T7= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)	5.25±0.95	NI	NI	NI

หมายเหตุ NI คือ ไม่มี inhibition zone



รูปที่ 4.2 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรีย *B.cereus*

เมื่อทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ของสารสกัดจากเปลือกกุ่มน้ำ ดอกผักตบไทย และส่วนยอดของผักแพวและผักกูด ในการยับยั้งและทำลายเชื้อ *B.cereus* โดยส่วนยอดของผักกูด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและทำลายเชื้อ *B.cereus* เท่ากับ 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง (MIC) และทำลาย (MBC) แบคทีเรีย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ผักพื้นบ้าน	**MIC (mg/ml)**	**MBC (mg/ml)**
T1= *Crateva religiosa* Ham. (กุ่มน้ำ=เปลือก)	100	200
T5= *Monochoria hastata* (L.) Solms. (ผักตบไทย=ดอก)	80	160
T6= *Polygonum odoratum* Lour. (ผักแพว=ยอด)	50	50
T7= *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. (ผักกูด=ยอด)	40	80

จากรายงานของ Akter *et. al.*, (2014: 723-733) รายงานว่า *Diplazium esculentum* ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งเชื้อ *Sarcina lutea* (18.67 mm) > *Samonella typhimurium* (16.33mm) > *Bacillus subtilis* (15.33 mm) > *Klebsiella pneumonia* (15.33 mm) > *Shigella boydii* (14.67 mm) > *Escherichia coli* (12.33 mm) > *Staphylococcus aureus* (11.33 mm) > *Vibrio cholera* (10.67 mm) โดยมีค่าต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อระหว่าง 1.6-12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Punnanee *et.al*., (2012: 126-130) นำใบของ *Diplazium esculentum* สกัดด้วย 75% เอทานอล ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ได้

Amit *et.al*., (2011: 77-79) ทำการสกัด *Diplazium esculentum* (leaves, rhizome และ roots) สกัดด้วยน้ำและแอลกอออล์ พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อได้ 4 ชนิด ได้แก่ *E.coli*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella typhi* และ *Staphylococcus aureus*

Gowsalya and Saravanababu (2013: 179-181) ทำการสกัด *Crateva religiosa* ด้วยคลอโรฟอร์ม เอทานอล และเฮกเซน สามารถยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecalis*, *E.coli* และ *Staphylococcus aureus*

Sahoo *et.al*., (2008: 245-247) ทำการสกัด *Crateva religiosa* ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เอทานอล พบว่าสามารถยับยั้ง *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Cryptococus marinus* และ *Aspergillus niger*

Wagay *et.al*. (2017: 343-354) ศึกษาสารสกัด *Crateva religiosa* ในส่วนของลำต้นสกัดโดยใช้ 50% แอลกอฮอล์ พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (*Sarcina maxima*, *Serratia marcescens* และ *Pseudomonas aeruginosa*) และเชื้อรา (*Aspergillus niger* และ *A. flavus*) ได้

Monochoria hastate สกัดด้วย 50% เมทานอล และเอทิลอะซิเตท มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus mutans* และ *E.coli* (Mlsra *et.al*., 2018: 533-540)

Polygonum odoratum สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *E.coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* (Nanasombat and Teckchuen, 2009: 443-449)

ตอนที่ 4 ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac

การให้สารสกัดจากรากของ *Hiptage candicans* Hook.f. และยอดของ *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. เป็นประจำทุกวันไม่ได้ส่งผลต่อการดำรงชีวิต ซึ่งเห็นได้จากน้ำหนักตัวของหนูทดลองไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่ได้รับสารและกลุ่มควบคุม ตลอดระยะเวลาการศึกษา (ตารางที่ 4.6) และจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดอยู่ในช่วงปกติ (Zhang *et al*., 2011) ไม่แตกต่างจากสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมทุกช่วงเวลา ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดดังกล่าวไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทดลอง แต่เมื่อสัตว์ทดลองได้รับสารสกัดของ *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเม็ดเลือดขาวน้อยกว่าในชุดควบคุม (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.6 แสดงน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดทุกวันเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ชุดทดลอง	น้ำหนัก (กรัม)
2	ชุดควบคุม	21.47±0.40
	HCR	22.22±0.33
	DES	23.23±0.28
4	ชุดควบคุม	22.92±0.33
	HCR	23.58±0.24
	DES	23.63±0.21

หมายเหตุ HCR=สารสกัดจากรากของ *Hiptage candicans* Hook.f.
DES=สารสกัดจากยอดของ *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.

จากรายงานการวิจัยหลาย ๆ งานชี้ให้เห็นว่าสารสกัดน้ำของ *Diplazium esculentum* มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Kaushik *et.al.*,2012: 228-231) ส่วนของรากของ *Diplazium esculentum* สามารถนำมาใช้เป็นสารฆ่าแมลงและใช้ในการรักษาอาการไอและการไอเป็นเลือด (haemoptysis) (Anderson *et. al*., 2003: 292-29) ได้

ตารางที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดทุกวัน เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

ชนิดของเม็ดเลือดขาว	ระยะเวลา	สารสกัดสมุนไพร		
		control	HCR 10 mg/kg	DES 10 mg/kg
Lymphocytes	4	71.46	33.1	46.36
	8	67.31	49.01	nd
Eosinophils	4	0.71	1.08	3.45
	8	0.96	0.98	nd
Monocytes	4	7.22	18.99	5.54
	8	7.69	8.82	nd
Basophils	4	1.33	3.79	3.45
	8	0.96	1.96	nd
Neutrophils	4	19.28	43.04	41.2
	8	23.08	37.25	nd

หมายเหตุ HCR=สารสกัดจากรากของ *Hiptage candicans* Hook.f.
DES=สารสกัดจากยอดของ *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.
nd= 1 สไลด์ของ Blood smear พบเม็ดเลือดขาวน้อยมาก

Meena *et.al.* (2014) ทดสอบความเป็นพิษของ CCl_4 ในหนูขาว โดยการให้ CCl_4 ในหนูขาว พบว่า การให้สารดังกล่าวส่งผลให้ค่า LPO เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นการบ่งบอกถึงการสูญเสียโครงสร้างภายในของตับ แต่เมื่อนำสารสกัดน้ำจากชิ้นส่วนของใบ *Hiptage benghalensis* ในปริมาณ 100, 200 และ 300 mg/kg bw ระดับเอนไซม์ในซีรั่มและค่า LPO ลดลง และสามารถใช้รักษาโรคปวดท้องได้ (Elkington *et.al.*,2013: 607-615)

Chandran *et.al.* (2011: 1-11) ใช้แบบจำลองการอักเสบเฉียบพลันที่ใช้สำหรับทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยใช้ indomethacin เป็นตัวทำให้เกิดการบวมของอุ้งเท้าหนู แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม ได้รับ carrageenan กลุ่มที่ 2 ได้รับยามาตรฐาน Indomethacin กลุ่มที่ 3 และ 4 ได้รับสารสกัดจาก *Monochoria vaginalis* ปริมาณ 250 และ 500 mg/kg พบว่า สารสกัดจาก *Monochoria vaginalis* มีฤทธิ์ยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าของหนู

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากการศึกษาปริมาณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดหยาบของสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด 7 ตัวอย่าง ด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีสกัดเย็น พบว่า ผักตบไทย ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ ควายเก้าแม่ ผักกูด ผักแพว และกุ่มน้ำให้ปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด พบว่า สารสกัดจากควายเก้าแม่ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS แต่ไม่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ สารสกัดที่มีประสิทธิภาพต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี ได้แก่ สารสกัดจากผักกูด ผักแพว กุ่มน้ำ และผักตบไทยตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละชนิดจากหลาย ๆ แหล่ง และใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

2. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ควรใช้วิธีอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น FRAP, TRAP และ Lipid peroxidation

3. ควรทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ประกอบด้วย

บรรณานุกรม

กรรณิการ์ เทพมงคล, กรกนก รุ่งเรืองบูรณะกุล และ ชัชวิน เพชรเลิศ. 2556. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชกินได้บางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี**. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131.

กฤตติญารัตน์ สมวงศ์ ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา. 2012. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านบางชนิดเพื่อใช้สำหรับผมหงอกก่อนวัย. **The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012** ***"Pharmacy Profession in Harmony"***. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการ**. มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1(1).

ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี [online]. 2553. แหล่งที่เข้าถึง : **http://www.phargarden.com/**. [1 สิงหาคม 2561].

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2548. **การตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานของสมุนไพรโดยใช้วิธี Thin layer chromatography**. เอกสารประกอบการสอนวิชาการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ระดับนำร่อง ภาคการศึกษา 2548. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นันทวัน บุณยะประภัศร. 2539. **สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน (1)**. บริษัท ประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ.

นันทิยา สมภาร และคณะ. 2557. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวในหลอดทดลองและในร่างกายของหนูแรท. **ธรรมศาสตร์เวชสาร.** 14(1)(มกราคม-มีนาคม 2557) : 60-71.

บัณฑรวรรณ ธุระพระ, จันทนา บุญยะรัตน์, เยาวเรศ ชูลิขิต และสุภาวดี ตาวตี. 2559. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน.** 11 (ฉบับพิเศษ) ; 80-91.

บุหลัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** ปีที่ 21 ฉบับที่ 3 : 275-286.

บุหลัน พันธุ์สวรรค์ ไมตรี สุทธจิตต์ และสุพักตร์ พ่วงบางโพ. 2553. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกะทกรกทองพันชั่ง ผักหวานป่า เพกา และมะระขี้นก ในพื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา. **รายงานวิจัย**. มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา. พะเยา.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2551. **เรื่องแผนจัดการเพื่อคุ้มครองสมุนไพรในพื้นที่เขตอนุรักษ์ภูผากูด จังหวัดมุกดาหาร ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาแพทย์แผนไทย 2542**. กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพ.

ประสงค์ เทียนบุญ. 2553. บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. **วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ (วคอภ) พ.ศ.2553**. ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 : 69-76.

ปารมี สงขัย และวรางคณา สมพงษ์. 2560. การเชื่อมประสานของแอกโตไมโอซินธรรมชาติโดยการเติมสารสกัดจากใบพืช. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.** 25 (1): 86-100.

พิสิฏฐ์ บุญไชย. 2552. **ความรู้ ความเชื่อในการใช้สมุนไพรรักษาสุขภาพของชาวผู้ไทย จังหวัดยโสธร.** บทคัดย่องานวิจัยภูมิปัญญาท้องถิ่นด้านสุขภาพอีสาน.

ฟรินน์ [online]. 2014. แหล่งที่เข้าถึง : **http://frynn.com/.** [November 11, 2017].

ไมตรี สุทธจิตต์. 2555. **ความรู้พื้นฐานของออกซิเดชัน**. ใน วรพล เองวานิช, อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. สำนักพิมพ์นวัตกรรมสุขภาพ. เชียงใหม่.

ยุทธนา ทองบุญเกื้อ. 2551. **ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในวนอุทยานถ้ำเพชร-ถ้ำทอง อำเภอตาคลี จังหวัดนครสวรรค์**. สำนักงานบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 12 (นครสวรรค์) กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมารสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. **วารสารวิชาการ ม. อบ.**, 8(2): 76-88.

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และจิตรา สิงห์ทอง. 2554. **ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วังเซ็ง สิทธิกิจโยธิน และดวงฤดี เชิดวงศ์เจริญสุข. 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.** 16 (2554) 1 : 47-55.

วริศรา ชื่นอารมณ์ อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2010. สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม (Suaeda maritima). **ว.วิทย์. กษ.**, 41(3/1) (พิเศษ): 621-624.

สมภพ ประธานธุรารักษ์ พร้อมจิต ศรลัมพ์ นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และธีรเดช อุทัยวิทยารัตน์. 2548. **ศึกษาทบทวนการพัฒนามาตรการด้านวิจัยและการจัดการความรู้เพื่ออนุรักษ์พัฒนาและคุ้มครองภูมิปัญญาไทย สุขภาพวิถีไทย.** สถาบันวิจัยรับบสาธารณสุข.

สุชาดา มานอกและปวีณา ลิ้มเจริญ. 2558. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. **ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์.** 15(1): 106-117.

สุพัฒน์ ศรีสวัสดิ์ พนม สุขจันทร์ จารุวรรณ ประดับแสง และสมนึก ลิ้มเจริญ. (2556). ศึกษาพืชสมุนไพรประจำถิ่นและภูมิปัญญาการประยุกต์ใช้สำหรับการแพทย์พื้นบ้านในจังหวัดชายแดนภาคใต้. **Princess of Naradhiwas University Journal**. ฉบับพิเศษประจำปี 2556 : 14-27.

สุภาภรณ์ ปิติพร. 2552. **บันทึกของแผ่นดิน 1 หญ้า ยา สมุนไพร ใกล้ตัว.** พิมพ์ครั้งที่ 2 มูลนิธิโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร. กรุงเทพฯ.

สุวรรณี แสนทวีสุข ดวงใจ จงตามกลาง ทัศน์วรรณ สมจันทร์ และปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2555. ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. **แก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ 2**: 480-483.

สำนักงานพุทธศาสนาแห่งชาติ [online]. 2558. แหล่งที่เข้าถึง : **http://www.onab.go.th/**. [14 มกราคม 2561].

แหล่งเรียนรู้สมุนไพร [online]. 2557. แหล่งที่เข้าถึง **http://www. thaiherbal.org/**. [22 กันยายน 2560].

โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ.** ครั้งที่ 1. พี.เอส.พริ้นท์. กรุงเทพฯ.

Akter S., Hossain Md. M., Ara I. and Akhtar P. 2014. Investigation of *In vitro* Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic activity of *Diplazium esculentum* (RETZ). SW. **IJAPBC**. 3(3): 723-733.

Amit S., Sunil K., Bhatt S.P. and Arvind N. 2011. Antibacterial activity of *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. **Phamacognosy Journal**. 3(21): 77-79.

Anan R., Patnaik GK., Kulshreshtha DK., Dhawan BN., 1994. Antiurolithiatic activity of lupeol, the active constituent isolated from *Crateva nurvala*. **Phytother Res**; 8 (7): 417.

Anderson D.K., Hall E.D., Kumar R., Fong V., Endrinil LMS and Sani H.A. 2003. Determination of total antioxidant activity in three types of local vegetables shoots and the cytotoxic effect of their ethanol extracts against different cancer cell lines. **Asia Pacific J. Clin Nutr**. 12(3): 292-29.

Anderson, J. B., et al. 2003. Mode of selection and experimental evolution of antifungal drug resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. **Genetics**. 163(4): 1287-1298.

Brand-Williams N., Cuvelier M.E. 1995. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity**. Academic Press Limited. 28: 25-30

Chandran R., Thangaraj P., Shanmugam S., Thankarajan S. and Karuppusamy A., 2011. Antioxidant and anti-inflammatory potential of *Monochoria vaginalis* (Burm.F.) C. Presl.: awild edible plant. **Journal of Food Biochemistry**. 1-11.

Dejian H., Boxin O. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53 : 1841-1856.

Elkington B.G., Phiapalath P., Sydara K., Somsamouth V., Goodsmith N. I. and Soejarto D.D. 2014. Assessment of the importance of medicinal plants among communities around Khiat Ngong of Southern Laos. **JEB**. 35: 607-615.

Gennaro, A.R., 1990. **Remington's Pharmaceutical Sciences**. Mack Publishing Company.

Gohari, A.R., Hajimehdipoor, H., Saeidnia, S., Ajani, Y. and Hadjiakhoondi, A., 2011. Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP assay, **J. Med. Plants**. 10: 54-60.

Gowsalya P. and Saravanababu. 2013. Phytochemical and antimicrobial Activity of Selected Microorganism of Bark Extract of the Plant *Crataeva religiosa***. IJPBA**. 1(6): 179-181.

Hade, S. N. *et.al*., 2016. Evaluation of *Crateva nurvala* extracts as antioxidant, antiproteolytic and cytotoxic against hepato-carcinoma and mouse melanoma cell lines. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 6(09): 189-196.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivaco, J. M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*, **Food Chem**. 83: 547-550.

Jayanta, C., Sukanta, M., Swarnendu, R. and Usha, C. 2017. Antioxidant activity and Phytochemical screening of two edible wetland Pteridophytes *Diplazium esculentum* (Retz) SW. and *Marsilea minuta* L.-A comparative study. **World Journal of Pharmaceutical and Medical Research**. 3(9): 195-203.

Karagozler, A.A., B. Erdag, Y.C. Emek and D.A. Uygun, 2008. Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechashastata*. **Food Chemistry** 111: 400-407.

Kaushik A., Jijta C., Kaushik J.J., Zeray R., Ambesajir A. and Beyene L. 2012. FRAP(Ferric reducing ability of plasma) assay and effect of *Diplazium esculentum* (Retz) Sw. (a green vegetable of North India) on central nervous system. **Indian Journal of Natural Products and Resources**. 3(2): 228-231.

Lee, V.S., Chen, C.R., Lio, Y.W., Tzen, J.T. and Chang, C.I., 2008. Structural determination and DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea (Camellia sinensis), **Chem. Pharm. Bull**. 56: 851-853.

Licayan R.I., Del Rosario R.M., Palmes N.D. and Canencia O.P.. 2016. Phytochemical Profiles, Total Flavonoids, Total Phenolic Content and Antioxidant Activities Via Free Radical Scavenging Activities (FRSA) of Philippine Herbal Vines. **Pak.J.Nutr..** 15(2): 164-169.

Medthai [online]. 2017. แหล่งที่เข้าถึง : **http://www.onab.go.th/**. [August 4, 2017].

Mlsra D., Mandal M., Ghosh N. N. and Mandal V. 2018. Pharmacognostic Standardization of an Ethnomedicinal Aquatic Herb, *Monochoria hastate* (L.) Solms for its Antibacterial potentiality. **Pharmacogn J**.. 10(3): 533-540.

Nanasombat S. and Teckchuen N., 2009. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. **J. Med. Plant. Res**. 3(5): 443-449

Panichayupakaranant, P. and Kaewsuwan, S., 2004. Bioassay-guided isolation of antioxidant constituent from *Cassia alata* L. leaves**, Songklanakarin J. Sci. Technol**. 26: 103-107.

Punnanee S., Saranrat J. and Waris S. 2012. Antibacterial Activity of Selected Thai Indigenous Plants Against Food-Borne Pathogenic Bacteria. **IPCBEE**. 39: 126-130.

Rahman, M., Kuhn, I., Rahman, M., OlssonLiljequist, B. and Mollby, R. 2004. Evaluation of a scanner-assisted colorimetric MIC method for susceptibility testing of gram-negative fermentative bacteria. **Appl. Environ. Microbiol**. 70: 2398-2403.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine** 26: 1231-1237.

Sahoo S. *et al*. 2008. Antimycotic potential of *Crataeva religiosa* Hook and forst against some selected fungal pathogens. **Drug research**. 65(2): 245-247.

Semwal A., Farswan M.S., Upreti K., Bhatt S.P. and Upadhyaya K. 2013. Evaluation of Antioxidant Activity of Some Pteridophytes. **International Journal of Herbal Medicine.** 1(1): 2-5.

Siddique, N.A., MuJeeb, M., NaJmi, A.K. and Akram, M., 2010. Evaluation of antioxidant activity, quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of *Aegle marmelos,* **African J. Plant Sci**. 4: 1-5.

Somanananda K. A., Shantibala devi G. A. and Chattopadhyay S. 2014. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Polygonum odoratum* Lour**. IJBAB**. 2(1): 94-97.

Tachakittirungrod, S., Okonogi, S. and Chowwanapoonpohn, S., 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand : Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract, **Food Chem**. 103: 381-388.

Varalakshmi P., Shamila Y., Latha E., 1990. Effect of *Crataeva nurvala* in experimental urolithiasis. **J. Ethnopharmacol**. 28(3): 313.

Wagay, N. A., Khan. N. A., Rothe. S. P. 2017. Profiling of secondary metabolites and antimicrobial activity of *Crateva religiosa* G. Forst. Bark- A rare medicinal plant of Maharashtra India. **Int. J. Biosci**. 10(5): 343-354.

Wei, S.D., Zhou, H.C. and Lin, Y.M., 2010. Antioxidant activities of extract and fractions from the hypocotyls of the mangrove plant *Kandelia candel*, **Int. J. Mol. Sci.** 11: 4080- 4093.

Wichi H.P.,1988. Enhanced tum from the perspective effect on fore stomach and oesophageal squamous epithelium. **Food Chem Toxicol**. 26: 717-723.

World Health Organization (WHO). 1990. **Monographs on selected medicinal plants**. Geneva : World Health Organization.

Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51: 609-614.

Zhang XY, Zhan CL, Xiao YH, Xian-GT . 2011. Measurement and comparisons of organ weight, organ coefficient, hematological parameters and hematological biochemical parameters of specific pathogen free Balb/c mice. **Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research.** 15(41): 7734-7737.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

วิธีการเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ (รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 2554)

1. **การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20% (w/v)**
   ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

2. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid stock solution 5 mg/ml**
   ละลาย gallic acid 0.5 กรัม ใน 95% เอทานอล 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

3. **การเตรียมสารละลาย DPPH 62.5 µM**
   ละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 2.4643 มิลลิลิตร ในเมทานอลเล็กน้อย ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร

4. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT stock solution 1 mg/ml**
   ละลาย BHT 50.0 mg ในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

5. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid stock solution 0.5 mg/ml**
   ละลาย Ascorbic acid 25.0 mg ในเมทานอลและปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

6. **การเตรียมสารละลาย Acetate buffer 300 mM pH 3.6**
   ละลายโซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต 1.55 กรัม ในกรดอะซิติก 8 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

7. **การเจือจาง HCl ให้มีความเข้มข้น 40 mM**
   ปิเปต HCl เข้มข้น (12.04 M) 1.66 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

8. **การเตรียมสารละลาย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) 4.9 mM**
   ละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.0662 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

9. **การเตรียมสารละลาย ABTS 14 mM**
   ละลาย ABTS 0.0385 กรัม ในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เก็บไว้ในอุณฆภูมิห้องในที่มืด

10. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox stock solution**
    ละลาย Trolox 50.0 mg ในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

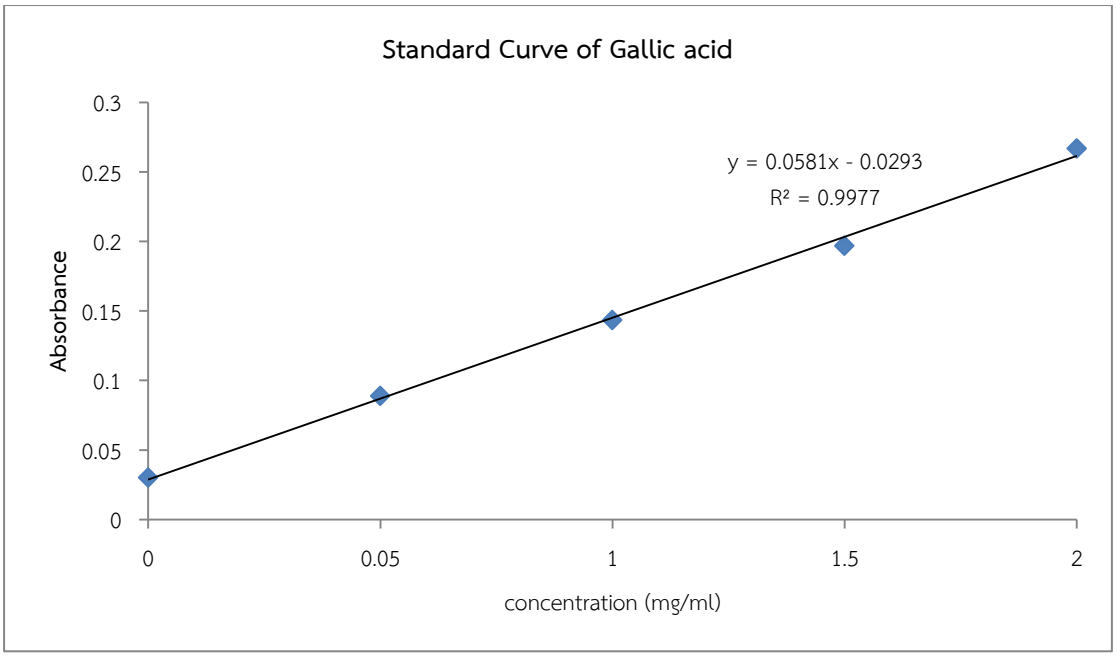
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐาน

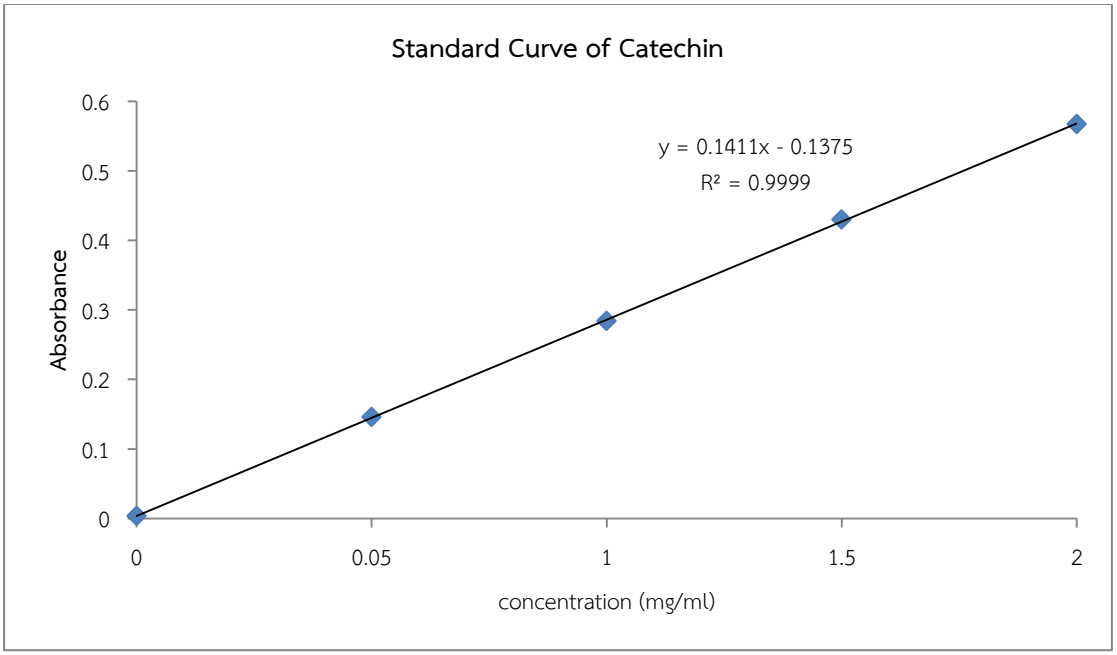
กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์

1. กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ Total Phenolics

1.1 กราฟมาตรฐานของ Gallic acid

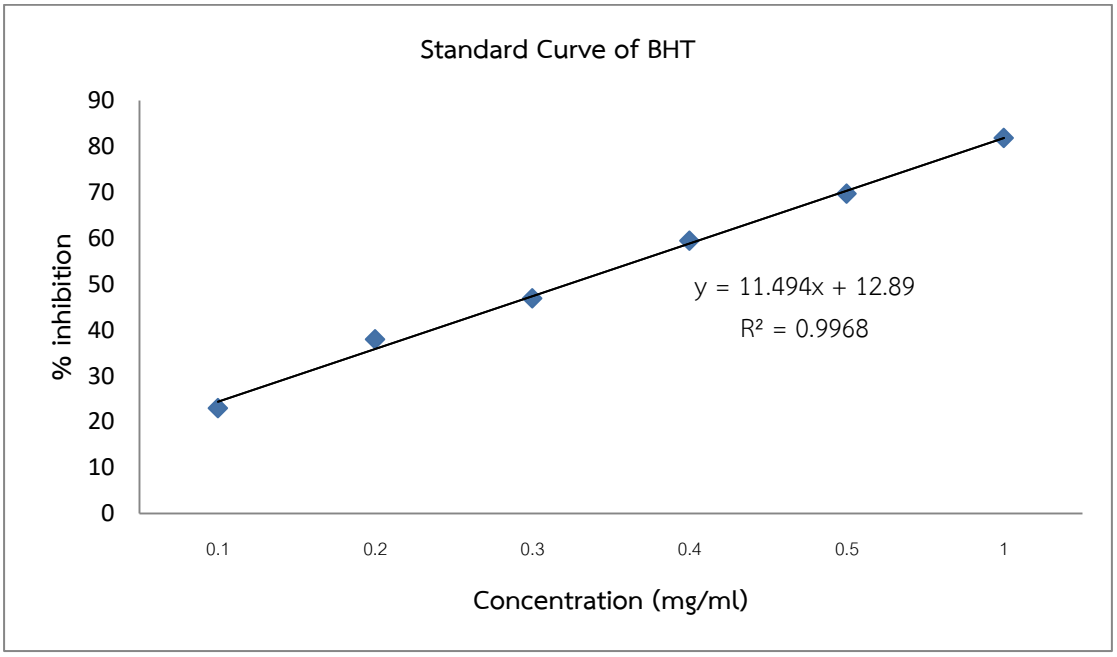


1.2 กราฟมาตรฐานของ Catechin

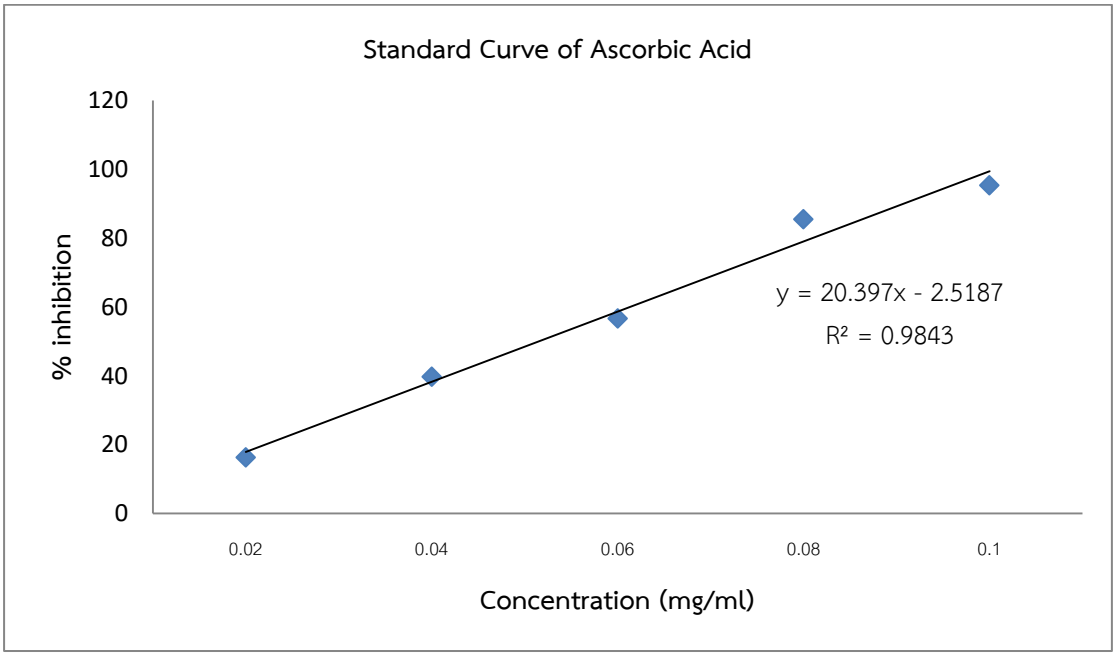


2. กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ Antioxidation ด้วย DPPH

2.1 กราฟมาตรฐานของ BHT

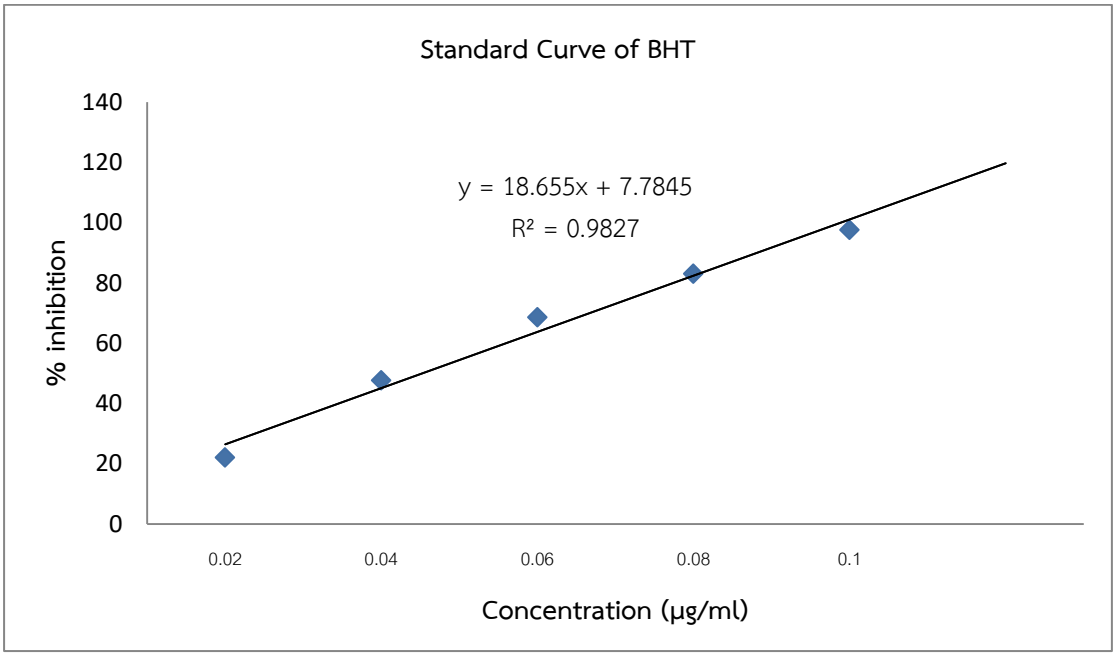


2.2 กราฟมาตรฐานของ Ascorbic acid

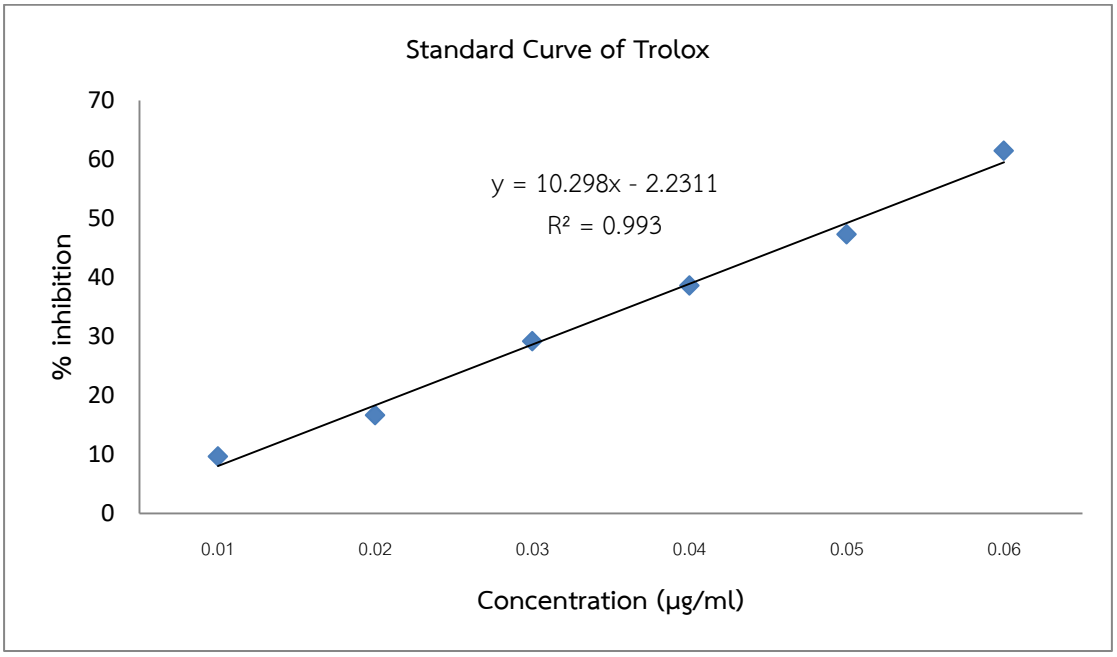


3. กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ Antioxidation ด้วย ABTS Assay

3.1 กราฟมาตรฐานของ BHT



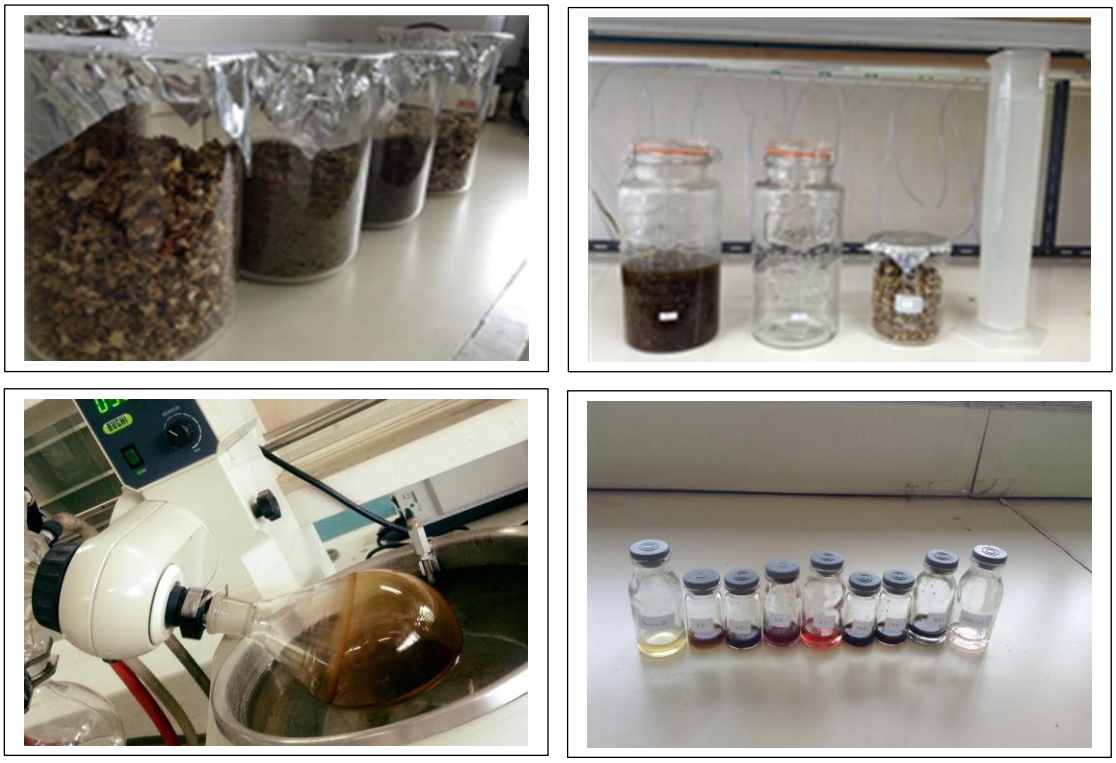
3.2 กราฟมาตรฐานของ Trolox



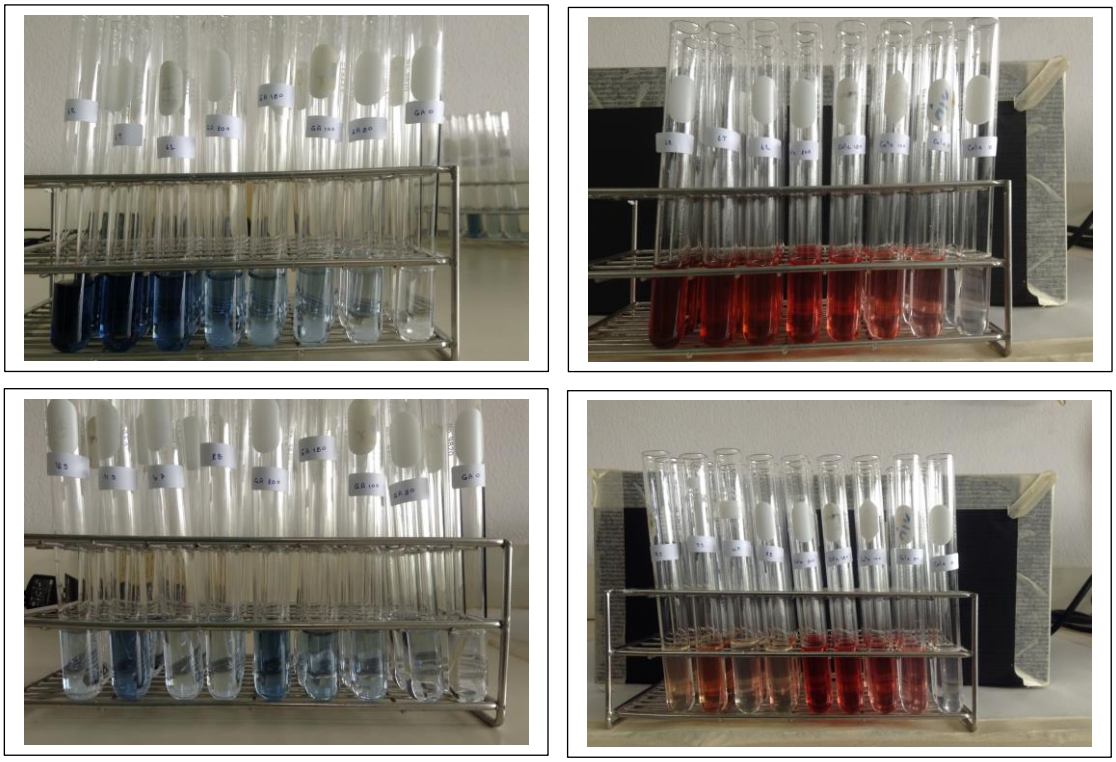
ภาคผนวก ค

ภาพประกอบการทดลอง

รูปที่ ค-1 แสดงชิ้นส่วนพืชสมุนไพร



รูปที่ ค-2 แสดงการเตรียมสารสกัด



รูปที่ ค-3 แสดง**การทดสอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์**

รูปที่ ค-4 แสดง**การทดสอบการต้านเชื้อ**

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวสุรางค์รัตน์ พันแสง
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Surangrat Punsaeng
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-6704-00213-29-9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย สายวิชาการ
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
   คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000
   โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2715 โทรสาร 056-717123
   e-mail: surangrat_aejung@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา วท.บ.(ชีววิทยา), วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ชีววิทยา เกษตรศาสตร์
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

   7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

   1. การศึกษาความพึงพอใจของนักศึกษาที่เรียนรู้แบบร่วมมือ วิชา ชีววิทยาเบื้องต้น (2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
   2. การใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ (2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
   3. การศึกษาสารสกัดชีวภาพเพื่อการผลิตกล้วยไม้เชิงเศรษฐกิจ (2554, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
   4. การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตทางการเกษตรในท้องถิ่น เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง (2554, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)
   5. การเปรียบเทียบการปลูกข้าวด้วยแหนแดงสดและปุ๋ยชีวภาพจากแหนแดง(2558, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
   6. การบูรณาการความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของพืชสมุนไพรประจำถิ่น (2559, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)
   7. การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภุฒิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac (2560, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย :

1. การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของต้นค้อและพืชกลุ่มใกล้เคียง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์(2548, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, สกอ)

2. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อนต่อพืชเศรษฐกิจในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2552, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

3. การประเมินคุณสมบัติดินและการจัดการในนาข้าวภายหลังการเกิดปรากฏการณ์อุทกภัย (2552, รับทุนสนับสนุนจาก สกอ. ผ่านเครือข่ายการวิจัยภาคเหนือตอนล่าง)

4. การพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติในจังหวัดเพชรบูรณ์อย่างยั่งยืน (2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

5. การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศทางภูมิศาสตร์ในการจัดการพื้นที่นาข้าวและการประเมินศักยภาพข้าวไทยในสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงเพื่อมุ่งสู่ระบบการปฏิบัติที่ถูกต้องและเหมาะสม (2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

6. โครงการส่งเสริมเครือข่ายเยาวชนเพื่ออนุรักษ์ลุ่มน้ำป่าสัก (2554, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

7. การจัดการขยะร่วมกับองค์การบริหารส่วนตำบล (2554, รับทุนสนับสนุนจาก สกอ.)

8. การพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศและฟื้นฟูพื้นที่ชุ่มน้ำในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2554, รับทุนสนับสนุนจาก สกอ.)

9. การหาแนวทางอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปูน้ำจืดวงศ์ Potamidae ชนิดหายากและการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นกำเนิด (2559, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน -

<u>การเผยแพร่</u>

[1] พวงผกา แก้วกรม สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์ สุ**รางค์รัตน์ พันแสง** และสุวภา น้อยจาก. 2550. ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชตระกูลปาล์มและความต้องการอนุรักษ์ของชุมชนในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (Biological diversity of Palm Family and the necessary to conservation by local community in Khao Kho District, Phetchabun Province). *วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1*: 35-50.

[2] **สุรางค์รัตน์ พันแสง**, สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และนันทวรรณ ทองคด. 2552. การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยพืชน้ำ. *วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาราชภัฏเพชรบูรณ์ 1*: 55-64.

[3] **สุรางค์รัตน์ พันแสง** และพวงผกา แก้วกรม. 2558. การเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารจากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากแหนแดงที่ใช้มูลไก่ มูลสุกร และมูลโค. *ใน การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 13 (เกษตรภาคเหนือตอนล่าง)* [2-3 พฤศจิกายน 2558]. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. (Poster)

[4] พวงผกา แก้วกรม จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี **สุรางค์รัตน์ พันแสง** แสงจันทร์ สอนสว่าง และนุชจรินทร์ แกล้วกล้า. 2559. การศึกษาการเพาะเชื้อเห็ดเอคไมคอร์ไรซาสกุล *Russula* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB และ MEB ในห้องปฏิบัติการ. ใน *การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลการวิจัยระดับชาติ "วิจัยรับใช้ชุมชน สร้างสังคมฐานความรู้"* [31 สิงหาคม 2559] ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี. (Poster)

[5] พวงผกา แก้วกรม **สุรางค์รัตน์ พันแสง** นุชจรินทร์ แกล้วกล้า ปอแก้ว พรมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร ฟักทอง. 2560. สภาพนิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่อาศัยปูป่าสกุล *Thaipotamon* ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน *การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาน "พะเยาวิจัย ครั้งที่ 6"* [28-29 มกราคม 2560ล ณ มหาวิทยาลัยพะเยา. (Poster)

[6] **สุรางค์รัตน์ พันแสง** พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร ฟักทอง. 2560. การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. ใน *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5* "วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0" [25 พฤษภาคม 2560] ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร (Poster)

[7] พวงผกา แก้วกรม **สุรางค์รัตน์ พันแสง** นุชจรินทร์ แกล้วกล้า ปอแก้ว พรมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร ฟักทอง. 2560. การศึกษาลักษณะภายนอกและคาริโอไทป์ของปูป่า (*Thaipotamon holthuisi*) ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5* "วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0" [25 พฤษภาคม 2560] ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร (Poster)

[8] **สุรางค์รัตน์ พันแสง**, พวงผกา แก้วกรม, ปอแก้ว พรมเพชร, สมเพียร ฟักทอง และแสงจันทร์ สอนสว่าง. 2560. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.). ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5*. "ความหลากหลายของชีวิต วัฒนธรรม เศรษฐกิจ. [6 พฤศจิกายน 2560]. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จ.สกลนคร (Poster)

[9] พวงผกา แก้วกรม, **สุรางค์รัตน์ พันแสง**, ปอแก้ว พรมเพชร, สมเพียร ฟักทอง, แสงจันทร์ สอนสว่างและสุรีย์พร ธรรมิกพงษ์. 2560. ผลของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อการเจริญเติบโตและลดปัญหาโรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5*. "ความหลากหลายของชีวิต วัฒนธรรม เศรษฐกิจ. [6 พฤศจิกายน 2560]. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จ.สกลนคร (Poster)

2. <u>ประวัติคณะผู้วิจัย</u>

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวพวงผกา แก้วกรม
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Puangpaka Kaewkrom
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-6701-01603-53-2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000
โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709 โทรสาร - e-mail: kpuangpaka@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา วท.บ.(เกษตรศาสตร์) วท.ม. (สัตววิทยา) วท.ด. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ ชีววิทยา นิเวศวิทยา เกษตรศาสตร์
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

1. การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของต้นค้อและพืชกลุ่มใกล้เคียง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (2548, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, สกอ)
2. ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของวงศ์ปาล์ม ในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2549, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย, BRT)
3. การศึกษาการใช้ประโยชน์ที่ดินแบบมีส่วนร่วมโดยประชาชนในพื้นที่ต้นน้ำของลุ่มน้ำป่าสัก (The study on community–based participation in landuse in head watershed, Pasak basin) (2550, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)
4. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อนต่อพืชเศรษฐกิจในจังหวัดเพชรบูรณ์ (The impact of climate change on economic plants in Phetchabun Province)) (2552, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ)
5. การประเมินคุณสมบัติดินและการจัดการในนาข้าวภายหลังการเกิดปรากฏการณ์อุทกภัย) (2552, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก สกอ. ผ่าน เครือข่ายการวิจัยภาคเหนือตอนล่าง)
6. การประเมินการสะสมคาร์บอน และการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณลำห้วยน้ำก้อ) (2551, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)
7. นิเวศวิทยาของปูน้ำจืดในวงศ์ Potamidae ในพื้นที่วิกฤตทางความหลากหลายชีวภาพเพื่อการอนุรักษ์โดยการมีส่วนร่วมของชุมชน (2557, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)

8. ความหลากชนิดของเห็ดไมคอร์ไรซาและการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ (2557, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานบริหารโครงการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ)
9. การเปรียบเทียบการปลูกข้าวด้วยแหนแดงสดและปุ๋ยชีวภาพจากแหนแดง (2558, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
10. การหาแนวทางอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปูน้ำจืดวงศ์ Potamidae ชนิดหายากและการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นกำเนิด (2559, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน -
การเผยแพร่

1. พวงผกา แก้วกรม สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์ สุรางค์รัตน์ พันแสง และสุวภา น้อยจาก. 2550. ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชตระกูลปาล์มและความต้องการอนุรักษ์ของชุมชนในอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (Biological diversity of Palm Family and the necessary to conservation by local community in Khao Kho District, Phetchabun Province). *วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1*: 35-50.
2. Puangpaka Kaewkrom, Sureeporn Thummikkaphong and Tussarin Somnoumtad. 2007. Population Ecology of Some Important Palm Species in Phetchabun Province. *Kasetsart Journal 41(3)*: 407-413.
3. พวงผกา แก้วกรม, กฤษมา มีศิริ และพรทินัน ปิติสม. 2550. เปรียบเทียบผลการใช้สารเคมีและไม่ใช้สารเคมีที่มีต่อคุณสมบัติของดินและประโยชน์ทางสังคมในระบบนิเวศเกษตรกรรม. *วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่นมหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1 (3)* : 15-24.
4. สุรางค์รัตน์ พันแสง, สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และนันทวรรณ ทองคด. 2552. การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยพืชน้ำ. *วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาราชภัฏเพชรบูรณ์* 1: 55-64.
5. พวงผกา แก้วกรม. 2556. โครงการประเมินผลกระทบจากขยะและการใช้ประโยชน์จากคาร์บอนฟุต ฟริ้นต์ในชุมชนและโรงเรียน. ใน *การประชุมโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1* โดยความร่วมมือของ 70 มหาวิทยาลัย. 21-23 มกราคม 2556. ณ ศูนย์วัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
6. พวงผกา แก้วกรม. 2556. โครงการบูรณาการบริหารจัดการพื้นที่ชุ่มน้ำในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน *การประชุมโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1* โดยความร่วมมือของ 70 มหาวิทยาลัย. 21-23 มกราคม 2556. ณ ศูนย์วัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. (Poster)
7. สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และ ภัทราวุธ พุสิงห์. 2557. การประเมินพื้นที่เสี่ยงภัยน้ำท่วม ตำบลน้ำก้อ อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยราชภัฏกลุ่มศรีอยุธยา* ครั้งที่ 5 วันที่ 21-22 ตุลาคม 2557 หน้า 628-633. (Poster)
8. สุรางค์รัตน์ พันแสง และพวงผกา แก้วกรม. 2558. การเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารจากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากแหนแดงที่ใช้มูลไก่ มูลสุกร และมูลโค ใน *การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร*

ครั้งที่ 13 (เกษตรภาคเหนือตอนล่าง) 2-3 พฤศจิกายน 2558. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. (Poster)

9. พวงผกา แก้วกรม จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี สุรางค์รัตน์ พันแสง แสงจันทร์ สอนสว่าง และนุชจรินทร์ แกล้วกล้า. 2559. การศึกษาการเพาะเชื้อเห็ดเอคไมคอร์ไรซาสกุล Russula บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB และ MEB ในห้องปฏิบัติการ. ใน *การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลการวิจัยระดับชาติ "วิจัยรับใช้ชุมชน สร้างสังคมฐานความรู้"* 31 สิงหาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี. (Poster)

10.พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แกล้วกล้า ปอแก้ว พรมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร ฟักทอง. 2560. สภาพนิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่อาศัยปูป่าสกุล Thaipotamon ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน *การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาน "พะเยาวิจัย ครั้งที่ 6"* 28-29 มกราคม 2560 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา. (Poster)

5. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวปอแก้ว พรมเพชร
   Miss Pokaew Promphet
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1670100018338
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำพิเศษ
4. ตำแหน่งทางวิชาการ -
5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000
โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, E-mail : Porkaew@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา
   วท.บ. (ชีววิทยา) วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)
7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
   ภูมิคุ้มกันวิทยา
8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย
   8.1 Porkaew Promphet, Sirirat Bunarsa, Manote Sutheerawattananonda, Anupan Kongbangkerd and Duangkamol Kunthalert. 2012. Alteration of lymphocyte subpopulation in mice fed lutein from marigold extract. In The 4th Science Research Conference. Phitsanulok: Faculty of Science, Naresuan University.
   8.2 Sirirat Bunarsa, Porkaew Promphet, Manote Sutheerawattananonda and Duangkamol Kunthalert. 2012. Hematological assessments of sericin-derived oligopeptides in BALB/c mice. In The 4th Science Research Conference. Phitsanulok: Faculty of Science, Naresuan University.

4. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวสมเพียร ฟักทอง
   Miss Sompian Fagtong
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3670100751040
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานปฏิบัติการ ชีววิทยา
4. ตำแหน่งทางวิชาการ -
5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000
โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, 089-4619199 E-mail : mai_bio45@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

   วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   การตรวจวิเคราะห์อาหาร การตรวจวิเคราะห์น้ำ ทางด้านจุลลินทรีย์
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

   - วิทยานิพนธ์ เรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดีปลากั้ง

5. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง
   Miss Sangjan Sonswang
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3670100389472
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานปฏิบัติการ ชีววิทยา
4. ตำแหน่งทางวิชาการ -
5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000
โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, E-mail : Sangjanbio@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

   วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   การตรวจวิเคราะห์อาหาร เทคนิคทางชีววิทยา การเก็บรวบรวมพันธุ์พืช
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย –