

ตัวอย่างผลการดำเนินงานสนองพระราชดำรินักกิจกรรมของ อพ.สธ. ของหน่วยงานที่ร่วม
สนองพระราชดำรินัก ในปีงบประมาณ 2558

กิจกรรมที่ 4 กิจกรรมอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุ์กรรมพืช

ดำเนินงานโดยกองทัพอากาศ

- การติดตามสภาพอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เพื่อใช้ในการเก็บเมล็ดพันธุ์

การติดตามผลและวิเคราะห์ข้อมูลสภาพอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เพื่อใช้ในการเก็บเมล็ดพันธุ์ ดำเนินการติดตามผลสภาพอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในรอบปี และวิเคราะห์ผลเพื่อกำหนดเวลาในการเก็บอากาศเย็นเข้าสู่ระบบเครื่องควบคุมห้องเย็น (ตู้ฉนวน) ในธนาคารเมล็ดพันธุ์ เครื่องควบคุมการทำงานของห้องได้แก่การควบคุมค่าของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องประกอบด้วยห้องละ 1 ชุด โดยมีหลักการทำงานของเครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ ตั้งค่าการทำงานของเครื่องควบคุมอุณหภูมิปัจจุบันตั้งค่าการทำงานอยู่ระหว่าง $12-15^{\circ}\text{C}$ ซึ่งหมายถึงเครื่องควบคุมจะให้พัดลมดูดเอาความเย็นภายนอกพระมหาธาตุฯ เข้ามายังห้องเก็บเมล็ดพันธุ์เมื่ออุณหภูมิภายนอกพระมหาธาตุต่ำกว่าหรือเท่ากับ $12-15^{\circ}\text{C}$ ในขณะที่พัดลมดูดอากาศเย็นภายนอกเข้าสู่ภายในห้องเก็บเมล็ดพันธุ์และภายในห้องมีอุณหภูมิเท่ากับ $12-15^{\circ}\text{C}$ พัดลมดูดอากาศจะหยุดการทำงานในขณะที่สภาพอุณหภูมิภายในห้องเก็บเมล็ดพันธุ์เริ่มสูงขึ้นเกิน $12-15^{\circ}\text{C}$ และอุณหภูมิภายนอกห้องต่ำกว่า $12-15^{\circ}\text{C}$ พัดลมดูดอากาศจะทำการดูดอากาศเย็นเข้าไปสู่ห้องเก็บเมล็ดพันธุ์จนกว่าอุณหภูมิในห้องเท่ากับ $12-15^{\circ}\text{C}$ พัดลมจะหยุดดูดอากาศ สำหรับอุณหภูมิภายนอกพระมหาธาตุสูงกว่า $12-15^{\circ}\text{C}$ พัดลมจะไม่ทำงานหรือไม่ดูดอากาศเข้าสู่ห้องเก็บเมล็ดพันธุ์ ปัจจุบันทางคณะทำงาน อพ.สธ. – ทอ. ได้ดำเนินติดตามตรวจสอบข้อมูลการทำงานและปรับปรุงการทำงานของระบบเป็นระยะ ๆ ความชื้นสัมพัทธ์ ตั้งค่าการทำงานของเครื่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องเก็บเมล็ดพันธุ์ให้มีค่าระหว่าง 40-60 % หมายถึง เครื่องควบคุมความชื้นจะทำงานดูดลดความชื้นเมื่อภายในห้องมีความชื้นเกิน 60 % และจะหยุดทำงานเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 40 %



แสดงเครื่องบันทึกข้อมูลอัตโนมัติ

ดำเนินงานโดยองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์

- การศึกษา วิจัย ทางด้านชีววิทยาโมเลกุลของพืชและสัตว์ (Plants Genetic and Animal Genetic)

1. งานศึกษา DNA พืช

- โครงการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิงบางชนิด โดยเทคนิค RAPD (Random – amplified Polymorphic DNA)

ผลการดำเนินงาน

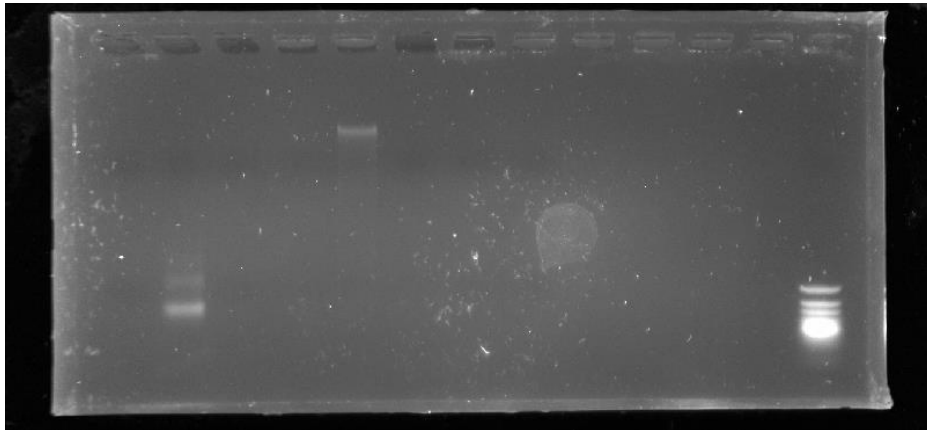
ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอจากพืชตระกูลขิง-ข่า ภายในศูนย์การเรียนรู้เศรษฐกิจพอเพียง จำนวนทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ ข่ากินใบ ขมิ้น มหาหงษ์ ไพลดำ ข่าเล็ก ว่านสาวหลงและกระเทียม เพื่อหาปริมาณดีเอ็นเอที่ได้มากที่สุดจากการสกัด 2 วิธี คือ สกัดด้วยดีเอ็นเอ ใช้วิธีดัดแปลงของ Doyle และ Doyle (1991) และการสกัดดีเอ็นเอด้วย innuPREP Plant DNA Kit ทั้งสิ้นจำนวน 6 ชนิด ทั้งสิ้น 48 ตัวอย่าง พบว่า การสกัดด้วย innuPREP Plant DNA Kit ได้ให้ปริมาณดีเอ็นเอที่มากกว่า



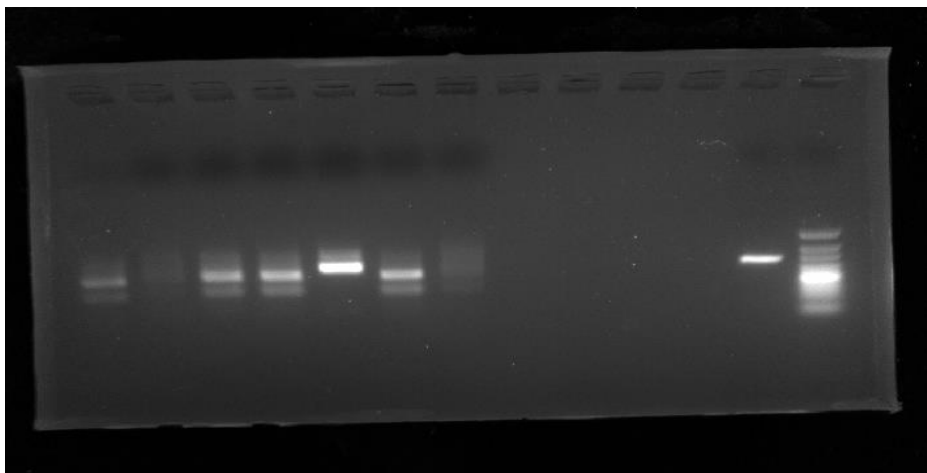
แสดงตัวอย่างของใบพืชในตระกูลขิง-ข่า



บดตัวอย่างพืชด้วยไนโตรเจนเหลว



การสกัดด้วยดีเอ็นเอ ใช้วิธีดัดแปลงของ Doyle และ Doyle (1991) พบว่า ขมิ้นและข่าเล็ก (แถบที่ 2 และ 5) ให้ปริมาณดีเอ็นเอออกมาได้มากกว่าตัวอย่างชนิดอื่นๆ เมื่อเทียบกับ Lambda DNA Standard



การสกัดดีเอ็นเอด้วย innuPREP Plant DNA Kit พบว่า ข่ากินใบ ขมิ้น มหาหงษ์ ไพลดำ ข่าเล็ก ว่านสาวหลง (แถบที่ 1- 7) ให้ปริมาณดีเอ็นเอที่มากกว่ากระทือ (แถบที่ 8) เมื่อเทียบกับ Lambda DNA Standard

2. งานศึกษา DNA fingerprint สัตว์

- โครงการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแม่ที่ปล่อยคืนธรรมชาติ (*Leiolapis belliana*) ในพื้นที่โครงการ อพ.สธ.-ทร. อ.สัตหีบ และพื้นที่โครงการ อพ.สธ.- สวนสัตว์เปิดเขาเขียว อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี

ผลการดำเนินงาน

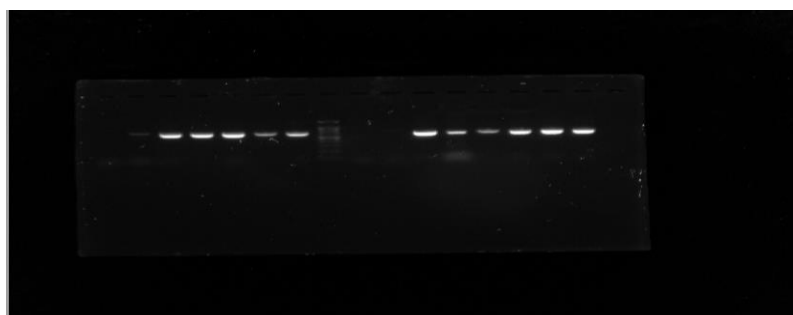
ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอจากแฉีเสื้อ *Leiolepis belliana* ในพื้นที่หมู่เกาะแสมสารทั้งสิ้น 34 ตัวอย่าง สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี FavoPrepTM Tissue Genomic DNA Extraction kitz จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR (Polymorase Chain Reaction) นำมาตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโตรโพลีซิส พบว่าได้ให้ปริมาณดีเอ็นเอมากในทุกตัวอย่าง กระบวนการสุดท้ายอยู่ในขั้นตอนการส่ง Sequencing เพื่อการแปลรหัสพันธุกรรม



แฉีเสื้อ (*Leiolepis belliana*)



การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อในการนำมาสกัดดีเอ็นเอ



ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอบน 0.4 % อะกาโรสเจล

ดำเนินงานโดยองค์การเภสัชกรรม

- โครงการแปรรูปสมุนไพรคุณภาพเพื่อใช้ในโรงงาน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)
2. เพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบสมุนไพรที่ได้คุณภาพเพื่อใช้ในโรงงานสารสกัดขององค์การเภสัชกรรม
3. เพื่อสร้างภาพพจน์ที่ดีให้กับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติขององค์การเภสัชกรรม ในเรื่องแหล่งวัตถุดิบแบบ GAP
4. เพื่อเป็นแปลงสาธิตและแหล่งเรียนรู้การผลิตวัตถุดิบสมุนไพรครบวงจร

พื้นที่เป้าหมาย

โรงงานแปรรูปสมุนไพร พื้นที่องค์การเภสัชกรรม อำเภอนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี

เป้าหมาย

จำนวนชนิดของสมุนไพรที่แปรรูปไม่น้อยกว่า 5 ชนิดเป้าหมายเชิงคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรที่ผลิตได้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพขององค์การเภสัชกรรม

ผลการดำเนินงาน

แปลงพรมมิที่ปลูกจำนวน 3 ไร่ในปี 2557 ที่ได้เก็บเกี่ยวและแปรรูปตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-กันยายน 2557 และได้วัตถุดิบพรมมิแห้งจำนวน 750 กิโลกรัม มีการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 (crop 1) เพิ่มในเดือนตุลาคม 2557 ได้วัตถุดิบพรมมิแห้งอีกจำนวน 700 กิโลกรัม รวมได้วัตถุดิบพรมมิ 1,450 กิโลกรัม หรือประมาณ 480 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งตรวจสอบแล้วว่ามีปริมาณสารสำคัญ คือ total saponin 1.2-1.8% และมีคุณสมบัติอื่นผ่านมาตรฐานที่กำหนด นอกจากนี้ยังมีการเก็บเกี่ยวครั้งที่สอง (crop 2) ในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2557 เพื่อศึกษาข้อมูล อีก 650 กิโลกรัม พบว่ามีสารสำคัญน้อยลง คือมีปริมาณสารสำคัญ คือ total saponin 0.8-1.1%

แปลงพรมมิที่ปลูกจำนวน 3 ไร่ในเดือนพฤษภาคม 2558 ได้เก็บเกี่ยวและแปรรูปตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-กันยายน 2557 ได้วัตถุดิบพรมมิแห้งจำนวน 465 กิโลกรัมซึ่งทดสอบแล้วว่ามีปริมาณสารสำคัญ คือ total saponin 1.6- 2.0 % และมีคุณสมบัติอื่นผ่านมาตรฐานที่กำหนด จะต้องมีการเก็บเกี่ยวและแปรรูปพรมมิในแปลงนี้เพิ่ม รวมทั้งเก็บเกี่ยวแปรรูปพรมมิในแปลงที่ปลูกในเดือนสิงหาคม 2557 อีก 3 ไร่โดยเริ่มเก็บเกี่ยวเมื่ออายุของพรมมิประมาณสามเดือนจำนวนชนิดของสมุนไพรที่แปรรูปในปี 2558 มีเพียงชนิดเดียวคือ พรมมิ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ “จีพีโอ พรมมิ ชนิดเม็ด” ที่เริ่มวางตลาดในเดือนกันยายน 2557 มียอดขายดีกว่าประมาณการ จึงมีความต้องการวัตถุดิบพรมมิ

จำนวนมาก ซึ่งพรมมิแห้งที่ใช้ผลิตสารสกัดมาจากการปลูกเองเพื่อควบคุมว่าเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับมาจากมหาวิทยาลัยนครสวรรค์และมีผลวิจัยแล้ว



ภาพแสดง การตากพรมมิในโรงตากแสงอาทิตย์และการอบพรมมิในตู้อบ

ดำเนินงานโดยกรมวิทยาศาสตร์บริการ

- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สนองพระราชดำริโดยกรมวิทยาศาสตร์บริการ

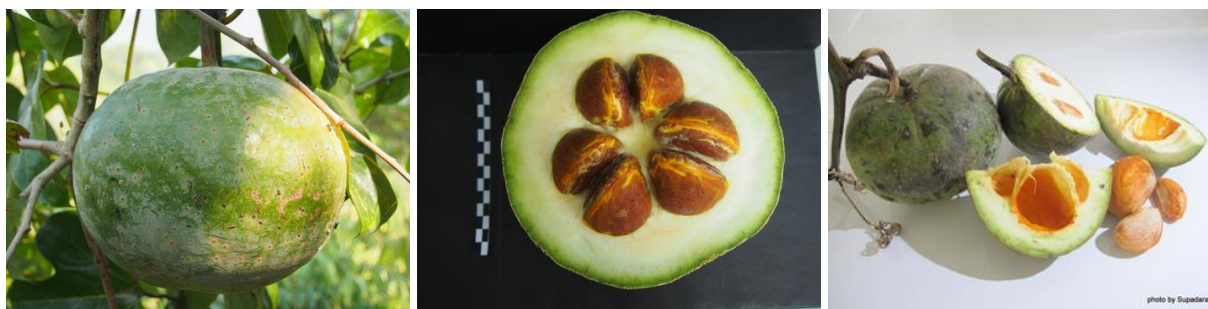
วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อร่วมสนองพระราชดำริในกิจกรรมอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมพืช
2. ศึกษาองค์ประกอบทางอาหารของผลมะเกี๋ยงและพืชอนุรักษ์
3. เพื่อส่งเสริมให้เกิดความร่วมมือและการทำงานในเชิงบูรณาการระหว่างหน่วยงานภายในของรัฐและประชาชน

ผลการดำเนินงาน

ด้านการวิเคราะห์ทดสอบส่วนประกอบของกรดไขมันของพืชอนุรักษ์ ที่เก็บจากพื้นที่ปลูกในเขตวิจัยของโครงการ อพ.สธ. ในเขตภาคเหนือของประเทศไทยโดยโครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบดำเนินการทดสอบตัวอย่างเมล็ดมะเกี๋ยง (*Hodosonia* sp. รหัส HOD-001) และจัดทำรายงานผลส่งให้โครงการ อพ.สธ. รายการส่วนประกอบของกรดไขมันรวม 16 รายการ ได้แก่ กรดไมริสติก กรดปาล์มมิติก กรดปาล์มมิโดลินิก กรดเฮกซะดีคาโนอิก กรดสเตียริก กรดโอลินิก กรดไลโนล

อีก กรดไลโนลินิก กรดอราซดิก กรดไอโคซีนอีก กรดปีฮีนิกกรดลิกโนซีริก ไขมันอิ่มตัว ไขมันไม่อิ่มตัว
ตำแหน่งเดียว ไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง และไขมันทรานส์



ตัวอย่างผลมะเกี๋ยง

ดำเนินงานโดยองค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย

- โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมมะเกี๋ยง

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมมะเกี๋ยงให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์จากผลมะเกี๋ยงให้สามารถผลิตเชิงอุตสาหกรรมและจำหน่ายเชิงพาณิชย์ได้
3. เพื่อเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์โดยการเพิ่มรสชาติในการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

ผลการดำเนินงาน

มะเกี๋ยงเป็นผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ไทยผลสุกมีสีม่วงแดงรสชาติเปรี้ยวฝาดมีคุณค่าทางโภชนาการสูงนิยมนำมาบริโภคทั้งในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปได้แก่น้ำมะเกี๋ยงพร้อมดื่มไวน์มะเกี๋ยงเนคตาร์มะเกี๋ยงเป็นต้นมะเกี๋ยงจัดเป็นพืชในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ซึ่งกำลังส่งเสริมให้มีการปลูกและอนุรักษ์พันธุ์พืชนี้ไว้ก่อนการประกาศโครงการส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อ.ส.ค.) ได้เข้าร่วมโครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยเลือกพัฒนาจากผลมะเกี๋ยงตามแผนการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ของอ.ส.ค. ปีงบประมาณ 2557-2559 มีนโยบายให้พัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมผลไม้ตามฤดูกาลเพื่อสุขภาพสร้างความหลากหลายและตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีแนวโน้มบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ใส่ใจสุขภาพและมีความแปลกใหม่

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมมะเกี๋ยง (Yoghurt with Makiang) มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมมะเกี๋ยงให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคสามารถผลิตเชิงอุตสาหกรรมเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและจำหน่ายเชิงพาณิชย์ได้โดยงานวิจัยศึกษา 1.) ระดับความสุกของผลมะเกี๋ยง 2.) ปริมาณน้ำตาลสำหรับทำเนื้อมะเกี๋ยงเชื่อมที่ร้อยละ 30, 35, 40 และ 45 3.)

การให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ 4.) อัตราส่วนของโยเกิร์ตต่อเนื้อมะเขี๋ยงเชื่อมที่เหมาะสมและ 5.) อายุ การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมมะเขี๋ยงผลการทดลองพบว่าสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดจะต้อง ใช้เนื้อมะเขี๋ยงจากผลมะเขี๋ยงสุกลักษณะสีม่วงดำเนื้อนิ่มไม่หยาบกระด้างและใช้ปริมาณน้ำตาลทรายใน การเชื่อมร้อยละ 35 ของส่วนผสมทั้งหมด (ส่วนผสมในการทำเนื้อมะเขี๋ยงเชื่อมได้แก่น้ำ, เนื้อมะเขี๋ยง, น้ำตาลทราย, เพคติน) ใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อ 80-85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาทีอัตราส่วน โยเกิร์ตต่อเนื้อมะเขี๋ยงเชื่อมที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์ 1 ถ้วยคือโยเกิร์ต 104-106 กรัมต่อเนื้อมะเขี๋ยง เชื่อม 14-16 กรัมโดยได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคร้อยละ 78.6 จากผู้ทดสอบ 150 คนคุณภาพ มาตรฐานของโยเกิร์ตผสมมะเขี๋ยงอายุการเก็บรักษา 15 วันที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียสไม่พบน้ำแยก ขึ้น (Syneresis) เมื่อคนโยเกิร์ตและมะเขี๋ยงให้เข้ากันโยเกิร์ตจะมีสีชมพูม่วงและมีขึ้นเนื้อมะเขี๋ยง สามารถเคี้ยวได้คุณภาพทางด้านเคมีพบว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดหรือ Total Soluble Solid เท่ากับ 19oBrix , ค่าพีเอชเท่ากับ 4.09 , ค่าความเป็นกรดเท่ากับ 0.85% คุณภาพ ทางด้านจุลินทรีย์พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 127×10^5 cfu/g , ปริมาณยีสต์และเชื้อราน้อยกว่า 1×10^1 cfu/g , ปริมาณโคลิฟอร์มน้อยกว่า 1×10^1 cfu/g และปริมาณแบคทีเรียชนิด *E.coli* น้อยกว่า 1×10^1 cfu/g



ภาพแสดง แสดงลักษณะเนื้อมะเขี๋ยงเชื่อมสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

ดำเนินงานโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- บทบาทของพรอพอลิสผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* ต่อการตายของเซลล์มะเร็งเต้านม BT-474

บทนำ

ผลิตภัณฑ์ของผึ้งมีหลายชนิด ได้แก่ น้ำผึ้ง นมผึ้ง เกสรผึ้ง ไขผึ้ง พืชผึ้งและพรอพอลิส ในส่วนของฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าพรอพอลิสมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลาย ๆ ชนิดที่น่าสนใจ จึงนิยมนำมาใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณ องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติต่าง ๆ ของพรอพอลิสขึ้นอยู่กับสภาพทางภูมิศาสตร์ ชนิดของผึ้ง ชนิดของพืชอาหาร เป็นต้น โดยทั่วไปพรอพอลิสมีลักษณะเป็นยางเหนียวมีสีน้ำตาลเข้ม พรอพอลิสที่ได้จากต้น Poplar (*Populus nigra* L.) ประกอบด้วย ยางจากพืช (50%), ไข (30%), น้ำมัน (10%), เกสรดอกไม้ (5%) และองค์ประกอบอื่น ๆ (5%)

พรอพอลิสมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลาย ๆ ชนิด เช่น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งพบว่าทั้งสารสกัดอย่างหยาบและสารประกอบมีฤทธิ์ที่ดีทั้งสองชนิด และให้ผลที่ดีทั้งในระดับ *in vitro* หรือ *in vivo* ยกตัวอย่างเช่น หนู mice เพศผู้แบบ BALB/c ได้รับสารสกัดอย่างหยาบด้วยเอทานอล (CEE) ของ Brazillian green propolis (200 mg/kg ของน้ำหนักตัว) เป็นเวลา 3 วัน ผลพบว่าหนูมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น มีการแสดงออกของยีน *Toll-like receptor (TLR)-2* และ *TLR-4* ที่สูงขึ้น และมีการสร้าง Pro-inflammatory interleukin (IL)-1 และ IL-6 ที่มากขึ้นใน Macrophages และ Spleenocyte cells นอกจากนี้ยังพบว่าพรอพอลิสทำให้มีการแสดงออกของ TLR-4 และกลุ่มของ Differentiation (CD) 80 ใน Human monocytes และเพิ่มระดับการแสดงออกของ Tumor necrosis factor (TNF)- α และ IL-10 ในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้นของสาร ถ้า TLR-4 ถูกยับยั้ง ผลพบว่าการผลิต Cytokine จะลดลง

พรอพอลิสมีสารประกอบทางเคมีอยู่ประมาณ 50 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวก Polyphenolic, flavonoids และ Fatty acids ยกตัวอย่างเช่น Baccharin ที่แยกได้จาก Brazillian propolis สามารถยับยั้ง Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยา Castration ของ Prostate cancer นอกจากนี้ยังพบว่า ในหนู Mice ซึ่งได้รับ Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญในพรอพอลิส ที่มีความเข้มข้น 5 μ M/kg โดยวิธี Intraperitoneal injection สามารถอาการกังวลลงได้ พบว่ามีการเกิด p38MAPK phosphorylation ที่ลดลง ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำงานของ Glucocorticoid receptor ที่มากขึ้น

Propoelix™ ซึ่งเป็นสารสกัดด้วยน้ำของพรอพอลิสใช้รักษาผู้ป่วยที่เป็นไข้เลือดออกได้ดี ผู้ป่วยจำนวน 63 คน ที่ได้รับ . Propoelix™ ขนาด 200 mg/แคปซูล จำนวน 2 แคปซูล จำนวน 3 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 7 วัน จะฟื้นไข้ได้เร็วอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 3 และวันที่ 6 ตามลำดับ

มีการรายงานถึงกลไกในระดับโมเลกุลของสารประกอบทางเคมีในพรอพอลิส ยกตัวอย่างเช่น CAPE (25 μ M) สามารถชักนำ Apoptosis ใน HeLa cervical cancer cell line (ME 180) หลังเลี้ยง

ร่วมกันเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง และชักนำ Cell cycle arrest ที่ระยะย่อย S และ G₂/M subphases, พบการแสดงออกที่สูงขึ้นของ E2F-1 target gene, cyclin A, cyclin E, apoptosis protease activating of factor-1 (Apaf-1) และ Myeloid leukemia cell differentiation protein (Mcl-1) แต่มีการแสดงออกของ Cyclin B ที่ลดลง

นอกเหนือจากนี้ ยังพบว่า Chrysin สามารถลดระดับของ Pro-inflammatory cytokines IL-1 β และ IL-6 ในน้ำเลือดในหนู Rat ที่มีอาการของ Type 2 diabetic โดยการชักนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง / streptozotocin เนื่องจาก Pro-inflammatory cytokines ซึ่งรวมถึง TNF- α มีบทบาทสำคัญต่อการต้าน Insulin resistance และการตอบสนองทางการอักเสบ, chrysin จึงเป็นเป้าหมายใหม่ในการใช้รักษา Type 2 diabetes

คาร์ดานอล ซึ่งเป็นสารประกอบ Phenolic มักพบใน Cashew tree (Anacardiaceae) family ถูกรายงานการค้นพบมาก่อนหน้านี้แล้วในพรอพอลิสของผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ต้านแบคทีเรีย และต้านออกซิเดชัน แต่อย่างไรก็ตามบทบาทการทำงานในระดับโมเลกุลยังไม่มีการรายงานถึง ในงานวิจัยนี้ เลือกใช้ BT-474 cell line ซึ่งเป็นมะเร็งเต้านมเป็นต้นแบบในการศึกษา เนื่องจากเป็นสาเหตุการตายของผู้หญิงไทยในระดับต้น ๆ

เนื่องจากคาร์ดานอลไม่สามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาด ในการทดลองนี้จึงต้องทำการสกัดบริสุทธิ์เอง ตามวิธีที่เคยรายงานมาแล้วก่อนหน้านี้ ในงานวิจัยนี้ให้ความสำคัญกับการเปลี่ยนแปลงทางสัญญาณวิทยาซึ่งสังเกตได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ศึกษา Cytotoxic activity โดยใช้ 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay และการเกิด Cell cycle arrest, apoptosis และ Necrosis ด้วยวิธี Flow cytometric analysis ร่วมกับการย้อมเซลล์ด้วยสี Annexin V และ Propidium (PI) พร้อมกับการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์และวัฏจักรของเซลล์โดยใช้เทคนิค Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) และ Western blot analyses และท้ายสุดได้มีการเสนอกลไกในระดับโมเลกุลของการทำงานของคาร์ดานอลที่มีต่อ BT-474 cell line

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาฤทธิ์ของพรอพอลิสของผึ้งพันธุ์ที่มีต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม BT-474
2. การตรวจสอบรูปแบบการตายของเซลล์มะเร็งเต้านม BT-474 พร้อมทั้งระยะในวัฏจักรของเซลล์ที่ถูกยับยั้งด้วยพรอพอลิส
3. ศึกษากลไกของพรอพอลิสในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม BT-474

วิธีดำเนินการวิจัย และแผนการปฏิบัติงาน

การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บพรอพอลิสของผึ้งพันธุ์จากจังหวัดน่าน แล้วทำการห่อด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันแสง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C

การสกัดบริสุทธิ์พรอพอลิส

การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบแยกส่วน

นำพรอพอลิส (90 กรัม) มาละลายใน 400 มล. ของ 80% (v/v) เมทานอล เขย่าที่ 100 รอบต่อนาที, 15°C , เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4930 g, 20°C เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไปทำการระเหยโดยใช้ Rotary evaporator (Buchi rotavapor R-114) เมื่อแห้งจะได้ Crude MeOH extract (CME) นำตะกอนมาผสมกับ 400 มล. ของ Dichloromethane (CH_2Cl_2) แล้วเขย่าต่อที่ 100 รอบต่อนาที, 15°C , เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4930 g, 20°C เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสแล้วนำมาทำการระเหยโดยใช้ Rotary evaporator เมื่อแห้งจะได้ Crude CH_2Cl_2 extract (CDE) ต่อจากนั้นนำตะกอนไปละลายใน 400 มล. ของ Hexane, เขย่าที่ 100 รอบต่อนาที, 15°C , เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากการปั่นเหวี่ยงที่ 4930 g, 20°C เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไประเหยโดยใช้ Rotary evaporator เมื่อแห้งจะได้ Crude hexane extract (CHE), นำ CME, CDE และ CHE ไปซึ่ง สังเกตลักษณะที่ได้ แล้วนำไปตรวจสอบ Antiproliferative activity และเก็บรักษาไว้ในที่มืด ที่ -20°C

โครมาโตกราฟี

Quick column chromatography

ทำการบรรจุ silica gel 60 G (0.063-0.2 mm) ลงใน Sintered glass (ขนาดความจุ 250 มล.) ใช้ปั๊มสุญญากาศในการช่วยอัดเจลให้แน่น ผสม Crude extract กับ Silica gel 60 จนกระทั่งผสมเป็นเนื้อเดียวกันและไม่เหนียว ต่อจากนั้นนำของผสมไปวางทางด้านบนของคอลัมน์ วางชั้นกระดาษกรอง (Whatman, 110 mm in Ø) บนของผสม หลังจากนั้นวางสำลีทางด้านบนของกระดาษกรอง เติม 1.5 ลิตรของตัวทำละลายต่อไปนี้ (500 มล. / ครั้ง, 3x) hexane 25% (v/v), CH_2Cl_2 - hexane 50% (v/v), CH_2Cl_2 - hexane 75% (v/v), CH_2Cl_2 100% (v/v), MeOH - CH_2Cl_2 4% (v/v), และ MeOH - CH_2Cl_2 30% (v/v) ลงในคอลัมน์ตามลำดับ เก็บ Fractions, สังเกตรูปแบบของสารประกอบทางเคมีของทุก Fractions ด้วย Thin layer chromatography (TLC), นำ Fraction ที่มีรูปแบบบน TLC ที่เหมือนกันมารวมกัน แล้วนำไประเหยและชั่งน้ำหนัก บันทึกลักษณะของสารที่ได้ แล้วนำไปตรวจสอบ Antiproliferative activity ด้วย MTT assay

Adsorption chromatography

นำ Silica gel 60 (90 กรัม) มาผสมกับ Hexane (250 มล.) บรรจุลงในคอลัมน์ แล้วนำ Fraction ที่มีฤทธิ์จาก Quick column chromatography มาผสมกับ Silica gel 60 (5-7 กรัม) จนกระทั่งของผสมไม่เหนียว ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปบรรจุลงบนด้านบนของคอลัมน์ คลุมด้วยสำลี ทำการชะด้วย 500 มล. ของ 100% (v/v) hexane, 50% (v/v) CH₂Cl₂-hexane, 75% (v/v) CH₂Cl₂-hexane และ 100% (v/v) MeOH ตามลำดับ เก็บ Fractions (ขนาด 2.5 ml) แล้วตรวจสอบรูปแบบขององค์ประกอบทางเคมีแต่ละ Fraction โดย TLC, จากผลบน TLC plate, นำ Fraction ที่มี Cardanol มารวมกัน แล้วทำการระเหย ซึ่งสารที่ได้

Thin layer chromatography (TLC)

ใช้วิธีนี้เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของตัวอย่าง ทำการตัด TLC plate (a silica coated plate, Merck) ให้มีขนาด 5 x 5 cm² ชีดเส้นทางด้านล่างของแผ่นโดยให้สูงจากขอบล่างขึ้นมา 0.5 ซม. ด้วยดินสอ ใช้ Capillary tube ถ่ายสารตัวอย่างลงบนเส้นที่ขีด โดยให้มีลักษณะเป็นจุด ถ้าตัวอย่างเหนียวขึ้นเกินไป ก็สามารถละลายตัวอย่างได้ด้วยตัวทำละลาย จากนั้นจุ่ม TLC plate ลงใน Solvent chamber, โดยใช้ 100% (v/v) CH₂Cl₂ เป็น Mobile phase, เมื่อองค์ประกอบทางเคมีเคลื่อนที่เกือบถึงด้านบนของ TLC plate ก็ทำการดึงแผ่นออกจาก Chamber, ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง สังเกตรูปแบบขององค์ประกอบทางเคมีบน TLC plate ภายใต้รังสี U.V.

การพิสูจน์โครงสร้างของสาร

ทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบใน Fraction ที่มีฤทธิ์และบริสุทธิ์ด้วย Mass Spectrometry (MS)

การเลี้ยงเซลล์มะเร็งและวัดอัตราการเจริญของเซลล์มะเร็ง

Cell culture

ได้รับ Breast cancer BT-474 cell line (ATCC no. HTB 20) มาจากสถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แล้วทำการเลี้ยงในอาหาร Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 ที่มี 5% (v/v) fetal calf serum (FCS), ทำการ Seed cells โดยทำการย้าย 1×10^5 เซลล์ลงใน 5 มล. ของอาหารที่อยู่ในฟลasks ขนาด 25-cm² แล้วทำการบ่มที่ 37 °C ที่มี 5% (v/v) CO₂ ทำการ Re-passage เมื่อความหนาแน่นของเซลล์ (Confluency) ถึง 70-80%

Cytotoxicity test

ใช้ 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay เป็นตัวตรวจสอบ ทำการ Seed BT-474 cell line (5×10^3 เซลล์ใน 200 μL ของอาหาร) ลงในแต่ละหลุมของ 96 well plate ทำการบ่มที่ 37 °C ที่มี 5% (v/v) CO_2 เป็นเวลา 24 ชม. ทำการละลาย Cardanol ด้วย Dimethylsulfoxide (DMSO) เพื่อเป็น Stock concentration, หลังจากนั้นใส่ 2 μL ของ Cardanol ลงไปใน

แต่ละหลุมโดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 100, 10, 1, 0.1, 0.01, และ 0.001 $\mu\text{g/mL}$, ตามลำดับ ใช้ DMSO (2 μL / หลุม) เป็นตัวควบคุม บ่มเซลล์ต่ออีก 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม 10 μL ของ 5 mg/mL ของ MTT solution ลงไปในแต่ละหลุม แล้วบ่มต่ออีก 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการย้ายสารละลายออก เติมสารละลายที่ประกอบด้วย 150 μL ของ DMSO และ 25 μL ของ 0.1 M glycine ลงไปในแต่ละหลุมเพื่อละลาย Formazan crystal, ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm โดยใช้ Microplate reader, แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการอยู่รอดของเซลล์ โดยคำนวณจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของการอยู่รอดของเซลล์} = \left(\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม}} \right) \times 100$$

ทั้งนี้กำหนดให้การอยู่รอดของเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเป็น 100%, ทำการวาดกราฟโดยกำหนดให้แกน Y แสดงเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเซลล์ และแกน X แสดงความเข้มข้นของ Cardanol, ทำการลากเส้นในแนวนอนจากตำแหน่งของ 50% บนแกน Y จนกระทั่งถึงเส้นกราฟ แล้วลากเส้นกราฟลงมาในแนวตั้งจนสัมผัสแกน X, จุดตัดบนแกน X แสดงค่า IC_{50} value ของ Cardanol

Growth curve

ทำการเตรียม Untreated BT-474 cells และ Treated BT-474 cells (โดยใช้ความเข้มข้นที่ค่า IC_{50} value), ใช้ MTT assay เพื่อดูตรวจสอบผล ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ทุก ๆ 1, 2, 3, 5, และ 7 วัน วาดกราฟที่แสดงเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเซลล์ (แกน Y) และเวลา (แกน X) ทำการเปรียบเทียบแนวโน้มของเส้นกราฟระหว่างตัวอย่างและตัวควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สัณฐานของเซลล์

เตรียมเซลล์ 3 กลุ่ม (2×10^5 เซลล์/มล.) กลุ่มที่ 1 คือ ตัวควบคุม กลุ่มที่ 2 เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับ 30 $\mu\text{g/mL}$ ของ Cardanol และกลุ่มที่ 3 เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ ของ Doxorubicin (Positive

control), สังเกตสัณฐานของเซลล์ในทุกกลุ่ม ทุก ๆ ระยะการบ่มที่ 0, 24, 48, และ 72 ชม. โดยใช้ Inverted microscope (Ziess) ที่เชื่อมต่อกับ Digital camera (Cannon EOS 7D)

การตรวจสอบ Apoptosis และ Necrosis

ทำการเลี้ยง BT-474 cells ($3-5 \times 10^6$ cells/ml) ใน CM ที่มีการเติม (i) DMSO ใช้เป็นตัวควบคุม, (ii) 30 $\mu\text{g/ml}$ คาร์ดินอล และ (iii) 0.5 $\mu\text{g/ml}$ doxorubicin (ตัวควบคุมแบบบวก) เมื่อถึงเวลาบ่มที่ต้องการ ทำการเก็บเซลล์ โดยการปั่นเหวี่ยง ($3,000 \times g$, 4°C เป็นเวลา 10 นาที) ล้างเซลล์ด้วย 1 ml ของ 1 x phosphate buffer saline (PBS) ที่เย็น และทำการเก็บเซลล์ ละลายตะกอนใน 50 μl ของ 1 x binding buffer pH 7.4 (10 mM Hepes, 140 mM NaCl และ 2.5 mM CaCl_2) ทำการย้อมสีเซลล์ด้วย 1 μl ของ Annexin V (Alexa Fluor 488 conjugate, cat. # A13201, Life Technologies) และ 5 μl ของ 1 mg/ml propidium iodide (PI) (P4864, Sigma Aldrich) ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้ววิเคราะห์ผลด้วย Flow cytometry

การตรวจหา Cell cycle arrest

ทำการเลี้ยง BT-474 cells ($1-100 \times 10^6$ cells/ml) ในอาหาร CM ที่มีการเติม (i) DMSO ใช้เป็นตัวควบคุม, (ii) 30 $\mu\text{g/ml}$ คาร์ดินอล และ (iii) 0.5 $\mu\text{g/ml}$ doxorubicin (ตัวควบคุมแบบบวก) เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชม. ทำการเก็บเซลล์ตามที่ระบุข้างต้น ละลายตะกอนเซลล์ใน 500 μl PBS ที่เย็นและ 200 μl 70% (v/v) เอทานอลที่ -20°C เป็นเวลา 1 คืนหรือแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 4 ชม. ทำการเก็บเซลล์เหมือนกันที่ระบุไว้ข้างต้น ละลายตะกอนเซลล์ด้วย 250 μl PBS ที่มี 0.1 mg/ml RNase ทำการบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากเก็บเซลล์ ละลายเซลล์ด้วย 12.5 μl ของ 1 mg/ml PI ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที แล้ววิเคราะห์ผลด้วย Flow cytometry ทำการแปลผลในรูปแบบของ (1) sub G_1 phase (apoptotic cells), (ii) G_1 phase (diploid chromosome content), (iii) S phase (DNA synthesis) และ (iv) G_2/M subphase (double diploid)

การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน

ในระดับ Transcription

ทำการเลี้ยง BT-474 cells ($1-100 \times 10^6$ cells/ml) ในอาหาร CM ที่มีการเติม (i) DMSO ใช้เป็นตัวควบคุม, (ii) 30 $\mu\text{g/ml}$ คาร์ดินอล และ (iii) 0.5 $\mu\text{g/ml}$ doxorubicin (ตัวควบคุมแบบบวก) เป็นเวลา 72 ชม. แล้วทำการเก็บเซลล์ ทำการสกัด Total RNA ด้วย RNeasy Plus Mini Kit (Cat. # 74134, Qiagen) ทำการชะ RNA ด้วย 20 μl RNase-free H_2O และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 nm (A_{260} และ A_{280}) ตามลำดับ คำนวณหาความเข้มข้นของ RNA ตามสมการต่อไปนี้

$$\text{ความเข้มข้นของ RNA } (\mu\text{g/ml}) = (A_{260}) \times \text{dilution factor} \times (40)$$

ความบริสุทธิ์ของ RNA ที่สกัดได้ คำนวณจาก A_{260}/A_{280} ratio เก็บรักษา RNA ที่สกัดได้ที่ -20°C

ศึกษาระดับการแสดงออกของยีนโดยใช้ qRT-PCR เลือกศึกษา 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็น Death receptor group ที่เกี่ยวข้องกับ Apoptosis ได้แก่ *B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)*, *Mcl-1*, *mitogen activating protein-kinase activating death domain (MADD)*, *cellular FLICE-like inhibitory protein (c-FLIP)* และ *Human death receptor 5 (DR5)* กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ยีนที่เกี่ยวข้องกับ Cell cycle ได้แก่ *p21*, *cyclin D1*, *cyclin E*, *cyclin A*, *cyclin-dependent kinase 4 (CDK4)*, *CDK6* และ *CDK2*

เตรียมปฏิกิริยาโดยใช้ One Step SYBR PrimeScript RT-PCR Kit II (cat. # TKR-RR064A, Takara) แต่ละปฏิกิริยา (20 μl สำหรับปริมาตรสุดท้าย) ประกอบด้วย Total RNA (10 ng), 10 μl 2x one step SYBR RT-PCR buffer, 1 μl Prime Script 1 step enzyme mix, 0.5 μl ของแต่ละ Forward และ Reverse PCR primer (20 μM stock) และ RNase-free d- H_2O รายละเอียดของ Forward และ Reverse primers อยู่ในตารางที่ 1 ภาวะที่ PCR ทำงาน คือ 95°C เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วย 40 รอบของ 94°C เป็นเวลา 15 วินาที, $x^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 30 วินาที และ 72°C เป็นเวลา 30 วินาที ค่า x แสดงไว้ในตารางที่ 1 ระดับการแสดงออกของยีนเปรียบเทียบกับระดับการแสดงออกของ β -actin ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุม คำนวณหาระดับการแสดงออกของยีนโดยใช้ Crossing point (Cp) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ระดับการแสดงออก} = 2^{-(\text{Cp actin} - \text{Cp target})}$$

ค่า Cp value มีความสัมพันธ์กับตัวต้นแบบเริ่มต้นและบ่งบอกถึงระดับการแสดงออกของ mRNA

ตารางที่ 1 แสดง Forward and reverse primers (5' $\rightarrow$ 3') ที่ใช้ใน qRT-PCR.

Gene		Nucleotide sequence	T_m ($^{\circ}\text{C}$)	Reference
<i>β-actin</i>	F	GACCTGACTGACTACCTCATGA	55	Lirdprapamongkol et al.
	R	AGCATTTGCGGTGGACGATGGAG		
<i>MADD</i>	F	TCAACCCACTCATCTATGGCAATG	60	Li et al. (2011)
	R	GCGGAATTGAAGAACCGTACCA		
<i>c-FLIP</i>	F	CCAGAGTGTGTATGGTGTGGAT	60	Li et al. (2011)
	R	TCTCCCATGAACATCCTCCTGAT		

Gene		Nucleotide sequence	T _m (°C)	Reference
<i>Bcl2</i>	F	TGGGATGCGGGAGATGTG	60	Li et al. (2011)
	R	CGGGATGCGGCTGGAT		
<i>Mcl1</i>	F	AGCAGAGGAGGAGGAGGAC	55	Lirdprapamongkol et al. (2013)
	R	GCCTGCTCCCGAAGGTA		
<i>DR5</i>	F	TGCTGCTCAAGTGGCGC	60	Pillai et al. (2011)
	R	GGCATCCAGCAGATGGTTG		
<i>P21</i>	F	CACTCCAAACGCCGGCTGATCTTC	55	Weglarz et al. (2006)
	R	TGTAGAGCGGGCCTTTGAGGCCCTC		
<i>E2F1</i>	F	GCCACTGACTCTGCCACCA	60	Galanti et al. (2008)
	R	GGACAACAGCGTTCTTGCT		
<i>Cyclin A</i>	F	GAAGACGAGACGGGTTGCA	60	Galanti et al. (2008)
	R	AGGAGGAACGGTGACATGCT		
<i>Cyclin D1</i>	F	AATGACCCCGCACGATTTC	60	Ullmannova et al. (2003)
	R	TCAGGTTTCAGGCCTTGAC		
<i>Cyclin E</i>	F	TTCTTGAGCAACACCCTCTTCTGCAGCC	58	Potemski et al. (2006)
	R	TCGCCATATACCGGTCAAAGAAATCTTGTGCC		
<i>CDK2</i>	F	TTTGGAGTCCCTGTTCGTAC	58	Chiang et al. (2010)
	R	TGCGATAACAAGCTCCGTCC		
<i>CDK4</i>	F	CTTTGACCTGATTGGGCTGC	58	Chiang et al. (2010)
	R	GGAGAGGTGGGAGGGGAATG		
<i>CDK6</i>	F	TCTTGCTCCAGTCCAGCTAC	60	Ullmannova et al. (2003)
	R	AGCAATCCTCCACAGCTCTG		

ในระดับโปรตีน

ใช้วิธีการของ Western blot analysis โดยปรับปรุงวิธีจาก Lirdprapamongkol et al. ทำการเลี้ยง BT-474 cells ($1-100 \times 10^6$ cells/ml) ในอาหาร CM ที่มีการเติม (i) DMSO ใช้เป็นตัวควบคุม, (ii) 30 µg/ml คาร์ดานอล และ (iii) 0.5 µg/ml doxorubicin (ตัวควบคุมแบบบวก) เป็นเวลา ๗.๓. ทำการเก็บเซลล์และ Lyse ด้วย 150 µl radioimmunoprecipitation assay buffer ที่ประกอบด้วย 1x halt protease phosphatase และ phosphatase inhibitor cocktail ที่มี EDTA

(catalog# 78440, Thermo Scientific, USA), บนน้าแข็ง วัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วยวิธี Bradford assay

ทำการ Load 20 μg โปรตีนลงในแต่ละหลุมของ Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel (SDS-PAGE) ที่มี 7 และ 4% (w/v) acrylamide separating และ stacking gel ตามลำดับ หลังจากการทำ Electrophoresis ที่ 15 mA เป็นเวลา 105 นาที จึงทำการย้ายโปรตีนสู่ Immobilon-P nylon membrane (Millipore, Bedford, MA, USA) ด้วยวิธี Electroblotting ที่ 100 V เป็นเวลา 90 นาที ทำการ Blocked ด้วย 3% (w/v) bovine serum albumin (BSA) พร้อมเขย่าเบา ๆ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชม. ทำการ Probe ด้วย Primary antibodies (Cell Signaling Technology) ที่เจือจางใน 3% (w/v) BSA ให้เป็น 1: 1000 (ยกเว้น anti-pERK ที่ทำให้เจือจางเป็น 1: 5000) เป็นระยะเวลา 1 คืนที่ 4 °C ในที่มืด ล้าง Membrane ด้วย 1x TBS/T, pH 7.6 (20 mM Tris และ 137 mM NaCl) ทำการบ่มร่วมกับ Horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody (catalog# W4021 and W4011, Promega, USA) ใน TBS/T ที่มี 5% (w/v) skim milk (1: 10000 mouse, 1: 5000 rabbit) พร้อมเขย่าเบา ๆ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชม. ดูผลโดยใช้ Western bright ECL reagents (Advansta, Menlo Park, CA, USA) และ Image Quant LAS 4,000 mini instrument (GE Healthcare Life Sciences)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำเสนอผลในรูปแบบของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1 S.D.) ในแต่ละการทดลองมีการทำซ้ำ 3 ครั้ง ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย Tukey's test โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ ทุกการวิเคราะห์ใช้ SPSS program version 19.0

ผลการดำเนินงาน

สารสกัดอย่างหยาบของพรอพอลิสจาก *A. mellifera*

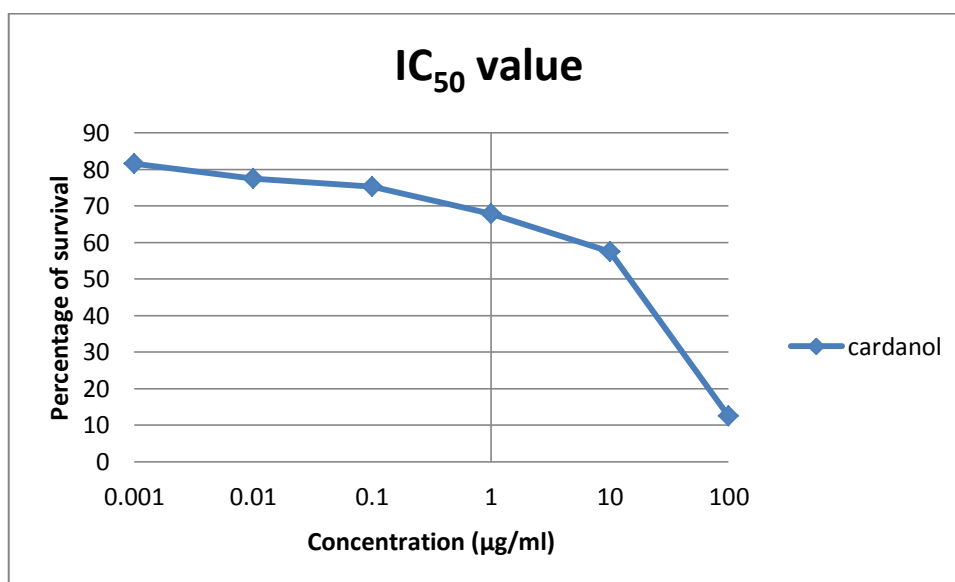
หลังจากทำการสกัดพรอพอลิสของ *A. mellifera* (90 กรัม) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด (MeOH, CH_2Cl_2 , และ hexane), ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Yield ที่สูงที่สุดได้จาก CHE (21,600 mg), สีของเม็ดสีถูกกำจัดทิ้งใน CHE จึงทำให้เห็นว่าตัวอย่างนี้มีสีน้ำตาลที่จางลง ในขณะที่ตัวอย่างที่เหลือยังคงมีสีน้ำตาลที่ยังเข้มอยู่ ถึงแม้ว่า Crude extract ทั้งหมดแสดง Antiproliferative activity ต่อ BT-474, แต่ CDE มีฤทธิ์สูงที่สุด ($\text{IC}_{50} = 29.97 \pm 6.17 \mu\text{g/ml}$) ดังนั้นจึงนำ CDE ไปทำให้บริสุทธิ์ต่อไปโดยใช้โครมาโตกราฟี

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะและ IC_{50} value ของ Crude extract (CME, CDE, และ CHE)

Crude extract	น้ำหนัก (mg)	% yield ของพรอพอลิส	ลักษณะ	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
CME	600	0.33	ชั้นเหนียวและมีสีน้ำตาลเข้ม	38.26 ± 4.28
CDE	1,540	1.71	ชั้นเหนียวและมีสีน้ำตาลอ่อน	29.97 ± 6.17
CHE	21,600	24	สีเหลืองอ่อน	39.18 ± 6.27

ผลของ Cardanol

เนื่องจาก CDE (1,540 mg) มีฤทธิ์สูงสุด จึงทำการสกัดบริสุทธิ์ต่อโดยใช้ Quick column chromatography และ Adsorption chromatography, พิสูจน์ว่าเป็น Cardanol โดยพิจารณาจาก Rf value บน TLC plate และค่า Spectrum ของ Mass spectrometry, ผลพบว่าได้ Cardanol ที่บริสุทธิ์ 0.52 mg จากพรอพอลิสเริ่มต้นที่ 90 กรัม คำนวณได้ IC_{50} value ที่ $15.57 \pm 1.73 \mu\text{g/ml}$ (รูปที่ 1) โดยมีค่าใกล้เคียงกับที่เคยรายงานไว้ใน Teerasriprecha et al. (2012), ซึ่งเคยรายงานไว้ว่ามี IC_{50} value ของ Cardanol ที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ BT-474 cell lines ที่ $13.95 \pm 0.9 \mu\text{g/ml}$

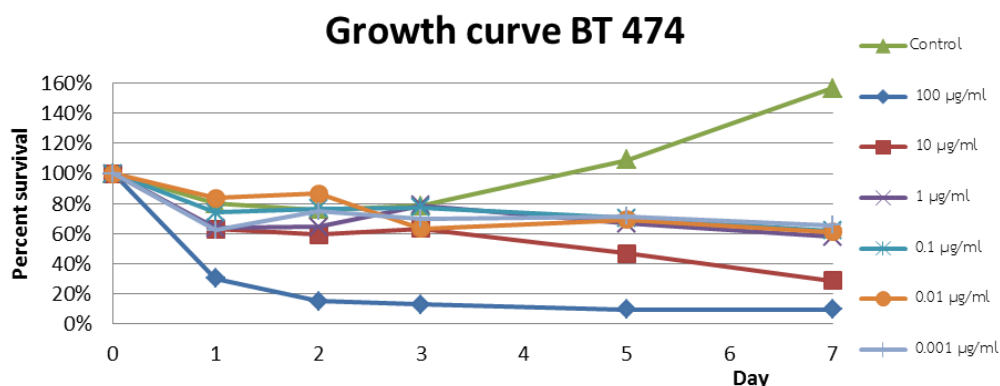


รูปที่ 1 แสดง IC_{50} value ของ Cardanol ที่มีต่อ BT 474 cell line

Growth curve

การเติบโตของ Untreated BT-474 cells และ Treated BT-474 cells ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ Cardanol (0.001-100 $\mu\text{g/ml}$) แสดงในรูปที่ 2, เมื่อพิจารณาทั้ง 4 ระยะของ Growth curve,

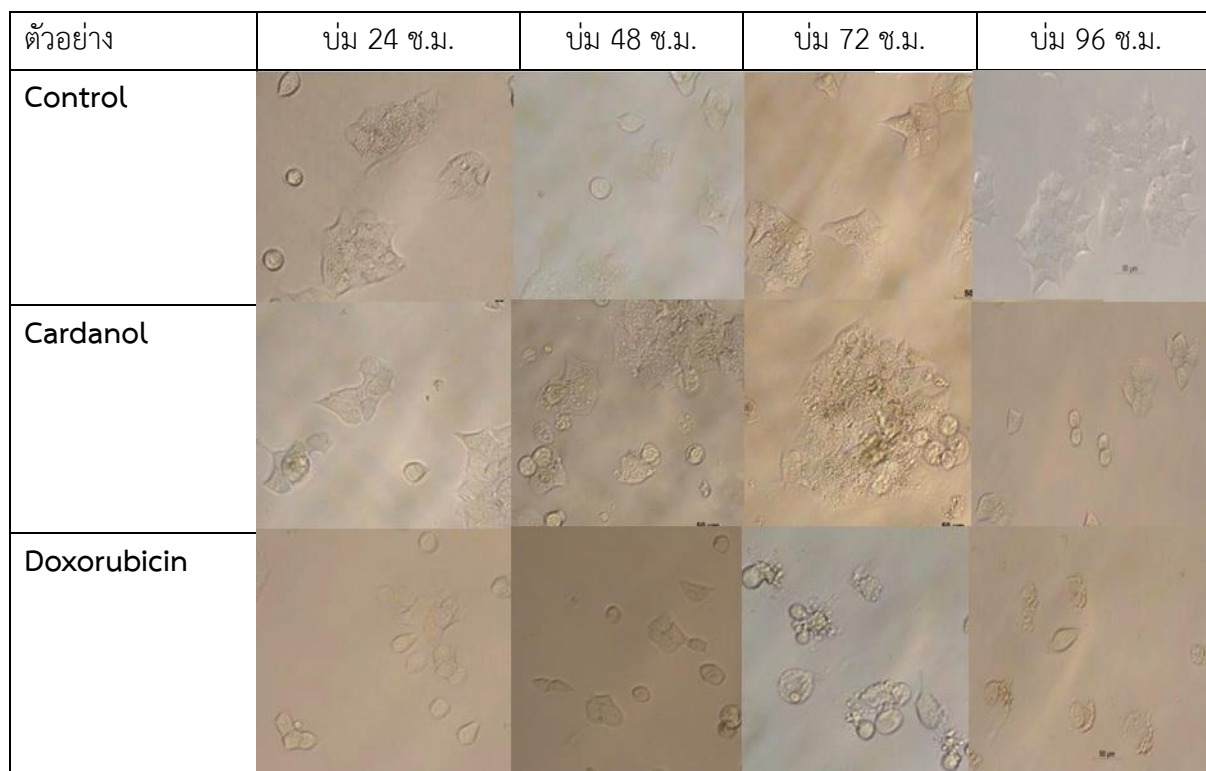
จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ของการอยู่รอดของเซลล์ถูกบันทึกเริ่มจาก Lag phase ไปจนถึง Log phase เพราะหลังจากนั้นจะเริ่มเห็นการตายของเซลล์ที่อยู่ในกลุ่ม Treated BT-474 cells, พบว่า Cardanol ที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ มีฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของ BT-474 ดีที่สุด ในภาพรวมจะเห็นได้ว่า Cardanol มีฤทธิ์ยับยั้งในลักษณะที่ขึ้นอยู่กับเวลาและความเข้มข้น



รูปที่ 2 Growth curve of untreated and treated BT-474 cell line.

การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของ BT-474 cells

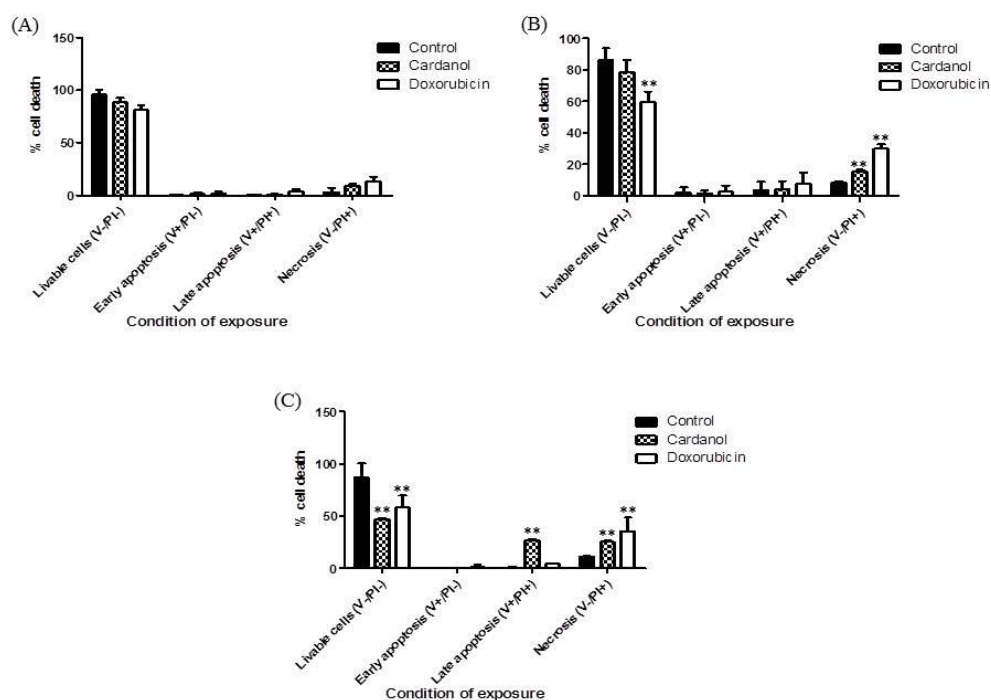
ทำการบ่ม Untreated BT-474 cells และ Cardanol treated BT-474 cells (IC_{50} value conc.) เป็นเวลา 96 ชม. ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของเซลล์ทุก ๆ 24 ชม. ผลของการเปลี่ยนแปลงแสดงในรูปที่ 4, ในภาพรวมของ Untreated BT-474 cells, สังเกตเห็นว่าเซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ มีรูปร่างแบนและยึดติดกับพื้นผิว แต่สัณฐานของ Cardanol treated cells มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันออกไป โดยเฉพาะแตกต่างจากกลุ่มควบคุม หลังการบ่ม 24 ชม. สังเกตเห็นเซลล์ลอยเกิดการหลุดตัวของเซลล์ หลังการบ่ม 48 ชม. สังเกตเห็นเซลล์มารวมกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ และหลังการบ่ม 72 ชม. เห็นจำนวนเซลล์น้อยลงมาก สำหรับการทดลองนี้ ใช้ Doxorubicin (0.5 $\mu\text{g/ml}$), ซึ่งเป็น Chemotherapeutic drug, มาเป็น Positive control, สัณฐานของ Doxorubicin treated BT-474 cells มีการเปลี่ยนแปลงจากกลุ่มควบคุมเป็นอย่างมาก แต่มีลักษณะของการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายกับ Cardanol treated BT-474 cells, แต่อย่างไรก็ตามสังเกตเห็นการรวมกันเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ของเซลล์ มีรูปร่างคล้ายขมพู่ สังเกตได้ชัดเจนว่ามีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่น้อยลงมาก (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงสัณฐานของ Cardanol treated BT-474 cells หลังการบ่มที่ 24, 48, 72, และ 96 ช.ม. ใช้กำลังขยายที่ 200x, ภาพมาจากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การชักนำให้เกิด Apoptosis และ Necrosis

ทำการย้อมสีเซลล์โดยใช้ Annexin V และ PI แล้วสังเกตผลด้วย Flow cytometry ผลแสดงดังในรูปที่ 4 พบเซลล์มีชีวิตอยู่มากในกลุ่มควบคุม (98 % ที่ 24 ช.ม. ถึง 78 % ที่ 72 ช.ม.) พบการตายแบบ Apoptosis บ้างเล็กน้อย ในทางตรงกันข้ามเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับคาร์ดานอลมีการตายแบบ Late apoptosis จำนวนมากที่ 72 ช.ม. (27.2 ± 1.1 %) ในขณะที่พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับ Doxorubicin มีการตายแบบ Necrosis เริ่มตั้งแต่ 48 ช.ม. และพบการตายที่มากขึ้นหลังจาก 72 ช.ม. ($35.8 \pm 13.0\%$)



รูปที่ 4 การชักนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis และ Necrosis ใน BT-474 cells เมื่อทำการเลี้ยงใน CM ที่มีแต่ DMSO (กลุ่มควบคุม), 30 $\mu\text{g/ml}$ คาร์ดานอล และ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ doxorubicin เป็นระยะเวลา (A) 24 ช.ม., (B) 48 ช.ม. และ (C) 72 ช.ม. เครื่องหมาย “” แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ระหว่างกลุ่มควบคุมและ Treated cells แสดงข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1 SD) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง**

Cell cycle arrest

ในวัฏจักรของเซลล์ในระยะ Interphase มีระยะย่อย G_1 , S และ G_2/M ซึ่งสามารถประเมินได้จาก DNA content ซึ่งวิเคราะห์ได้จาก Flow cytometry หลังย้อมสีเซลล์ด้วย PI ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

ในกลุ่มควบคุมหลัง 24–72 ช.ม. พบเซลล์ประมาณ 17–19.3 % อยู่ในระยะย่อย G_2/M และ 66–71.5 % อยู่ในระยะ G_1 ของวัฏจักรของเซลล์ ในกลุ่มที่เซลล์เลี้ยงร่วมกับคาร์ดานอลพบว่ามีเซลล์อยู่ในระยะย่อย G_1 มากกว่ากลุ่มควบคุมในทั้ง 3 ช่วงเวลา คือ จาก 66.2 % ถึง 72.9 %, 67.2 % ถึง 74.6 % และ 71.5 % ถึง 80.7 % ที่ 24, 48 และ 72 ช.ม. ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าคาร์ดานอลชักนำให้เกิด Cell cycle arrest ของ BT-474 cells ที่ระยะย่อย G_1 นอกจากนี้ยังพบว่า Doxorubicin ช่วยเพิ่มให้เซลล์อยู่ในระยะย่อย G_2/M เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในทั้ง 3 ช่วงเวลา คือ จาก 19.3 % ถึง 20.6 %, 20.1 % ถึง 30.0 %, และ 17.0 % ถึง 41.3 % ที่ 24, 48

และ 72 ช.ม. ตามลำดับ จึงกล่าวได้ว่า Doxorubicin ชักนำให้เกิด Cell cycle arrest ของ BT-474 cells ที่ระยะย่อย G_2/M

ตารางที่ 3 สรุปเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่อยู่ในระยะย่อย Interphase

Subphase	Control			Cardanol treated cells			Doxorubicin treated cells		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Early G_1	1.1 ±	1.3 ±	1.1 ±	1.7 ±	2.5 ±	2.0 ±	2.0 ±	3.5 ±	5.3 ±
	0.7	0.9	1.0	1.2	0.6	1.3	0.9	1.1	3.9
G_1	66.2 ±	67.2 ±	71.5 ±	72.9 ±	74.6 ±	80.7 ±	59.5 ±	46.9 ±	31.8 ±
	11.4	6.3	8.7	10.2	3.4	4.1	11.5	3.4	7.9
S	10.2 ±	7.7 ±	7.3 ±	8.5 ±	6.5 ±	5.8 ±	13.9 ±	14.4 ±	14.0 ±
	1.1	0.5	1.7	4.5	7.2	2.2	1.8	7.2	2.2
G_2/M	19.3 ±	20.1 ±	17.0 ±	14.3 ±	13.2 ±	9.2 ±	20.6 ±	30.0 ±	41.3 ±
	10.2	6.5	8.2	6.7	8.2	5.8	10.4	8.2	1.4

ข้อมูลแสดงในรูปแบบของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1 SD) ข้อมูลมาจากการทดลอง 3 ซ้ำ

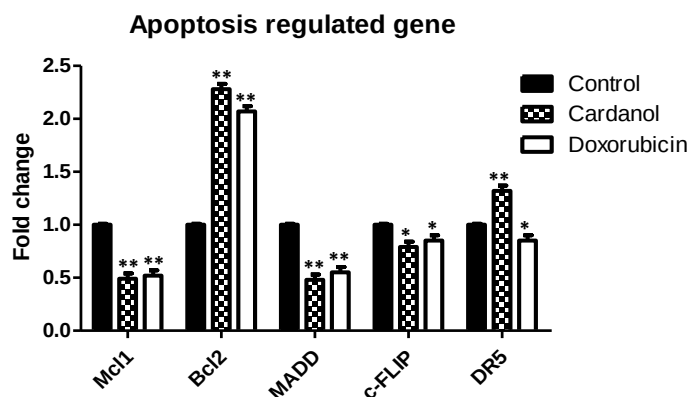
การเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีน

สืบเนื่องมาจากคาร์ดานอลชักนำให้เกิดการตายของ BT-474 cells แบบ Late apoptosis หลังเลี้ยงร่วม 72 ช.ม. จึงทำการสกัด Total RNA จาก BT-474 cells ที่ช่วงเวลาดังกล่าว เพื่อนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ Apoptosis และวัฏจักรของเซลล์โดยใช้ qRT-PCR

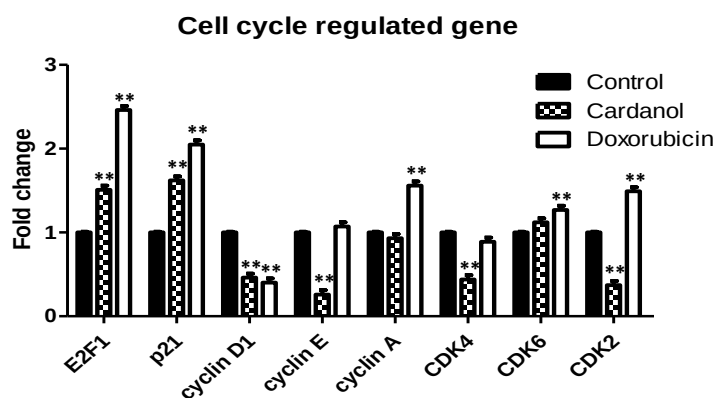
เมื่อมาพิจารณาในในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับ Apoptosis พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับคาร์ดานอลมีระดับการแสดงออกของยีน *DR5* และ *Bcl-2* ที่สูงขึ้น แต่มีระดับการแสดงออกของยีน *Mcl-1*, *MADD* และ *c-FLIP* ที่ลดลง ในส่วนของเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับ Doxorubicin มีระดับการแสดงออกของยีน *Bcl-2* ที่สูงขึ้น แต่มีการแสดงออกของยีน *Mcl-1*, *MADD*, *c-FLIP* และ *DR5* ที่ลดลง (รูปที่ 5A)

เมื่อมาพิจารณาในในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรของเซลล์ พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับคาร์ดานอลมีระดับการแสดงออกของยีน *p21* และ *E2F1* ที่สูงขึ้น แต่มีระดับการแสดงออกของยีน *cyclin D1*, *cyclin E*, *CDK4* และ *CDK2* ที่ลดลง ในขณะที่เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับ Doxorubicin มีระดับการแสดงออกของยีน *E2F1*, *p21*, *cyclin E*, *cyclin A*, *CDK4*, *CDK6* และ *CDK2* ที่สูงขึ้น (รูปที่ 5B)

(A)



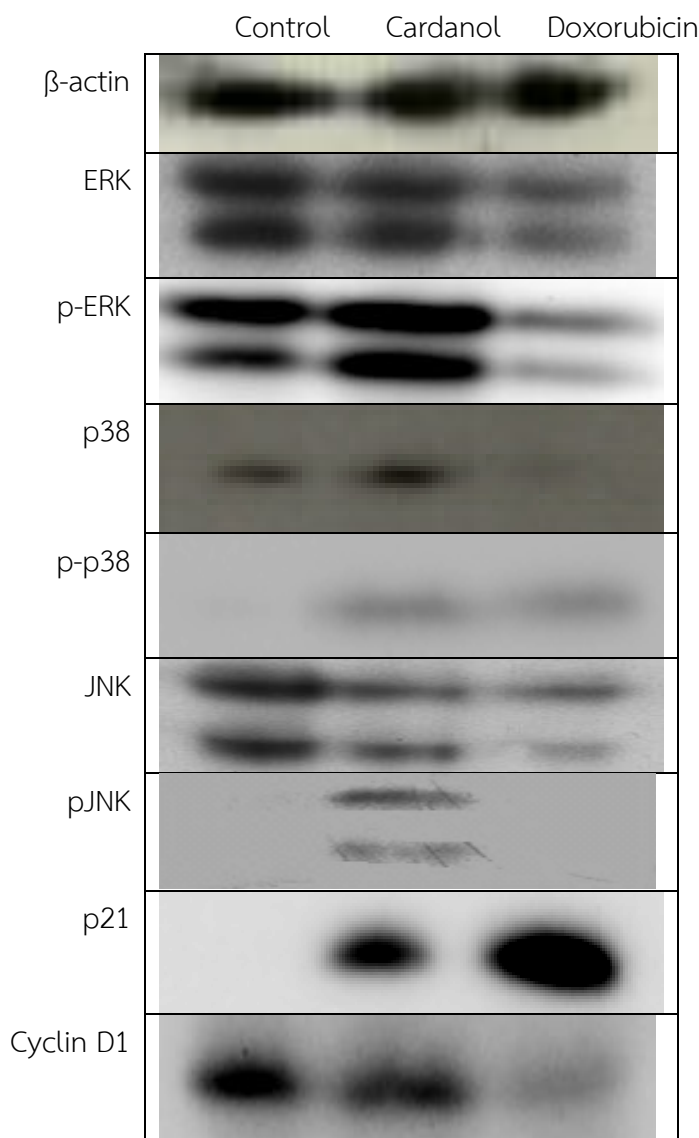
(B)



รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนในกลุ่ม (A) death receptor group (ควบคุม Apoptosis) และ (B) วัฏจักรของเซลล์ ข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1 SD) มาจากการทำการทดลอง 3 ครั้ง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมกับ Treated cells แสดงโดยใช้ (**) เมื่อ $p < 0.01$ และ (*) เมื่อ $p < 0.05$

การเปลี่ยนแปลงระดับของโปรตีน

ทำการวัดระดับของโปรตีน ERK, JNK และ p38 MAPK รวมทั้งรูปแบบที่ถูก Phosphorylated (active) ของโปรตีนดังกล่าว (p-ERK, p-JNK and p-P38) รวมทั้ง p21 และ Cyclin D1 ใน BT-474 cells ที่เลี้ยงร่วมกับ 30 $\mu\text{g/ml}$ คาร์ดานอล หรือ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ Doxorubicin หลังจากระยะเวลาเลี้ยง 24 ชม. (รูปที่ 6) ผลพบว่าคาร์ดานอลสามารถกระตุ้น ERK, JNK และ p38 MAPK ได้ ซึ่งส่งผลให้มีการเพิ่มระดับของ p21 และ cyclin D1 ทั้งนี้ในภาพรวม กล่าวได้ว่าระยะพักใน ระยะย่อย G_1 ซึ่งถูกชักนำโดยคาร์ดานอลนั้นเป็นผลมาจากการกระตุ้นของ MAPK-p21 pathway



รูปที่ 6 Western blot analysis เพื่อแสดงระดับโปรตีนใน BT-474 cells ในอาหาร CM ที่มีการเติม DMSO เท่านั้น (กลุ่มควบคุม) หรือเลี้ยงร่วมกับ 30 µg/ml คาร์ดานอล หรือ 0.5 µg/ml doxorubicin เป็นเวลา 24 ชม. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

พหุพอлисของ *Apis mellifera* ที่เก็บจากจังหวัดน่าน เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ MeOH, CH₂Cl₂, และ Hexane จะได้ CME, CDE, และ CHE, ทั้งนี้พบว่า CDE มีฤทธิ์ Antiproliferative activity ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม BT-474 cells ได้ดีที่สุด โดยมี IC₅₀ value เท่ากับ 29.97 ± 6.17 µg/ml

CDE ถูกนำไปสกัดบริสุทธิ์โดยใช้ Quick column chromatography และ Adsorption chromatography, จนกระทั่งในที่สุดได้ Cardanol ที่บริสุทธิ์ ทั้งนี้พิจารณาจาก Rf value เมื่อทำ

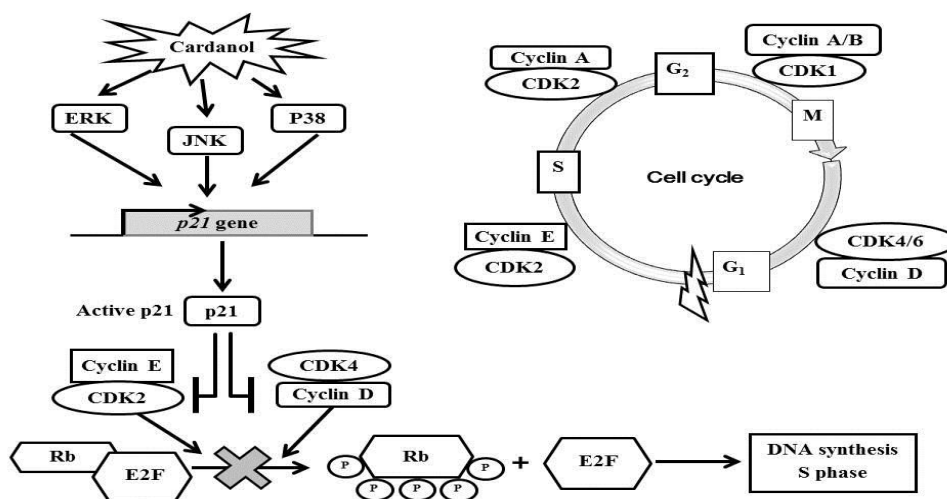
Thin layer chromatography และจากการทำ Mass spectrometry, จากการทำ MTT assay, พบว่า Cardanol มี IC_{50} value ที่ $15.57 \pm 1.73 \mu\text{g/ml}$

สำหรับการตรวจสอบ Growth curve, หลังการบ่ม Cardanol treated cells ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วง $0.001 - 100 \mu\text{g/ml}$ เป็นระยะเวลา 7 วัน ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า Cardanol มีผลในการยับยั้งการเติบโตของ BT-474 cells ในรูปแบบที่ขึ้นอยู่กับเวลาและความเข้มข้น

เมื่อทำการสังเกตสัณฐานของ Untreated BT-474 cells และ Cardanol treated BT-474 cells, พบว่ารูปร่างของเซลล์ทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกัน ในกลุ่ม Cardanol treated BT-474 cells, สังเกตเห็นการลอยของเซลล์ การหดตัว การรวมเป็นกลุ่มขนาดใหญ่และการลดจำนวนลงอย่างมากของเซลล์

หลังจากการเลี้ยง BT-474 cells ร่วมกับคาร์ดานอล 72 ชม. พบการตายของเซลล์ในช่วง Late apoptosis จากการพิจารณาระดับการแสดงออกของยีนกับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ Apoptosis และ Cell proliferation สามารถกล่าวได้ว่า MAPK ควบคุมระยะพักของเซลล์ที่ระยะย่อย G_1 โดยเกี่ยวข้องกับ p21

ในภาพของการสรุป จึงสามารถเสนอกลไกการทำงานของคาร์ดานอลที่มีต่อ BT-474 cells ได้ดังในรูปที่ 7 อธิบายได้ว่าคาร์ดานอลเพิ่มการเกิด Phosphorylation ของ ERK, JNK และ p38 MAPK ซึ่งนำไปสู่การกระตุ้น p21, ทั้งนี้ p21 ที่ถูกกระตุ้นสามารถยับยั้ง CDK4/cyclin D และ cyclin E/CDK2 และป้องกันการเกิด Hyperphosphorylation ของโปรตีน Retinoblastoma อันส่งผลให้ระงับ DNA synthesis และป้องกันการเคลื่อนที่ของเซลล์เข้าสู่ระยะย่อย S จึงเข้าสู่ระยะพักที่ระยะย่อย G_1



รูปที่ 7 โมเดลแสดงกลไกการทำงานของคาร์ดานอลที่สามารถชักนำ Cell cycle arrest ที่ระยะย่อย G_1 และนำไปสู่การตายของเซลล์ใน BT-474 cancer cells

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยรามคำแหง

● การศึกษาพันธุ์กรรมไลเคน และราที่ก่อให้เกิดไลเคน

บทนำ

จากการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างไลเคนในพื้นที่รอบมหาวิทยาลัยรามคำแหงในกิจกรรมของโครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ. สธ.) ระยะ 5 ปีที่ห้า (ตุลาคม 2554-กันยายน 2559) ซึ่งในกิจกรรมนี้ คณะนักวิจัย จากหน่วยวิจัยไลเคน มหาวิทยาลัยรามคำแหง ได้สนองพระราชดำริโดยการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไลเคนในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดกาญจนบุรี นครพนม สุโขทัย และสุรินทร์ ซึ่งเป็นตัวแทนของภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตามลำดับ

สำหรับในปีงบประมาณ 2558 คณะนักวิจัย ได้สำรวจและรวบรวมตัวอย่างไลเคน ในพื้นที่รอบมหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครพนม ซึ่งพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ป่ากึ่งธรรมชาติที่มีอาณาเขตติดต่อกับชุมชน จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้นี้ได้นำมาการศึกษาในโครงการย่อยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง จำนวน 3 โครงการ ได้แก่ โครงการวิจัยย่อยที่ 3 การศึกษาสัณฐานวิทยา นิเวศวิทยา และการติดตามการเติบโตของไลเคน โครงการวิจัยย่อยที่ 4 การศึกษาพันธุ์กรรมไลเคน และราที่ก่อให้เกิดไลเคน และ โครงการวิจัยย่อยที่ 5 การจัดการฐานข้อมูล และพัฒนาพิพิธภัณฑ์ไลเคน มหาวิทยาลัยรามคำแหง

วิธีการดำเนินการวิจัย

การจัดเตรียมตัวอย่างไลเคนเข้าห้องปฏิบัติการ

แตกต่างไปจากการเก็บตัวอย่างไลเคนเข้าพิพิธภัณฑ์เล็กน้อย โดยนำตัวอย่างไลเคนที่ได้จากภาคสนามฝั่งลมให้แห้ง 1-2 วัน บรรจุลงซองเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ณ ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยไลเคน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เมื่อพร้อมแล้วจึงทำการแยกจากไลเคนตามวิธีการต่อไป

การแยกราที่ก่อให้เกิดไลเคนจากตัวอย่าง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar แล้วป้าย Vaseline petroleum jelly ติดที่ผาต้านในของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ตัดตัวอย่างที่ได้จากภาคสนามในส่วนที่มีโครงสร้างสีปนกันเป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5x 0.5 ซม. ติดลงบน Vaseline หายจานเลี้ยงเชื้อในลักษณะผาอยู่ด้านบนเพื่อให้สปอร์ถูกปล่อยออกมาขึ้นไปติดกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar ปั้นตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องแล้วติดตามการปล่อยสปอร์ออกมาจากส่วนสีปนกันโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ Stereozoom microscope ติดตามการปล่อยสปอร์ออกมาทุกวันเป็นเวลาอย่างน้อย 7 วัน วงบริเวณที่มีสปอร์ด้วยปากกาเขียนแผ่นใสชนิดหัวเล็ก เพื่อให้ง่ายต่อการตัด ใช้มีดผ่าตัด (surgical blade) เบอร์ 11 ตัดส่วนของ Water Agar ที่มี

สปอร์ย้ายไปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Malt Yeast Extract Agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องตามวิธีของ Sangvichien และคณะ (2011)

สปอร์ที่ถูกย้ายมาลงอาหาร Malt Yeast Extract Agar นี้จะถูกตรวจติดตามการงอกของสปอร์ทุกวันเป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ เพื่อให้แน่ใจได้ว่าเป็นสปอร์ของราก่อให้เกิดไลเคนจริงหรือไม่ เนื่องจากสปอร์ของราก่อนี้มีรูปร่างลักษณะแตกต่างไปจากสปอร์ของราก่อที่ปนเปื้อนโดยทั่วไปและเนื่องจากสปอร์ของราก่อให้เกิดไลเคนจะมีการงอกที่ช้ากว่าราก่อทั่วไป จึงต้องตรวจติดตามให้แน่ใจว่าเป็นสปอร์ของราก่อให้เกิดไลเคนจริง

เมื่อสปอร์ของราก่อให้เกิดไลเคนงอกและเกิดเป็นกลุ่มเส้นใยที่เห็นได้ด้วยตาเปล่าแล้วใช้มีดผ่าตัดย้ายเส้นใยดังกล่าวไปลงหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Yeast Extract Agar (Slant) และลงในจานอาหารที่มี Malt Yeast Extract Agar สำหรับการศึกษาอย่างอื่นต่อไป

การสกัดแยกสารพันธุกรรมจากราก่อให้เกิดไลเคน

สกัดดีเอ็นเอจากราก่อให้เกิดไลเคนโดยใช้ CTAB ตามวิธีของ Cubero and Crespo 2002 ทำการเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง ITS, โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะคือ ITS4 (White *et al.*, 1990) ITS1F (Gardes and Bruns, 1993), mrSSU1 (Zoller *et al.*, 1999) MSU7 (Zhou and Stanosz, 2001) และ LR0R, LR3 (Vilgalys and Hester, 1990) ตามลำดับ ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ได้ด้วย Agarose gel electrophoresis

การส่งตัวอย่างสารพันธุกรรมไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลิตภัณฑ์ซีอาร์ของตัวอย่างที่ได้จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง ITS, LSU และ mtSSU นี้มาทำให้แห้งแล้วส่งตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์

การเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับฐานข้อมูลและจัดทำ Phylogeny tree ของราก่อให้เกิดไลเคน

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ (เบส) ที่ได้มาวิเคราะห์หาลำดับวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม RAxML 7.2.8 โดยใช้ maximum likelihood (ML) modes (Stamatakis, 2006) CIPRES Science Gateway Web server (Miller และคณะ, 2010) และทำการวิเคราะห์ค่า bootstrap 1000 ครั้ง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารทุติยภูมิจากราก่อให้เกิดไลเคน

อยู่ระหว่างดำเนินการ โดยทำการศึกษา

1. Anti-microbial activity
2. Anti-oxidant activity
3. Alpha-glucosidase inhibition

4. HMG reductase
5. Enzyme inhibition ชนิดอื่นๆ

ผลการศึกษา

การจัดเตรียมตัวอย่างไลเคนเข้าห้องปฏิบัติการ

จากการรวบรวมตัวอย่างไลเคน ในพื้นที่รอบมหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครพนม จำนวน 3 รอบ ได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 68 ตัวอย่าง ดังรายละเอียดในตารางที่ 4-1, 4-2, 4-3

การแยกราก่อให้เกิดไลเคนจากตัวอย่าง

จากจำนวนตัวอย่างไลเคน 59 ตัวอย่างนำมาแยกราก่อให้เกิดไลเคนและสามารถเลี้ยงให้เป็นโคโลนีในห้องปฏิบัติการได้จำนวน 27 ตัวอย่าง

การสกัดแยกสารพันธุกรรมจากราก่อให้เกิดไลเคน

ตัวอย่างราก่อให้เกิดไลเคนสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในตำแหน่ง ITS ได้จำนวน 17 ตัวอย่าง

การจัดทำ Phylogeny tree ของราก่อให้เกิดไลเคน

เนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่แยกได้มีไม่มากนักและมาจากไลเคนหลายชนิด การทำ phylogeny tree แยกแต่ละตัวอย่างไม่สามารถบอกความแตกต่างหรืออธิบายผลได้ จึงขอ นำข้อมูลส่วนนี้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลตัวอย่างไลเคนอื่นที่มีอยู่ในหน่วยวิจัยไลเคนและนำเสนอในการรวบรวมผลงานฉบับสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามได้นำข้อมูลส่วนนี้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4-3

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารทุติยภูมิจากราก่อให้เกิดไลเคน

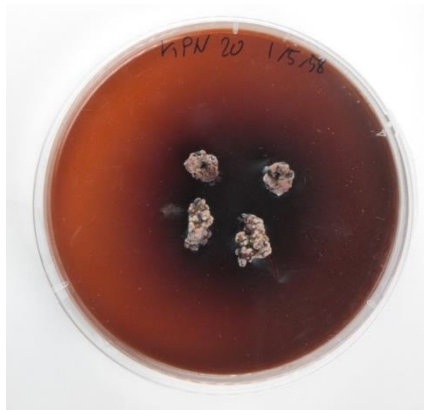
อยู่ระหว่างดำเนินการ

ตารางที่ 4-1 การศึกษาการปล่อยสปอร์ การงอกของสปอร์ไลเคน และการศึกษาระดับชีวโมเลกุล
ไลเคน ที่เก็บรวบรวมจาก มหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ
จังหวัดนครพนม (รอบที่ 1)

ลำดับ	หมายเลขตัวอย่าง	การปล่อยสปอร์	การงอกของสปอร์	ลำดับเบสที่ตำแหน่ง ITS
1	15	-	-	
2	19-1	+	+	
3	19-2	+	+	
4	20	+	+	+
5	31	+	+	+
6	32	+	-	
7	48	+	+	+
8	72	+	+	
9	93	+	+	+
10	94	+	+	
11	97	+	+	+
12	148	-		
13	156	+	+	+
14	158	-		
15	162	-		
16	175	-		
17	181	+	+	
18	235	+	+	+
19	269	+	+	+
20	385	+	+	
21	391	+	+	+
22	392	+	+	+
23	401	-		
24	439	+	+	+
25	452	+	+	+
26	453	+	+	+
27	454	+	+	+
28	461	+	+	+
29	464	+	+	+

ตารางที่ 4-2 การศึกษาการปล่อยสปอร์ การงอกของสปอร์ไลเคน และการศึกษาระดับชีวโมเลกุล
ไลเคน ที่เก็บรวบรวมจาก มหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ
จังหวัดนครพนม (รอบที่ 2)

ลำดับ	หมายเลขตัวอย่าง	การปล่อยสปอร์	การงอกของสปอร์	ลำดับเบสที่ตำแหน่ง ITS
1	683	-	-	
2	691	-	-	
3	695	+	+	
4	763	+	-	
5	764	-	-	
6	766	-	-	
7	770	+	-	
8	825	+	-	
9	827	+	-	
10	1006	-	-	
11	1045	-	-	
12	1048	+	-	
13	1049	-	-	
14	1052	-	-	
15	1053	-	-	
16	1054	+	+	
17	1055	+	-	
18	1073	-	-	
19	1075	+	-	
20	1076	+	-	
21	1077	+	+	
22	1082	-	-	
23	1083	-	-	
24	1085	+	+	
25	1086	+	-	
26	1087	-	-	
27	1089	+	-	
28	1090	+	-	
29	1148	+	+	
30	1158	+	-	



KPN20



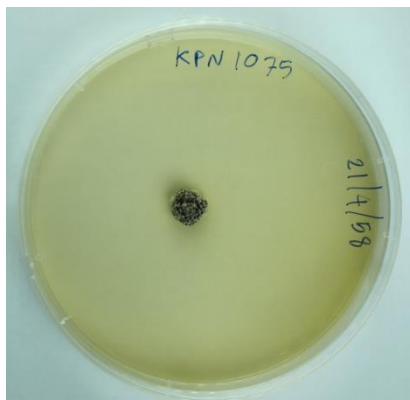
KPN453



KPN695



KPN1148



KPN1075



KPN1077

ภาพที่ 4-1 ตัวอย่างบางส่วนของลักษณะการเจริญของราที่ก่อให้เกิดไลเคนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Malt Yeast extract Agar (MYA)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบสายพันธุ์ไลเคนกับฐานข้อมูลออนไลน์ (NCBI Blast) ด้วยตำแหน่งยีน ITS

ลำดับ	หมายเลข ตัวอย่าง	สายพันธุ์ไลเคน	จำนวนเบส ทั้งหมด (bp)	จำนวนเบสที่ เปรียบเทียบ(เปอร์เซ็นต์ ความเหมือน)
1	KPN20	<i>Arthonia sardoa</i>	943	158/159 (99%)
2	KPN31	<i>Graphis scripta</i>	647	497/583 (85%)
3	KPN48	<i>Graphis</i> sp.	640	516/576 (90%)
4	KPN93	<i>Graphis scripta</i>	647	495/583 (85%)
5	KPN97	Fungal sp. (lichen)	650	398/477 (83%)
6	KPN156	<i>Ocellularia microsorediata</i>	584	407/471 (86%)
7	KPN199	<i>Graphis</i> sp.	655	496/590 (84%)
8	KPN235	<i>Graphis</i> sp.	637	504/581 (87%)
9	KPN269	<i>Graphis</i> sp.	581	508/579 (88%)
10	KPN391	-		-
11	KPN392	<i>Pyrenula cruenta</i>	595	254/303 (84%)
12	KPN439	<i>Leiorreuma sericeum</i>	580	408/487 (84%)
13	KPN452	<i>Leiorreuma sericeum</i>	580	408/487 (84%)
14	KPN453	<i>Arthonia sardoa</i>	953	255/299 (85%)
15	KPN454	<i>Graphis</i> sp.	584	505/583 (87%)
16	KPN461	<i>Pyrenula thelemorpha</i>	602	544/576 (94%)
17	KPN464	-		-

ข้อมูลที่ได้นี้เป็นเบื้องต้นเท่านั้น ยังต้องตรวจสอบผลเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเคมีก่อนจึงจะยืนยันชนิดของไลเคนได้ถูกต้อง และจัดทำ phylogeny tree ให้สมบูรณ์

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการรวบรวมตัวอย่างไลเคนในพื้นที่รอบ มหาวิทยาลัยรามคำแหง สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครพนม จำนวน 2 รอบ ได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 59 ตัวอย่าง แยกแรกก่อให้เกิดไลเคนได้ 27 ตัวอย่าง นำไปสกัดสารพันธุกรรมและเพิ่มปริมาณในตำแหน่งเฉพาะได้ข้อมูลดังแสดงในภาคผนวก ข้อมูลที่ได้นี้จะนำไปเปรียบเทียบกับ การตรวจสอบชนิดของไลเคนต่อไป สำหรับตัวอย่างราที่แยกได้อยู่ระหว่างดำเนินการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ภาคผนวก

ลำดับสารพันธุกรรมในตำแหน่ง ITS

1. KPN20

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCAGTTCACACGCATGGGGAAAGGATCGTCGCGTCGGGGGACTTGACCCAGGCGACGA
TGGATCCCGCGGGGTACCGACCGCCGCCATCAGTCCCGCCACGTCGGGCGTGCCCGCTTGCCGGTCAGGTCGGCCCCAGGTCAG
AACGCAAGTTCCGGCAACCGCCCCCTGGGAACAGGCAGCAGCCCCGTCCCGGTGACTCCCTAGGTACACGCACAATCGGCGCCGTGG
TCAAATCATGCCCCTAGGCTCCGTGACGGGTAGCGCTGTTGCTTGGCTTTCCATGACCCTCGTGGGGGAAAAACAAGCAGCGGTAGCT
TCGTTCCCCCGTGC GGCGACCTCTTCCCCCTCTGCTACCCGTGACGTTACATACCTCTGTTGCCTCGGCGGGCCGCTCGTCCCCGAGA
CGCCGGGCGAGTCTTTTTTCGAGGGCCCCGTGCGCCCGCCGAGGAGCCTCGTGCAACTCGCCGCTCAGCGGCTCAACACCAGTCAA
TAATGACTAGCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGTGGCATTCCGCGGGGATGCCTGTTTCGAGCGTCGGTTGGATCC
TTCCAGGCCCCCTCGCGAGGGGCTCATGGGCCCTGAGCGTATCCCCCGGTGCGACCGGCCGGGGGCGCTCTGAATCTGTGGGTGGCG
GCCCCGGGCGCCGACGAAGTGAGTCCCTGTGACATCGTCCGGAGGCCCGGGGTCGTGCACCAACCGCGGGGGGTCCTCCCCGT
CCAAGACACTACGTTCTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTTAAGCAT

2. KPN31

TCCGTAGGGTGAGTCTTAATCCATGTCTTCTTTCGGGTTGTACAATGCTAACTTTTCTAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAGT
TAGGGTTCTTTGAGCCCGAATTTCCAACCCCTCTGCTTATTGAATTTGTTGCTTCGGCGTAGCGTGCTTTATAAGCCCCATCGGCT
GATGCTGATGTGTCTACGCCGAAGGATATTTCAAATTCGTTTAAATTTGTGTCTTAGAAATGGTTTTAATGTCTAAAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTGATGAATCATCGAATCT
TTGAACGCACATTGCGCCTGATGGTATTCCGTGAGGCATGTCTGTTTCGAGCGTCGCAAGCACAAAATCAAACAGTTTATTGTTTGGAG
TTAGGAATTCGTGAGTTTCACGATTCTGAAAAGGAGCGGCGGATCGGTAACTCCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGTGTAGATGTTT
GTTTTTCATCGGCTCTGCCGACAATTCGTATGCGTGATCTACTCGCATAGTTTCTAAATCGACCTCGGATCAGATAGGAATACCCGC
TGAACCTTAAGCATATCAATAAGCCGGGAGGA

3. KPN48

TCCGTAGGGTGAGTGATATCGGGGACTTGTGATAATTGAAATGAAACAATTACTAACTTTTCTTAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAA
CCGAGTGAGGGTTCTTTTGAGCCCGAATCTCCCAACCTCTTGTCTTATTGAATTTGTTGCTTCGGCGTGGCGTGACTTTAAGTCCAC
CGGCTCTGGCTGGTGTGTTACGCCGAAGGATTATTCAAATTCGTCTAAAGTTGTGTCTTAGTGTGTTGTTTCCAATGTTTAAAACTT
TCAACACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC
GAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGCGATGTCTGTTTCGAGCGTCGCAAAACACAAGATCAAACAATTCATTGT
TTGGAACCTAGGAATCCGTGATCTTCTCCACGGTTCTGAAAATGAGTGGCGGATTGATAGAATCCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGT
TAGATGTTGTTTGTTCAGTCTCGCCGGTTAATCTGTATGTGTTGAAGTCACATAATTTCTTAGATCGACCTCGGATCAGATAGGAAT
ACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAA

4. KPN93

TCCGTAGGGTGAGTCTTAATCCATGTCTTCTTTCGGGTTGTACAATGCTAACTTTTCTAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAGT
TAGGGTTCTTTGAGCCCGAATTTCCAACCCCTCTGCTTATTGAATTTGTTGCTTCGGCGTAGCGTGCTGTATAAGCCCCATCGGCT
GATGCTGATGTGTCTACGCCGAAGGATATTTCAAATTCGTTTAAATTTGTGTCTTAGAAATGGTTTTTAATGTCTAAAACTTTCAAC
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC
TTTGAACGCACATTGCGCCTGATGGTATTCCGTGAGGCATGTCTGTTTCGAGCGTCGCAAGCACAAAATCAAACAGTTTATTGTTTGGGA
GTTAGGAATTCGTGAGTTTCACGATTCTGAAAAGGAGCGGCGGATCGGTAACTCCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGTGTAGATGTT
TGTTTTTCATCGGCTCTGCCGGACAATTCGTATGCGTGATCTACTCGCATAGTTTCTAAATCGACCTCGGATCAGATAGGAATACCCG
CTGAACCTTAAGCATATCATAAGCCGGGAGGA

5. KPN97

TCCGTAGGGTTGATTTCCCCGCTCTCTCGCCCTCGATTTTCTACTGACATTGTCCAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGAGT
TCGGGACTCTCGCGAGCCAACTTTCCAACCCGTGTGTAACCTTTTCTGTTGCTTTGGCGGGCGGGGCACGTCCCCACCGGCTCC
GGCTGGTGAGTCCCCGCCAAAGGTACCTTCCCCAACGCTTAATCAGTTGTCTGAAGTCCATTGAACGAATGAAGCAAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCGTGAATCATCGAGTCT
TTGAACGCACATTGCGCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTTGTTCGAGCGTCGCAAAATACAGATCAGGCAAGTCTCTTGTCTGGAA
CTGGGGCGTCTGGTTCCCGACGGGACGACCCGAAAATGAGCGGGTTCGATCGAATCCAGCGCGTTGGAAAATCTTCGCTGAGACG
TTTCGATCGTCACCGGCCGATGAAGCATGCCCGGGCGCTCCGGCTGCGCGTGGTTGACGA
CATCGACCTCGGATCAAGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATAAGCCGGGAGGA

6. KPN156

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTATCGAGTGAAGGTCTCTTAACCGGGTCTGAACCTTCCAACCCCTTGCGAACTATATTTTG
TTGCTTTGGCGGGTCGCGGTTTGTGAACCCACCGGCTTGCTGGTGAGTGCCCGCGAAGGTTTATACAAATTCGTTTAATTTCAA
GTCTGATTTGAACAAAATAAATATCTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTCCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGATATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGCGATGCCTGTTTCG
AGCGTCGCAACACCTCTCAAGCTTGCTTATGCGAGCGCTTGGATTGTTGGTGGCATGTCTTGGCGGGCAGCCCCGAAAATTAGCGGCGGTC
TGATCTGACCTCCAGCGGTTGAATTTTTTTTCGCTCGTGAGGGAAGATTGTTGCTGCGGAACAGTCTTACCTTTTGCAATCGA
CCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATAAGNCGGGAGGA

7. KPN199

CCGTAGGGTGAGTGATATCGGTACGGTCTGATAGTGAATGAAACATTGTCTCACTGTTTCTAGTGAACATGCTGAAGGATCATCAC
CGAGTGAGGATCTTTTGTAGCAGGAATCTTCTAACCATCTGCTTATTGAATAATGTTGCTTCGTCGTGGCGTGACTTTAAGTCCACC
GCCGGTTCTGGCTGGCGTGTTACGCCGAAGGATTATCAAATTCGTTTAAAGTTGTGTCTTAGTGTTTGTTCCAATGTTTAAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGCGATGACTGTTTCGAGCGTCTCTGACACAAAATCAAACAATTCAT
TGATTGCAACTACGAATCCGTGAGCTTCTCCACAGGTCTGAAAATGAGTGGCGGATTGATAGAATCCTAACCGGAAGAACAATGTTT

CGTTAGATGTTGCTCTGATCAGACTCGACGGTTAATCTATATGTGTTGAAGTCAATAACTTACGAAGATCGACCTCGGATCAGATAGG
AATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGA

8. KPN235

TCCGTAGGGTGAGTGAGATGTCTGTAATTTTGTGAGATTAGTGCTAACTTTTCATTAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTG
AGGGTCTTTTGTAGCCCAAACCTCCCAACCCCTTGTCTTATTAATTTTGTGTTTTCGGCGTGCGGTGACTTTATGTCCCGTTCGGCTTA
TGCTGGTGTGTCCACGCCGAAAGTTTTCCTCAAACTCGTTTAAAGTTGTGTCTTAGTGGTCTTTTAAATGTCTAAAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATTTT
GAACGCACATTGCGCCCTTCGGTATTCCGGGGGGCATGTCTGTTCGAGCGTCGCAAAATCAAGATCAAACAATTCTGTTTGGATTAG
GAACCTCGTGGTGTCTCAGCGTTCTGAAAATGAGCGGCGG
ATTGATAGAACCTCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGTAGATGTTGCTTCTAGGCAATCTTGCCGGGTAAACCATACGTGTGGTGAAA
ATCATAGATTTCTAAGATCGACCTCGGATCAGATAGGAATACCCGTTGAACCTTAAGCATATCAATAAG

9. KPN269

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGAGGGTCTTTTGTAGCCCGAATCTCCCAACCCCTTGTCTATTGAACCTTGT
GCTTCGGCGTGCGGTGACTCTGAGTCCCACTGGCTTCGGCTGGTGTGTCACGCCGAAGAATTATTCAAATTCGTTTAAAGTTGTGTC
TTAGTCTTTGTTTCTAAATGCTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAG
TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTCGGTATTCCGGGGGGCATGTCTGTTCGAGC
GTCGCAAAACAAAAATCGAACAATTCAGTTTGAATTAGGAATTCGTGATCTTTCACGGTTCGAAAATGAGTGGCGGATTGATAGAA
CTCCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGTAGATGTTGTTTGTTCAGTCTTGCCGGTTAATCTGTATGTGTTGAAGTCACATAATTTCT
TAGATCGACCTCGGATCAGATAGGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATATA

10. KPN391

TCCGTAGGTGAAGTAAACATCGACAACATGCTCTTTTCCCTTCAAGAATCAATAACTAACATAATCCAAGGTGAACCTGCGGAGGGAT
CATTACCGAGTTAAGGGTAGCTTCGGCTGCTCTGACTTCCCAACCCCTATGATTGTTGTTTCTCATGTATCTTCGGGTATCTGTTCG
ACATGCCGGAAGATTACCAATCAAACCTCGTCTTGAACCTATGTTGTCATCATTCAATACCATAATTGAATCAAACTTTCAACAACGG
ATCTCTTGGTTCTAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTATGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCTCTTGGTATTCCATGAGGCATGCCTGTTTCGAGCGTTATTATAAACTCCTCAAGTCTAGCTTGGTAATGAATTT
TTGTCCTTGAACAATCTAAAAATATTTGTCTGTTGTAAAGCCCTTTGCTTACGTGACGTAACCAATGACTTTGCGCTCGGCAATCTT
TTACAACAAGTTTTTATCTTCTCCACAGTTTAACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAAGNCGGAAG
GA

11. KPN392

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATCACTCCACAAAGTCTAGTCTCTCGGGACTCTGACCCCTCAGATCCTCTGTTGACATGACCC
CTTCGTTACATTGGCGGAGGGCGGCCCTTTCGGGGCTGCACCCGCCGCTGGGCCCCCCCCAAAACTCATTGTTGTGGAACCGTGCCCTC
TGAAGCCAATGCTATGAATAAGCAAACTTTCAACAACGGATCCCTTGGCTCTGACTTCGATGAAGAGCGCAGCGAAACGCGATAAGT
GATGCGAATCGTAGATTTCAGTGAGGCATCGAATCTTGAACGCACATGCGGCCCTTTGGCATTCCGAAGGGCATGCTTCTTCGAGC
GTCAGTATCGACCCCTCAGGCCGTTCCGGCTTGACGTTGGGCACCGATCGTGGACGGTCGG
GCCCCAAAGGCAACGGCGGTGTTGCGACCCCTCGGCGAAAGGTGCAACGAGCTTCGCATCGATTAGCGGAAGGCGCGCGCCTGCCCTC
CAGTGTCTGACGTGGCACACTCTCCCTTGAAGAAGTGACCTCGAATCAAGCAAGACTACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAAGGC
GGGAGGA

12. KPN439

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTAAACGAGTTATGGGTTTCTTGATGAGCCAGAACTCCCAACCCGTGTTTATCTTTATTG
TTGCTTTGGTAGGACGTGGGTTTTACCCCATCGGCAATTTATTGCGGATGTGTGCCTGCCAAAGGTTTTAATTTAAATCTCTGAAGC
TTGTCTGAATCAGTGTTTTGGAAATGCTTCAAACTTTTAAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCGCAATAAATGATCAAGCAATTTTGTCTGATTGTTGGGATTTACGTCTGTTTAAAGATGGTCCTCTAAGTTAGCGGCGGT
CTTCCTCAGATTTCTAGCGCGTTGAAGTTTTTTTCGCTAGTATGGTTTTTGGGAGACTTCAGTCGAGAAGAATTCCTCTACATCGACCT
CGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATAGNCCGGAGGA

13. KPN452

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTAAACGAGTTATGGGTTTCTTGATGAGCCAGAACTCCCAACCCGTGTTTATCTTTATTG
TTGCTTTGGTAGGACGTGGGTTTTACCCCATCGGCAATTTATTGCGGATGTGTGCCTGCCAAAGGTTTTAATTTAAATCTCTGAAGC
TTGTCTGAATCAGTGTTTTGGAAATGCTTCAAACTTTTAAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCG
ATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCGCAATAAATGATCAAGCAATTTTGTCTGATTGTTGGGATTTACGTCTGTTTAAAGATGGTCCTCTAAGTTAGCGGCGGT
CTTCCTCAGATTTCTAGCGCGTTGAAGTTTTTTTCGCTAGTATGGTTTTTGGGAGACTTCAGTCGAGAAGAATTCCTCTACATCGACCT
CGGATCAGGTATGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATAGNCCGGAGGA

14. KPN453

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCAGTTACACGCATGGGGAAAGGACCGTCGCGCCGGGGGACTTGACCCAGGCGACGA
TGGATCCCGCGGGGTACCGACCGCCGCCATCAGTCCCGCCACGTTTCGGGCGTGCCCGCCTTGCCGGTCAGGTCGGCCCCAGGTTCAG
AACGCAAGTTCCGGCAACCGCCCCCTGGGAACAGGCAGCAGCCCCGTCCCGGTGACTCCCTAGGTACACGCACAATCGCGCGCGTGG
TCAAAATCATGCCCTAGGCTCCGTGACGGGTAGCGCTGTTTCGTTGGCTTTTCTATGACCCCTCGTGGGGGAAAAAAGCAGCGGTAGCT
TCGTTCCCGCGTGCGGCGACCTCTTCCCCCTCTGCTACCCGTGACGTTACAT
ACCTCTGTTGCTCGCGGGGCGCTCGTCCCCGAGACGCGGGCGAGCCCTTTTCCGAGGGCCCCGTGCGCCCCGCGCAGGAGCCTCGT
GCAACTCGCCGCTCAGCGGCTCAACACCGATCAATAAGTACAGCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAG
AACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAAGATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGTGGCATTC
CGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCGGTTGGATCCTTCCAGGCCCTCGCGAGGGGACTCATGGGCCCTGAGCGTACTCCCCGCTCGG
ACCGGCGGGGGCGCTCTGAATCTGTGGTGGCGGCCCGGGCGCGGACGAAGTAGTCCCTGTGACATCGTCCGAGGCCCCGGCGG
GCCGTGACCAACCGCGGGGGGCTCTCCCCGCTCAAGACACTACGTTCTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTTAAG
CATATCAATAATCCGGAGGA

15. KPN454

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAGCGAGTAAAGGGTCTCTTGTGAACCTGAATCTCCCAACCCCTTGCTGATTGAATTTT
GTTGCTTCGCGGTGGCGTGACTTCATTATCCCAACCGCTTTGGCTGGTGTGTCTACGCCGAAGGATTGTTCAAACCTCGTTCAAATATT
GTCTTATGTTTCTAAGTATCAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCGAAATGCGATAAGTA
ATGTGAATTGCGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCTTCTGGTATTCGGGGAGGCATGTCTGTTCCGAGCGT
CGCAAACACAAGATCAACAATTTATTGTTTGGCTTTAGGATATTGTGTTTTAAACACTATCCTGAAATGAGCGGCGGATTGATAA
AGCTCCCTAACGCGTTGAACAATGTTTCGTTAGATGTAGCTTCTGATCAGTCTGTGCGGTTAAACCGTCTTGTCGGGTTAAACACATT
CTTCTATGATCGACCTCGGATCAGATAGGAATACCGCTGAACCTTAAGCATATCAA

16. KPN461

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGAGTTAGGGTCTCTGGGCCGACCTCCAACCCCTGTGTTAACTACCATGTTGCTT
TGGCAGGCCAGCCGTTAGGCGGCTGGGGCCCCGTTGCTTAACGGCAGCAGGCTTCCTGACCCGTGCCTGCCAATAGCCATTTAAAT
TCATTGATTAAATATTGCTGTCTGAGTAATAGATCTAATAAGCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGCGAATGCGATACCGTGAGTCTCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCCCTTTGGTATTCGAA
GGGCATGCCTGTTGAGCGCTCATTATCAACCATCAAGCCTGGCTTGAATTGGGTATGTGATCGTTAAAGATCAGCCCGAAAGATAAC
GACGGGGTCGTAATCTGACACCTAACGCAACGAGCTTTTATAGCACGCGTTTAGTGGGGAGGTGCGGCTGCCGGTTAAGTCTTAACG
ATATTATATAACAAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAGTACCGCTGAACCTTAAGCATATCATAAAGCGGAGGA

17. KPN464

TCGGTAGGTGACCTTGGGAGGGATCATAACAGAGTTGGGGGTGCTTGGGTTGTTGCGACTTCCCAACCCCTATGCCTTGTGGTTTTTTG
TATCTTCCGGTTCACCTGCTCCGGCATGCCGGAAGGGATTTATTCAAACTCGTTTTTGAACACTACTGTCATCATTCATGATCAAAATG
AATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTAGCATCGATGAAGAACGCGAGCAATGCGATAAGTAGTATGAATTGCGAATTC
AGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCTTTTGGTATTCCATGAGGCATGCCTGTTGAGCGTTATTACAACTCTCAAGG
TCATACTTTGGTATTGAATCCCGTCGAAAGACAGATTCTAAAGAGTTCGAGTGTGTTGGAAGCATAC

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

- **สำรวจและรวบรวมต้นเครือหมาน้อย: จากพันธุ์กรรมและภูมิปัญญาท้องถิ่น สู่ผลิตภัณฑ์แปรรูป**

หมาน้อยหรือเครือหมาน้อย (*Cissampelos pareira* L. var. *hirsuta* (Buch. ex DC.) Forman.) พืชป่าตระกูลเถาเลื้อยอาศัยไม้พุ่มเพื่อยืนต้น สามารถพบได้ทั่วไปตามป่าดิบ ป่าผลัดใบ หรือป่าพุ่ม ต้นเครือหมาน้อยเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณหลายด้านและยังมีสารแพคตินเป็นองค์ประกอบในปริมาณมาก ทำให้มีการนำมาทำเป็นอาหารพื้นบ้านในหลายท้องที่ ต้นเครือหมาน้อยมีประโยชน์มากมายในทางวิชาการ แต่ยังไม่มีการนำไปใช้อย่างกว้างขวางนัก ทำให้ต้นเครือหมาน้อยถูกมองข้ามไป โดยในปัจจุบันพื้นที่ป่าที่พบต้นหมาน้อยถูกบุกรุกถากถาง เพื่อทำพื้นที่เกษตรและไม่มีการศึกษาการขยายพันธุ์ที่ถูกรักษาเหมาะสมจนเป็นสาเหตุให้ต้นหมาน้อยลดเหลือน้อยลง ทั้งที่เป็นพืชธรรมชาติท้องถิ่นที่ควรอนุรักษ์และควรศึกษาอย่างยิ่ง การต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่น พัฒนาจากฐานทรัพยากรพันธุ์กรรมไปสู่ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า ยังจะช่วยสนับสนุนการอนุรักษ์ต้นกรงเขมาได้ การแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพกำลังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและบริโภคนอกจากผู้บริโภคสนใจในสุขภาพของตนเองมากขึ้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจึงมีการเติบโต ขยายตลาดไปรวดเร็ว ซึ่งแพคตินจากต้นเครือหมาน้อยสามารถพัฒนาเป็นเจล โดยที่เกิดเจลที่ได้นั้นจะไม่ต้องการน้ำตาลช่วยในการเกิดเจล ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำไปใช้ในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพที่ให้พลังงานต่ำได้ดี (วรรณ, 2549)และยังมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรได้อีกด้วย ยิ่งไปกว่านั้นวุ้นเครือหมาน้อยมีลักษณะคล้ายวุ้นเฉาก้วยซึ่งต้องทำจากต้นเฉาก้วยที่ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ หากสามารถพัฒนาวุ้นเครือหมาน้อยทดแทนเฉาก้วยได้ จะเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากวุ้นเครือหมาน้อยมีสรรพคุณเป็นยาเย็นเช่นเดียวกับเฉาก้วย อย่างไรก็ตามมีการวิจัยเครือหมาน้อยมากพอสมควรตั้งแต่พื้นฐานจนถึงการประยุกต์ใช้ แต่ยังไม่มีการต่อยอดให้

ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นรายได้ของชุมชน อาจเกิดจากการที่เป็นพืชหายากทำให้ไม่มีทรัพยากรมากพอในการพัฒนาต่อ และยังไม่มีการวิจัยด้านการขยายพันธุ์เครือหมาน้อยไม่มากเท่าที่ควร นอกไปจากนี้ยังขาดเรื่องการจัดทำเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมและความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นเครือหมาน้อยอีกด้วย ซึ่งหากเข้าระบบ AEC จะส่งผลต่อโยกย้ายถ่ายเททรัพยากรพืชสมุนไพรไป ดังนั้นการเร่งจัดทำเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมและฐานข้อมูล DNA barcode พืชสมุนไพรของไทย จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อรวบรวมข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรมและความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าข้าวนกเพื่อเป็นส่วนหนึ่งในกิจกรรมที่สอดคล้องกับกรอบโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีฯ
2. เพื่อรวบรวมข้อมูลภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์ของต้นเครือหมาน้อยจากพื้นที่ต่างๆ
3. เพื่อจัดทำเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมด้วย DNA barcoding ของต้นเครือหมาน้อยจากพื้นที่ต่าง
4. เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ได้มาตรฐานสำหรับการบริโภคและเป็นที่ยอมรับของชุมชน

ผลการดำเนินงาน

การศึกษาระบบนิเวศ ภูมิปัญญา และการขยายพันธุ์

การสำรวจแหล่งอาศัยและการใช้ประโยชน์เบื้องต้น ได้แก่ อ. องค์กรักษ์ อ.เมือง จ.นครนายก อ.เขาชะอุม ต.ตงบัง จ. ปราจีนบุรี อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว อ.วิหารแดง จ.สระบุรี

แหล่งสำรวจ		ระบบนิเวศ	การใช้ประโยชน์
จ.นครนายก	อ. องครักษ์	ต้นเลื้อยขึ้นต้นต้นคูน ตัดนา แสงรำไร สภาพดินเป็นดินร่วนแห้ง ดังรูปที่ 1	ยังไม่เป็นที่รู้จักมากนัก แต่ใช้ทำกิน ใส่เครื่องคล้ายลาบ
	อ.เมือง	ที่ตำบล หินตั้ง บ้านหินตั้ง เลื้อยเกาะกำแพงปูน ดินร่วน แสงรำไร ดินค่อนข้างชื้น ต้นมีดอกหลายช่อ	ยังไม่เป็นที่รู้จักมากนัก แต่ใช้ทำกิน ใส่เครื่องคล้ายลาบ
จ.ปราจีนบุรี	อ.เขาชะอุม	ยังไม่เป็นที่รู้จักมากนัก แต่ใช้ทำกิน ใส่เครื่องคล้ายลาบ	รู้จักกันดี ใช้ทำกินกับข้าวคล่ายน้ำพริก และ มีการขยายพันธุ์ขายกันที่บ้านสมุนไพรตงบัง
จ.สระบุรี	อ.วิหารแดง	เลื้อยเกาะกำแพงปูน ดินร่วน แสงรำไร ดินค่อนข้างชื้น ดังรูปที่ 3	ยังไม่เป็นที่รู้จักมากนัก
จ.สระแก้ว	อ.วัฒนานคร	ต้นเลื้อยขึ้นต้นต้นไม้ ในป่าโปร่ง แสงรำไร สภาพดินเป็นดินแดงร่วนแห้ง ดัง	รู้จักกันดี ใช้ทำกินกับข้าวคล่ายน้ำพริก

จากการสำรวจตามสภาพธรรมชาติและตามชุมชน พบว่าในธรรมชาติเกิดจากเมล็ด ในขณะที่บางชุมชน สามารถขยายพันธุ์ด้วยการปักชำ ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์ที่แพร่หลายมากในชุมชนและแหล่งเพาะปลูกสมุนไพร ดังเช่น บ้านดงบัง จังหวัดปราจีนบุรี ลักษณะต้นที่ได้จากการปักชำ สามารถเจริญได้ดีมีรากไม่ต่างจากต้นเพาะเมล็ด

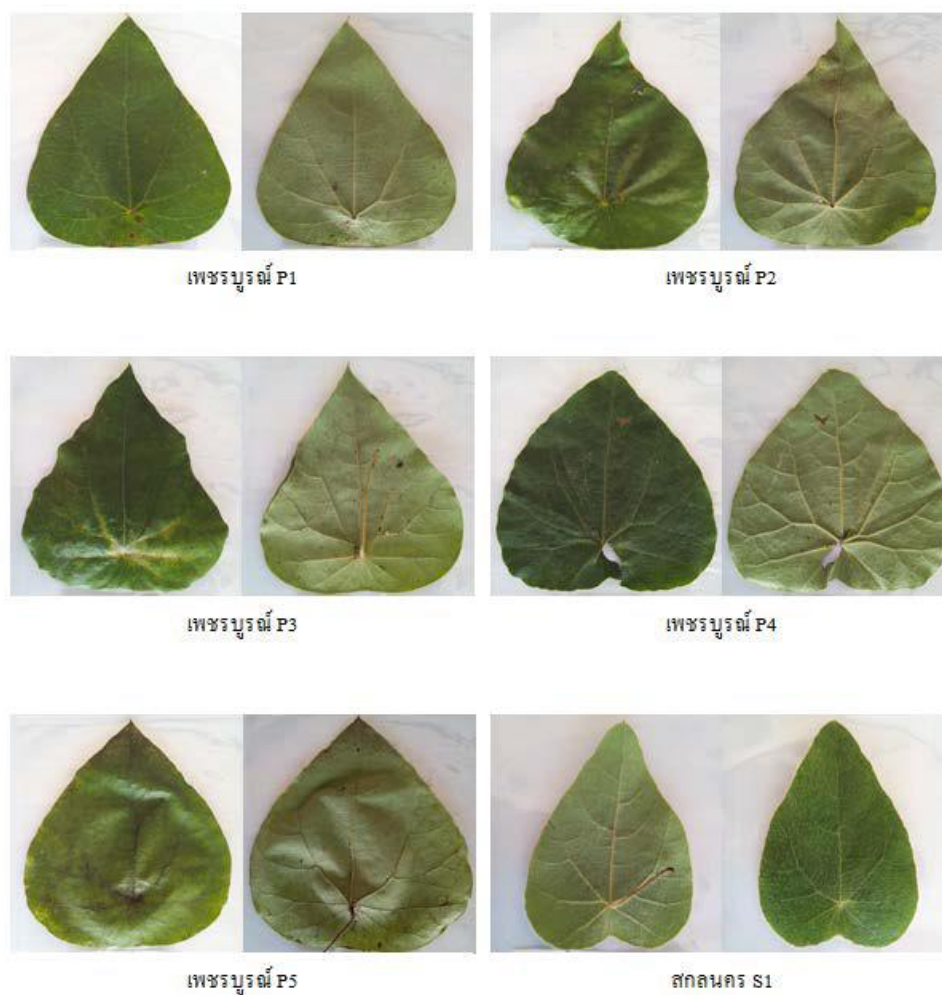
การศึกษาความหลากหลายทางแหล่งอาศัยและรูปร่างลักษณะที่สำคัญ

จากการสำรวจต้นเครือหมาน้อยจากแหล่งต่างๆ พบว่าลักษณะต้นเครือหมาน้อยมีความแตกต่างกันไป ได้แก่รูปร่างใบ ขนาดใบและ ขนใบ ซึ่งต้นที่พบในอำเภอวัฒนานคร จังสระแก้ว จะมีลักษณะขนใบที่หยาบ กว่าที่อื่น

ตาราง แสดงความหลากหลายของลักษณะใบเครือหมาน้อย

แหล่งที่พบ	รูปร่างใบ	ขนใบ	ลักษณะ
เพชรบูรณ์ P 1 2 3 5	กลมมน ก้นใบปิด	นุ่ม	ใบบาง
เพชรบูรณ์ P 4	กลมรีเว้า ก้นใบเว้า	นุ่ม	ใบบาง
สกลนคร S2 S4 S5	กลมรีเว้า ก้นใบเว้าเล็กน้อย	นุ่ม	ใบบาง
S6			
สกลนคร S1 S3	กลมรีเว้า ก้นใบเว้าหัวใจ	นุ่ม	ใบบาง
องค์กรักษ์ นครนายก	กลมมน ก้นใบปิด	นุ่ม	ใบใหญ่ เลื้อยสูงหาแสง บนยอดไม้
เมือง นครนายก	กลมรีเว้า ก้นใบเว้า	ขนใบมีน้อย	พุ่มหนา
วิหารแดง สระบุรี	กลมรีเว้า ก้นใบเว้า	ขนใบมีน้อย	พุ่มหนา
วัฒนานคร สระแก้ว	กลมมน ก้นใบปิด	ใบแข็ง ขนใบ แข็ง	ไม่สมบูรณ์ มีใบน้อย

ซึ่งจะพบว่าลักษณะใบมีความหลากหลายกันมากแต่ละพื้นที่ ทำให้การระบุฐานวิทยา ทำได้ยากขึ้น นอกจากนี้ ความหลากหลายของเครือหมาน้อยนี้ อาจส่งผลในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบประกอบเนื่องจาก ไม่สามารถระบุชัดเจนได้ว่าต้นเครือหมาน้อยจะต้องมีลักษณะเด่น และ ต่างจากพืชใกล้เคียงเช่นไร ซึ่งเทคนิคด้านพันธุกรรม เครื่องหมายพันธุกรรม สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาจำแนกระบุสายพันธุ์และจัดทำเอกลักษณ์พืชสมุนไพรต่อไป

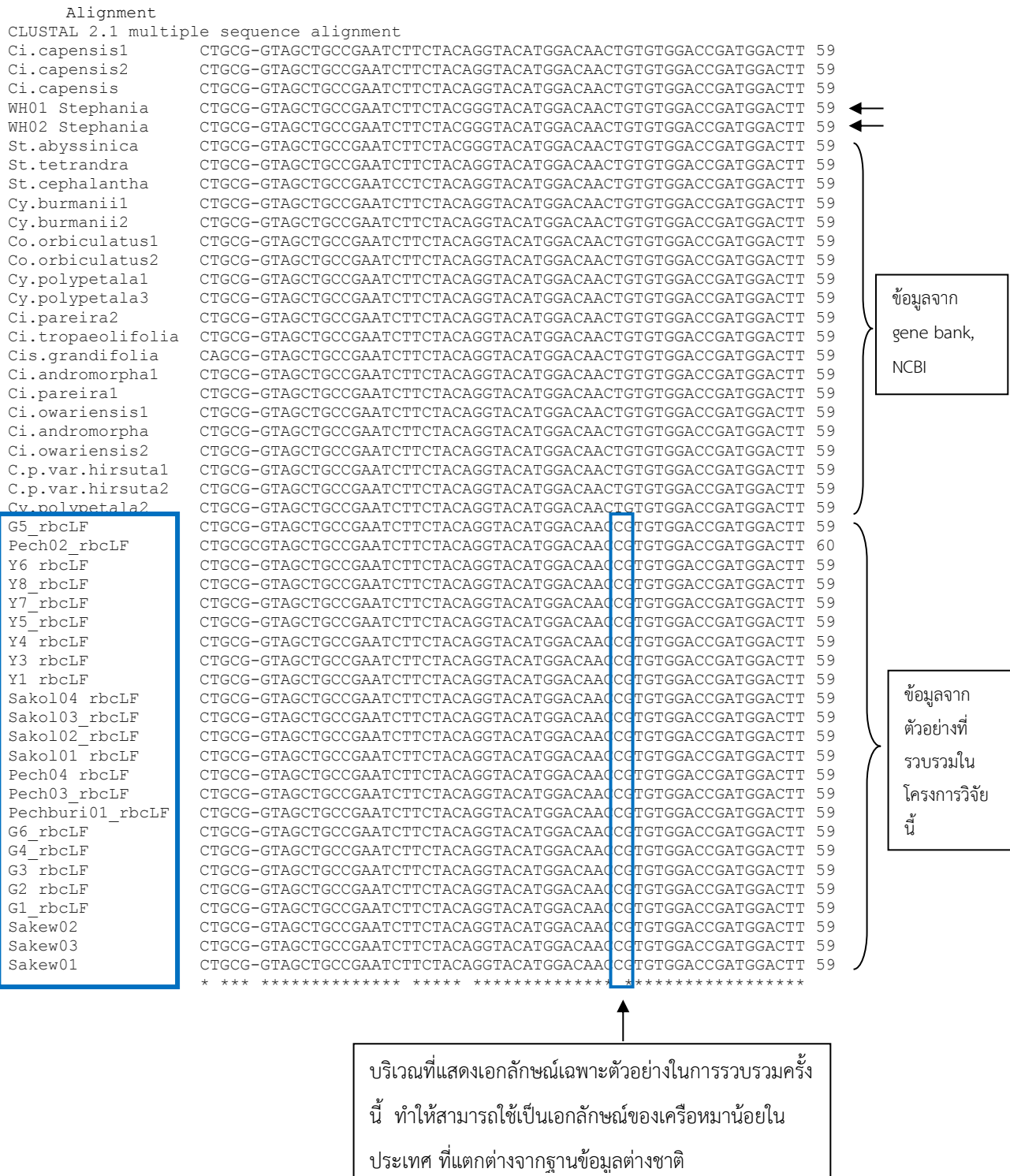


ภาพ แสดงความหลากหลายของลักษณะใบเครือหมาน้อย

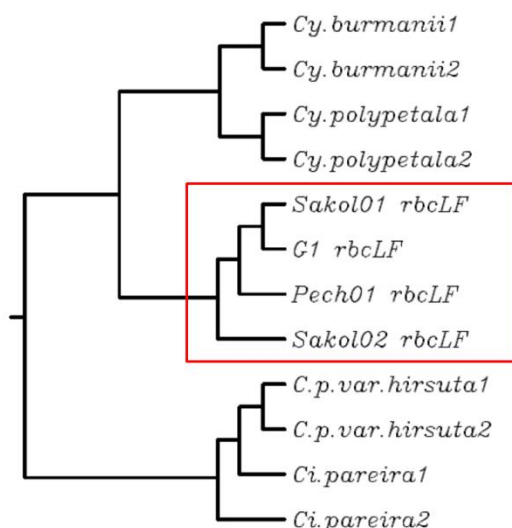
การสำรวจในพื้นที่จังหวัดนครนายก ปราจีนบุรี สระแก้ว อื่นๆ ได้แก่ สกลนคร ชัยภูมิ เพชรบูรณ์ พบความแตกต่างของลักษณะใบ ต่างกันมาก ในแต่ละพื้นที่ อาจส่งผลต่อการจำแนกด้วย ลักษณะภายนอก และได้ข้อมูลภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์จาก จังหวัดนครนายก ปราจีนบุรี สระแก้ว สกลนคร ชัยภูมิ

การหาลำดับ นิวคลีโอไทด์ ที่เป็นเอกลักษณ์ของเครือหมาน้อยของประเทศไทย

ได้รวบรวมลำดับนิวคลีโอไทด์ ตำแหน่ง *rbcl* ยีน ของตัวอย่างเครือหมาน้อยจากที่ต่างๆ จำนวน 20 ตัวอย่าง มีลำดับ DNA ที่เป็นเอกลักษณ์ของไทย อยู่ 1 บริเวณ ซึ่งเป็น DNA barcode ใช้เป็นเอกลักษณ์ของต้นเครือหมาน้อยของไทยได้ ทำการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ ในฐานข้อมูล gene bank ของตัวอย่างจากประเทศอื่นๆ พบว่า เราเป็นกลุ่มตัวอย่างแรกจากประเทศไทย



แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม *rbcL* gene ของต้นเครือหมาน้อย



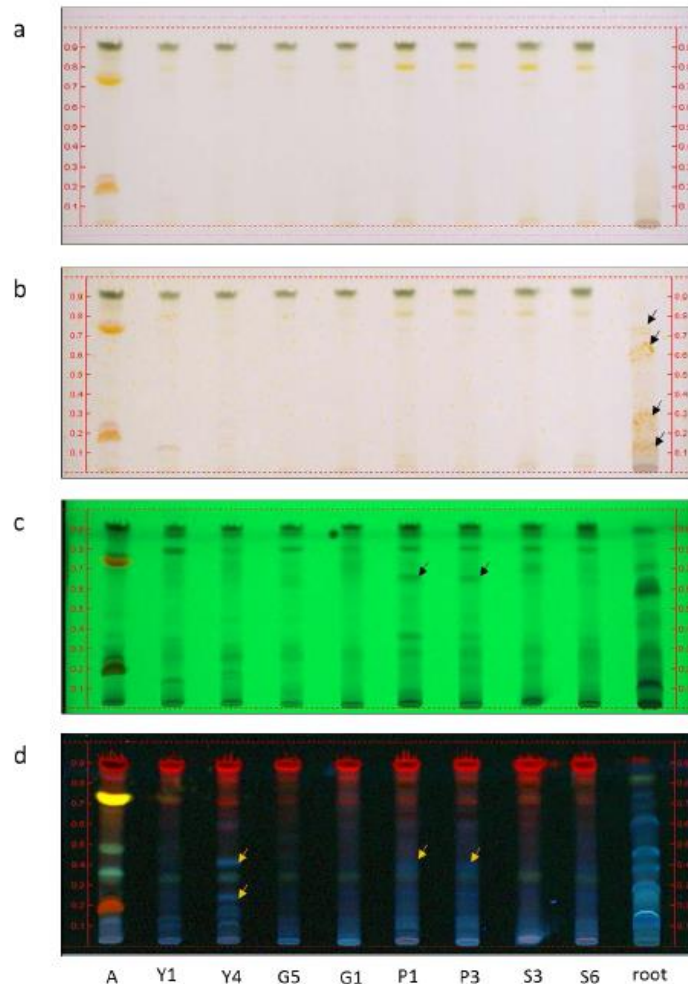
ตัวอย่างต้นเครือหมาน้อยที่ได้จากการสำรวจ (ในกรอบสีแดง) เมื่อวิเคราะห์ความใกล้เคียงกันของยีน *rbcL* ซึ่งเป็นยีนที่ใช้ในการจำแนกและความใกล้เคียงของสายพันธุ์ของพืชชั้นสูงพบว่าตัวอย่างที่ได้จะอยู่ในกลุ่มของ *Cyclea polypetala* และ *Cyclea burmanii* อย่างไรก็ตามจากการเปรียบเทียบกันระหว่างแต่ละ sequence ด้วย clustalW พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่รวบรวมได้จะใกล้เคียงกับ *Cyclea polypetala* มากกว่า

โดยดูจาก Alignment score คือ thai sample-*Cyclea polypetala* เท่ากับ 2942 thai sample-*Cissampelos pareira* var. *hirsute* เท่ากับ 2918 และ thai sample- *Cyclea burmanii* เท่ากับ 2937

การศึกษาทางด้านพฤกษเคมีในทางเภสัชวิทยา

ผลของการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากลายพิมพ์สารเคมีไม่พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในใบเครือหมาน้อย ในขณะที่พบสารกลุ่มนี้ อย่างน้อย 4 ชนิดในสารที่สกัดจากราก (รูปที่ 2 b) สารแอลคาลอยด์จะให้สีส้มเมื่อตรวจสอบด้วยน้ำยา Dragendorff โดยจะสังเกตเห็นแถบสีส้มที่ R_f 15, 29, 66, 73 รายงานการทบทวนวรรณกรรมของ Manu et al., 2012 ได้แสดงให้เห็นว่าในรากของเครือหมาน้อยมีแอลคาลอยด์ในกลุ่ม bisbenzylisoquinoline อยู่หลายชนิด เช่น tetrandine menisminine, curine และ ไม่มีรายงานการพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในใบ จากการที่แอลคาลอยด์เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งก่อให้เกิดทั้งประโยชน์และโทษต่อร่างกาย การไม่พบสารกลุ่มนี้ในใบจะมีข้อดีคือ ใบเครือหมาน้อยมาปรุงอาหารก็จะไม่ได้รับผลจากสารแอลคาลอยด์

ใบเครือหมาน้อยที่มีลักษณะต่างกัน จะมีรูปแบบของสารเคมีต่างกัน เปรียบเทียบระหว่างใบเครือหมาน้อยที่ได้จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งใบมีรูปร่างกลมมน ก้านใบปิด ขนใบนุ่ม ใบบาง (P1 และ P3) และที่ได้จากจังหวัดสกลนคร ซึ่งใบมีรูปร่างกลมแต่ปลายใบค่อนข้างเรียว ก้านใบเว้า เป็นรูปหัวใจ ขนใบนุ่ม ใบบาง (S3 และ S6)



ภาพ ไลยพิมพ์สารเคมีของสารสกัดใบเครือหมาน้อยด้วยเมธานอล

(pale green colour; Y1 and Y4, dark green colour; G5 and G1, samples from Petchaboon province; P1 and P3, samples from Sakonnakorn province; S3 and S6, leaf of other plant; A) visualized with white light (a), dragendroff's spraying reagent (b), ultraviolet light 254 nm (c) and ultraviolet light 366 nm

ความแตกต่างที่สังเกตได้ใน UV 254 (ภาพ c) คือ ใบเครือหมาน้อยที่ได้จากจังหวัดเพชรบูรณ์มีแถบสว่างที่ R_f 65 ซึ่งไม่พบในตัวอย่างจากจังหวัดสกลนคร รวมถึงตัวอย่างอื่น ๆ และเมื่อตรวจสอบภายใต้ UV 366 (ภาพ d) ใบเครือหมาน้อยที่ได้จากจังหวัดเพชรบูรณ์มีแถบสว่างที่ R_f 40 ซึ่งไม่พบในตัวอย่างจากจังหวัดสกลนครและตัวอย่างอื่น ๆ

ใบเครือหมาน้อยที่มีอายุต่างกันก็จะให้รูปแบบของสารเคมีต่างกัน สังเกตได้จาก ตัวอย่าง Y4 ซึ่งใบมีสีเขียวอ่อน เมื่อตรวจสอบภายใต้ UV 366 (ภาพ d) จะพบแถบสว่าง 2 ตำแหน่งที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น ๆ คือแถบสว่างที่ R_f 22 และ 42

จากผลศึกษากล่าวได้ดังนี้

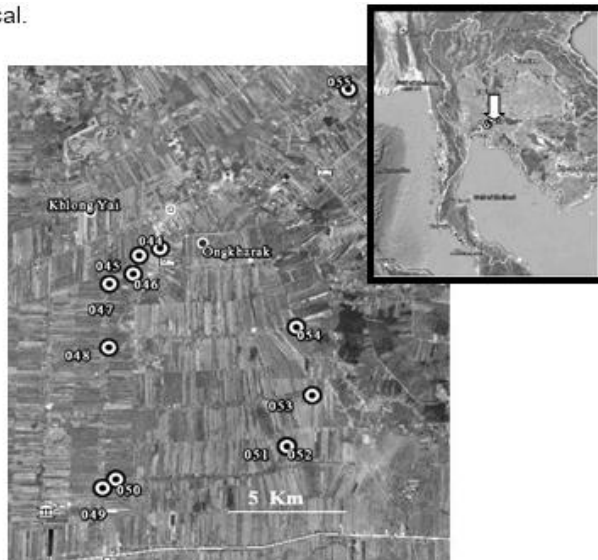
1. เมื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใบเครือหมาน้อยควรมีลักษณะเนื้อเยื่อตามที่แสดงในรูปที่ 1 การพบเนื้อเยื่อในลักษณะอื่น ๆ (เช่น รูปร่างของ palisade cell ไม่เป็น wavy wall ลักษณะของปากใบไม่เป็น anomocytic stomata การพบ trichome ที่มีรูปร่างอื่น ๆ หรือไม่พบ trichome) แสดงว่าพืชชนิดนั้นไม่ใช่ใบเครือหมาน้อย
2. ลายพิมพ์สารเคมีของสารสกัดเมธานอลของใบเครือหมาน้อยมีรูปแบบตามรูปที่ 2 ใบของพืชชนิดอื่น (ตัวอย่าง A) จะมีลายพิมพ์ที่แตกต่างออกไป ลายพิมพ์สารเคมีของสารสกัดเมธานอลจากส่วนของรากเครือหมาน้อยแตกต่างจากส่วนของใบเช่นกัน
3. ลายพิมพ์ของสารเคมีอาจจะบอกอายุและแหล่งปลูกพืชได้ และสามารถเชื่อมโยงกับการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อใช้ศึกษาแหล่งที่มาของพืชได้
4. ไม่พบสารแอลคาลอยด์ในใบเครือหมาน้อย

● โครงการวิจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมหญ้าข้าวนก

1. สำรวจการระบาดของวัชพืชและวัชพืชหญ้าข้าวนก

พื้นที่ทำนาในอำเภองครักษ์จังหวัดนครนายกมีการทำนาปีละ 2-3 ครั้ง โดยใช้น้ำจากคลองรังสิต ซึ่งแต่ละรอบของการทำนา จะใช้สารเคมี ไกลโฟเสต (Glyphosate) กำจัดหญ้าในพื้นที่ และบริเวณคันนา หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตรอบที่แล้ว จากนั้นจะปล่อยน้ำเข้านา 2-3 วัน จึงไถกลบ ต่อมาไถตะ ก่อนหว่านเมล็ดข้าวจะพ่นยา แซม (SAM) เป็นยาที่มีสารบิวทาคลอร์ 60% (butachlor) เป็นสารออกฤทธิ์ ซึ่งเป็นสารยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืช เมื่อเมล็ดข้าวงอกแล้ว 7 วัน จะใช้สารในกลุ่ม โพรพานิล (Propanil) ซึ่งจะออกฤทธิ์ต่อวัชพืชพวกหญ้าดอกขาว หญ้าข้าวนก หญ้าขนคมพู่ แต่ไม่ทำลายข้าวและข้าววัชพืช เช่น ข้าวลาย ข้าวตืด และข้าวหาง ดังนั้นทุกรอบของการทำนาจะต้องมีการพ่นยาปราบวัชพืชทุกครั้ง ทำให้สารตกค้างในนาข้าวและแหล่งน้ำข้างเคียงจึงมีปริมาณมาก เช่นสาร แซม-เปาโล-พินฟอส พบในแปลงที่ 2 และ 3 สาร โนมิปี-ฟูเร-มิเคิล พบมากในแปลง ที่ 6 และ 7 ซึ่งพื้นที่ศึกษาเป็นแปลงนาข้าวมีพื้นที่ แปลงละประมาณ 30 ไร่ โดยแปลงนาดังกล่าวมีการใช้สารเคมีปราบวัชพืชในทุกรอบการผลิตข้าว แต่ยังคงพบวัชพืช หญ้าดอกขาว อยู่ในแปลงนาเป็นกลุ่มๆ แสดงให้เห็นว่าหญ้าดอกขาวที่พบ สามารถดำรงชีวิตรอดจากฤทธิ์ ยาปราบวัชพืชได้ พื้นที่นาแสดงในรูป เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า จะเห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงจำนวนมากในพื้นที่อำเภองครักษ์

entical.



ภาพแสดง พื้นที่ศึกษาในพื้นที่นาข้าว
ในอำเภองครักษ์ จ.นครนายก จุด
สำรวจวัชพืชแสดงวงกลมสีขาวในรูป

การใช้สารเคมีในการเพาะปลูกพืช เช่น การใช้สารกำจัดวัชพืช (herbicides) หรือการใช้ปุ๋ย (fertilizers) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านประชากร (population) ของวัชพืชได้ในกรณีการใช้สารกำจัดวัชพืช วัชพืชที่ไม่ทนทานต่อสารเคมีที่ใช้ก็จะถูกทำลายหรือลดประชากรลงไป ทำให้การเจริญพันธุ์ของวัชพืชชนิดนั้นลดลงไปด้วย วัชพืชที่ทนทานต่อสารเคมีที่ใช้จะกลายเป็นวัชพืชหลัก และเป็นวัชพืชที่สร้างปัญหาอย่างรุนแรงในที่สุดจากการสำรวจโดยแปลงสุ่มตัวอย่าง ขนาด 20 x 5 ตารางเมตร 3 แปลงต่อ 1 พื้นที่ นา พบว่ามีวัชพืชหลายชนิดได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าข้าวนก ผักปอดและ กกขนาก ซึ่งพบว่าหญ้าข้าวนกจะพบเป็นส่วนใหญ่ในแปลงนาที่สำรวจ โดยแปลงนาที่พบหญ้าข้าวนกขึ้นหนาแน่น มากกว่า 15 ต้นต่อ 10 ตารางเมตรได้แก่ แปลงสำรวจที่ 1 และ 5



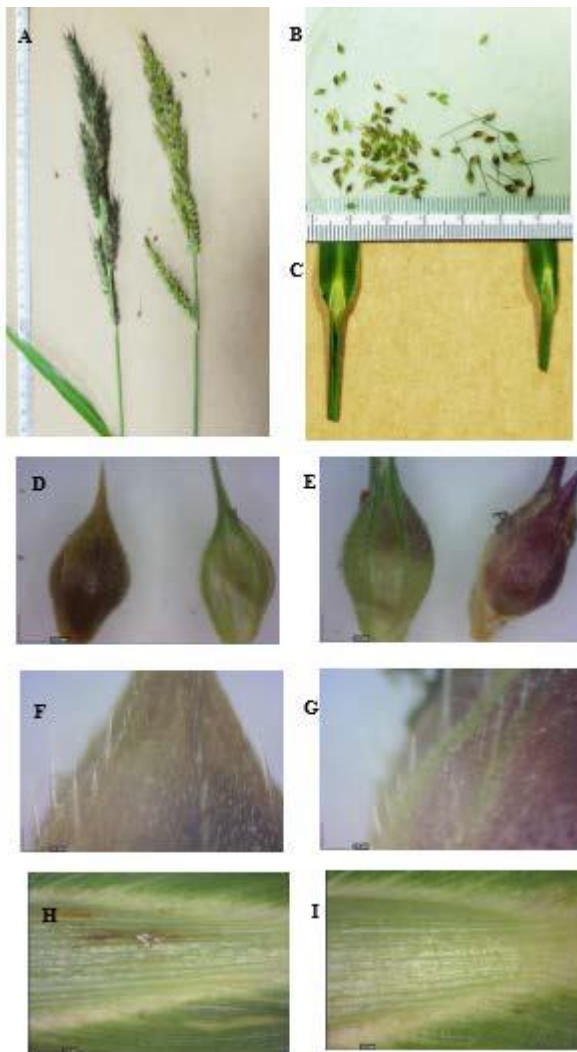
ภาพแสดงการระบาดของหญ้าข้าวนกในแปลงนา

จากการสำรวจจะพบว่ามีวัชพืชหญ้าข้าวนกขึ้นในทุกแปลงนาทั้งที่มีการพ่นยาปราบวัชพืชในทุกรอบการผลิตข้าว แสดงให้เห็นว่าวัชพืชหญ้าข้าวนกที่พบนี้มีโอกาสที่จะเป็นต้นที่ดีเยี่ยมได้ จึงเป็นที่สนใจในการนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความแปรผันทางสัณฐานวิทยาในกลุ่มประชากรและ

ลักษณะที่ต่างไปจากกลุ่มประชากรที่ไม่ได้ขึ้นในนาข้าว หรือขึ้นในแหล่งธรรมชาติซึ่ง ไม่ได้เจริญเติบโต ภายใต้สภาวะที่มีการพ่นยาปราบวัชพืช เพื่อได้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจะสามารถนำมาใช้เป็น รูปแบบในการติดต่อการค้ายาปราบวัชพืชในแหล่งต่างๆได้

2. การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยา

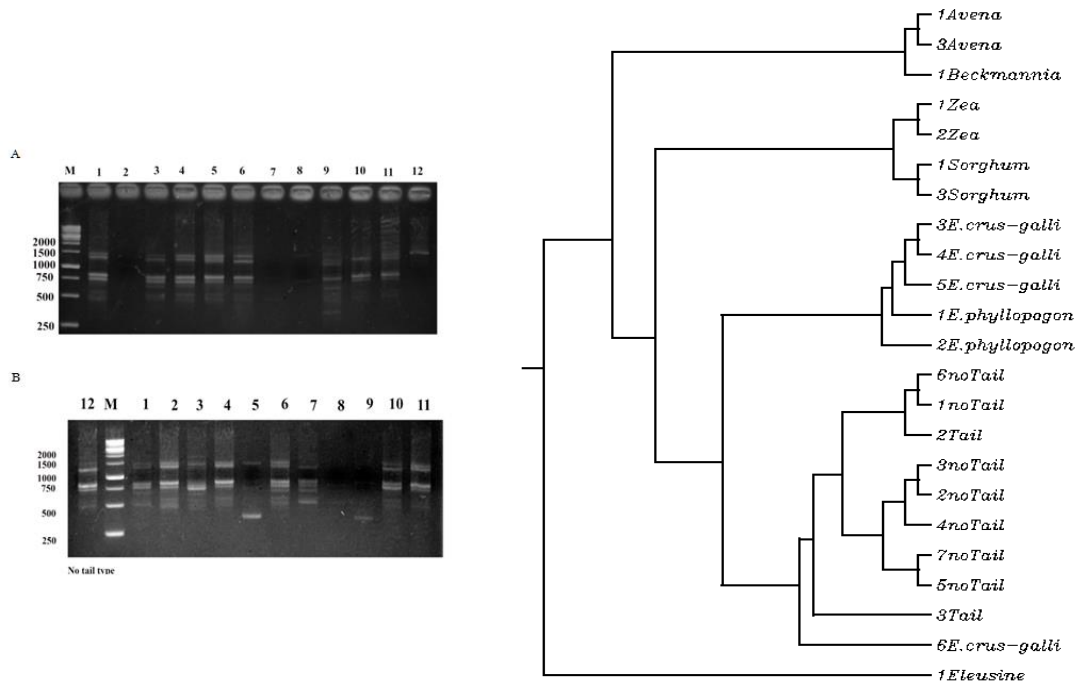
การเจริญของพืชภายใต้สภาวะกดดัน เช่นภายใต้สารเคมีปนเปื้อน ทำให้พืชมีการปรับตัวทาง สรีระวิทยาและแสดงออกมาทางสัณฐานวิทยาภายนอกของพืช เช่นเดียวกับวัชพืชที่เจริญในนาข้าวที่มี การพ่นยาปราบวัชพืช อาจส่งผลให้วัชพืชมีกลไกบางประการในการต่อต้านยาปราบวัชพืช จาก การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อเปรียบเทียบหญ้าข้าวนกในนาข้าวกับพื้นที่ธรรมชาติพบว่า ลักษณะเมล็ดและรวงมีความแตกต่างกัน เมื่อดูขนาดและใบ พบว่าไม่แตกต่างกัน



ภาพแสดง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ วัชพืชหญ้าดอกขาว ข้อดอก (1) ลำต้น (2) ใบ (3) และราก (4) ของวัชพืชหญ้าดอกขาว นอกแปลงนา(A)กับในแปลงนา (B)

3. ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมและยีน ACCae ร่วมกับ *rbcL* ยีน ของหญ้าข้าวนก

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลักษณะต่างๆของหญ้าดอกขาวในนาข้าว โดยใช้ 10 ต้น ต่อแปลง จำนวน 7 แปลงนา รวมทั้งหมด 70 ต้น ในกลุ่มประชากรที่พบในแปลงนา พบว่าประชากรมีรูปร่างแตกต่างกันในส่วนของเมล็ดบ้างชัดเจน อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษา DNA sequencing พบว่าประชากรทั้งหมดอยู่ในกลุ่มของหญ้าข้าวนก



หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชที่ระบาดกระจายตัวทั่วไปในพื้นที่นาข้าว อำเภอกองครักษ์ จังหวัดนครนายก และนาข้าวเหล่านี้มีการใช้สารปราบวัชพืชทุกครั้งที่มีการทำนาข้าว โดยวัชพืชสามารถออกดอกและพร้อมจะกระจายพันธุ์ต่อไปได้ ดังนั้นวัชพืชเหล่านี้มีโอกาสดื้อยาปราบวัชพืชที่ใช้ในการทำนาข้าวได้ การศึกษาความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาชี้ให้เห็นความแตกต่างกันระหว่างหญ้าข้าวนกในนาข้าว พบว่ารวงดอกและเมล็ดมีความแตกต่างกันไปตามระบบนิเวศ และมีสมบัติการดื้อยาต่างกันไป

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยสวนดุสิต

- การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวและแป้งน้ำลดแบคทีเรียที่มีส่วนผสมสารสกัดสมุนไพรอินทนิลน้ำ

หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความเป็นห่วงสุขภาพมากขึ้น จึงพยายามหลีกเลี่ยงจากสารเคมีทั้งหลาย แม้กระทั่งในเรื่องความงามก็นิยมนำสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง จึงมีการศึกษาวิจัยพืชสมุนไพรทั้งในด้านเพื่อนำมาใช้เป็นยารักษาโรค อาหารเสริมสุขภาพ ตลอดจนการเสริมความงาม แนวโน้มการนำสมุนไพรมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีมากขึ้น และได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่มาจากธรรมชาติ เป็นการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสังเคราะห์ซึ่งอาจก่อให้เกิดอาการแพ้เป็นผื่นผิวหนัง

ประเทศไทยมีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น เมื่อเหงื่อออกจะรู้สึกเหนอะหนะผิว อีกทั้งมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี ดังนั้นการทำความสะอาดร่างกายให้สะอาด สดชื่น จึงจำเป็นที่จะต้องจะใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสำคัญที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

อินทนิลน้ำเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่เป็นพันธุ์ไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย โดยมักพบขึ้นตามที่ราบลุ่มที่ชื้นแฉะทั่วไป รวมไปถึงบริเวณริมฝั่งแม่น้ำลำห้วย หรือในป่าเบญจพรรณขึ้นและป่าดงดิบของภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ แต่จะพบได้มากที่สุดตามป่าดงดิบในทางภาคใต้ และยังพบในป่าพรุหรือป่าบึงในของภาคใต้ เป็นพืชสมุนไพรที่ถูกใช้ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในรูปชาชงจากใบ หรือรูปสารสกัดจากใบ ส่วนต่าง ๆ ของพืชสามารถรักษาโรคได้ เช่น โรคเบาหวาน โรคอ้วน และมีการใช้ทางเครื่องสำอาง โดยสารแทนนินในใบอินทนิลน้ำที่สกัดด้วยน้ำหรือเอทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Gram positive) และ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichiacoli* (Gram negative bacteria)

เพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชสมุนไพรชนิดนี้ จึงควรมีการศึกษารวบรวมข้อมูลทางข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ ศึกษาการใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ โดยจะทำการศึกษาด้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อพัฒนาตำรับเครื่องสำอางสบู่เหลวและแป้งน้ำลดแบคทีเรียที่มีส่วนผสมสารสกัดสมุนไพรอินทนิลน้ำ เพื่อเป็นการอนุรักษ์ภูมิปัญญาไทยในเรื่องการทำแป้งน้ำและนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าและต่อยอดทางธุรกิจต่อไป

ตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ

1. ทราบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของพืชอินทนิลน้ำ
2. ได้ผลิตภัณฑ์สบู่เหลวอาบน้ำและแป้งน้ำลดเชื้อแบคทีเรียที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพรอินทนิลน้ำ จำนวน 2 ผลิตภัณฑ์ ที่ผู้ที่มีความพึงพอใจผลิตภัณฑ์ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80
3. ผู้เข้าชมนิทรรศการมีความพึงพอใจระดับ 4 ขึ้นไป (ระดับมากถึงมากที่สุด) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80

การดำเนินงาน

1. กิจกรรมสำรวจเก็บรวบรวม

ทำการสำรวจและศึกษาค้นคว้าเก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับ อินทินิลน้ำ โดยศึกษาจากแหล่งความรู้ ได้แก่ หนังสือ เอกสาร และข้อมูลออนไลน์ ผู้เชี่ยวชาญ ผู้ทรงคุณวุฒิ สถานที่พบอินทินิลน้ำ ถนนสิรินธร หน้าศูนย์วิทยาศาสตร์คอมพิวเตอร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ทำการรวบรวมข้อมูล ดังนี้

ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

ข้อมูลการปลูกและการดูแลรักษา

ข้อมูลการใช้ประโยชน์ ด้านต่างๆ ได้แก่ การใช้ประโยชน์ทางด้านเนื้อไม้ การใช้ประโยชน์ทางด้านนิเวศน์ การใช้ประโยชน์ทางด้านภูมิสถาปัตย์ การใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการทางด้านสมุนไพร และการใช้ประโยชน์ด้านเครื่องสำอาง



ภาพที่ 1 ต้น ใบ ดอก ของอินทินิลน้ำบนถนนสิรินธร

2. กิจกรรมศึกษาและวิเคราะห์องค์ความรู้ที่รวบรวมได้

จากข้อมูลที่รวบรวมได้ของพืชอินทินิลน้ำพบว่าการปลูกทั่วไป หลากหลายพื้นที่ ดังนั้นหากมีการนำส่วนของพืชมาใช้ประโยชน์ ทางด้านสมุนไพรเครื่องสำอางจะเป็นการเพิ่มมูลค่าและต่อยอดทางธุรกิจได้ง่าย จึงทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่พบบนผิวของสารสกัดจากใบของอินทินิลน้ำ เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องสำอาง ได้แก่ สบู่เหลวอาบน้ำและแป้งนวลดเชื้อแบคทีเรียต่อไป

การเตรียมสารสกัดอินทินิลน้ำ

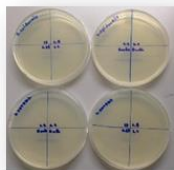
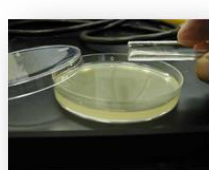
สารสกัดอินทินิลน้ำ ได้จากการสกัดใบสดด้วยเอทานอลและน้ำ

การทดสอบสารสกัดอินทินิลน้ำกับเชื้อแบคทีเรีย

นำสารสกัดอินทินิลน้ำมาศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ที่พบบนผิว ได้แก่ *Staphylococcus aureus* 2) *Staphylococcus epidermidis* 3) *Escherichia coli* โดยใช้วิธี dish

diffusion test และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) ขั้นตอน ดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3

Cup plate method agar method



Bacterial swab down plate



Incubate at 37 °C for over night

ภาพที่ 2 Disc diffusion test



Dilute extract in borth



Extract concentrated into plate



spreader in faction the plate



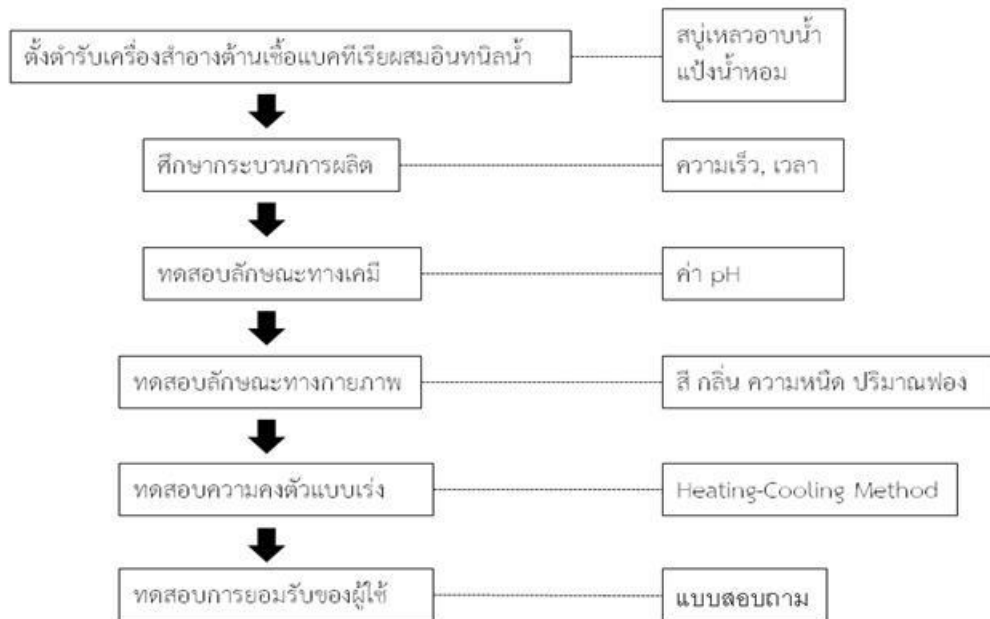
Incubate at 37 °C for over night

ภาพที่ 3 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

การพัฒนาสูตรสบู่เหลวอาบน้ำและแป้งนวลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้ใช้

ขั้นตอนการพัฒนาสูตรสบู่เหลวอาบน้ำและแป้งนวลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้ใช้ แสดงดังภาพที่ 4

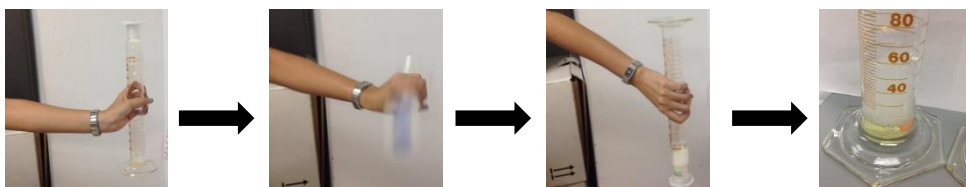
ขั้นตอนการพัฒนาสูตรสบู่เหลวอาบน้ำและแป้งน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลที่มี
คุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้ใช้



ภาพที่ 4 ขั้นตอนการพัฒนาสูตรเครื่องสำอางผสมอินทนิลน้ำ

ขั้นตอนการทดสอบ

1. การทดสอบลักษณะทางเคมี วัดค่าความเป็นกรดต่าง ด้วย pH meter
2. การวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ สังเกตสี ตมกลิ่น วัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Viscometer วัดปริมาณฟองโดย ชั่งสบู่เหลว 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร คนสบู่ให้ละลายเข้ากันดี ใส่ในกระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นทำการพลิก คว่ำ ในจังหวะที่เท่ากัน เป็นเวลา 1 นาที สังเกตความสูงของฟองหน่วยเป็นมิลลิเมตร ลักษณะฟองและขนาดฟอง บันทึกผล ทิ้งไว้ 5 นาที อ่านความสูงของฟองที่เหลือ ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการทดสอบปริมาณฟอง

3. การทดสอบความคงตัวสถานะเร่งโดยวิธีเก็บที่ร้อนสลับเย็น (Heating-Cooling Methos) ทำการทดสอบ 4 cycle โดยการเก็บในที่ร้อน อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วันและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เป็น 1 cycle ตรวจสอบความคงตัว การแยกชั้น การเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น

4. การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์สบู่เหลวอาบน้ำผสมอินทนิลน้ำ ทดสอบผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์ของการใช้ (Performance test) ศึกษาคุณสมบัติสภาพที่มองเห็นจากภายนอก สี กลิ่น ลักษณะเนื้อ ความข้น/เหลว คุณลักษณะขณะใช้ ได้แก่ กลิ่นปริมาณฟอง การทำความสะอาด ความง่ายในการล้างออก ความลื่น ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กลิ่น ความนุ่มชุ่มชื้นผิว โดยความสามารถในการชำระล้าง และความง่ายในการล้างให้หมดไป ทำการประเมินโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า จากการหยดน้ำมันมะกอกด้วย dropper 1-3 หยดที่ฝ่ามือและลูกให้ทั่วฝ่ามือ หยดสบู่เหลวล้างมือด้วย dropper 5 หยด และทำการล้างมือด้วยวิธีล้างมือที่ดี 7 ขั้นตอนของกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ดังภาพที่ 6 บันทึกผลเกี่ยวกับความสามารถในการชำระล้าง และความง่ายในการล้างให้หมดไป ส่วนความชุ่มชื้นของมือ ทำการประเมินโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และการประเมินความรู้สึกภายหลังการล้างมือด้วยสบู่เหลวล้างมือ ความไม่ระคายเคืองโดยทดสอบต่อบุคคลในห้องปฏิบัติการและความชอบโดยรวม โดยใช้แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์จำนวน 40 ชุด



ภาพที่ 6 วิธีล้างมือที่ดี 7 ขั้นตอน (สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข)

การเลือกและออกแบบบรรจุภัณฑ์

เลือกบรรจุภัณฑ์ที่มีความเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ สามารถปกป้องผลิตภัณฑ์ได้ รวมทั้งไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อผลิตภัณฑ์เอง หาบรรจุภัณฑ์ได้จากร้านขายบรรจุภัณฑ์ ถนนหลานหลวง แขวงคลองมหานาค เขตป้อมปราบ กรุงเทพฯ โดยต้องการบรรจุภัณฑ์สีม่วง และนำมาออกแบบให้เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรที่มีความเป็นสากล

3. กิจกรรมข้อมูลทางพันธุกรรมพืช/ภูมิปัญญา

ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของอินทนิลหรือ อินทนิลน้ำ

อินทนิลน้ำ มีชื่อสามัญ Queen's Flower, Queen's crape myrtle, Pride of India, Jarul ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. จัดอยู่ในวงศ์ LYTHRACEAE (เป็นคนละชนิดกับ อินทนิลน้ำบก หรือ *Lagerstroemia macrocarpa* Wall.) มีชื่อท้องถิ่นอื่นๆ อีกเช่น ตะแบกดำ (กรุงเทพฯ), ฉวงมู ฉ่องพนา (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี), บางอบะซา (นราธิวาส, มลายู-ยะลา), บาเย บาเอ (มลายู-ปัตตานี), อินทนิลน้ำ (ภาคกลาง, ภาคใต้) เป็นต้น เป็นพันธุ์ไม้ประจำจังหวัดระนองและจังหวัดสกลนคร

อินทนิลน้ำ เป็นพันธุ์ไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย โดยมักพบขึ้นตามที่ราบลุ่มที่ขึ้นและทั่วไป รวมถึงบริเวณริมฝั่งแม่น้ำลำห้วย หรือในป่าเบญจพรรณขึ้นและป่าดงดิบของภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ แต่จะพบได้มากที่สุดตามป่าดงดิบในทางภาคใต้ และยังพบในป่าพรุหรือป่าบึงในของภาคใต้

อินทนิลน้ำมีสารสำคัญมีสารพวกแทนนิน 12.8-13.3 % และจากเปลือกลำต้นมี 10 % และพบสารกลุ่ม triterpene และ steroid เช่น corosolic acid (2,3-dihydroxy-12-ursen-28-oic acid), 31-norlagerenol acetate, 24-methylenecycloartanol acetate, 31-nor 24-methylene cycloartanol acetate, largerenol acetate, tinotufolin C, tinotufolin D, lutein, phytolsterol และ sitosterol acetate, 3 β , 23-dihydroxy-1-oxo-olean-12-en-28-oic acid ในบรรดาสารเหล่านี้ พบว่า สารที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ในใบของอินทนิลน้ำคือ corosolic acid ด้วย และสารแทนนินในใบอินทนิลน้ำที่สกัดด้วยน้ำหรือเอทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Gram positive) และ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichiacoli* (Gram negative bacteria) โดยการสกัดใบของอินทนิลน้ำด้วยน้ำจะให้ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล (Ambujakshi, H.R., Surendra, V., Haribabu, T. & Divakar, G., 2009)

ลักษณะของอินทนิลน้ำ

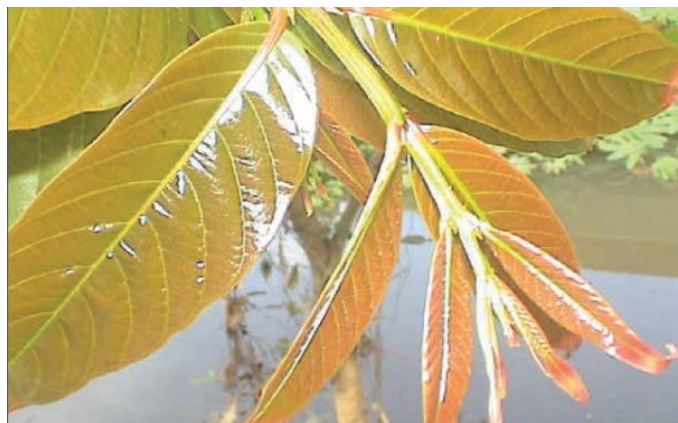
ต้นอินทนิลน้ำ ไม้เป็นยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ เจริญเติบโตเร็วหากปลูกในที่ที่เหมาะสม ต้นมีความสูงประมาณ 5-20 เมตร ลำต้นเล็กและมักคดงอ แต่พอใหญ่ขึ้นจะเปลาตรง เป็นไม้ผลัดใบ แต่ผลใบใหม่ไว โคนต้นไม้ไม่ค่อยพบพุ่มพอง มักมีกิ่งใหญ่แตกจากลำต้นสูงเหนือจากพื้นดินขึ้นมาไม่มาก จึงมีเรือนยอดที่แผ่กว้าง เป็นพุ่มคล้ายลักษณะรูปร่มและคลุมส่วนโคนต้นเล็กน้อยเท่านั้น (ถ้าเป็นต้นที่ขึ้นตามธรรมชาติในป่า มักจะมีเรือนยอดคลุมลำต้นประมาณ 9/10 ส่วนของความสูงของต้น) ส่วนผิวเปลือกต้นอินทนิลน้ำจะมีสีเทาหรือสีน้ำตาลอ่อน มักจะมีรอยต่างๆ เป็นดวงขาวๆ อยู่ทั่วไป ผิว

เปลือกจะค่อนข้างเรียบไม่แตกเป็นร่องหรือเป็นรอยแผลเป็น เปลือกมีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ที่เปลือกในจะออกสีม่วง



ภาพที่ 7 ลักษณะต้นและการออกดอกของอินทนิลน้ำ

เนื้อไม้อินทนิลน้ำ เมื่อยังใหม่สดอยู่จะเป็นสีแดงเรื่อๆ หรือสีชมพูอ่อน พอนานเข้าจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดง เนื้อไม้ค่อนข้างละเอียดมีเส้นตรง เป็นมันลื่น มีความแข็งแรงปานกลาง เหนียวและทนทาน ใช้เลื่อยไสกบตัดง่าย ขัดเงาได้เป็นเงางาม ใบอินทนิลน้ำ มีใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกันหรือออกเยื้องกันเล็กน้อย ลักษณะของใบเป็นรูปทรงขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมรูปหอก มีความกว้างประมาณ 5-10 เซนติเมตร และยาวประมาณ 11-26 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวเนื้อใบค่อนข้างหนาและเกลี้ยงเป็นมันทั้งสองด้าน โคนใบบนหรือเบี้ยวเยื้องกันเล็กน้อย ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ส่วนปลายใบเรียวและเป็นติ่งแหลม มีเส้นแขนงใบประมาณ 9-17 คู่ เส้นโค้งอ่อนและจรดกับเส้นถัดไปบริเวณใกล้ๆ ขอบของเส้นใบย่อยจะเห็นไม่ค่อยชัดเจน ก้านใบยาวประมาณ 1 เซนติเมตร เกลี้ยงและไม่มีขน



ภาพที่ 8 ใบอินทนิลน้ำ

ดอกอินทนิลน้ำ ดอกใหญ่มีหลายสี เช่น สีม่วงอมชมพู สีม่วงสด หรือม่วงล้วน ออกดอกรวมกันเป็นช่อใหญ่ตามปลายกิ่งหรือตามง่ามใบตอนใกล้ๆ ปลายกิ่ง มีความยาวถึง 30 เซนติเมตร ที่ส่วนบนสุดของดอกตูมจะมีตุ่มกลมๆ เล็กๆ ตั้งอยู่ตรงกลาง ที่ผิวนอกของกลีบฐานดอกจะติดกันเป็นรูปถ้วยหรือรูปทรงกรวยหงาย จะมีสีสันทันตามยาวเห็ดขัด และมีเส้นขนสั้นๆ ปกคลุมอยู่ประปราย ดอกอินทนิลน้ำมีกลีบดอกบาง ลักษณะเป็นรูปช้อนที่มีโคนกลีบเป็นก้านเรียว ผิวกลิบจะเป็นคลื่นๆ เล็กน้อย เมื่อดอกบานเต็มที่จะมีรัศมีมีความกว้างประมาณ 5 เซนติเมตร และมีรังไข่กลมเกลี้ยง จะเริ่มออกดอกได้เมื่อมีอายุประมาณ 4-6 ปีออกดอกระหว่างเดือนมีนาคม – มิถุนายน



ภาพที่ 9 ดอกอินทนิลน้ำ กลีบดอกสีม่วง

ผลอินทนิลน้ำ ลักษณะเป็นรูปไข่เกลี้ยงๆ กว้างประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร และยาวประมาณ 2-2.6 เซนติเมตร ที่ผิวของผลอินทนิลน้ำจะเรียบ ไม่มีขนปกคลุม ผลมีสีน้ำตาลแดง ผลเป็นผลแห้งเมื่อแก่จะแยกออกเป็น 6 เสี่ยงและจะเผยให้เห็นเมล็ดเล็กๆ ที่มีปีกเป็นครีบบางๆ ทางด้านบน มีผลแก่ระหว่างเดือนตุลาคม - ธันวาคม



ภาพที่ 10 ผลอินทนิลน้ำ

การกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ

พบขึ้นตามที่ราบลุ่มทั่วไป และบริเวณริมฝั่งแม่น้ำลำธาร ในป่าเบญจพรรณชื้น และป่าดงดิบทุกภาค แต่พบมากในป่าดงดินชื้นในภาคใต้ที่มีระดับความสูงไม่เกิน 600 ม.

การขยายพันธุ์และการเพาะปลูก

นิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด ขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิดที่มีความชื้นปานกลางถึงมาก ทนต่อสภาพน้ำท่วมขัง ต้องการความชื้นปานกลางถึงมาก ชอบแสงมาก การปลูกดูแลบำรุงรักษาขึ้นอยู่กับ การคัดเลือกพื้นที่และเตรียมพื้นที่ปลูก วิธีการปลูกและระยะปลูกที่เหมาะสม

การใช้ประโยชน์

1. การใช้ประโยชน์ทางด้านเนื้อไม้ เนื้อไม้เมื่อยังใหม่อยู่เป็นสีแดงเรื่อๆ หรือชมพูอ่อน พอนานเข้าจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดง เสี้ยนตรง เนื้อค่อนข้างละเอียด เป็นมันเลื่อม แข็งปานกลาง เหนียว ทนทานโดยเฉพาะการใช้ในน้ำ หรือในที่แห้งก็ดี เลื่อย ไสกบตกแต่งง่าย ขับเงาได้งาม นิยมใช้ก่อสร้าง บ้านเรือน ใช้ทำพื้นกระดาน กระเบื้องมุงหลังคา ต่อเรือ ทำเกวียน เครื่องตกแต่งบ้าน ถังไม้ กังหันน้ำ

2. การใช้ประโยชน์ทางด้านนิเวศน์ ให้ร่มเงา ให้ความร่มรื่น เป็นแนวกันลม ฯลฯ

3. การใช้ประโยชน์ทางด้านภูมิสถาปัตย์ อินทินิลน้ำเป็นต้นไม้ที่มีทรงพุ่มกลมไม่สูงมาก เมื่อปลูกกลางแจ้งและมีช่อดอกขนาดใหญ่สีม่วง - ม่วงชมพู ดูสวยงาม ปัจจุบันนิยมปลูกเป็นไม้ประดับสวน ที่อยู่อาศัยและริมทางทั่วไป

4. การใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการ ทางด้านสมุนไพร มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ด้านไวรัส ลดน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิตสูง ยับยั้งเชื้อรา ขับปัสสาวะ ลดการอักเสบ ไบโอมัสจัดขมฝาดเย็น ใช้ต้มหรือชงน้ำร้อนดื่มแก้เบาหวานช่วยลดน้ำตาลในเลือด ส่วนที่ใช้คือใบแก่เต็มที่ เมล็ด เปลือกผล ในประเทศไทยในใช้สารสกัดจาก เมล็ด เปลือกผล ประเทศอินเดียใช้สารสกัดจากใบ ประเทศฟิลิปปินส์ทำการทดลองสารสกัดจากอินทินิลน้ำ พบว่าออกฤทธิ์เหมือนอินซูลิน วิธีการต้มดื่มแก้เบาหวาน ให้นำใบแห้ง 7-10 ใบ เมล็ดจากผลแห้ง 2-3 ผล ต้มน้ำดื่มแทนน้ำชา ต้องดื่มติดต่อกันประมาณ 2-3 สัปดาห์ แล้วจึงตรวจน้ำตาลในเลือด โดยแพทย์แผนปัจจุบันถ้าน้ำตาลลดลงเป็นปกติแล้วก็หยุดใช้ยา แก้ปัสสาวะพิการ (จากประสบการณ์ของผู้ป่วยส่วนหนึ่งระบุว่าใช้ได้ผล แต่การทดลองในสัตว์พบว่าไม่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด) ลดความดันโลหิตสูง ส่วนที่ใช้ ใบแก่เต็มที่ โดยใช้ใบ 1 กำมือ ต้มน้ำดื่มตอนเช้า ประเทศอินเดียทดลอง ในปี ค.ศ 1982 ลดไขมันในเลือด ส่วนที่ใช้ ใบ ในปี ค.ศ 2002 ประเทศญี่ปุ่น ทำการทดลองสกัดสารจากอินทินิลน้ำ ด้วยแอลกอฮอล์นำไปทำให้เข้มข้นจนได้สาร 3 mg/ml นำไปทำยาเม็ดขนาด 250 mg/tab โดยทำการทดลองในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวาน และมีภาวะไขมันในเลือดสูง โดยให้กินยาสกัดจากอินทินิลน้ำวันละ 3 เม็ด วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าผู้ป่วยมีระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลง เมล็ด รสขม แก้โรคเบาหวาน แก้อาการนอนไม่หลับ เปลือก

รสฝาดขม แก้ไข้ แก้ท้องเสีย แก้ลม รสขม ต้มดื่มแก้โรคเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการ แก้โรคเบาหวาน ราก รสขม แก้แผลในปากและคอ

5. การใช้ประโยชน์ด้านเครื่องสำอางพบว่าอินทนิลน้ำเป็นพืชที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนต์สูง จึงนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์บำรุงช่วยปรับสีผิว (whitening) ด้านการแก้ (anti aging) ด้านการเกิดริ้วรอย (anti wrinkle) ฝาดสมานผิว (Astringent) เนื่องจากมีส่วนประกอบของแทนนิน กระตุ้นการงอกของเส้นผม (hair growth) และต้านเชื้อแบคทีเรีย (Cobiosa, 2012)

ผลการศึกษาการทดสอบสารสกัดอินทนิลน้ำกับเชื้อแบคทีเรีย

จากผลการทดลองการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยทำการทดสอบฤทธิ์กับแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* จะเห็นได้ว่า ในความเข้มข้น 13 mg/ml เคลียร์โซนของสารสกัดอินทนิลน้ำของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* และ *E.coli* มีค่าเท่ากับ 8, 7, 8 mm ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 6.5 mg/ml พบเคลียร์โซนของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 8 mm และที่ความเข้มข้น 6.5 , 3.25 , 1.6 , 0.8 และ 0.4 mg/ml ไม่พบเคลียร์โซนของแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermis* และ *E.coli* ส่วนยาปฏิชีวนะ Gentamicin พบเคลียร์โซนของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, และ *Escherichia coli* มีค่าเท่ากับ 23, 25, 25 mm ตามลำดับ ส่วนใน Broth ไม่พบเคลียร์โซน แสดงดังตารางที่ 1 และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) น้อยกว่า 1.625 mg/ml. ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบอินทนิลน้ำ ด้วย disc diffusion assay

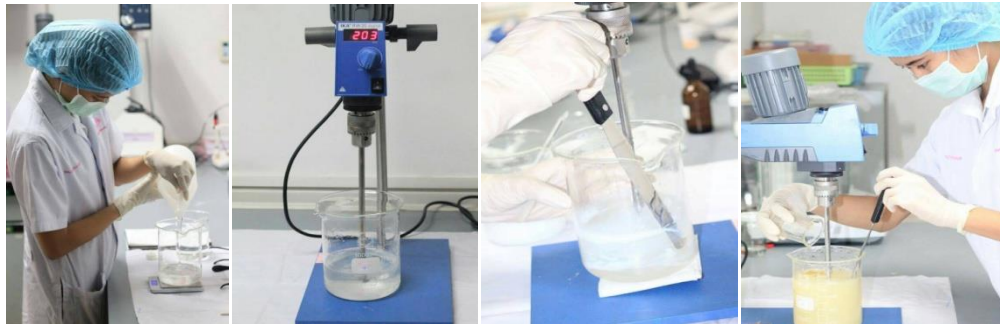
CONCENTRATION (mg/ml)	Bacteria Inhibition Zone (mm.)		
	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermis</i>	<i>E.coli</i>
13	8	7	8
6.5	7	-	-
3.25	-	-	-
1.6	-	-	-
0.8	-	-	-
0.4	-	-	-
Gentamicin	23	25	25
TSB	-	-	-

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ของสารสกัดใบอินทนิลน้ำ

	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermis</i>	<i>E.coli</i>
MIC (mg/ml)	< 1.625	< 1.625	< 1.625

การพัฒนาตำรับสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ

พัฒนาตำรับและกระบวนการผสมสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ ที่มีกลิ่นหอม สดชื่น สามารถชำระล้างสิ่งสกปรกจากผิวได้ดี ล้างออกง่าย ผิวชุ่มชื้น มีฟองปานกลาง



ภาพที่ 11 การผสมสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ

การพัฒนาตำรับแป้งน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ

พัฒนาตำรับและกระบวนการผลิตแป้งน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำที่มีกลิ่นหอม เย็น สดชื่น ลดอาการคัน

ผลการทดสอบทางเคมีและกายภาพและความคงตัวสภาวะเร่ง

ตำรับสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ เนื้อสบู่เหลวมีเนื้อ ใสสีม่วง กลิ่นหอม ดอกไม้และกลิ่นเปเปอร์มิน ฟองมีความคงตัวดี มีความคงตัวของเนื้อผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งดี ไม่พบการแยกชั้น ตกตะกอน พบสี และกลิ่น อ่อนลงเล็กน้อย ค่า pH และค่าความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง

ตำรับแป้งน้ำหอมผสมอินทนิลน้ำ เนื้อแป้งมีสีชมพูอ่อนของคาลาไมน์ และนำปรุงมีสีชมพูจากการผสมสีผสมอาหาร กลิ่นหอมดอกไม้ เย็น มีความคงตัวของเนื้อผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งดี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี หรือการจับตัวเป็นก้อนของเนื้อผลิตภัณฑ์ พบกลิ่น และความเย็นลดลงเนื่องจากทดสอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำให้มีการระเหยของน้ำหอมและสารที่มีคุณสมบัติทำให้เย็น ดังนั้นจึงไม่ควรเก็บผลิตภัณฑ์นี้ในอุณหภูมิสูง ให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์สบู่เหลวอาบน้ำผสมอินทนิลน้ำและแป้งน้ำหอมผสมอินทนิลน้ำ

ทดสอบผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์ของการใช้ (Performance test) ศึกษาคุณสมบัติสภาพที่มองเห็นจากภายนอก สี กลิ่น ลักษณะเนื้อ ความชื้น/เหลว คุณลักษณะขณะใช้ ได้แก่ กลิ่นปริมาณฟอง การทำความสะอาด ความง่ายในการล้างออก ความสิ้น ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กลิ่น ความนุ่มชุ่มชื้นผิว โดยความสามารถในการชำระล้าง และความง่ายในการล้างให้หมดไป ทำการประเมินโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า จากการหยดน้ำมันมะกอกด้วย dropper 1-3 หยดที่ฝ่ามือและถูกให้ทั่วฝ่ามือ หยดสบู่เหลวล้างมือด้วย dropper 5 หยด และทำการล้างมือด้วยวิธีล้างมือที่ดี 7 ขั้นตอนของกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข บันทึกผลเกี่ยวกับความสามารถในการชำระล้าง และความง่ายในการล้างให้หมดไป ส่วนความชุ่มชื้นของมือ ทำการประเมินโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และการประเมินความรู้สึกภายหลังการล้างมือด้วยสบู่เหลวล้างมือ ความไม่ระคายเคืองโดยทดสอบต่อบุคคลในห้องปฏิบัติการและความชอบโดยรวม โดยใช้แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์จำนวน 40 ชุด ผลดังตารางที่ 3 และ ตารางที่ 4

ตารางที่ 3 การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์สบู่เหลวอาบน้ำผสมอินทนิลน้ำ

คุณลักษณะที่ประเมิน	ผลการประเมิน*	ระดับ
	$\bar{X} \pm SD$	
คุณสมบัติสภาพที่มองเห็นจากภายนอก		
-สี	4.50±0.55	มาก
-กลิ่น	4.00±0.64	มาก
-ลักษณะเนื้อ ความชื้น/เหลว	4.33±0.57	มาก
คุณลักษณะขณะใช้		
-กลิ่น	4.00±0.64	มาก
-ปริมาณฟอง	4.28±0.60	มาก
-การทำความสะอาด	4.30±0.61	มาก
-ความสิ้น	4.08±0.62	มาก
ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์		
-กลิ่น	4.00±0.64	มาก
-ความนุ่มชุ่มชื้นผิว	4.30±0.56	มาก
-ความสามารถในการชำระล้าง	4.30±0.61	มาก
-ความง่ายในการล้างให้หมดไป	4.40±0.67	มาก
ความชอบโดยรวม	4.58±0.50	มาก

หมายเหตุ *เกณฑ์การประเมิน ได้แก่ 5 มากที่สุด 4 มาก 3 ปานกลาง 2 น้อย 1 น้อยมาก

ตารางที่ 4 การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์แบ่งน้ำหอมผสมอินทนิลน้ำ

คุณลักษณะที่ประเมิน	ผลการประเมิน*	ระดับ
	$\bar{X} \pm SD$	
คุณสมบัติสภาพที่มองเห็นจากภายนอก		
-สี	4.45±0.60	มาก
-กลิ่น	4.28±0.60	มาก
-ลักษณะเนื้อ ความข้น/เหลว	4.33±0.57	มาก
คุณลักษณะขณะใช้		
-กลิ่น	4.28±0.60	มาก
-ความเย็น	4.45±0.60	มาก
ความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์		
-กลิ่น	4.28±0.60	มาก
-ความนุ่มชุ่มชื้นผิว	4.05±0.60	มาก
-ความเย็น	4.45±0.60	มาก
ความชอบโดยรวม	4.35±0.58	มาก

หมายเหตุ *เกณฑ์การประเมิน ได้แก่ 5 มากที่สุด 4 มาก 3 ปานกลาง 2 น้อย 1 น้อยมาก



ภาพที่ 12 เติรียมทดสอบความคงตัวสภาวะเร่งสบู์เหลวอาบนํ้าลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ

บรรจุภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์จัดเป็นเซตประกอบด้วยสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำ 1 ขวดและ แป้งน้ำหอมอินทนิลน้ำ 1 ขวด มี 2 ขนาด คือขนาดเล็ก สบู่เหลวอาบน้ำ 150 มล.และ แป้งน้ำหอมอินทนิลน้ำ 100 มล. บรรจุในกล่องกระดาษ ออกแบบฝากล่องลายดอกไม้หลากสี ขนาดใหญ่ สบู่เหลวอาบน้ำ 250 มล.และ แป้งน้ำหอมอินทนิลน้ำ 180 มล. บรรจุในกล่องไม้ มีการวาดลายด้านข้างกล่อง สบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำจะบรรจุในขวดพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate: PET) สีน้ำเงินม่วง ขนาดเล็กเป็นฝากด (Dish top) เมื่อกดเปิดสามารถบีบเนื้อผลิตภัณฑ์ออกได้เลย ส่วนขนาดใหญ่เป็นฝาแบบปั๊ม เพื่อให้สะดวกในการใช้และตกไม่แตก เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในห้องน้ำ และแป้งน้ำหอมอินทนิลน้ำบรรจุในขวดแก้วเพื่อโชว์ให้เห็นเนื้อแป้งและเป็นการเก็บรักษาความเย็น



ภาพที่ 13 บรรจุภัณฑ์ชุดสบู่เหลวอาบน้ำลดเชื้อแบคทีเรียผสมอินทนิลน้ำและแป้งน้ำหอมอินทนิลน้ำ

[illegible]

ขั้นตอนการดำเนินงานหรือผลดำเนินงาน

1. ขั้นตอนการประดิษฐ์



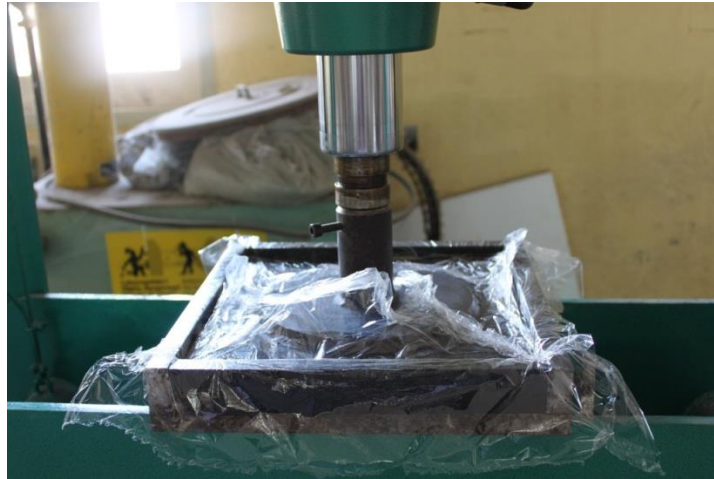
รูปที่ 1 การเตรียมเส้นใยตาลโตนดและการผสมเส้นใยตาลโตนด



รูปที่ 2 การบรรจุเส้นใยตาลโตนดลงในแบบหล่อ



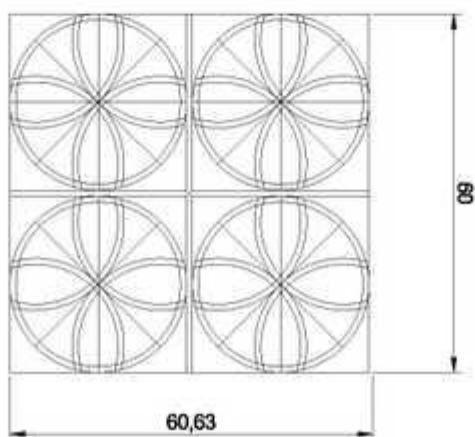
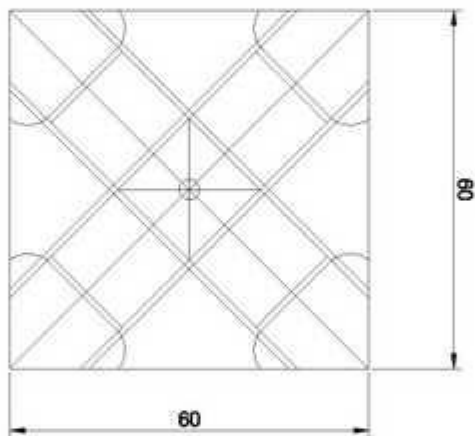
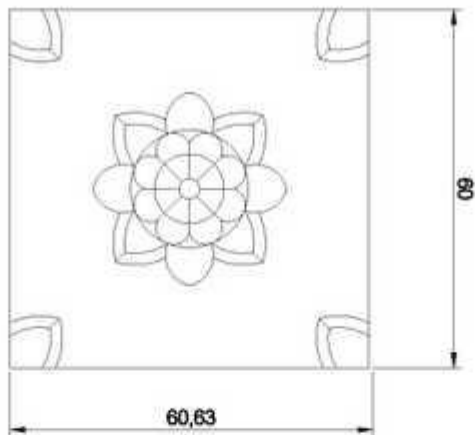
รูปที่ 3 เครื่องอัดไฮดรอลิกเพื่อใช้ในการขึ้นรูปชิ้นงาน



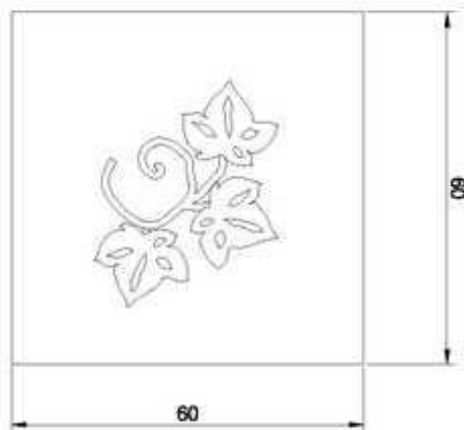
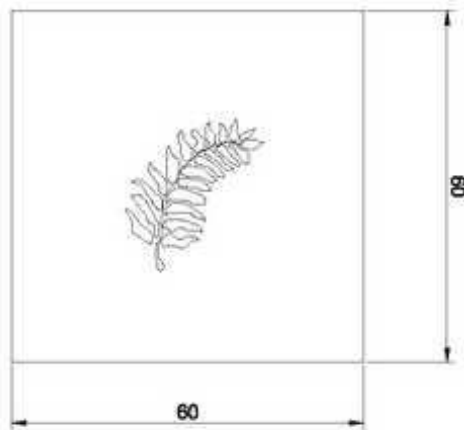
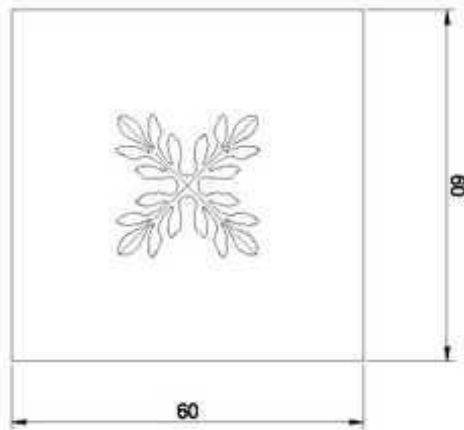
รูปที่ 4 การอัดขึ้นรูปแผ่นผนังสำเร็จรูปจากเส้นใยตาลโตนด



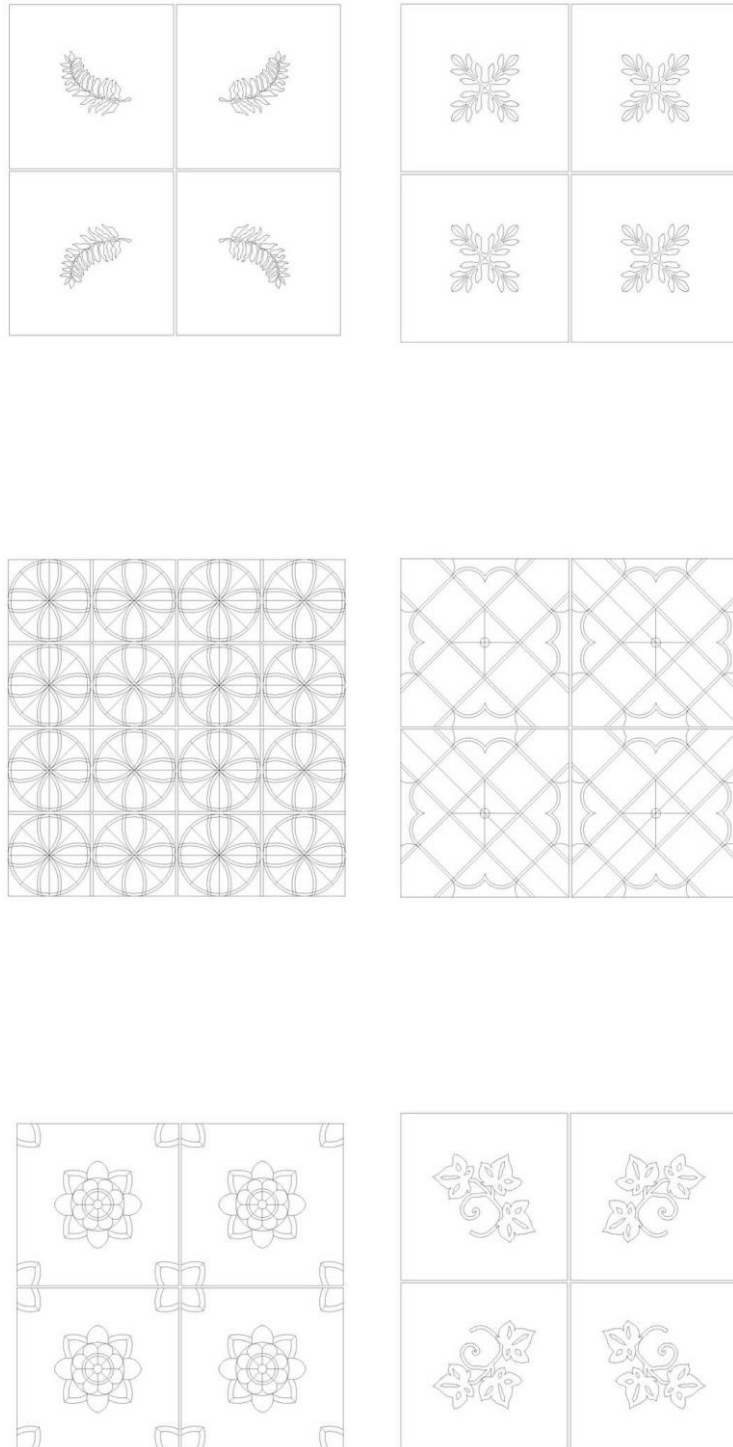
รูปที่ 5 ลักษณะลวดลายของผลิตภัณฑ์แผ่นผนังสำเร็จรูปจากเส้นใยตาลโตนด 6 รูปแบบ



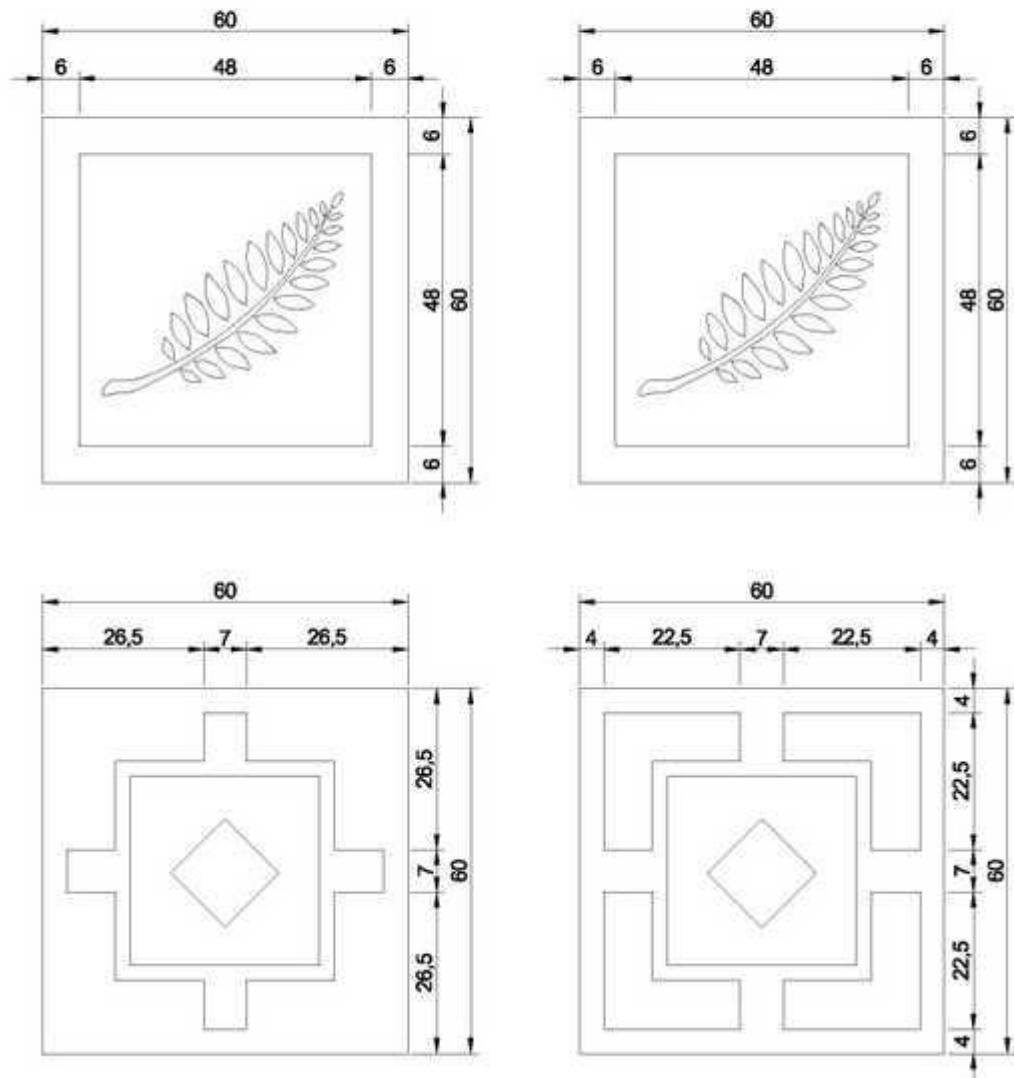
รูปที่ 6 ลวดลายที่ทำการออกแบบขั้นต้นแบบที่ 1



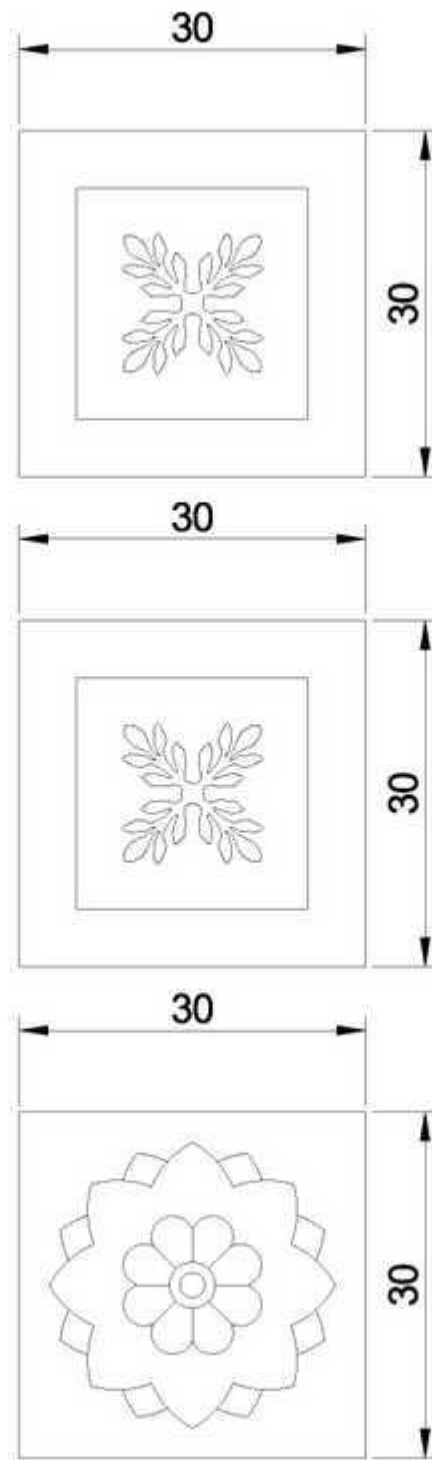
รูปที่ 7 ลวดลายที่ทำการออกแบบขึ้นต้นแบบที่ 2



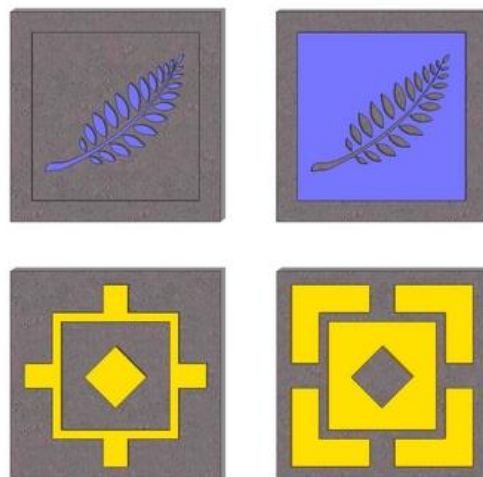
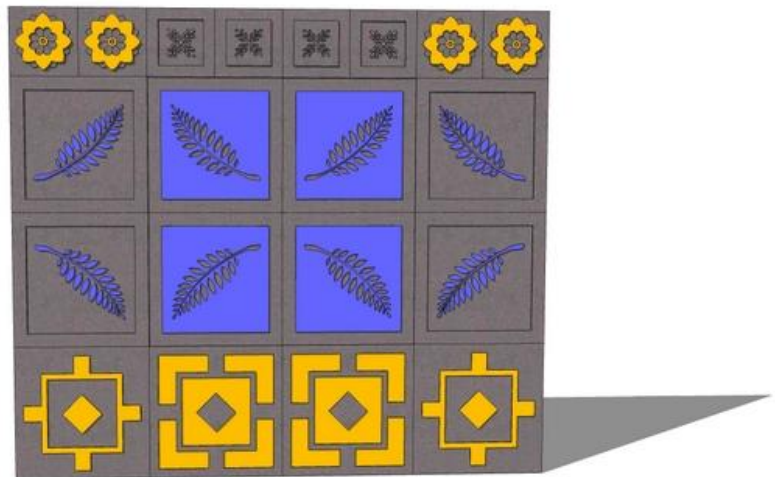
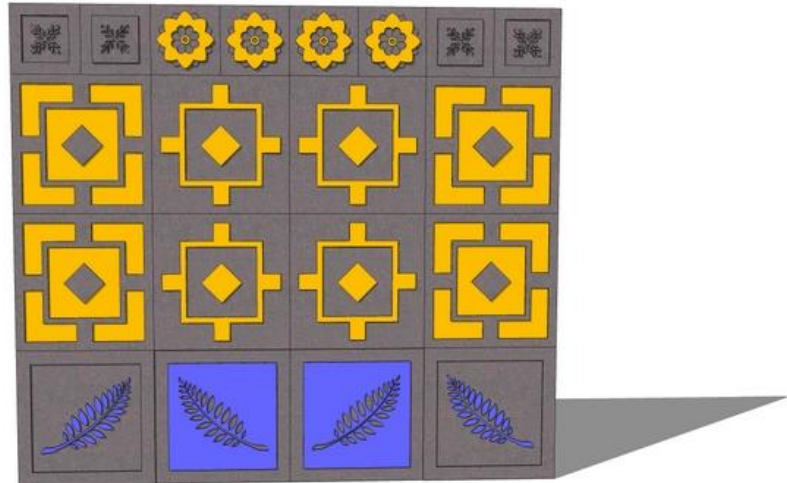
รูปที่ 8 ลวดลายที่ทำการออกแบบขั้นต้นแบบที่ 3



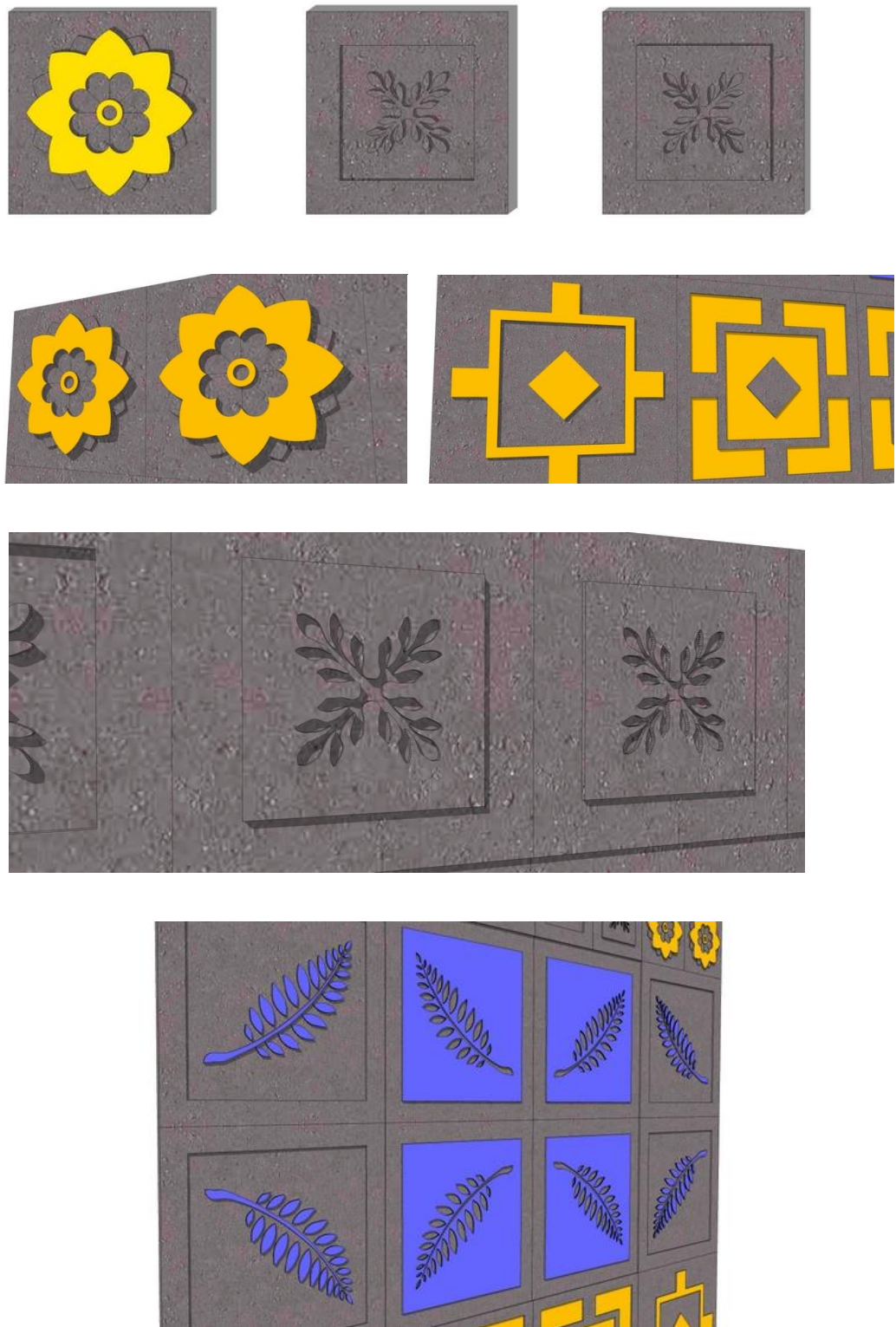
รูปที่ 9 ลวดลายที่ทำการออกแบบขั้นต้นแบบที่ 4



รูปที่ 10 ลวดลายที่ทำการออกแบบขั้นต้นแบบที่ 5



รูปที่ 11 ภาพตัวอย่างลวดลายที่ทำการออกแบบตามรูปแบบที่ 4 และ 5



รูปที่ 12 ภาพตัวอย่างการจัดวางลวดลายที่ทำการออกแบบตามรูปแบบที่ 4 และ 5



รูปที่ 13 แบบแม่พิมพ์ลวดลายต่างๆที่ใช้ในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์แผ่นไม้อัดจากเส้นใยตาลโตนด



รูปที่ 14 แผ่นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ก่อนการตกแต่งผิว



รูปที่ 15 แผ่นผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ผ่านการตกแต่งผิวหน้าแล้ว



รูปที่ 16 การนำแผ่นผลิตภัณฑ์อัดแผ่นจากเส้นใยตาลโตนดประกอบเป็นผนังกันห้อง



รูปที่ 17 ลวดลายและพื้นผิวที่ได้รับการตกแต่งแล้วของแผ่นผลิตภัณฑ์อัดจากเส้นใยตาลโตนด



รูปที่ 18 ลวดลายและพื้นผิวที่ได้รับการตกแต่งแล้วของแผ่นผลิตภัณฑ์อัดจากเส้นใยตาลโตนด



รูปที่ 19 การนำเสนอผลงานแผ่นผลิตภัณฑ์อัดจากเส้นใยตาลโดนดกับชุมชนร้านแดง
อ.สิงหนคร จ.สงขลา



รูปที่ 20 การนำเสนอผลงานกับนายก อบต. รำแดง และคณะผู้บริหาร



รูปที่ 21 ชิ้นงานผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง สำหรับใช้ทำผนังกันห้อง หรือผ้าเพดาน

รูปที่ 22 พิธีการส่งมอบโครงการให้กับ อบต.รำแดง

ตัวชี้วัดความสำเร็จ (ระบุละเอียดของการดำเนินงานพร้อมแสดงภาพประกอบ)

ตัวชี้วัดเชิงปริมาณ

- ได้ผลิตภัณฑ์ไม่อัดจากเส้นใยก้านตาลโตนด จำนวน 3 รูปแบบ
- ได้กรรมวิธีการผลิตไม่อัดจากเส้นใยตาลโตนดที่เหมาะสมกับชุมชน จำนวน 1 รูปแบบ

สรุปผลการประเมินการดำเนินงานในโครงการ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาในปัดต่อไป

จากการดำเนินโครงการ การออกแบบและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในงานอาคารจากเส้นใยตาลโตนดในครั้งนี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเส้นใยก้านตาลโตนด ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะรูปร่างสวยงาม พื้นผิวขรุขระ มีความพรุนในเนื้อแผ่น เป็นลักษณะเด่นซึ่งเป็นธรรมชาติของแผ่นวัสดุเสริมเส้นใย เหมาะกับการใช้ในงานตกแต่งอาคาร งานฝ้า เพดาน ของห้องที่ต้องการบรรยากาศที่เรียบง่าย ได้อารมณ์ความรู้สึกอยู่กับธรรมชาติมากขึ้น จากการนำไปเสนอผลงานให้แก่ชุมชน ก็ได้รับความสนใจจากชาวบ้านเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งผู้สนใจจากชาวบ้านในชุมชนแหล่งกำเนิดของเส้นใยตาล เนื่องจากนำวัสดุที่มีอยู่ในท้องถิ่นซึ่งถูกทิ้งไว้ตามท้องทุ่งมาสร้างให้เกิดประโยชน์ โดยกระบวนการผลิตไม่ได้มีความซับซ้อนมากหรือเกินกว่าที่ชาวบ้านจะดำเนินการผลิตได้ด้วยตนเองหรือกลุ่มชุมชน อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการผลิตก็มีขั้นตอนหลักและขั้นตอนย่อยอยู่พอสมควร เช่นการเตรียมเส้นใย การผสม การอัดขึ้นรูป และการตกแต่งผลิตภัณฑ์ ซึ่งการพัฒนาในขั้นต่อไปจึงเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีความหลากหลายและการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตให้ดีขึ้น

ลงชื่อ นันทชัย ชูศิลป์ หัวหน้าโครงการ

(ผศ.ดร.นันทชัย ชูศิลป์)

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

- โครงการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากพืชท้องถิ่นร่วมกับโปรตีนไหม

หลักการและเหตุผล

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา (อพ.สธ. – มร.นม.) เป็นหน่วยงานหนึ่งที่ดำเนินงานสนองพระราชดำริ และได้ดำเนินการติดต่อกันมาเป็นระยะเวลาหลายปี มีผลการดำเนินงานที่สอดคล้องกับแผนแม่บทของโครงการ อพ.สธ. ระยะ 5 ปีที่ 5 (ตุลาคม พ.ศ.2554 – กันยายน พ.ศ.2559) ภายใต้กรอบการดำเนินงาน 3 กรอบ ดังนี้ กรอบการเรียนรู้ทรัพยากร กรอบการใช้ประโยชน์ และกรอบการสร้างจิตสำนึก

การแปรรูปผลิตภัณฑ์จากพืชท้องถิ่นร่วมกับโปรตีนไหม ถือเป็นโครงการที่สอดคล้องกับกรอบการใช้ประโยชน์ เพราะเป็นการนำพืชท้องถิ่นที่มีคุณประโยชน์มาแปรรูปเพื่อใส่ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ใน

ชีวิตประจำวันและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชท้องถิ่นเหล่านั้นด้วย ในส่วนของโปรตีนไหม หรือ เซริซิน (Serisin) เป็นโปรตีนธรรมชาติที่ได้จากเส้นไหมหรือรังไหมที่ช่วยป้องกันผิวแห้ง ลดการเติบโตของ เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิดช่วยเสริม สารอาหารให้เซลล์ที่สร้าง collagen และ elastin ซึ่งเป็นสายใยโปรตีนที่ช่วยพยุงผิวให้เต่งตึงและมีความยืดหยุ่น ทำให้ริ้วรอยต่างๆ ลดลง อีกทั้งยังมีคุณสมบัติพิเศษสามารถกักเก็บน้ำได้ดีจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน โดยเฉพาะนิยมนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความชุ่มชื้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สิ่งทอ และทางการแพทย์ อีกทั้งในจังหวัดนครราชสีมายังเป็นสถานที่ที่มีการเลี้ยงไหมกันเป็นจำนวนมากคณะผู้จัดทำโครงการ จึงเลือกใช้โปรตีนไหมเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์

ในปัจจุบันมีพืชท้องถิ่นที่มีคุณประโยชน์อยู่มากมาย อีกทั้งประเทศไทยมีความหลากหลายของ พืชพันธุ์ ทั้งในแง่สีส่น และคุณประโยชน์ที่ซ่อนอยู่ในพืชท้องถิ่นแต่ละชนิด เช่น สามารถนำไปใช้เป็น สมุนไพรหรือเป็นยารักษาโรค ซึ่งโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีฯ สนองพระราชดำริโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา (อพ.สธ.-มร.นม.) เล็งเห็นถึงการนำพืชจากท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์และต้องการเพิ่มมูลค่าของพืชท้องถิ่น ที่มีอยู่ ส่งเสริมและเผยแพร่ความรู้การใช้ประโยชน์จากพืชท้องถิ่นใกล้ตัวสามารถนำความรู้ที่ได้จากการ ค้นคว้าข้อมูลมาแปรรูปผลิตภัณฑ์ท้องถิ่นเพื่อเพิ่มมูลค่า เช่นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นต้น และยังเป็น การสร้างองค์ความรู้ให้คณะทำงานสามารถนำสูตรที่ได้จากการทำผลิตภัณฑ์เก็บไว้ใช้เป็นฐานข้อมูลและ สามารถนำไปถ่ายทอดสู่ชุมชนต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาข้อมูลพืชท้องถิ่นที่มีประโยชน์และนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์
2. เพื่อจัดทำผลิตภัณฑ์จากการแปรรูปพืชท้องถิ่นร่วมกับโปรตีนไหม

งบประมาณ

เงินงบประมาณบำรุงการศึกษา ศูนย์วิทยาศาสตร์ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ จำนวน 50,000 บาท ครุภัณฑ์และสถานที่ปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ผู้รับผิดชอบโครงการ

ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

สรุปผลการดำเนินงาน

จากการดำเนินงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพ รัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีฯ สนองพระราชดำริโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา (อพ.สธ.-มร.นม.) โครงการย่อย การแปรรูปผลิตภัณฑ์จากพืชท้องถิ่นร่วมกับโปรตีนไหม โดยการศึกษาครั้งนี้ วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลพืชท้องถิ่นที่มีประโยชน์และนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ ต่างๆและเพื่อจัดทำผลิตภัณฑ์จากการแปรรูปพืชท้องถิ่นร่วมกับโปรตีนไหม จากการศึกษาข้อมูลพืช ต่างๆ เพื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์จากการแปรรูป ดังรายการต่อไปนี้

1. สบู่เหลวข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมโปรตีนไหม (Riceberry & Silk protein liquid soap)

ผลิตภัณฑ์สบู่เหลวมีส่วนผสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่ และโปรตีนไหม ช่วยทำความสะอาดผิว พร้อมขจัดสิ่งสกปรก ที่ตกค้างในชั้นตอนเดียว ล้างออกง่าย คุณค่าสารสกัดจากธรรมชาติช่วยบำรุง ผิวพรรณให้ชุ่มชื้น ยับยั้งแบคทีเรีย ลดการอักเสบการระคายเคือง ไม่ทำให้ผิวแห้งตึง ทำให้ผิวนุ่มนวล สัมผัส



สบู่เหลวข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมโปรตีนไหม

2. โลชั่นข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมโปรตีนไหม (Riceberry & Silk protein lotion)

ผลิตภัณฑ์โลชั่นมีส่วนผสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีปริมาณวิตามินอีสูง และโปรตีนไหมที่มี สารเซรีซิน และกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิดรวมถึงธาตุอาหารอื่นๆจำนวนมาก จึงช่วยบำรุงผิวพรรณให้ ชุ่มชื้น เก็บกักน้ำ ทำให้ผิวเนียนนุ่ม ลดการอักเสบและการระคายเคือง ทำให้ผิวพรรณมีสุขภาพดี



โลชั่นข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมโปรตีนไหม

3. สบู่กาลีเชอริน

สบู่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมโปรตีนไหม (Riceberry & Silk protein soap)

ผลิตภัณฑ์สบู่มีส่วนผสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่และโปรตีนไหม ซึ่งมีโปรตีนและวิตามินอีสูง ช่วย ทำความสะอาดผิว ทำให้ผิวสะอาดสดชื่น ทำให้ผิวพรรณเนียนนุ่ม ไม่แห้งตึง ทั้งยังมีสารช่วยต่อต้าน อนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดริ้วรอย ลดเลือนริ้วรอยจุดด่างดำ ทำให้ผิวพรรณมีสุขภาพดี

ตัวอย่างอื่นๆ สบู่กลีเซอรินสมุนไพร ได้แก่ สบู่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมน้ำผึ้ง สบู่มะขามผสมน้ำผึ้ง สบู่อัญชัน สบู่สาหร่ายสไปรูลิน่า สบู่ว่านหางจระเข้



สบู่กลีเซอริน

4. น้ำยาอเนกประสงค์มะขามพลัส

ผลิตภัณฑ์น้ำยาอเนกประสงค์ มีส่วนผสมของมะขาม มะกรูด ชา ใช้ล้างภาชนะ ทำความสะอาดพื้นผิวต่างๆ ขจัดคราบรอยเปื้อนบนเสื้อผ้า ทำความสะอาดเฟอร์นิเจอร์ ล้างออกง่าย ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม เป็นการประหยัดเพื่อลดค่าใช้จ่ายในครัวเรือน



น้ำยาอเนกประสงค์มะขามพลัส

5. เจลแอลกอฮอล์ว่านหางจระเข้ (Aloe alcohol gel)

ผลิตภัณฑ์เจลแอลกอฮอล์ว่านหางจระเข้ ใช้ทำความสะอาดมือเพื่อสุขภาพอนามัยที่ดี มีส่วนผสมของว่านหางจระเข้ และแอลกอฮอล์ เพื่อช่วยปกป้องผิวจากเชื้อโรค ลดการแพ้ ผื่นคัน และการระคายเคืองตา ส่วนผสมของว่านหางจระเข้ช่วยให้ความชุ่มชื้น ปกป้องผิวจากความแห้งกร้าน หลังการใช้ ให้นมมือ ลดเชื้อ เพื่อสุขอนามัยที่ดี



เจลแอลกอฮอล์ว่านหางจระเข้

6. สครับมะขาม (Tamarind scrub)

ผลิตภัณฑ์สครับขัดผิวจากมะขาม ว่านหางจระเข้ ขมิ้น และกากกาแฟ ช่วยขัดทำความสะอาดผิว กำจัดคราบสกปรกออกจากรูขุมขน และยังเป็นการช่วยกำจัดเซลล์ผิวที่ตายแล้วออกไป ช่วยฟื้นฟูสภาพผิวให้กลับมาสดใสเปล่งปลั่งเหมือนเดิม



สครับมะขาม

โดยผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นจะเป็นการนำพืชจากท้องถิ่น ได้แก่ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ มาแปรรูปร่วมกับ โปรตีนไหม และ การนำพืช เช่น มะขาม ว่านหางจระเข้ มาใช้ประโยชน์ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับ ผลิตภัณฑ์

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

- โครงการสารพฤษเคมีและฤทธิ์ต้านมะเร็งของพืชในวงศ์ Caparaceae จากเขตพื้นที่ป่าโป่งสลอด

ผู้รับผิดชอบ

อาจารย์ ดร.พิชิต สุดตา

งบประมาณที่ได้รับ

จำนวน 300,000 บาท จากเงินงบประมาณของสำนักงาน
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

งบประมาณที่ใช้จริง

จำนวน 115,433.90 บาท (เหลือการเบิกจ่ายงวดที่ 3)

หลักการและเหตุผล/ความเป็นมา

ปัจจุบันนี้การดำรงชีวิตของมนุษย์มีการพึ่งพาการใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยแทนการใช้ประโยชน์จากสิ่งที่มีอยู่ในธรรมชาติทำให้มนุษย์ต้องประสบกับปัญหาที่เกิดขึ้นมากมายทั้งปัญหาสิ่งแวดล้อม ปัญหาการเมือง และโดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาทางด้านสุขภาพ คนทั่วโลกต้องเผชิญกับปัญหาการเจ็บป่วยด้วยโรครุนแรงที่ยากแก่การเยียวยารักษาให้หายขาดหลายโรค เช่น โรคไข้หวัดนก โรคเอดส์ โรคเบาหวาน และโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็ง ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นโรคร้ายแรง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการตายของประชากรโลกเพิ่มสูงขึ้น ในประเทศไทยโรคมะเร็งถือว่าเป็นโรคที่เป็นสาเหตุการตายในลำดับต้นๆของสาเหตุการตายทั้งหมดที่เกิดขึ้น และทราบดีว่ามะเร็งจัดเป็นเนื้องอกชนิดร้ายที่เกิดขึ้นมาจากเนื้อเยื่อปกติของร่างกายซึ่งมีการเจริญเติบโตอยู่นอกเหนือการควบคุมของร่างกาย และมีโทษต่อร่างกาย มะเร็งสามารถเกิดได้กับทุกอวัยวะของร่างกายยกเว้น ผม ขน และเล็บ ซึ่งมะเร็งแต่ละชนิดจะมีลักษณะเฉพาะตัว หรือมีธรรมชาติที่แตกต่างกัน เช่น **มะเร็งเต้านม** (breast cancer) เป็นโรคมะเร็งที่พบมากในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย โดยในประเทศไทยพบว่าประชากรเพศหญิงมีอัตราการเป็นโรคมะเร็งเต้านม เท่ากับ 17.2 ต่อประชากรเพศหญิง 100,000 คน มะเร็งเต้านมอาจมีสาเหตุมาจากการได้รับอาหารที่ก่อให้เกิดโรค การได้รับรังสีบางชนิด และอาจมาจากพันธุกรรม ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมถ้าได้มีการตรวจพบและให้การรักษาตั้งแต่ระยะเริ่มแรกก็มีโอกาสรักษาให้หายเป็นปกติได้ แต่ถ้าตรวจพบในระยะหลังของโรคโดยทั่วไปสามารถมีชีวิตอยู่ได้ 5 ปี ถึง 10 ปีเท่านั้น **มะเร็งปอด** (lung cancer) เป็นโรคมะเร็งที่พบในประเทศที่พัฒนาแล้ว โดยประชากรที่ป่วยเป็นโรคมะเร็งปอดพบมากที่สุดแถบอเมริกาเหนือและยุโรป พบน้อยที่สุดในแถบแอฟริกาส่วนในประเทศไทยพบว่าประชากรเพศชายป่วยเป็นโรคมะเร็งในปอดมากกว่าเพศหญิง โดยมีอัตราการป่วยเป็นโรคมะเร็งเท่ากับ 25.9 ต่อประชากรเพศชาย 100,000 คน ส่วนในเพศหญิงมีอัตราการป่วยเท่ากับ 10.0 ต่อประชากรเพศหญิง 100,000 คน และสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งจากการสูบบุหรี่ มะเร็งปอด แบ่งตามลักษณะพยาธิวิทยาแบ่งได้หลายลักษณะ เช่น ชนิดเซลล์ขนาดใหญ่ (large cell type) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีการกระจายตัวได้ช้า และเซลล์ขนาดเล็กซึ่งมะเร็งชนิดนี้มีการกระจายตัวได้เร็วมาก พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งชนิดนี้มักพบในระยะที่แพร่กระจายไปไกลแล้ว **มะเร็งช่องปาก** (mouth cancer) โรคมะเร็งชนิดนี้พบทั้งในเพศหญิงและเพศชาย โดยในประเทศไทยพบว่าประชากรเพศชายมีอัตราการ

เป็นโรคมะเร็งช่องปากเท่ากับ 6.8 ต่อประชากรเพศชาย 100,000 คน ส่วนในเพศหญิงเท่ากับ 4.8 ต่อประชากรเพศหญิง 100,000 คน (Sriplung, 2003 : 19-21) มะเร็งช่องปากจะรวมถึงมะเร็งเหงือก มะเร็งเยื่อบุกระพุ้งแก้ม มะเร็งลิ้น มะเร็งเพดานปาก อาการส่วนใหญ่จะเริ่มจากมีอาการระคายเคืองในช่องปาก อาจมีสาเหตุมาจากการที่ไม่รักษาความสะอาดในช่องปาก หรือการกินหมากเป็นต้น **มะเร็งตับ** (liver cancer) มะเร็งตับเป็นโรคที่เกิดในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ซึ่งในช่วงปี พ.ศ. 2538-2540 ประชากรในประเทศไทยมีอัตราการเป็นโรคมะเร็งตับเพิ่มขึ้น โดยในเพศชายมีอัตราการเป็นโรคเพิ่มจาก 5.7 เป็น 85.0 ต่อประชากรเพศชาย 100,000 คน และในเพศหญิงเพิ่มจาก 1.4 เป็น 32.7 ต่อประชากรเพศหญิง 100,000 คน ในประเทศไทยประชากรส่วนใหญ่มักเป็นมะเร็งตับที่เรียกว่ามะเร็งตับชนิดปฐมภูมิ (primary carcinom of the liver) ซึ่งมีหลายชนิดได้แก่ มะเร็งเซลล์ตับ (hepatocellular carcinoma,HCC), มะเร็งท่อน้ำดี (colangiocarcinoma, CCC), ซาร์โคมา (liver sarcoma) และมะเร็งตับร่วมกับมะเร็งท่อน้ำดี โดยมีสาเหตุมาจากการดื่มสุรา หรือการกินอาหารที่ปนเปื้อนสารเคมีพวกไนโตรซามีน สารอะฟลาทอกซิน เป็นต้น

การที่ผู้ป่วยตายด้วยโรคมะเร็งนั้น เนื่องมาจากมะเร็งมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และคุกคามไปยังอวัยวะอื่นๆที่สำคัญโดยที่ผู้ป่วยไม่สามารถรู้ได้ทันทั่วทั้ง การใช้ยารักษาหรือทำลายเซลล์มะเร็ง นักวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์พบว่า จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาสมบัติของมะเร็งแต่ละตำแหน่งในร่างกายมนุษย์อย่างรอบคอบเพื่อป้องกันการถูกทำลายของเซลล์ข้างเคียงเซลล์อื่นที่เป็นเซลล์ดี และพบว่า การให้ยาต้านมะเร็งกับผู้ป่วยในปัจจุบันมักก่อให้เกิดอาการข้างเคียงจนทำให้ผู้ป่วยได้รับผลกระทบต่างๆ และอาจเสียชีวิตเร็วกว่าปกติ ดังนั้นการผลิตยาต้านมะเร็งในปัจจุบันจะมุ่งเน้นถึงความจำเพาะเจาะจงของยาต่อเซลล์มะเร็งโดยไม่ทำลายเซลล์ดี เป็นเหตุให้ต้องมีคิดค้นยาต้านมะเร็งชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพ

โรคมะเร็งหลายชนิดยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดโดยวิธีการทางการแพทย์ในปัจจุบันได้ นักวิทยาศาสตร์จำนวนมากได้ให้ความสนใจที่จะคิดค้น และศึกษาวิจัยเพื่อหาแนวทางในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งดังจะเห็นได้จากงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์จำนวนมากที่ตีพิมพ์เผยแพร่ซึ่งเกี่ยวข้องกับการป้องกัน และวิธีการรักษาโรค มะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งงานวิจัยทางการค้นคว้าหาโมเลกุลยาชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาที่สูงขึ้น และส่วนใหญ่นักวิจัยได้หันมาให้ความสนใจใน **งานวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ** เพื่อหาสารต้นแบบจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ดีในการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำลายเซลล์มะเร็ง และมีความปลอดภัยในการนำไปใช้ประโยชน์ โดยมีความคาดหวังว่าจะพัฒนาโมเลกุลของสารเหล่านั้นให้เป็นยารักษาโรคมะเร็งในลำดับต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสนองพระราชดำริงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

2. เพื่อศึกษากลุ่มสารพฤษเคมี และฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดจากพืชสมุนไพร

พุงแก (*Capparis siamensis* Kurz) สาเล่กันใจ (*Capparis zeylanica* L.)

จัวซัง (*Capparis thorelii* Gagnap.) นกกระลิงแดง (*Capparis kerrii* Craib.)

วัวเลีย (*Capparis flavicans* Kurz) หนามเลื้อย (*Capparis tenera* Dalzell)

หนามโมนา (*Capparis monantha* Jacobs)

คำเป้าหมาย/ตัวชี้วัดความสำเร็จ

-

กลุ่มเป้าหมาย/สถานที่/เวลาในการดำเนินการ

กลุ่มเป้าหมาย

ตีพิมพ์ผลการศึกษาในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติหรือร่วมประชุมเสนอผลงานวิจัยในที่ประชุมทั้งในและต่างประเทศ

จัดอบรมบริการวิชาการเพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับพืชสมุนไพรในเขตพื้นที่ที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์
วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สถานที่ทำวิจัย

หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี และสาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี 38 หมู่ 8 ถ. หาดเจ้าสำราญ ต.นาุ้ง อ.เมือง จ.เพชรบุรี

เวลาในการดำเนินการ

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี

ผลการดำเนินงานตามคำเป้าหมาย/ตัวชี้วัด และผลการดำเนินงานเชิงประจักษ์ (รวมถึงผลการติดตามหลังจากการให้บริการ/จัดอบรม ในกรณีเป็นโครงการบริการวิชาการ)

ผลการดำเนินงานกิจกรรมตามแผน

ระยะเวลา	กิจกรรมของแผน	ผลของกิจกรรมตามแผน
เดือนที่ 1-2 พฤศจิกายน 2557 - ธันวาคม 2557	--ขั้นเก็บตัวอย่างพืช (1)เก็บตัวอย่างพืชในวงศ์ Capparaceae จากพื้นที่ป่าโป่ง สลอด อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี (2) ทำ Herbarium เก็บที่หน่วย วิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และ	ดำเนินการตามแผน คิดเป็น 100% จากแผน โดยมีการดำเนินการตามแผน ดังนี้ (1) ลงพื้นที่ป่าโป่งสลอด โดยมี ผศ.นันทนภัส สุวรรณสินธุ์ นำทีม พร้อมกับนักศึกษากลุ่มวิจัย สาขาเคมี โดย ดำเนินการเก็บตัวอย่างพืชซึ่ง เลือกเก็บส่วนลำต้นของพืช

ระยะเวลา	กิจกรรมของแผน	ผลของกิจกรรมตามแผน
	ส่งพิสูจน์เอกลักษณ์ ที่หอพันธุ์ไม้ กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและ พันธุ์พืช	(2) ผศ.นันทภัท สวรรณสินธุ์เป็นผู้รับผิดชอบใน การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชตัวอย่างซึ่ง พบว่ามีข้อมูลที่ได้คือ พุงแก คือ <i>Capparis siamensis</i> จั่วซัง คือ <i>Capparis thorelii</i> Gagnap นกกระลิงแดง คือ <i>Capparis kerrii</i> Craib วัวเลีย คือ <i>Capparis flavicans</i> Kurz หนามโมนา คือ <i>Capparis monantha</i> Jacobs
เดือนที่ 3-9 มกราคม 2558 - สิงหาคม 2558	-- ขั้นเตรียมสารสกัดหยาบของพืช ทำตัวอย่างแห้งโดยการผึ่งลม บดพืช ให้ละเอียด สกัดด้วยตัวทำละลาย อินทรีย์โดยการแช่หมัก โดยใช้ตัวทำ ละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันได้แก่ เอก เซน ไดคลอโรมีเทน แอซีโตน แอล เมทานอล ตามลำดับ	ดำเนินการตามแผน คิดเป็น 100% จากแผน โดยมีการดำเนินการตามแผน ดังนี้ พืชทั้ง 5 ชนิด ผ่านการทำให้แห้งโดยการผึ่ง ลม บดพืชให้ละเอียด สกัดด้วยตัวทำละลาย อินทรีย์โดยการแช่หมัก โดยใช้ตัวทำละลาย อินทรีย์ต่างชนิดกันได้แก่ เอกเซน ไดคลอโรมีเทน แอซีโตนและเมทานอล ตามลำดับ ได้สารสกัด หยาบของพืชแต่ละชนิด ดังนี้ พุงแก ได้ สารสกัดชั้นเอกเซน ไดคลอโรมีเทน แอซีโตน และเมทานอล ตามลำดับ จั่วซัง ได้ สารสกัดชั้นเอกเซน ไดคลอโรมีเทน แอซีโตน และเมทานอล ตามลำดับ นกกระลิงแดง ได้ สารสกัดชั้นเอกเซน ไดคลอ โรมีเทน แอซีโตน และเมทานอล ตามลำดับ วัวเลีย ได้ สารสกัดชั้นเอกเซน ไดคลอโรมีเทน แอซีโตน และเมทานอล ตามลำดับ หนามโมนา ได้ สารสกัดชั้นเอกเซน ไดคลอโร มีเทน แอซีโตน และเมทานอล ตามลำดับ
	-ขั้นการตรวจสอบหาสารพิษเคมี เบื้องต้นของสารสกัด (1) นำสารสกัดหยาบของพืชแต่ละ ชนิดที่เตรียมได้มา ตรวจสอบหา สารพิษเคมี ด้วยวิธีทางเคมี โดย	ดำเนินการตามแผน คิดเป็น 80% โดย มีการดำเนินการตามแผน ดังนี้ (1) ดำเนินการตรวจสอบหาสารพิษเคมี ด้วยวิธี ทางเคมี โดยตรวจสอบหาสารในกลุ่ม ไตรเทอร์พีน แทนนิน ไกลโคไซด์ ฟลาโวน

ระยะเวลา	กิจกรรมของแผน	ผลของกิจกรรมตามแผน
	ตรวจหาสารในกลุ่มไตรเทอร์พีน แแทนนิน ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และ ฟีนอลิก เป็นต้น (2) เตรียมสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ บันทึกรายชื่อข้อมูล TLC โครมาโทแกรมของสารสกัดเพื่อหาสาร marker ที่เป็นองค์ประกอบในพืชแต่ละชนิด	นอยด์ แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และฟีนอลิก เป็นต้น (2) ศึกษาข้อมูล TLC โครมาโทแกรมของสารสกัด แต่การเตรียมสารกึ่งบริสุทธิ์อยู่ในระหว่างดำเนินการ
	-ขั้นตอนทดสอบฤทธิ์ด้านมะเร็งของสารสกัดและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ทดสอบฤทธิ์ด้านมะเร็ง เช่น มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งช่องปาก ของสารสกัดและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์	อยู่ในระหว่างดำเนินการ
เดือนที่ 10-12 กันยายน 2558-พฤศจิกายน 2558	-ขั้นสรุปผลการทดลอง รวบรวมข้อมูลที่ได้ทั้งหมด เขียนรายงานฉบับสมบูรณ์ เขียน manuscript เพื่อตีพิมพ์ผลงาน หรือเสนอผลงานในที่ประชุมหรืออาจจัดสัมมนาเพื่อสรุปผลการวิจัย ที่หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี	อยู่ในระหว่างดำเนินการ

ผลการดำเนินงานสรุปได้ดังนี้

1. ขั้นการเก็บตัวอย่างพืช

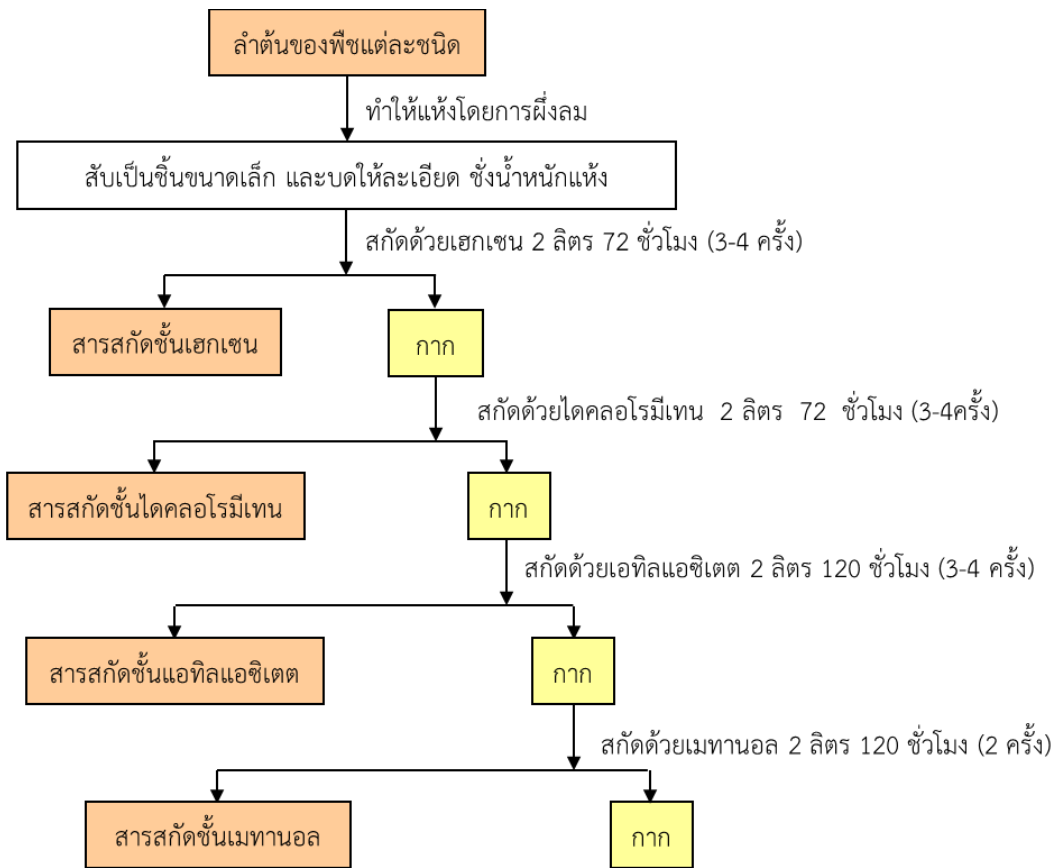
กลุ่มผู้วิจัยได้ลงพื้นที่เพื่อเก็บตัวอย่างพืชในวงศ์ Capparaceae ในพื้นที่ป่าโป่งสลอด พบว่าได้พืชที่ใช้เป็นตัวอย่างในการวิจัยทั้งหมด 5 ชนิด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายละเอียดเบื้องต้นของพืชตัวอย่าง

ชนิดพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนพืชที่เก็บ	ภาพดอกของพืช
พุงแก	<i>Capparis siamensis</i>	ลำต้น	
จั่วซัง	<i>Capparis thorelii</i> Gagnap	ลำต้น	
นกกระลิงแดง	<i>Capparis kerrii</i> Craib	ลำต้น	
วัวเลีย	<i>Capparis flavicans</i> Kurz	ลำต้น	
หนามโมนา	<i>Capparis monantha</i> Jacobs	ลำต้น	

2. ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบ

ส่วนลำต้นของพืชทุกชนิดได้แก่ พุงแก (*Capparis siamensis*) จั่วซัง (*Capparis thorelii* Gagnap) นกกระลิงแดง (*Capparis kerrii* Craib) วัวเลีย (*Capparis flavicans* Kurz) และ หนามโมนา (*Capparis monantha* Jacobs) ที่ผ่านการทำให้แห้ง บดให้ละเอียด และนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอย่างเป็นลำดับโดยการเพิ่มสภาพความเป็นขี้ของตัวทำละลายแต่ละชนิด ดังแผนภาพการสกัดในภาพที่ 1 และได้ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิดดังแสดงในตารางที่ 2-6



ภาพที่ 1 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมสารสกัดพืช

ตารางที่ 2 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของพุงแก (*Capparis siamensis*)

Solvent	Color of extract	Consistency	Sense of touch	Amount of extract (g)	% yield
Hexane	Yellow	Semisolid	Sticky	2.2525	0.4505
Dichloromethane	reddish brown	Semisolid	Sticky	4.6003	0.9200
Acetone	reddish brown	Semisolid	Sticky	7.0538	1.4107
Methanol	reddish brown	Semisolid	Sticky	12.8235	3.1297

ตารางที่ 3 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของจ้าวช้าง (*Capparis thorelii* Gagnap)

Solvent	Color of extract	Consistency	Sense of touch	Amount of extract (g)	% yield
Hexane	Yellow	Semisolid	Sticky	1.7225	0.1505
Dichloromethane	reddish brown	Semisolid	Sticky	3.6092	0.5200
Acetone	reddish brown	Semisolid	Sticky	6.0512	1.3251
Methanol	reddish brown	Semisolid	Sticky	9.3202	2.7812

ตารางที่ 4 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของนกกระลิงแดง (*Capparis kerrii* Craib)

Solvent	Color of extract	Consistency	Sense of touch	Amount of extract (g)	% yield
Hexane	Daniel yellow	Semisolid	Sticky	1.9841	0.2132
Dichloromethane	reddish brown	Semisolid	Sticky	2.3035	0.9214
Acetone	reddish brown	Semisolid	Sticky	3.3871	1.3548
Methanol	reddish brown	Semisolid	Sticky	11.2179	4.4872

ตารางที่ 5 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของวัวเลี้ย (*Capparis flavicans* Kurz)

Solvent	Color of extract	Consistency	Sense of touch	Amount of extract (g)	% yield
Hexane	Brow	Semisolid	Sticky	2.3544	0.7848
Dichloromethane	Brown	Solid	Sticky	2.5017	0.8339
Acetone	Brown	Solid	Sticky	2.2215	0.7405
Methanol	Brown	Semisolid	sticky	41.3548	13.7849

ตารางที่ 6 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบของหนามโมนา (*Capparis monantha* Jacobs)

Solvent	Color of extract	Consistency	Sense of touch	Amount of extract (g)	% yield
Hexane	Yellow	Semisolid	Sticky	1.7834	0.5945
Dichloromethane	Brown	Semisolid	Sticky	1.9423	0.6474
Acetone	reddish brown	Semisolid	Sticky	5.4664	1.8221
Methanol	Reddish brown	Semisolid	Sticky	13.6521	3.4519

3. ขั้นตอนการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด

นำสารสกัดที่ได้จากพืชทุกชนิดมาทำการทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น โดยทำปฏิกิริยาเคมีกับน้ำยาทดสอบที่มีความจำเพาะกับกลุ่มสารแต่ละชนิด ซึ่งกลุ่มสารที่ทดสอบมีทั้งหมด 7 กลุ่ม โดยให้ทำปฏิกิริยาเคมีกับน้ำยาทดสอบจากวิธีที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 กลุ่มสารพฤกษเคมีและวิธีที่ใช้ในการทดสอบ

กลุ่มสารพฤกษเคมี	วิธีที่ใช้ในการทดสอบ
แทนนิน และฟีนอลิก (Tannins and phenolics)	Ferric chloride test
	Gelatin test
ซาโปนินส์ (Saponins)	Foam test
ไตรเทอร์พีน (Triterpenes)	Liebermann-Buchard's test
สเตียรอยด์ (Steroids)	Liebermann-Buchard's test
ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	Molisch's test
	Cyanidin test
คาดีแอค ไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside)	Kedde's reagent
	Keller-kiliani test
แอลคาลอยด์ (Alkaloids)	Dragendorff's reagent

โดยผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีเหล่านี้เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ ดังนั้นในการระบุการมีสารพฤกษเคมีชนิดใดเป็นองค์ประกอบนั้น จะระบุด้วย สัญลักษณ์ (+) หมายถึงให้ผลบวกกับการทดสอบหรือหมายถึงมีสารพฤกษเคมีชนิดที่ทดสอบ และสัญลักษณ์ (-) หมายถึงให้ผลลบกับการทดสอบ

หรือหมายถึงไม่พบสารพฤษเคมีชนิดที่ทดสอบในสารสกัดพืชชนิดนั้นๆ โดยในเบื้องต้นสามารถแสดงผลการทดสอบสารพฤษเคมีที่พบในสารสกัดพืชแต่ละชนิด เรียงตามลำดับของพืช ดังนี้

3.1 การทดสอบและผลการทดสอบสารพฤษเคมีของสารสกัดพุงแก (*Capparis siamensis*)

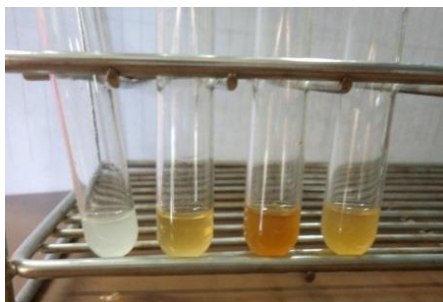
3.1.1 การทดสอบแทนนินและฟีนอลิก

3.1.1.1 การทดสอบแทนนินและฟีนอลิก ด้วย FeCl_3



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
FeCl_3	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง

3.1.1.2 การทดสอบแทนนินและฟีนอลิก Gelatin Solution



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Gelatin Solution	สารละลายขุ่น	สารละลายขุ่น	สารละลายขุ่น	สารละลายขุ่น

3.1.2 การทดสอบซาโปนิสด้วยวิธี Foam test



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
ไม่ต้ม	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง
ต้ม	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง

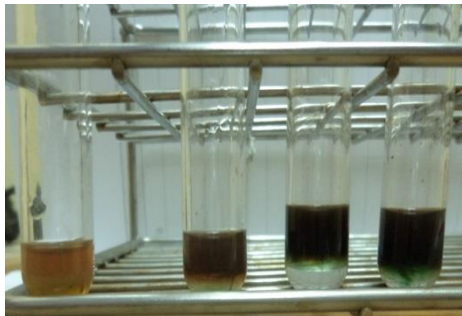
3.1.3 การทดสอบไตรเทอร์พีนและสเตียรอยด์ด้วย Lieburmann-Burchard test



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Lieburmann-Burchard test	สารละลาย สีแดง	สารละลาย สีแดง	สารละลาย สีเขียว	สารละลาย สีแดง

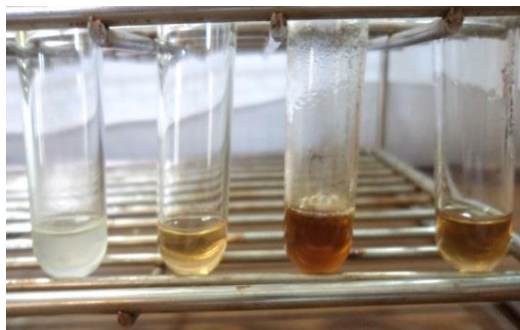
3.1.4 การทดสอบฟลาโวนอยด์

3.1.4.1 การทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Molisch's test



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Molisch's reagent	วงแหวนสีน้ำตาล	วงแหวนม่วง	วงแหวนสีเขียว	วงแหวนสีเขียว

3.1.4.2 การทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Cyanidin test



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Cyanidin reagent	สารละลาย สีเหลืองขุ่น	สารละลาย สีส้มเหลือง	สารละลาย สีน้ำตาลแดง	สารละลาย สีแดงส้ม

3.1.5 การทดสอบคาติแอก กลัยโคไซด์

3.1.5.1 การทดสอบคาติแอกกลัยโคไซด์ด้วย Kedde's reagent



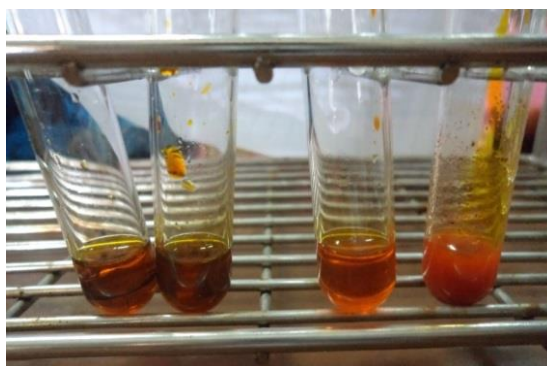
สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Kedde's reagent	สารละลาย สีชมพู	สารละลาย สีส้มแดง	สารละลาย สีม่วงแดง	สารละลาย สีส้มแดง

3.1.5.2 การทดสอบคาติแอกกลัยโคไซด์ด้วย Killer-kiliani test



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Killer-kiliani test	วงแหวนสีน้ำตาล	วงแหวนสีน้ำตาล	วงแหวนสีน้ำตาล	วงแหวนสีเขียว

3.1.6 การทดสอบแอลคาลอยด์ด้วย Dragendorff's reagent



สารที่ใช้ทดสอบ	Hexane	Dichloromethane	Acetone	Methanol
Dragendorff's reagent	สารละลาย สีส้มใส	สารละลาย สีส้มใส	สารละลาย สีส้มใส	ตะกอนสีส้ม

และจากขั้นตอนทั้งหมดสำหรับการทดสอบสารพฤษเคมีในสารสกัดต้นพุทธรักษา สามารถสรุปผลได้ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สารพฤษเคมีในสารสกัดจากต้นพุทธรักษา (*Capparis siamensis*)

ชนิดสารพฤษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Tannins and phenolics	Ferric chloride test	-	-	-	-
	Gelatin test	+	+	+	+
Saponins	Foam test	-	-	-	-
Triterpenes	Liebermann-Buchard's test	+	+	-	++
Steroids	Liebermann-Buchard's test	-	-	+	-
Flavonoids	Molisch's test	-	+	-	-
	Cyanidin test	-	+	+++	++
Cardiac glycoside	Kedde's reagent	+	+	++	+
	Keller-kiliani test	-	-	-	-
Alkaloids	Dragendroff's reagent	-	-	-	++

+ หมายถึง ให้ผลการทดสอบ ++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจน +++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจนมาก - หมายถึง ไม่ให้ผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบในตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากลำต้นพุทธรักษาแต่ละสารสกัดมีสารสำคัญดังนี้ 1) สารสกัดเฮกเซน ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 2) สารสกัดไดคลอโรมีเทน ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 3) สารสกัดเอซีโตน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์พบอย่างชัดเจน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 4) สารสกัดเมทานอล ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ ส่วนการทดสอบสารพฤษเคมีจากพืชชนิดอื่นๆ ได้ผลโดยสรุปในตารางที่ 9-12

ตารางที่ 9 สารพฤษเคมีในสารสกัดจากต้นจันทน์ (*Capparis thorelii* Gagnap)

ชนิดสารพฤษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Tannins and phenolics	Ferric chloride test	-	-	-	-
	Gelatin test	+	+	-	-
Saponins	Foam test	-	-	-	-
Triterpenes	Liebermann-Buchard's test	+	-	+	+

ชนิดสารพิษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Steroids	Liebermann-Buchard's test	-	+	-	-
Flavonoids	Molisch's test	-	-	+	+
	Cyanidin test	+	+	+	+
Cadiac glycoside	Kedde's reagent	+	+	+	+
	Killer-kiliani test	-	-	-	-
Alkaloids	Dragendroff's reagent	-	-	+	++

+ หมายถึง ให้ผลการทดสอบ ++ หมายถึงให้ผลการทดสอบชัดเจน +++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจนมาก - หมายถึง ไม่ให้ผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบในตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากลำต้นจ้วงตั้งแต่สารสกัดมีสารสำคัญดังนี้ 1) สารสกัดเฮกเซน ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 2) สารสกัดไดคลอโรมีเทน ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 3) สารสกัดเอซิโตน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์พบอย่างชัดเจน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 4) สารสกัดเมทานอล ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์

ตารางที่ 10 สารพิษเคมีในสารสกัดจากต้นนกกะลิงแดง (*Capparis kerrii* Craib)

ชนิดสารพิษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Tannins and phenolics	Ferric chloride test	-	-	+	+
	Gelatin test	++	+	+	+
Saponins	Foam test	-	-	-	-
Triterpenes	Liebermann-Buchard's test	-	-	+	+
Steroids	Liebermann-Buchard's test	+	+	-	-
Flavonoids	Molisch's test	+	-	+	+
	Cyanidin test	+	-	-	-
Cadiac glycoside	Kedde's reagent	++	+	+	+
	Killer-kiliani test	+	-	-	-
Alkaloids	Dragendroff's reagent	-	+	+	++

+ หมายถึง ให้ผลการทดสอบ ++ หมายถึงให้ผลการทดสอบชัดเจน +++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจนมาก - หมายถึง ไม่ให้ผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบในตารางที่ 10 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากลำต้นของนกกระลิงแดงแต่ละสารสกัดมีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบดังนี้ ดังนี้ 1) สารสกัดเฮกเซน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ และ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 2) สารสกัดไดคลอโรมีเทนประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 3) สารสกัดเอซิโตน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์พบอย่างชัดเจน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และ 4) สารสกัดเมทานอล ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์

ตารางที่ 11 สารพฤษเคมีในสารสกัดจากต้นของวัวเลีย (*Capparis flavicans* Kurz)

ชนิดสารพฤษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Tannins and phenolics	Ferric chloride test	-	-	-	-
	Gelatin test	+	-	-	-
Saponins	Foam test	-	-	-	-
Triterpenes	Liebermann-Buchard's test	+	+	-	+
Steroids	Liebermann-Buchard's test	-	-	+	-
Flavonoids	Molisch's test	+	-	+	+
	Cyanidin test	+	+	+	+
Cadiac glycoside	Kedde's reagent	++	++	+	++
	Killer-kiliani test	+	++	+	+
Alkaloids	Dragendroff's reagent	-	-	-	++

+ หมายถึง ให้ผลการทดสอบ ++ หมายถึงให้ผลการทดสอบชัดเจน +++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจนมาก - หมายถึง ไม่ให้ผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบในตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากลำต้นของวัวเลียแต่ละสารสกัดมี สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบดังนี้ ดังนี้ 1) สารสกัดเฮกเซนประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 2) สารสกัดไดคลอโรมีเทนประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 3) สารสกัดเอซิโตน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์พบอย่างชัดเจน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 4) สารสกัดเมทานอล ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์

ตารางที่ 12 สารพฤษเคมีในสารสกัดจากต้นของหนามโมนา (*Capparis monantha* Jacobs)

ชนิดสารพฤษเคมี	การทดสอบ	Extracts			
		Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	MeOH
Tannins and phenolics	Ferric chloride test	-	-	-	-
	Gelatin test	+	+	+	+
Saponins	Foam test	-	-	-	-
Triterpenes	Liebermann-Buchard's test	+	-	+	+
Steroids	Liebermann-Buchard's test	-	+	-	-
Flavonoids	Molisch's test	-	-	-	-
	Cyanidin test	+	+	+++	+
Cardiac glycoside	Kedde's reagent	+	+	+++	+
	Keller-kiliani test	-	-	-	-
Alkaloids	Dragendorff's reagent	-	++	+	++

+ หมายถึง ให้ผลการทดสอบ ++ หมายถึงให้ผลการทดสอบชัดเจน +++ หมายถึง ให้ผลการทดสอบชัดเจนมาก - หมายถึง ไม่ให้ผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบในตารางที่ 12 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากลำต้นของนกกระลิงแดงแต่ละสารสกัดมี สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบดังนี้ ดังนี้ 1) สารสกัดเฮกเซนประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 2) สารสกัดไดคลอโรมีเทนประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 3) สารสกัดเอซิโตน ประกอบด้วย ฟีนอลิก สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์พบอย่างชัดเจน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์พบอย่างชัดเจน และยังพบแอลคาลอยด์ในปริมาณเล็กน้อย 4) สารสกัดเมทานอล ประกอบด้วย ฟีนอลิก ไตรเทอร์พีน ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์

งานที่อยู่ในระหว่างดำเนินการมีดังนี้

ศึกษาข้อมูล TLC เพื่อหาสารที่เป็น markers หรือสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดทุกชนิด

งานที่จะดำเนินการต่อไปมีดังนี้

ทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดจากพืชทั้ง 5 ชนิดที่เตรียมได้ แล้วดำเนินการสรุปผลการวิจัยและ เผยแพร่ผลงานวิจัย

องค์ความรู้ที่ได้จากการดำเนินการ

ภาพประกอบกิจกรรม

-

ปัญหา/อุปสรรค/ข้อเสนอแนะ

พืชตัวอย่างที่ได้จากการเก็บตัวอย่างในพื้นที่ป่าโป่งสลอด มีเพียง 5 ชนิดเท่านั้นที่ยังคงมีอยู่ ส่วนพืชอีก 2 ชนิด คือ สาลี่แก่นใจ และหนามเล็บแมว ไม่สามารถพบได้ในพื้นที่ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง อาจเนื่องมาจากการล้มตายระหว่างฤดูหรือถูกทำลายจากมนุษย์หรือสัตว์ป่า

ดำเนินงานโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

• การพัฒนาตำรับอาหารจากชะคราม

ระยะเวลาดำเนินโครงการ เริ่มต้น 1 ต.ค 57 สิ้นสุด 30 ก.ย 58

สถานที่ดำเนินโครงการ อาคารคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ผู้รับผิดชอบโครงการ ผศ.สุรีย์พร วุฒิมานพ/สาขาวิชา อาหารและโภชนาการ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทดลองทำตำรับอาหารจากชะครามเป็นอาหารคาว และอาหารว่าง
2. เพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาการยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส
3. เพื่อทำตำรับอาหารจากชะคราม

กิจกรรมการดำเนินงานตามแผน

กิจกรรม	ระยะเวลา		เป้าหมายเชิงปริมาณ	
	ตามแผน	ปฏิบัติจริง	กำหนดไว้	ปฏิบัติได้จริง
1. ทดลองและพัฒนาตำรับอาหารจากชะคราม	1 เดือน	1 เดือน	20 ตำรับ	25 ตำรับ
2. กำหนดเมนูอาหารที่ทำ	1 เดือน	1 เดือน	20 ตำรับ	25 ตำรับ
3. ทดลองและพัฒนาตำรับอาหารครั้งที่ 1	1 เดือน	1 เดือน	7 ตำรับ	20 ตำรับ
4. ทดลองและพัฒนาตำรับอาหารครั้งที่ 2	1 เดือน	1 เดือน	7 ตำรับ	20 ตำรับ
5. ทดลองและพัฒนาตำรับอาหารครั้งที่ 3	1 เดือน	1 เดือน	7 ตำรับ	24 ตำรับ
6. ทดสอบทางประสาทสัมผัส	2 เดือน	2 เดือน	3 ครั้ง	3 ครั้ง
7. บันทึก สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	3 เดือน	3 เดือน	5 เล่ม	5 เล่ม

สรุปการดำเนินงานตามแผน

☐ ล่าช้ากว่าแผน

☒ ตามแผน

☐ เร็วกว่าแผน

งบประมาณ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

1. แหล่งงบประมาณ หมวกเงิน (In Cash)

☒ งบม.เงินแผ่นดิน จำนวนที่ได้รับ 50,000 บาท ใช้จริง 50,000 บาท

2. มูลค่าใช้จ่าย (In Kind)

รายการ และมูลค่าใช้จ่ายของโครงการ/กิจกรรม

1.จัดทำเอกสาร	10,000	บาท
2. ค่าวัสดุ สำนักงาน ,คอมพิวเตอร์,ส่วนผสมที่ใช้ในการทำตำรับ	40,000	บาท
รวมมูลค่าใช้จ่าย	5,0000	บาท

ความสำเร็จของการดำเนินงาน

1. เปรียบเทียบกับวัตถุประสงค์ของโครงการ

(/) ผลการดำเนินงานเป็นไปตามวัตถุประสงค์ (ร้อยละ 100)

() ผลการดำเนินงานเป็นไปตามวัตถุประสงค์ ร้อยละ 60 –ร้อยละ 99

() ผลการดำเนินงานเป็นไปตามวัตถุประสงค์ ต่ำกว่า ร้อยละ 60

*** ค่าร้อยละอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามความเหมาะสมโดยขึ้นอยู่กับลักษณะหรือประเภทของโครงการ

2. เปรียบเทียบกับเป้าหมายของโครงการ

(/) สูงกว่าเป้าหมาย เพราะ สามารถจัดทำตำรับอาหารได้ 25ตำรับ จากเดิมกำหนดไว้ 20 ตำรับ

() ตามเป้าหมาย (ร้อยละ 100)

() ร้อยละ 60 – ร้อยละ 99

(/) ต่ำกว่าร้อยละ 60 ของเป้าหมาย

*** ค่าร้อยละอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามความเหมาะสมโดยขึ้นอยู่กับลักษณะหรือประเภทของโครงการ

ผลการประเมินโครงการ/กิจกรรม

1.ประเภทของผลผลิตโครงการ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☒ ผลผลิตที่เป็น โครงสร้างทางกายภาพ หรือผลิตภัณฑ์ (Product)

☐ ผลผลิตที่เป็นลักษณะการให้บริการ (Service)

☐ ผลผลิตที่เป็นลักษณะเกี่ยวข้องกับการบริหารจัดการ(Management)

2. ผลผลิตที่ได้รับจากโครงการ (ระบุผล)

ตำรับอาหารจากชะคราม จำนวน 64ตำรับ

3. ความพึงพอใจของผู้รับบริการ (ร้อยละ)

ร้อยละ 100 (ผู้ทดสอบชิม)

4. การเป็นวิทยากรคิดเป็นชั่วโมง

ชื่อ - สกุล

จำนวน ชั่วโมง

ชื่อ - สกุล

จำนวน ชั่วโมง

5. ดัชนีชี้วัดความสำเร็จของโครงการ/ผลผลิตที่ได้รับจากโครงการ

ระบุผล ดำรับอาหารจากชะคราม จำนวน 64 ตำรับ

ตัวชี้วัด (Indicators)	เป้าหมาย (Target)	ผลที่ได้รับ (Actual)	ผลเป้าหมาย	
			สูง	ต่ำ
ผลที่ได้รับเชิงปริมาณ :				
ตำรับอาหารจาก ชะคราม 25 ตำรับ	20 ตำรับ	64 ตำรับ	/	
ความทันต่อเวลา :	12 เดือน	12 เดือน	/	
คุณภาพ :	ดี	ดีมาก	/	

หมายเหตุ ตัวชี้วัดอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามความเหมาะสมโดยขึ้นอยู่กับลักษณะหรือประเภทของโครงการ

6. สนองตอบต่อตัวชี้วัดของ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☒ กพร.

☒ สมศ.

☒ สกอ.

☒ มหาวิทยาลัย (โปรดระบุ.....)

7. ข้อเสนอแนะ

จุดเด่น/จุดแข็งของโครงการ

- 1) สามารถนำวัตถุดิบในท้องถิ่นมาใช้ประกอบอาหารเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต
- 2) ได้ตำรับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น
- 3) สร้างทางเลือกให้กับผู้บริโภค

จุดอ่อน/ปัญหา อุปสรรค ของโครงการ

มีวัตถุดิบที่มีคุณภาพดีเฉพาะบางฤดูกาล ไม่ได้มีตลอดปี

ข้อเสนอแนะการจัดโครงการครั้งต่อไป

1. ทำในช่วงฤดูกาลที่มีชะคราม
2. พัฒนารับอาหารชนิดอื่นๆ

ประโยชน์ที่ได้รับจากการดำเนินงานโครงการ/กิจกรรม

- 1.มหาวิทยาลัย มีข้อมูลในการวางแผนด้านการอนุรักษ์วัฒนธรรมประเพณีด้านอาหาร
- 2.หน่วยงานมีข้อมูลในการวางแผนการทำวิจัยและพัฒนาตำรับอาหารจากชะคราม
3. ได้ตำรับอาหารสำหรับเผยแพร่

งานที่จะดำเนินต่อหลังจากการดำเนินโครงการ

- 1) เผยแพร่ผลงาน
- 2) ใช้เป็นบทปฏิบัติการในรายวิชาต่าง ๆ เช่น วิชาอาหารไทยและขนมไทย วิชาอาหารพื้นบ้าน และวัฒนธรรม วิชาอาหารว่าง วิชาพืชพรรณเพื่อชีวิต

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล จากผลการดำเนินงาน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ชะคราม ชื่อภาษาพื้นบ้าน ชีคราม ชื่อวิทยาศาสตร์ *Suaeda maritime* L..Dumort. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชสมุนไพรรานอนุมูลอิสระในป่าชายเลน เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มเตี้ย กิ่งก้านเล็กมีสีน้ำตาลแดง ลำต้นตั้งทนต่อความเค็มเจริญเติบโตได้ดีบริเวณน้ำกร่อยและป่าชายเลน ลำต้นมีความสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 30-80 ซม. มีใบ ดอก และผล ใบเป็นเส้นผอยสีเขียว ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงเวียนสลับ ใบมีขนาดเล็กค่อนข้างกลม อวบน้ำมีทั้งสีเขียวและแดงอมม่วง ปลายใบแหลมขอบใบเรียบ ก้านใบสั้น ใบมีรสเค็ม ดอกออกเป็นช่อกระจุกขนาดเล็กตามซอกใบ ดอกย่อยมีขนาดเล็กมีสีขาวอมเขียว ผลรูปทรงกลมรี ขนาดเล็ก ผิวเรียบ สีเหลืองอมส้ม ในฤดูแล้งเมื่อใบแก่จัดจะเป็นสีแดงอมม่วง มีรสเค็ม ส่วนที่นำมารับประทานยอดและใบ ก่อนนำมาประกอบอาหารนำมาลวกใส่น้ำเย็นใส่กระชอนให้สะเด็ดน้ำเพื่อลดความเค็ม นำมายำใส่มะพร้าวคั่ว แกงกะทิกับหอยแครง แกงส้ม ใส่ไข่เจียว ชะครามเป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูง มีคุณสมบัติทางยาในการช่วยขับปัสสาวะ แก้หนองใน

ด้วยเหตุที่ผักชะครามเป็นผักพื้นบ้านที่มีประโยชน์และหาได้ทั่วไปราคาถูกแต่วิธีการนำมาประกอบอาหารบริโภคยังมีน้อย จึงนำผักชะครามมาทดลองทำเป็นตำรับอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น อาหารคาว และอาหารว่าง เพื่อสร้างทางเลือกให้กับผู้บริโภคในการนำผักชะครามมาบริโภคที่หลากหลายยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อทดลองทำตำรับอาหารจากชะครามเป็นอาหารคาว และอาหารว่าง
- 2) เพื่อศึกษาความพึงพอใจของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสต่ออาหารจากชะคราม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เพื่อสืบสานสืบทอดและพัฒนาภูมิปัญญาท้องถิ่นด้านอาหารจากชะครามเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ตามหลักปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง
- 2) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับพืชท้องถิ่น
- 3) ได้ตำรับอาหารจากชะครามชนิดใหม่ๆ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาในเชิงพาณิชย์
- 4) ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานให้ผู้สนใจสามารถนำไปใช้ในชีวิตประจำวันหรือการประกอบอาชีพ
- 5) สามารถนำเอาแนวทางการศึกษานี้ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและเป็นเอกสารค้นคว้าหรืออ้างอิงในการศึกษาวิชาการที่เกี่ยวข้องให้เยาวชนรุ่นหลังได้เรียนรู้เรื่องอาหารจากชะคราม เป็นมรดกทางวัฒนธรรมทางอาหาร

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

แบบแผนของงานวิจัย

- 1) การวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลอง(Experiment Research) โดยใช้แบบสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคเป็นเครื่องมือ
- 2) วิเคราะห์ความพึงพอใจอาหารจากชะครามในแต่ละตำรับโดยใช้แบบสอบถามเพื่อเก็บข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic Scale Scoring Test โดยใช้กลุ่มตัวอย่างเป็นประชาชนชาวบ้านที่มีความรู้เกี่ยวกับการประกอบอาหาร ผู้ประกอบการร้านอาหาร และบุคคลทั่วไปในอำเภอเมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 20 คน เพื่อศึกษาการยอมรับ แล้วนำมาวิเคราะห์ผลที่ได้โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science (SPSS/PC) version 13.0 for window เพื่อศึกษาความพึงพอใจในอาหารแต่ละตำรับ เพื่อนำข้อมูลมาจัดลำดับความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อตำรับอาหารจากชะคราม และใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงพัฒนาตำรับต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

- 1) ขั้นสำรวจและศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง โดยสำรวจและศึกษาเอกสารจากหนังสือ ตำราวารสารต่าง ๆ และ อินเทอร์เน็ต เพื่อเป็นองค์ความรู้พื้นฐาน
- 2) สัมภาษณ์ประชาชนท้องถิ่น(ภูมิปัญญาท้องถิ่นเรื่องชะคราม)
- 3) ทดลองปฏิบัติ
- 4) สำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภค ครั้งที่ 1 โดยใช้ประชาชนชาวบ้าน
- 5) นำอาหารจากชะครามที่คัดเลือก จากความพึงพอใจของผู้บริโภคชุดที่ 1 จำนวน 5 คน ทำเป็นอาหารจากชะครามสำหรับนำไปให้ผู้บริโภค 20 คนทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อสำรวจความพึงพอใจอาหารแต่ละตำรับที่พัฒนาขึ้น
- 6) นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์โดยอ้างอิงเอกสารที่เกี่ยวข้อง
- 7) จัดทำรูปเล่มเอกสาร

เครื่องมือวิจัย

- 1) แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
- 2) อุปกรณ์เครื่องใช้ในการทำอาหาร ได้แก่ เครื่องครัว เครื่องชั่ง ตวง นาฬิกาจับเวลา
- 3) อาหารสด อาหารแห้ง เครื่องปรุงรส อุปกรณ์ในการทำความสะดวก
- 4) อาหารจากหัตถกรรมชนิดต่าง ๆ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

- 1) จากการสัมภาษณ์ประชาชนชาวบ้าน
- 2) เก็บข้อมูลจากการสืบค้นเอกสาร อินเทอร์เน็ต
- 3) นำหัตถกรรมมาทำเป็นตำรับอาหารชนิดต่างๆ
- 4) เก็บข้อมูลจากแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

การวิเคราะห์ข้อมูลแบบสอบถาม

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสำเร็จรูป โปรแกรม Statistical Package for the Social Science (SPSS/PC) version 13.0 for window

ผลการทดลอง ตำรับอาหารคาว และอาหารว่าง ที่พัฒนาขึ้นและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในความชอบโดยรวมไม่น้อยกว่า 4 แบ่งเป็น อาหารคาวประเภทแกง 7 ตำรับ อาหารคาวประเภทต้ม/ผัด/ทอด 15 ตำรับ อาหารคาวประเภทอื่น ๆ 18 ตำรับ อาหารว่าง 24 ตำรับมีดังต่อไปนี้

อาหารคาวประเภทแกง

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. แกงไข่ปูกับหอย | 5. แกงส้มหอยกับไข่ทอด |
| 2. แกงปลาตุ๋นทะเลกับหอย | 6. แกงเหลืองหอยกับปลากะพง |
| 3. แกงหอยกับหอยแครง | 7. แกงเขียวหวานลูกชิ้นปลากราย |
| 4. แกงส้มผักรวม | |

อาหารคาวประเภทต้ม/ผัด/ทอด

- | | |
|-------------------------------|--------------------------|
| 1. แกงจืดลูกรอก | 7. หอยกับไข่ทอด |
| 2. ต้มเค็ม | 8. ทอดมัน |
| 3. แกงเลียงเห็ดสามอย่างกับหอย | 9. ผัดหอยกับเห็ดสามอย่าง |
| 4. หอยผัดปู | 10. กว๊ายเตี๋ยวราดหน้า |
| 5. หอยผัดไข่ | 11. ไข่เจียวหอย |
| 6. หอยผัดไฟแดง | 12. ไข่เจียวหอยทอด |

13. ไช้เจียวชะครามซอสพริก
15. ไช้ชะครามแฟนซี

14. ไช้ม้วน

อาหารคาวประเภทอื่น ๆ

- | | |
|--|--------------------------------|
| 1. ไช้ตุ๋นชะคราม | 10. ส้มตำชะครามทอดกรอบ |
| 2. ชะครามดอง | 11. หมูมะนาว |
| 3. ไช้บนอนรัง | 12. ลาบชะคราม |
| 4. ลูกรอกแฟนซี | 13. ซุปผักชะคราม |
| 5. สลัดชะคราม | 14. ห่อหมก |
| 6. สามกรอบชะครามทอดกับซอสมะขาม | 15. มัจฉาหน้าชะคราม |
| 7. เต้ากั่ว | 16. ส้มตำชะครามทอดกรอบ |
| 8. เมี่ยงชะคราม | 17. ชะครามลวกกะทิน้ำพริกกุ้งสด |
| 9. สามเกลอกรอบกับซอสมะขาม (เป็นออร์เดิร์ฟ) | 18. ลูกรอกชะครามสามรส |

อาหารว่าง

- | | |
|----------------------------|----------------------------|
| 1. ขนมปังโรล | 13. ห่อหมก |
| 2. ขนมปังแฟนซี | 14. ฮะเก๋า |
| 3. ขนมปังแซนวิช | 15. ซาลาเปาชะคราม |
| 4. แซนวิชตำรับ 1 | 16. หมั่นโถชะคราม |
| 5. แซนวิชตำรับ 2 | 17. ขนมจีบชะคราม |
| 6. คาร์รนาเป้ชะคราม | 18. ขนมชะคราม |
| 7. ทาร์ตชะคราม | 19. ขนมหัวไชเท้า |
| 8. ขนมปังไส้ไก่ | 20. ซ่อมรกด |
| 9. ขนมปังหน้าหมูหยอง | 21. สาคุไส้ไก่ |
| 10. ปอเปี๊ยะทอด ตำรับที่ 1 | 22. ปั่นสับเนื้ |
| 11. ปอเปี๊ยะทอด ตำรับที่ 2 | 23. ข้าวเกรียบปากหม้อ |
| 12. กระหงทอง | 24. ก๋วยเตี๋ยวลุยสวนชะคราม |

ข้อเสนอแนะ

จุดเด่น/จุดแข็งของโครงการ

- 1) สามารถนำวัตถุดิบในท้องถิ่นมาใช้ประกอบอาหารเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต
- 2) ได้ตำรับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น

3) ได้ตำรับอาหารที่หลากหลายขึ้นเพื่อสร้างทางเลือกให้กับผู้บริโภค
จุดอ่อน/ปัญหา อุปสรรค ของโครงการ

มีวัตถุดิบที่มีคุณภาพดีเฉพาะบางฤดูกาล

ข้อเสนอแนะการจัดโครงการครั้งต่อไป

1. พัฒนาเป็นตำรับอาหารชนิดอื่นๆให้มากยิ่งขึ้น
2. ส่งเสริมให้ปลูกชะครามเพื่อให้มีชะครามบริโภคตลอดทั้งปี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการดำเนินงานโครงการ/กิจกรรม

1. มหาวิทยาลัย มีข้อมูลในการวางแผนด้านการอนุรักษ์วัฒนธรรมประเพณีด้านอาหารจากพืชในท้องถิ่น
2. หน่วยงานมีข้อมูลในการวางแผนการทำวิจัยและพัฒนาตำรับอาหารจากชะคราม
3. ได้ตำรับอาหารสำหรับเผยแพร่

งานที่จะดำเนินต่อหลังจากการดำเนินโครงการ

- 1) เผยแพร่ผลงานโดยนำมาใช้เป็นบทปฏิบัติการในรายวิชาอาหารไทยและขนมไทย วิชาอาหารพื้นบ้านและวัฒนธรรม วิชาอาหารว่าง วิชาพืชพรรณเพื่อชีวิต
- 2) ทำวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นตำรับอาหารชนิดอื่นๆให้ได้ตำรับอาหารมากขึ้น

การประเมินความพึงพอใจของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสต่ออาหารจากชะครามโดยใช้ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแยกเป็น 4 เรื่อง

- 1) ข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบสอบถามโดยสอบถามอายุ เพศและอาชีพ
- 2) ประเมินความคิดเห็นในด้านการยอมรับของผู้บริโภคอาหารจากชะคราม แยกตามชนิดของอาหาร โดยสอบถามความพึงพอใจด้านสีกลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความชอบรวมโดยใช้แบบสอบถามมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ ดังนี้

5	หมายถึง	ชอบมาก
4	หมายถึง	ชอบ
3	หมายถึง	ปานกลาง
2	หมายถึง	พอใช้
1	หมายถึง	ควรปรับปรุง

เกณฑ์การประเมิน

การแปลผลค่าเฉลี่ยจากแบบสอบถามใช้เกณฑ์ดังนี้

4.51 – 5.00 หมายความว่า ความคิดเห็นระดับมากที่สุด

3.51 – 4.50	หมายความว่า	ความคิดเห็นระดับมาก
2.51 – 3.50	หมายความว่า	ความคิดเห็นระดับปานกลาง
1.51 – 2.50	หมายความว่า	ความคิดเห็นระดับน้อย
1.00 – 1.50	หมายความว่า	ความคิดเห็นระดับน้อยที่สุด

3) ระดับความพึงพอใจของผู้ตอบแบบสอบถามที่มีต่ออาหารจากชะคราม

ผลการประเมินดังนี้

1. จำนวนผู้ตอบทดสอบทางประสาทสัมผัสทั้งหมด 20 คน เป็นชาย 6 คน หญิง 14 คน แบ่งตามช่วงอายุและอาชีพดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนและร้อยละของผู้ตอบแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสจำแนกตามอายุ

อายุ (ปี)	จำนวน (คน)	ร้อยละ
น้อยกว่า 20	-	0
20-25	1	5
26-30	5	25
31-35	4	20
36-40	2	10
มากกว่า 40	8	40
รวม	20	100

ข้อมูลจากตารางแสดงให้เห็นว่าผู้ตอบทดสอบทางประสาทสัมผัสส่วนใหญ่มีอายุมากกว่า 40 ปี คิดเป็นร้อยละ 40 รองลงมาคืออายุ 26-30 ปี คิดเป็นร้อยละ 25 และอายุ 31-35 ปี คิดเป็นร้อยละ 20

ตารางที่ 2 จำนวนและร้อยละของผู้ตอบทดสอบทางประสาทสัมผัสจำแนกตามอาชีพ

อาชีพ	จำนวน (คน)	ร้อยละ
ปราชญ์ชาวบ้านที่มีความรู้เกี่ยวกับอาหาร	1	5
ผู้ประกอบการร้านอาหาร	2	10
ผู้ปรุงอาหารในร้านอาหาร	4	20
บุคคลทั่วไป	13	65
อื่นๆ	0	0
รวม	20	100

ข้อมูลจากตารางแสดงให้เห็นว่าผู้ตอบแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสส่วนใหญ่เป็นบุคคลทั่วไป คิดเป็นร้อยละ 65 รองลงมาเป็นผู้ปรุงอาหารในร้านอาหารคิดเป็นร้อยละ 20 ลำดับต่อมาเป็น

ผู้ประกอบการร้านอาหาร คิดเป็นร้อยละ 10 ลำดับสุดท้ายคือประชาชนชาวบ้านที่มีความรู้เกี่ยวกับอาหาร คิดเป็นร้อยละ 5

2. การประเมินความคิดเห็นด้านการทดสอบทางประสาทสัมผัสอาหารจากชะครามจำแนกตามชนิดของอาหาร

ผลการประเมินความพึงพอใจของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส

จากผลการประเมินความพึงพอใจของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสซึ่งมีหัวข้อการประเมินแยกเป็น 3 เรื่อง ได้แก่ ข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยสอบถามอายุ เพศ และอาชีพ เพื่อประเมินความคิดเห็นในด้านการบริโภคอาหารจากชะคราม แยกตามชนิดของอาหาร โดยสอบถามความพึงพอใจด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมโดยใช้แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสมาตราส่วนประมาณค่า 5 ระดับ ดังนี้

5	หมายถึง	ชอบมากที่สุด
4	หมายถึง	ชอบมาก
3	หมายถึง	ชอบปานกลาง
2	หมายถึง	พอใช้
1	หมายถึง	ควรปรับปรุง

คุณลักษณะที่ประเมินได้แก่ คุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสมีความพึงพอใจในอาหารจากชะครามแต่ละชนิดที่นำไปทดสอบ ตามหัวข้อการประเมินมากกว่า 4 ได้นำมาเสนอในรายงาน ส่วนตำรับอาหารที่ผู้ทดสอบประเมินความชอบร่วมน้อยกว่า 4 จึงนำตำรับดังกล่าวไปพัฒนาต่อไป

ภาคผนวก

ตัวอย่างอาหารคาวจากชะคราม

แกงไข่มุกกับชะคราม



แกงส้มผักรวม



แกงปลาตุ๋นทะเลกับชะคราม



แกงส้มชะครามชุบไข่ทอด



แกงชะครามกับหอยแครง



แกงเหลืองชะครามกับปลากะพง



ชะครามผัดปู



เต้ากั่ว



ต้มเค็ม



ลาบชะคราม



ไข่เจียวชะครามขอสมะขาม



ห่อหมกชะคราม



ตัวอย่างอาหารว่างจากชะคราม

ขนมปังโรล



ขนมปังแฟนซี



ขนมปังแซนวิชชะคราม



แซนวิชชะครามตำรับ 1



แซนวิชชะครามตำรับ 2



ทาร์ตชะคราม



ขนมปังชะครามไส้ไก่



ขนมปังชะครามหน้าหมูหยอง



คาร์รนาเป้ชะคราม



ปอเปี๊ยะชะครามตำรับที่ 1



ปอเปี๊ยะชะครามตำรับที่ 2



กระทงทองชะคราม



ห่อหมก



หมั่นโถ้ชะคราม



สะแกมรกต



ขนมจีบชะคราม



ซาลาเปาชะคราม



ขนมชะคราม



ขนมหัวไชเท้าชะคราม



ปั้นสิบชะคราม



ซอ่มรกต



ข้าวเกรียบปากหม้อชะคราม



สาคุมรกตไส้ไก่



ก๋วยเตี๋ยวลุยสวนชะคราม



การเผยแพร่อาหารจากชะครามในกิจกรรมต่าง ๆ



เผยแพร่ในโครงการ

e-Book สำนักวิทยบริการมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช



****ตำรับอาหารที่พัฒนาขึ้นเป็นบทปฏิบัติการในรายวิชาอาหารไทยและขนมไทย วิชาอาหารพื้นบ้าน วิชาอาหารว่าง**

ดำเนินงานโดยศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

● การศึกษาการใช้ประโยชน์ผักเชียงดา

ผลการดำเนินงาน

ผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* Decne.) หรือ ผักจินดา (ภาคเหนือ) เป็นไม้เถาเลื้อย ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียวเข้ม รูปกลมรี ปลายใบแหลม ฐานใบกลม ดอกเป็นช่อแบบซี่ร่ม กลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีเหลือง ผลเป็นผลเดี่ยว รูปกลมยาว ส่วนของต้นพืชที่นำมาบริโภคคือ ใบอ่อนและยอดอ่อน นำมาปรุงอาหาร ผักเชียงดานอกจากจะนำส่วนของยอดสดและมาบริโภคแล้วยังสามารถแปรรูปเป็นชาสำหรับชงดื่ม จากการศึกษาทางพฤกษเคมีของรากและใบผักเชียงดา พบ Gymnemic acid ที่มีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายคลึงกับโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส เมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกาย ลำไส้จะดูดซึม Gymnemic acid เข้าสู่ร่างกาย (ในกระแสเลือด) ได้ดีกว่าน้ำตาล มีผลให้การดูดซึมน้ำตาลลดลง นอกจากนี้ ยังช่วยเพิ่มปริมาณอินซูลินซึ่งเป็นสารที่ควบคุมน้ำตาลในเลือดให้สูงขึ้น ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีได้อีกด้วย จากการสืบค้นข้อมูล คุณค่าทางโภชนาการของผักเชียงดาต่อ 100 กรัม ของผักเชียงดาประกอบด้วย วิตามินซี 153.0 มิลลิกรัม เบต้าแคโรทีน 5,905.0 ไมโครกรัม วิตามินเอ 984.0 ไมโครกรัมแคลเซียม 78 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 98 มิลลิกรัม คาร์โบไฮเดรต 2.5 กรัม โปรตีน 5.4 กรัม ไขมัน 1.5 กรัม และคาร์โบไฮเดรต 8.6 กรัม

ผักเชียงดานอกจากจะนำส่วนของยอดอ่อนมาบริโภคแล้ว ส่วนของยอดอ่อนและใบยังสามารถนำมาแปรรูปทำเป็นชาเชียงดา สำหรับชงดื่ม เป็นการเพิ่มมูลค่าของผักเชียงดา ซึ่งจะช่วยเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร และเกษตรกรสามารถผลิตชาเชียงดาได้เองภายในครัวเรือน จากการสืบค้นข้อมูล คุณค่าของชาเชียงดาดำดื่มเป็นประจำจะช่วยให้ลำไส้ดูดซึมน้ำตาลลดลง ยังช่วยเพิ่มปริมาณอินซูลินซึ่งเป็นสารที่ควบคุมน้ำตาลในเลือดให้สูงขึ้น ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีได้อีกด้วย เป็นประโยชน์สำหรับคนเป็นโรคเบาหวาน ผักเชียงดามีคุณค่าทางโภชนาการสูง ในยอดอ่อนและใบอ่อนมีวิตามินซี เบต้าแคโรทีน และสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง



ภาพ การทำชาผักเชียงดา

● ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของน้ำเต้า

ผลการดำเนินงาน

น้ำเต้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. มีชื่อเรียกได้หลายอย่างเช่น มะน้ำเต้า, หมากน้ำ, น้ำโตน เป็นต้น ลักษณะของต้นน้ำเต้าจัดเป็นไม้เถาเลื้อยล้มลุก เลื้อยตามพื้นดินหรือไต่พันกับต้นไม้อื่น ลำต้นแข็งแรง มีมือสำหรับใช้ยึดเกาะต้นไม้อื่น ๆ ตามเถามีขนยาวสีขาว ลำต้นกลมหรือค่อนข้างเป็นเหลี่ยม เปลือกต้นขรุขระ สีน้ำตาล กิ่งอ่อนสีเขียว ใบเดี่ยวเรียงสลับด้านบนสีเขียวเข้ม ด้านล่างสีเขียวอ่อน ลักษณะของใบเป็นรูปห่าเหลี่ยม ขอบใบหยักเว้าเป็นแฉก 5-7 แฉก โคนใบเว้าเข้าถึงเส้นกลางใบ เส้นใบด้านล่างนูนเด่นชัด ใบมีขนตลอดทั้งใบและก้านใบ ก้านใบยาวประมาณ 5-30 เซนติเมตร โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ มีแถบสีขาวบริเวณกลางใบ ผิวใบเกลี้ยงทั้งสองด้าน ดอก ดอกเดี่ยว แยกเพศ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียจะอยู่บนต้นเดียวกัน ออกดอกบริเวณซอกใบ เรียงตามก้านใบ โดยมีใบปรกอยู่ด้านบน ดอกขนาดเล็ก มี 2 ชนิด ตอนบนของกิ่งก้านจะเป็นดอกเพศเมีย ส่วนตอนล่างจะเป็นดอกเพศผู้ มีดอกเพศเมีย 1-3 ดอก ดอกเพศผู้จำนวนมาก ดอกเพศเมียมีรังไข่อยู่เหนือวงกลีบ กลีบดอกเป็นสีขาว ผลมีลักษณะกลมเกลี้ยง กลมมีคอขวดหรือผลกลมยาว โดยทั่วไปแล้วผลจะมีลักษณะกลมโต มีขนาดประมาณ 15-20 เซนติเมตร คอดก้นบริเวณยอด โคนหัวคอดคองหรือหดเป็นวงผิวผลเกลี้ยง เรียบ และเนียน เปลือกผลแข็งและทนทาน ผลอ่อนเป็นสีเขียว ก้านผลยาว ภายในผลมีเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีลักษณะเป็นรูปทรงแบนปานคล้ายเล็บมือ ส่วนปลายมีติ่งยื่น 2 ข้าง เป็นสีขาวหรือน้ำตาลอ่อน และมีแถบสีน้ำตาลเข้มพาดตามยาวของเมล็ด **การนำมาใช้ประโยชน์** ผลอ่อนนำมาปรุงอาหารเช่น แกง ลวกจิ้ม น้ำพริก **การนำมาใช้ประโยชน์** ทางยาจากการสืบค้นข้อมูล รากมีสรรพคุณช่วยให้เจริญอาหาร ผลน้ำเต้ามีสรรพคุณเป็นยาเย็นและขึ้น มีประโยชน์สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคหัวใจ ผลอ่อน และเนื้อในผล มีสรรพคุณช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด เมล็ดมีสรรพคุณช่วยแก้อาการปวดศีรษะ ใบมีรสเย็น สรรพคุณช่วยดับพิษ เป็นยาแก้ไข้ตัวร้อน ช่วยแก้อาการร้อนใน กระหายน้ำ เนื้อในผลช่วยแก้อาการไอ ผลหรือโคนหัวผลนำมาต้มกับน้ำดื่มเป็นยาแก้อาการปวดท้องที่เกิดจากไข้ ใช้รักษาโรคทางลำคอใช้กิน เป็นยาขับพยาธิ ผลมีรสเย็น สรรพคุณช่วยขับปัสสาวะ ขับนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ รักษาท่อปัสสาวะอักเสบ ช่วยลดการอักเสบของทางเดินปัสสาวะและอาการปัสสาวะยาก ผู้ชราภาพ หากรับประทานมาก ๆ ก็ทำให้อาเจียนได้ **น้ำเต้า**มีสรรพคุณช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็งปอด น้ำมันจากเมล็ดนำมากินจะช่วยให้อาเจียน และสามารถใช้เวลาศรัทธาจะช่วยแก้อาการทางประสาทบางชนิดได้ ใบมีสรรพคุณเป็นยาขับปัสสาวะ ช่วยรักษาโรคลูกอ๊อดตะบวม ช่วยรักษาโรคเรื้อรัง รากและทั้งต้นมีสรรพคุณช่วยบำรุงน้ำดี



ภาพ ลักษณะผลที่แตกต่างกันของน้ำเต้า