รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส โปรตีเอส และแอล-กอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส เพื่อใช้เป็นอาหารสุขภาพในการควบคุมน้ำหนัก

Inhibitory effect of Thai vegetable extracts on activities of lipase, alpha-amylase, protease and alcohol-dehydrogenase

สลิล ชั้นโรจน์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802167
สัญญาเลขที่ 9/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส โปรตีเอส และแอล-กอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส เพื่อใช้เป็นอาหารสุขภาพในการควบคุมน้ำหนัก

Inhibitory effect of Thai vegetable extracts on activities of lipase, alpha-amylase, protease and alcohol-dehydrogenase

สลิล ชั้นโรจน์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา
มีนาคม พ.ศ. 2562

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันโรคอ้วนจัดเป็นปัญหาหลักทางสุขภาพทั่วโลกเนื่องจากภาวะโรคอ้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงที่นำไปสู่การเกิดโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยแนวทางในการป้องกันและแก้ภาวะโรคอ้วนที่เป็นที่นิยมคือการรับประทานยาลดน้ำหนักเนื่องจากใช้เวลาน้อยแต่ได้ประสิทธิภาพสูงกว่าเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น อย่างไรก็ตามการรับประทานยาลดน้ำหนักไม่ใช่แนวทางที่ดีที่สุดในการรักษาโรคอ้วนเพราะยาอาจส่งผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ดังนั้นแนวทางหนึ่งในการควบคุมน้ำหนักคือการลดการย่อยแป้งและไขมันอันเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและไลเปส ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านจำนวน 30 ชนิดต่อการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารที่ได้มาจากตับอ่อน ได้แก่ ไลเปส แอลฟาอะไมเลส และทริปซิน ในหลอดทดลอง และเอนไซม์ในกระบวนการเผาผลาญแอลกอฮอล์ ได้แก่ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส โดยนำผักพื้นบ้านที่เก็บเกี่ยวในสามฤดูที่แตกต่างกัน ได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว มาสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล และเฮกเซน ที่อุณหภูมิ 37 หรือ 90 องศาเซลเซียส จากนั้นสารสกัดหยาบที่ได้ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์โดยใช้ Orlistat® (ยารักษาโรคอ้วน) Acarbose® (ยารักษาโรคเบาหวาน) phenylmethylsulfonyl fluoride (สารยับยั้งโปรตีเอส) และ nicotinic acid (วิตามินบี 3) เป็นชุดควบคุม และนำสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 9 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริบเติบของจุลินทรีย์ *Escherichia coli* โดยใช้ ampicillin (ยาปฏิชีวนะ) และ gallic acid (สารประกอบฟีนอล) เป็นชุดควบคุม ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจาก ชะอม ขี้นฉ่าย มะกรูด กะเพรา เตยหอม และย่านาง มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้ดี โดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) น้อยกว่า 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจาก ชะอม กุ้ยฉ่าย ตำลึง กระถิน สะระแหน่ เตยหอม ย่านาง และขิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดี ในขณะที่สารสกัดหยาบจาก กระเทียม ข่า สะระแหน่ ชะพลู และมะเขือพวง มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผักพื้นบ้านกลุ่มนี้อาจไม่เหมาะสมในการรับประทานเพื่อควบคุมน้ำหนักเนื่องจากการรบกวนการย่อยโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากข่า ขี้นฉ่าย และขิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดี ซึ่งอาจส่งผลรบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึมอื่นของร่างกายได้ถ้ารับประทานผักพื้นบ้านกลุ่มนี้เข้าไปในปริมาณมาก และสารสกัดหยาบจากข่า ย่านาง และชะพลู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ดี ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นผักพื้นบ้านที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อ

ใช้ควบคุมน้ำหนัก ได้แก่ ชะอม เตยหอม และย่านาง เนื่องจากสารออกฤทธิ์ในผักพื้นบ้านดังกล่าวมีฤทธิ์จำเพาะในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสซึ่งเป็นเอนไซม์เป้าหมายในการศึกษาครั้งนี้ โดยเฉพาะย่านางนั้นมีสารออกฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นอกเหนือจากฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ที่จำเพาะข้างต้น

คำสำคัญ: ผักพื้นบ้าน การยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ ไลเปส แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส สารต้านจุลินทรีย์

Abstract

Obesity is a major public health risk causing diabetes, hypertension, and cardiovascular disease. In general, taking medication is the most popular approach to weight loss because it takes less time, yet patients can lose more weight than other methods. However, prescription drugs can also bring about deadly adverse effects. An alternative way to lose weight is to reduce lipase and alpha-amylase activities in the digestive system. Thus, this research aimed to study in vitro inhibitory effect of extracts from 30 Thai vegetables on the activities of digestive enzymes (pancreatic lipase, pancreatic alpha-amylase, and trypsin) and an enzyme in alcohol metabolism (alcohol dehydrogenase). Local Thai vegetables were sampled from three different seasons, including summer, spring and winter, and were extracted with water, ethanol or hexane at 37 °C or at 90°C. Each extract was subsequently assayed for enzyme inhibition using Orlistat®, Acarbose®, phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), or nicotinic acid as positive controls. Additionally, selected extracts from 9 Thai vegetables were subsequently tested for antimicrobial activities against *Escherichia coli* using ampicillin and gallic acid as positive controls. Results indicated that crude extracts of *Acacia pennata* (Cha om), *Apium graveolens* (Khuen-chai), *Citrus hystrix* (Makrut lime), *Ocimum tenuiflorum* (Kaphrao), *Pandanus amaryllifolius* (Bai toei) and *Tiliacora triandra* (Ya nang) possessed compelling anti-lipase activities as their IC_{50} (the half maximum inhibitory concentration) were less than 300 µg/ml. Furthermore, crude extracts of *A. pennata*, *Allium tuberosum* (Kow choi), *Coccinia grandis* (Tum lung), *Leucaena glauca* (Kra thin), *Mentha cordifolia* (Saranae), *P. amaryllifolius*, *T. triandra* and *Zingiber officinale* (Khing) also demonstrated significant anti-alpha amylase activities. Interestingly, crude extracts of *Allium sativum* (Kra tium), *Alpinia galanga* (Khaa), *M. cordifolia*, *Piper sarmentosum* (Chaphlu) and *Salanum torvum* (Ma khuea phuang) embraced considerable anti-trypsin activities, implying that these extracts might not be suitable for weight loss due to an interference with protein digestion. Moreover, crude extracts of *A. galangal*, *A. graveolens* and *Z. officinale* had

additional anti-alcohol dehydrogenase activities, suggesting that these extracts would interfere with other drug metabolisms in our body, therefore the application should be handled with care. In addition, crude extracts of *A. galangal*, *T. triandra* and *P. sarmentosum* effectively impeded the growth of *E. coli*, which can be regarded as potent antimicrobial agents. Taken together, the favorable Thai vegetables recommended for functional food development and natural anti-obesity remedy are *A. pennata*, *P. amaryllifolius*, and *T. triandra* based on their specific anti-lipase and anti-alpha amylase activities, especially *T. triandra* which its extracts harbor additional antimicrobial activities.

Keywords: vegetable, enzyme inhibition, lipase, α-amyalse, trypsin, alcohol dehydrogenase, antimicrobial agent

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
สารบัญ	5
สารบัญตาราง	7
สารบัญภาพ	9
1. บทนำ	10
1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	10
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	12
1.3 ขอบเขตการวิจัย	12
1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	13
2. วิธีการดำเนินการวิจัย	15
2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	15
2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์	19
2.3 การคำนวณและวิธีทางสถิติ	22
3. ผลการวิจัย	24
3.1 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	24
3.2 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	28
3.3 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	33
3.4 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากยีสต์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	37
3.5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ E. coli โดยสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน	41

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. อภิปรายผลการวิจัย	44
4.1 การสกัดร่วมด้วยเอทานอลและเฮกเซน	44
4.2 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส	44
4.3 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	45
4.4 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน	46
4.5 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส	47
4.6 ผักพื้นบ้านที่ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส	48
4.7 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสแต่ไม่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส	48
4.8 ผักพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli*	48
5. สรุปผลการวิจัย	49
6. ผลผลิต	51
6.1 ผลงานตีพิมพ์	51
6.2 ผลงานเชิงพาณิชย์	51
6.3 ผลงานเชิงสาธารณะ	51
เอกสารอ้างอิง	52
ประวัตินักวิจัย	54

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผักพื้นบ้านที่ใช้ในการศึกษา 15

ตารางที่ 2 Anti-lipase activities of crude extracts from Thai vegetables 25

ตารางที่ 3 Anti-lipase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables 26

ตารางที่ 4 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on pancreatic lipase activities 27

ตารางที่ 5 Anti-alpha-amylase activities of crude extract from Thai vegetables 29

ตารางที่ 6 Anti alpha-amylase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables 30

ตารางที่ 7 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on alpha-amylase activities 31

ตารางที่ 8 Anti-trypsin activities of crude extract from Thai vegetables 34

ตารางที่ 9 Anti-trypsin activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables 35

ตารางที่ 10 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on trypsin activities 36

ตารางที่ 11 Anti alcohol dehydrogenase activities of crude extract from Thai vegetables 38

ตารางที่ 12 Anti alcohol dehydrogenase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables 38

ตารางที่ 13 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on alcohol dehydrogenase activities 40

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 14 Antimicrobial potency of crude extract from Thai vegetables against *E. coli* 42

ตารางที่ 15 Antimicrobial potency as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from selected Thai vegetables against *E. coli* 43

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 Inhibitory effect of Orlistat® on pancreatic lipase activity 24

ภาพที่ 2 Inhibitory effect of Acarbose® on pancreatic α-amylase activity 28

ภาพที่ 3 Inhibitory effect of phenylmethylsulfonyl fluoride on pancreatic trypsin activity 33

ภาพที่ 4 Inhibitory effect of nicotinic acid on yeast alcohol dehydrogenase (ADH) activity 37

ภาพที่ 5 Inhibitory effect of ampicillin on the growth rate of *E. coli* 41

ภาพที่ 6 Inhibitory effect of gallic acid on the growth rate of *E. coli* 41

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันภาวะน้ำหนักเกินและอ้วนเป็นปัญหาสำคัญทางสุขภาพอันดับต้นๆของประเทศไทยทำให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพชีวิตและเศรษฐกิจในวงกว้าง อันเนื่องมาจากภาวะพิการหรือการตายก่อนวัยอันควรและรัฐบาลต้องแบกรับภาระค่าใช้จ่ายทางสุขภาพที่เป็นผลสืบเนื่องมาจากภาวะอ้วนในแต่ละปีเป็นจำนวนเงินมหาศาล จากการสำรวจสุขภาพประชาชนไทยครั้งที่ 4 (พ.ศ. 2551-2552) โดยสำนักงานสำรวจสุขภาพประชาชนไทย พบว่าความชุกของภาวะอ้วนในประชากรไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับการสำรวจสุขภาพประชาชนไทยครั้งที่ 3 (พ.ศ. 2546-2547) โดยในผู้ชายเพิ่มจากร้อยละ 22.5 เป็นร้อยละ 28.4 และในผู้หญิงจากความชุกร้อยละ 34.4 เป็นร้อยละ 40.7 ทั้งนี้ปัญหาหลักที่ทำให้เกิดภาวะอ้วนคือการขาดการออกกำลังกาย และรับประทานอาหารที่ไม่สมดุล โดยพบว่ามีจำนวนประชากรไทยเพียงร้อยละ 23.8 ที่รับประทานผักเพียงพอตามข้อแนะนำ (มากกว่า 3 ส่วนต่อวัน) ในขณะที่ร้อยละ 1.1 ของประชากรไทยใช้ยาลดความอ้วน ซึ่งผู้หญิงมีความชุกในการใช้ยาลดความอ้วนสูงกว่าผู้ชาย (ร้อยละ 1.9 และ 0.3 ตามลำดับ) และกลุ่มอายุผู้หญิงที่ใช้ยาลดความอ้วนมากที่สุดอยู่ในช่วง 15-29 ปี (ร้อยละ 4.9) อย่างไรก็ตามจากการการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคอาหารของประชากร พ.ศ. 2556 โดยสำนักงานสถิติแห่งชาติ พบว่าประชากรไทยร้อยละ 54.5 บริโภคผักและผลไม้สดเป็นประจำทุกวัน ซึ่งมากกว่ากลุ่มอาหารประเภทอื่นๆ และสิ่งที่คำนึงถึงเป็นอันดับแรกในการเลือกซื้ออาหารคือรสชาติ (ร้อยละ 24.5) ในขณะที่ประชากรไทยร้อยละ 80.9 ไม่นิยมบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเสริม แสดงให้เห็นว่าการป้องกันภาวะอ้วนที่ยั่งยืนสามารถดำเนินการได้ 2 วิธี คือสนับสนุนให้คนไทยออกกำลังกายอย่างเหมาะสม และเลือกรับประทานอาหารที่สมดุลโดยคำนึงถึงรสชาติและพฤติกรรมการบริโภคเป็นสำคัญ

ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาแนวทางความเป็นไปได้ในการใช้ผักพื้นบ้านที่คนไทยรับประทานเป็นประจำทุกวันมาใช้เป็นอาหารสุขภาพเพื่อใช้ในการควบคุมน้ำหนัก โดยอาหารสุขภาพ (functional food) หมายถึงอาหารที่มีสารอื่นที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกเหนือจากมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยเมื่อพิจารณาจากการเลือกบริโภคอาหารของคนไทย การรับประทานผักที่รับประทานเป็นประจำทุกวันซึ่งให้ใยอาหาร เกลือแร่และวิตามินแล้วยังให้สารบางชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมระบบเมตาบอลิซึมในร่างกายที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมหรือสะสมพลังงานส่วนเกินซึ่งก่อให้เกิดปัญหาภาวะอ้วนจะเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดอัตราภาวะอ้วนในประชากรไทยได้ในระยะยาวและยั่งยืน โดยผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 30-

40 ชนิดที่นำมาใช้ในการปรุงอาหารไทย ต่อการยังยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ได้แก่ เอนไซม์ไลเปส เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์โปรตีเอส และเอนไซม์ในระบบกำจัดของเสีย ได้แก่ เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส โดยเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีส่วนสำคัญในการย่อยไขมันและแป้งเพื่อที่จะดูดซึมในลำไส้ในรูปของกรดไขมันและน้ำตาลตามลำดับ การใช้สารเคมีบางชนิดในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้เป็นหลักการในการผลิตยาลดไขมัน (Orlistat®) และยารักษาเบาหวาน (Acarbose®) ในขณะที่เอนไซม์โปรตีเอสจะช่วยย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโน ซึ่งพืชหลายชนิดผลิตสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสทำให้เมื่อรับประทานพืชดังกล่าวเข้าไปจะเกิดอาการท้องอืด เช่น ตัวยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (protease inhibitor) ในถั่วเหลือง เป็นต้น และเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นแอลดีไฮด์ที่ตับ และจะเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกตามลำดับ ซึ่งช่วยทำลายพิษของแอลกอฮอล์ในร่างกาย นอกจากนี้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในยีสต์ยังเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการหมักแอลกอฮอล์ด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะใช้เอนไซม์โปรตีเอสและเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์ควบคุม โดยผักพื้นบ้านที่จะใช้เป็นอาหารสุขภาพเพื่อการควบคุมน้ำหนักนั้นต้องสามารถยังยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนแต่ไม่ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (ทริปซิน) จากตับอ่อนและเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากยีสต์

งานวิจัยชิ้นนี้จะมีความแตกต่างจากงานวิจัยที่เคยมีรายงานมาเพราะเป็นงานวิจัยบูรณาการที่ทำให้สามารถอธิบายการย่อยและการดูดซึมสารอาหารที่ก่อให้เกิดการสะสมพลังงานในร่างกายได้อย่างครบวงจร และสามารถบอกถึงความจำเพาะเจาะจงของการเลือกผักพื้นบ้านเป็นอาหารสุขภาพเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของแต่ละบุคคล ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ได้ในชีวิตประจำวันโดยไม่ต้องมีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบริโภคเหมือนการรับประทานยาหรืออาหารเสริมสุขภาพที่ได้จากการสกัดสมุนไพรหรือถูกสังเคราะห์ขึ้นมา นอกจากงานวิจัยชิ้นนี้สามารถช่วยส่งเสริมให้ประชากรไทยสามารถเลือกรับประทานอาหารให้เหมาะสมในรูปแบบของอาหารสุขภาพแล้ว ยังช่วยสนับสนุนข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ให้กับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากผักพื้นบ้านบางชนิดที่ขายในท้องตลาดปัจจุบัน เช่น ชามะเขือพวง ซึ่งผู้ผลิตอ้างสรรพคุณในการลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น และสามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวในการศึกษาหาสารออกฤทธิ์เพื่อใช้ผลิตเป็นยารักษาโรคต่างๆได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 ศึกษาสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมน้ำหนัก

1.2.2 ศึกษาสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสเพื่อใช้เป็นแนวทางในการรับประทานอาหารสุขภาพ

1.2.3 ศึกษาสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเพื่อใช้เป็นแนวทางผลิตแอลกอฮอล์โดยกระบวนการทางชีวภาพ

1.2.4 ศึกษาสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะ-ไมเลส โปรตีเอส และแอลกอฮอล์ดีไฮโรจีเนส ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ผักพื้นบ้านที่ใช้ในการศึกษา

ผักพื้นบ้านไทยที่เลือกมาทำการศึกษาเป็นผักที่หาซื้อได้และพบทั่วไปในบริเวณภาคตะวันออก ได้แก่ กุยช่าย กระเทียม ข่า ขี้นฉ่าย มะกรูด ตำลึง ตะไคร้ ผักกูด กระถิน บวบ ผักแว่น ผักหวาน สะระแหน่ มะระขี้นก มะระจีน หัวปลี สายบัว โหระพา กะเพรา ใบเตย ชะพลู ถั่วพู แค มะเขือพวง ขจร ย่านาง และขิง โดยสามารถหาซื้อได้ที่ตลาดหนองมน ต.แสนสุข อ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี

1.3.2 การสกัดสารออกฤทธิ์จากผักพื้นบ้าน

สารที่ใช้ในการสกัดผักพื้นบ้านประกอบไปด้วย น้ำ เอทานอล และเฮกเซน โดยจะทำการสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และที่ 90 องศาเซลเซียส

1.3.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในหลอดทดลอง

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์จะใช้สารสกัดที่ 3 ความเข้มข้น และใช้เอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนหมู ในขณะที่ใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากยีสต์ โดยใช้ตัวควบคุมเชิงบวกได้แก่ Orlistat®, Acarbose®, phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) และ nicotinic acid สำหรับเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เอนไซม์โปรตีเอส (ทริปซิน) และเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ตามลำดับ โดยใช้สถานที่ทดลองคือห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

1.3.4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญในสิ่งมีชีวิต

ทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตทางอ้อมได้โดยการศึกษาผลของสารสกัดจากผักพื้นบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Escherichia coli*

1.3.5 การวิเคราะห์และการแปลผล

วิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติเป็นปัจจัยหลักในการตัดสินใจว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดหรือไม่โดยเทียบกับการยับยั้งของตัวควบคุมเชิงบวก โดยทดลองซ้ำในแต่ละช่วงฤดูกาลและปีที่เก็บเกี่ยวเพื่อดูความแปรปรวนของผลการทดลอง

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ปัจจุบันนักวิจัยส่วนใหญ่มุ่งหาพืชหรือสารชนิดใหม่เพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคหรือใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ อย่างไรก็ตามจากการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคของไทยพบว่าคนไทยส่วนใหญ่ไม่นิยมรับประทานยาหรืออาหารเสริมสุขภาพและละเลยในการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะผักต่างๆ จึงก่อให้เกิดปัญหาภาวะอ้วนเพิ่มขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะรณรงค์ให้คนไทยรับประทานผักเพิ่มขึ้นโดยไม่ต้องเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภค แนวทางหนึ่งคือการส่งเสริมให้รับประทานผักพื้นบ้านหรือผักพื้นบ้านตามท้องตลาดที่รับประทานเป็นประจำอยู่แล้ว โดยให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเป็นอาหารสุขภาพนอกเหนือจากการให้คุณค่าทางอาหารแล้วยังมีสรรพคุณในการควบคุมกระบวนการเผาผลาญอาหารของร่างกายเพื่อให้สามารถเลือกบริโภคอาหารได้ตามภาวะทางโภชนาการของแต่ละบุคคล โดยผู้วิจัยสนใจกระบวนการย่อยแป้งและไขมันซึ่งเป็นกระบวนการแรกที่เกิดขึ้นหลังจากการรับประทานอาหาร โดยมีสมมติฐานที่ว่าสารออกฤทธิ์ในผักพื้นบ้านไทยบางชนิดมีฤทธิ์ในการยังยั้งการย่อยแป้งและไขมันในลำไส้ซึ่งจะส่งผลให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมน้ำตาลและกรดไขมันได้ทำให้ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดลดลง เช่นเดียวกับการรับประทานยารักษาโรคเบาหวาน (Acarbose®) และยาลดไขมันในเลือด (Orlistat®) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์ไลเปสตามลำดับ

เนื่องจากสารออกฤทธิ์ในพืชมีมากมายหลายชนิดดังนั้นความจำเพาะเจาะจงในการออกฤทธิ์จึงมีความสำคัญดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเป็นตัวควบคุม โดยมีสมมติฐานว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นอาหารสุขภาพในการควบคุมน้ำหนักจะต้องสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แต่ไม่ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส เพื่อให้เกิดการยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อกระบวนการย่อยแป้งและไขมันเท่านั้น ทั้งนี้สารสกัดจากผักพื้นบ้านอาจจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้ โดยถ้าสารสกัดจาก

ผักพื้นบ้านนั้นยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสอย่างเดียว ผักพื้นบ้านนั้นอาจเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารสุขภาพของผู้ป่วยโรคเบาหวาน หรือถ้าสารสกัดจากผักพื้นบ้านนั้นยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสอย่างเดียว ผักพื้นบ้านดังกล่าวอาจเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารสุขภาพของผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง ในขณะที่ถ้าสารสกัดจากผักพื้นบ้านนั้นยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสอาจส่งผลให้เกิดภาวะท้องอืดและขาดโปรตีนเมื่อรับประทานผักพื้นบ้านชนิดนั้นในปริมาณมากได้ แต่สามารถพัฒนาและศึกษาสารออกฤทธิ์ที่พบในผักพื้นบ้านดังกล่าวเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคที่เกิดจากไวรัสได้ และถ้าสารสกัดจากผักพื้นบ้านใดสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ผักพื้นบ้านนั้นอาจมีฤทธิ์ในการชะลออาการเมาแอลกอฮอล์ซึ่งในระยะยาวไม่เป็นผลดีต่อตับ หรือการใช้ผักพื้นบ้านดังกล่าวในการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์เพื่อเพิ่มรสชาติหรือกลิ่นอาจจะส่งผลให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ลดลง อย่างไรก็ตามถ้าสารสกัดจากผักพื้นบ้านชนิดใดสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ทั้ง 4 ชนิด อาจแสดงถึงความไม่จำเพาะเจาะจงในการยับยั้งปฏิกิริยาในร่างกาย ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อร่างกายเมื่อรับประทานในปริมาณที่มากเกินควร แต่อาจมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เป็นต้น

นอกจากนี้ชนิดของสารที่ใช้สกัดและอุณหภูมิส่งผลโดยตรงต่อการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้านดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะใช้สารที่มีความต่างของขั้วเช่น น้ำ เอทานอล และเฮกเซน ในการสกัดเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่ต่างกันตามการละลายในสารแต่ละชนิด โดยเรียงลำดับสารที่มีขั้วมากไปน้อยตามลำดับ ซึ่งสามารถสื่อถึงการปรุงอาหารได้ เช่น การคั้นน้ำ การดองเหล้า หรือการผัด เป็นต้น และเนื่องจากผักพื้นบ้านหลายชนิดนิยมรับประทานสุก ดังนั้นผู้วิจัยจึงทดสอบความสามารถในการทนร้อนของสารออกฤทธิ์ในสารสกัดดังกล่าวโดยเปรียบเทียบการสกัดที่อุณหภูมิห้องร่างกาย 37 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิสูง 90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้ผู้วิจัยคาดหวังว่าผลงานวิจัยดังกล่าวจะสามารถใช้เป็นแนวทางในการประกอบอาหารและรับประทานผักพื้นบ้านเพื่อใช้เป็นอาหารสุขภาพได้ในอนาคต

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างผักพื้นบ้าน

ผักพื้นบ้านดังแสดงในตารางที่ 1 ซื้อมาจากตลาดหนองมน ต. แสนสุข อ. เมือง จ. ชลบุรี โดยเลือกเก็บตัวอย่างมาศึกษาในช่วง 3 ฤดู ได้แก่ ฤดูหนาว (ธันวาคม – กุมภาพันธ์) ฤดูร้อน (มีนาคม – เมษายน) และฤดูฝน (มิถุนายน – กรกฎาคม) จากนั้นนำมาล้างด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร และตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนนำไปบดในไนโตรเจนเหลว โดยผงผักผื้นบ้านที่ได้ถูกนำไปเก็บที่ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ผักพื้นบ้านที่ใช้ในการศึกษา

ชื่อวิทยาศาสตร์	รูปผักพื้นบ้าน	ชื่อทั่วไป	ส่วนที่ใช้
Abelmoschus esculentus L. Moench.		Kajiab kheow	Fruit
Acacia pennata (L.) Willd.		Cha om	Leaves
Alium cepa Linn.		Hom hua yai	Clove
Allium tuberosum Rottler.		Kow choi	Leaves
Allium sativum L.		Kra tium	Clove

ชื่อวิทยาศาสตร์	รูปผักพื้นบ้าน	ชื่อทั่วไป	ส่วนที่ใช้
Alpinia galanga (L.) Willd.		Khaa	Rhizome
Apium graveolens Linn.		Khuen-chai	Leaves
Citrus hystrix DC.		Makrut lime	Leaves
Coccinia grandis (L.) Voigt.		Tum lung	Leaves
Cymbopogon citrates Stapf.		Ta khrai	Stem
Diplazium esculentum		Phak kuut	Leaves
Leucaena glauca Benth.		Kra thin	Leaves
Luffa acutangula		Buab	Fruit
Marsilea crenata C. Presl		Phak waen	Leaves

ชื่อวิทยาศาสตร์	รูปผักพื้นบ้าน	ชื่อทั่วไป	ส่วนที่ใช้
Melientha suavis Pierre.		Phak waan	Leaves
Mentha cordifolia Opiz ex Fresen		Saranae	Leaves
Momordica charantia Linn.		Ma ra kee nok	Fruit
Momordica charantia Linn. (Chinese)		Ma ra	Fruit
Musa paradisiaca L. var. sapientum O. Ktze., M. sapientum L.		Hua pli	Flowers
Nymphaea pubescens Willd.		Sai bua	Stem
Ocimum basilicum L.		Horapha	Leaves
Ocimum tenuiflorum L.		Kaphrao	Leaves
Pandanus amaryllifolius Roxb.		Bai toei	Leaves
Piper sarmentosum Roxb.		Chaphlu	Leaves

ชื่อวิทยาศาสตร์	รูปผักพื้นบ้าน	ชื่อทั่วไป	ส่วนที่ใช้
Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.		Thua phuu	Fruit
Sesbania grandiflora (L.) Desv.		Khae	Flowers
Salanum torvum SW.		Ma khuea phuang	Fruit
Telosma minor Craib		Kha chon	Flowers
Tiliacora triandra (Colebr.) Diels		Ya nang	Leaves
Zingiber officinale Roscoe.		Khing	Rhizome

2.1.2 การเตรียมสารสกัดหยาบ

การสกัดร่วมด้วยเฮกเซนและเอทานอล

ชั่งผงผักพื้นบ้าน 6 กรัม และนำมาสกัดร่วมด้วยเฮกเซนและเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 2:1 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2,700xg เป็นเวลา 10 นาที และกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว แยกชั้นเอทานอลและเฮกเซนด้วยกรวยแยก แล้วนำส่วนใสในแต่ละชั้นไประเหยแห้งโดยใช้โถดูดความชื้นและปั๊มสุญญากาศ จากนั้นละลายตะกอนที่ได้ด้วยไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide; DMSO) และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การสกัดด้วยน้ำ

ชั่งผงผักพื้นบ้าน 2 กรัม และนำมาสกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว นำส่วนใสที่กรองได้ไประเหยแห้งโดยใช้โถดูดความชื้นและปั๊มสุญญากาศ จากนั้นละลายตะกอนที่ได้ด้วยไดเมธิลซัลฟอกไซด์และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์

2.2.1 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

ทดสอบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนหมู (L3126, Sigma-Aldrich, USA) โดยใช้สารผสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย reagent A (ทริสไฮโดรคลอริก บัฟเฟอร์ pH 7.8 ปริมาตร 16.2 มิลลิลิตร เอนไซม์ไลเปส 10 มิลลิกรัม (50 U) โซเดียมดีออกซีโคเลต 72 มิลลิกรัม และ แคลเซียมคลอไรด์ 3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 800 ไมโครลิตร) ปริมาตร 940 ไมโครลิตร และตัวควบคุมเชิงบวก (ความเข้มข้น 0.9 2.7 หรือ 10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน (ความเข้มข้น 2.7 9.0 หรือ 30.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมพาราไนโตรฟีนิลพาร์มิเตท (*para*-nitrophenylpalmitate, p-NPP) เป็นสารตั้งต้นปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร บันทึกค่าที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วินาที โดยใช้ออริสแตท (Orlistat® (Tetrahydrolipstatin), Xenical, Switzerland) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ทดสอบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนหมู (A3176, Sigma-Aldrich, USA) โดยใช้สารผสมปริมาตร 10 มิลลิลิตร ประกอบด้วย โซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (20 มิลลิโมลาร์, pH 6.9) ปริมาตร 3.6 มิลลิลิตร ตัวควบคุมเชิงบวก (ความเข้มข้น 0.9 2.7 หรือ 10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน (ความเข้มข้น 2.7 9.0 หรือ 30.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร น้ำกลั่น ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตร และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาตร 400 ไมโครลิตร (0.4 U) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมน้ำแป้งความเข้มข้น 0.35 กรัม/ลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายผสมดังกล่าวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่เวลา 1, 3, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ และเติมสารละลายไอโอดีน 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยใช้อะคาร์โบส (Acarbose®; Glucobay, Indonesia) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.2.3 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน

ทดสอบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินจากตับอ่อนหมู (T7168, Sigma-Aldrich, USA) โดยใช้สารผสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 50 มิลลิโมลาร์ ทริสบัฟเฟอร์ pH 7.6 ปริมาตร 390 ไมโครลิตร สารละลายเอนไซม์ทริปซิน (เอนไซม์ทริปซิน 1 มิลลิกรัม (20 U) และแคลเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิกรัมละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และตัวควบคุมเชิงบวก (ความเข้มข้น 0.9 2.7 หรือ 10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน (ความเข้มข้น 2.7 9.0 หรือ 30.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมเอ็นเบนโซอิลอาร์จีนีนพาราไนโตรอะนีลีน (N-Benzoyl-D,L-Arginin-*p*-nitroaniline, BAPNA) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร บันทึกค่าที่เวลา 1, 2, 3 , 4, 5 และ 6 นาที โดยใช้ฟีนิลเมทิลซัลโฟนิลฟูลโอไรด์ (Phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF); AppliChem, Germany) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.2.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

ทดสอบการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากยีสต์ (Sigma-Aldrich, A7011, USA) โดยผสมตัวควบคุมเชิงบวก (ความเข้มข้น 0.9 2.7 หรือ 10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน (ความเข้มข้น 2.7 9.0 หรือ 30.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร สารละลายเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส 10 ไมโครลิตร (1.5 U) ในน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์และสารตั้งต้น (โซเดียมไพโรฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 20 มิลลิโมลาร์ pH 8.8 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร, β-NAD 3.75 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเอทานอล 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร บันทึกค่าที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วินาที โดยใช้กรดนิโคตินิค (Nicotinic acid; Gruppo montedison, Italy) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

2.3.1 การเตรียมจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการศึกษาคือ *Escherichia coli* DH5α ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีอันตรายและใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการชีวภาพ โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว LB (Lysogeny Broth) ซึ่งประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5% โซเดียมคลอไรด์ 0.5% และทริปโตน 1% กรัม ที่ pH 7.5 ในกรณีที่เป็นอาหารแข็งจะผสมวุ้น (Bacto Agar®) 1.5% และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.3.2 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

นำ *E. coli* ที่เก็บรักษาไว้โดยการแช่แข็งไว้มาเขี่ยลงในอาหารแข็ง LB และบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นต่อเชื้อลงในอาหารเหลว LB และเขย่าโดยเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว LB และเขย่าโดยเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้ *E. coli* อยู่ในสภาวะเพิ่มจำนวนทวีคูณ (log phase) แล้วถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ต่อลงในอาหารเหลว LB ที่เติมไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) 0.5% และเขย่าโดยเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้ *E. coli* ปรับสภาพเข้ากับอาหารที่มี DMSO อยู่

2.3.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* โดยสารสกัดจากผักพื้นบ้าน

ใช้มัลติแชลเนลปิเปตถ่ายเชื้อ *E. coli* ที่เจริญในอาหาร LB ที่เติม DMSO 0.5% ปริมาตร 195 ไมโครลิตร แล้วเติม DMSO สารละลายกรดแกลลิค หรือสารละลายยาปฏิชีวะนะแอมพิซิลลินที่ละลายใน DMSO ที่ความเข้มข้น 3, 10 หรือ 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม และสารสกัดเตยหอม สาระแหน่ ชะพูล มะกรูด ย่านาง กระชาย ข่า ผักกูด ดอกขจร ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล หรือน้ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หรือ 90 องศาเซลเซียส ที่ละลายใน DMSO ที่ความเข้มข้น 3, 10 หรือ 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นชุดทดสอบ ลงในถาดไมโครเพลทจำนวน 96 หลุม ตัวอย่างละ 5 ไมโครลิตร

จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านถาดไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ที่เวลา 30, 60, 90, 120 ,150, 180, 210และ 240 นาที ตามลำดับ

2.4 การคำนวณและวิธีทางสถิติ

2.4.1 การคำนวณร้อยละกิจกรรมเอนไซม์

กิจกรรมเอนไซม์คำนวณจากอัตราความเร็วในการเร่งปฏิกิริยาที่ได้จากค่าเฉลี่ยของความชันที่ได้จากข้อมูลอย่างน้อย 5 จุด บนเส้นกราฟระหว่างเวลาที่ใช้ในการทดลองกับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากสารตั้งต้นที่ลดลงหรือผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นได้ และเป็นเส้นตรงโดยมีค่า r^2 มากกว่า 0.95 โดยกำหนดให้ชุดควบคุมเชิงลบที่เติมไดเมธิลซัลฟอกไซด์มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 100% เป็นตัวเปรียบเทียบ ได้เป็นค่าร้อยละกิจกรรมเอนไซม์ (% activity) ดังสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละกิจกรรมเอนไซม์} = \frac{\text{อัตราความเร็วในการเร่งปฏิกิริยาของชุดควบคุม} - \text{อัตราความเร็วในการเร่งปฏิกิริยาของชุดทดสอบ}}{\text{อัตราความเร็วในการเร่งปฏิกิริยาของชุดควบคุม}} \times 100$$

2.4.2 การคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้

ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}: the half maximal inhibitory concentration) และ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 25 (IC_{25}: the quarter maximal inhibitory concentration) คำนวณได้โดยใช้ ED50 plus v.1 (Apostolidis et al., 2006) ซึ่งเป็นส่วนเพิ่มขยายใน Microsoft Excel

2.4.3 การคำนวณร้อยละอัตราการเจริญเติบโตของ *E. coli*

อัตราการเจริญเติบโตของ *E. coli* คำนวณจากค่าเฉลี่ยของความชันที่ได้จากข้อมูลอย่างน้อย 5 จุด บนเส้นกราฟระหว่างเวลาที่ใช้ในการทดลองกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และเป็นเส้นตรงโดยมีค่า r^2 มากกว่า 0.95 โดยกำหนดให้ชุดควบคุมเชิงลบที่เติม DMSO มีค่าอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 100% เป็นตัวเปรียบเทียบ ได้เป็นค่าร้อยละอัตราการเจริญเติบโต (% growth rate) ดังสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละอัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{อัตราการเจริญเติบโตของชุดควบคุม} - \text{อัตราการเจริญเติบโตของชุดทดสอบ}}{\text{อัตราการเจริญเติบโตของชุดควบคุม}} \times 100$$

2.4.4 การคำนวณค่าค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้

ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}: the half maximal growth inhibitory concentration) และ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ร้อยละ 25 (IC_{25}: the quarter maximal growth inhibitory concentration) คำนวณได้โดยใช้ ED50 plus v.1 (Apostolidis et al., 2006) ซึ่งเป็นส่วนเพิ่มขยายใน Microsoft Excel

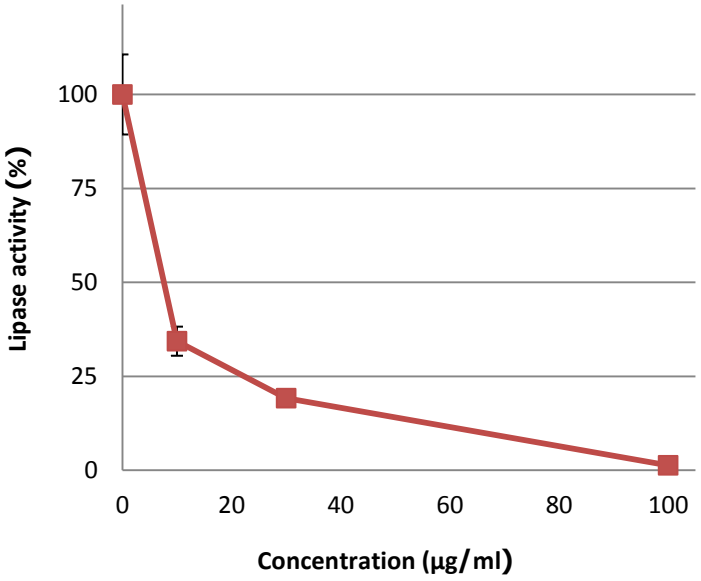
2.4.5 การวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติ

วิเคราะห์และเปรียบเทียบผลโดยโดยใช้โปรแกรม Minitab® ด้วยวิธี one-way ANOVA ร่วมกับการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) และวิเคราะห์สมการถดถอยโดยใช้ Microsoft Excel

3. ผลการวิจัย

3.1 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ผู้วิจัยใช้ Orlistat® ซึ่งเป็นยารักษาโรคอ้วนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยมีรายงานว่าค่าความเข้มข้นของ orlistat ที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ที่ 9.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Kaewpiboon et al., 2012) โดยในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบค่า IC_{50} ของ orlistat อยู่ที่ 6.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) โดยคำนวณได้จากภาพที่ 1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเปรียบเทียบได้กับงานวิจัยที่ได้ศึกษามาก่อนหน้านี้



ภาพที่ 1 Inhibitory effect of Orlistat® on pancreatic lipase activity (Bars = SD)

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 6 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส โดยสามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (<300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ สารสกัดหยาบจาก ใบชะอม ใบขี้นก่าย ใบมะกรูด ใบกะเพรา ใบเตย และใบย่านาง (ตารางที่ 2) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดเฮกเซนจากใบมะกรูดแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=253.6 และ 181.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) โดยมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในขณะที่สารสกัดเฮกเซนจากใบชะอมแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่พบฤทธิ์ดังกล่าวมากกว่าหนึ่งฤดูที่เก็บตัวอย่างมา (IC_{50}=286.3±11.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 Anti-lipase activities of crude extracts from Thai vegetables

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{50} (µg/ml)	
			Extract temperature (°C)	
			37	90
A. pennata	Cha om	Hexane	286.3±11.2	>300
A. graveolens	Khuen-chai	Hexane	283.4	>300
C. hystrix	Makrut lime	Hexane	253.6	181.1
O. tenuiflorum	Kaphrao	Hexane	265.8	>300
P.amaryllifolius	Bai toei	Hexane	>300	231.8
T. triandra	Ya nang	Hexane	264.9	>300
Positive control			**IC_{50} (µg/ml)**	
Orlistat			6.2	

Note: Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

เพื่อให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านชนิดอื่นซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 6 ชนิดข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้รอยละ 25 (IC_{25}) โดย orlistat มีค่า IC_{25} อยู่ที่ 4.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ ใบกุ้ยฉ่าย ใบตำลึง ใบกระถิน ใบสะระแหน่ ใบโหระพา ใบชะพลู ผลมะเขือพวง และเหง้าขิง มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้บางส่วน (ตารางที่ 3) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่ามีสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ไม่ได้สกัดด้วยเฮกเซน 2 ชนิดออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้บางส่วน ได้แก่ สารสกัดน้ำจากใบกุ้ยฉ่ายที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{25}=248.1±57.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดเอทานอลจากเหง้าขิงที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{25}=241.2±18.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 3

เมื่อวิเคราะห์ผลของฤดูกาลเก็บตัวอย่างต่อฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสโดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้รอยละ 25 (IC_{25}) พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่เก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้บ่อยกว่าช่วงฤดูกาลอื่น ยกเว้นสารสกัดจากใบขี้นฉ่ายที่ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูฝน และสารสกัดจากเหง้าข่าที่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสบางส่วนได้ในตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์เท่านั้น (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 10 ชนิด ไม่

พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส (IC_{25} > 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในทุกช่วงฤดูที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว หอมหัวใหญ่ กระเทียม ผักกูด บวบ ผักแว่น ผักหวาน สายบัว ถั่วพู และ ดอกแค

ตารางที่ 3 Anti-lipase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables

Thai vegetables	**Common name in Thai**	**Extract solvent**	**IC_{25} (µg/ml)**	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
A. pennata	Cha om	Hexane	155.7±31.3^{c}	206.6±1.0^{abc}
A. tuberosum	Kow choi	Water	248.1±57.3^{abc}	>300
C. grandis	Tum lung	Hexane	246.8±28.6^{ab}	240.4±37.9^{abc}
L. glauca	Kra thin	Hexane	212.0±18.6^{abc}	215.8±4.5^{abc}
M. cordifolia	Saranae	Hexane	>300	231.0±3.0^{abc}
O. basilicum	Horapha	Hexane	>300	272.3±12.6^{a}
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	175.3±26.9^{abc}	229.7±16.3^{abc}
S. torvum	Ma khuea phuang	Ethanol	>300	233.6±50.5^{abc}
T. triandra	Ya nang	Hexane	161.6±27.8^{bc}	207.7±47.0^{abc}
Z. officinale	Khing	Hexane	241.2±18.5^{abc}	>300
Positive control			**IC_{25} (µg/ml)**	
Orlistat			4.2	

Note: Different characters indicate statistically significant differences ($\rho < 0.05$).
Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

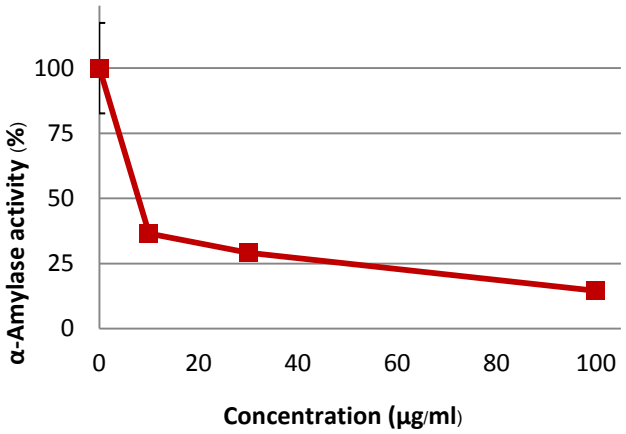
ตารางที่ 4 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on pancreatic lipase activities

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)					
			Jun - Jul		Mar - Apr		Dec - Feb	
			Extract temperature (°C)					
			37	90	37	90	37	90
A. pennata	Cha om	Water	229.7	>300	>300	>300	>300	>300
A. tuberosum	Kow choi	Hexane	>300	>300	>300	>300	>300	219.8
A. galanga	Khaa	Ethanol	>300	>300	>300	>300	195.5	>300
		Water	>300	>300	>300	>300	>300	203.1
A. graveolens	Khuen-chai	Hexane	>300	>300	141.1	>300	>300	256.9
C. grandis	Tum lung	Ethanol	>300	>300	297.3	>300	>300	>300
C. citrates	Ta khrai	Hexane	249.8	>300	>300	>300	>300	>300
		Ethanol	197.1	>300	>300	>300	>300	>300
L. glauca	Kra thin	Water	>300	211.3	>300	>300	>300	>300
M. charantia	Ma ra kee nok	Hexane	>300	229.6	>300	>300	>300	>300
M. charantia (Chinese)	Ma ra	Hexane	245.6	>300	>300	>300	>300	>300
M. paradisiaca	Hua pli	Hexane	>300	>300	>300	>300	219.6	>300
O. tenuiflorum	Kaphrao	Ethanol	244.5	>300	>300	>300	>300	>300
P. amaryllifolius	Bai toei	Ethanol	266.9	296.3	>300	>300	>300	>300
P. sarmentosum	Chaphlu	Ethanol	185.1	>300	>300	>300	>300	>300
		Water	281.4	218.8	>300	>300	>300	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	>300	>300	>300	>300	157.2	>300
		Water	263.2	>300	>300	>300	>300	>300
T. minor	Kha chon	Hexane	>300	234.7	>300	>300	>300	>300
		Ethanol	270.3	>300	>300	>300	>300	>300
		Water	>300	267.0	>300	>300	>300	>300
T. triandra	Ya nang	Water	187.5	>300	>300	>300	>300	>300
Z. officinale	Khing	Water	258.2	>300	>300	>300	>300	>300

3.2 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส ผู้วิจัยใช้ Acarbose® ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวานที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยมีรายงานว่าค่าความเข้มข้นของ acarbose ที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ที่ 14.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Chakrabarti et al., 2014) โดยในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบค่า IC_{50} ของ acarbose อยู่ที่ 6.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 5) โดยคำนวณได้จากภาพที่ 2 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเปรียบเทียบได้กับงานวิจัยที่ได้ศึกษามาก่อนหน้านี้

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 8 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยสามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (<300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ สารสกัดหยาบจาก ใบชะอม ใบกุ้ยฉ่าย ใบตำลึง ใบกระถิน ใบสะระแหน่ ใบเตย ใบย่านาง และเหง้าขิง (ตารางที่ 5) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดเฮกเซนจากใบชะอมแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=264.8±44.4 และ 238.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) โดยมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในขณะที่สารสกัดเฮกเซนจากใบเตยแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่พบฤทธิ์ดังกล่าวมากกว่าหนึ่งฤดูที่เก็บตัวอย่างมา (IC_{50}=232.5±3.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เช่นเดียวกับสารสกัดเฮกเซนจากใบชะอม ซึ่งให้ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสไม่ต่างกันเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 5



ภาพที่ 2 Inhibitory effect of Acarbose® on pancreatic α-amylase activity

ตารางที่ 5 Anti-alpha-amylase activities of crude extract from Thai vegetables

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{50} (µg/ml)	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
A. pennata	Cha om	Hexane	264.8±44.4[a]	238.8
A. tuberosum	Kow choi	Hexane	>300	296.9
C. grandis	Tum lung	Hexane	256.7	>300
L. glauca	Kra thin	Hexane	297.0	>300
M. cordifolia	Saranae	Hexane	267.1	>300
P.amaryllifolius	Bai toei	Hexane	232.5±3.6[a]	>300
T. triandra	Ya nang	Hexane	253.5	>300
Z. officinale	Khing	Hexane	>300	252.0
Positive control			**IC_{50} (µg/ml)**	
Acarbose			6.5	

Note: Different characters indicate statistically significant differences ($p< 0.05$).
Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

เพื่อให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านชนิดอื่นซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 8 ชนิดข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้รอยละ 25 (IC_{25}) โดย acarbose มีค่า IC_{25} อยู่ที่ 3.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ หัวกระเทียม ใบขึ้นฉ่าย ใบมะกรูด ผลมะระขี้นก ใบกะเพรา ใบชะพลู และผลมะเขือพวง มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้บางส่วน (ตารางที่ 5) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่ามีสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ไม่ได้สกัดด้วยเฮกเซน 6 ชนิดออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้บางส่วน ได้แก่ สารสกัดน้ำจากใบย่านางที่สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{25}= 240.6±21.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สารสกัดเอทานอลจากหัวกระเทียมที่สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{25}=215.5±33.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สารสกัดเอทานอลจากผลมะเขือพวงที่สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{25}=176.4±11.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สารสกัดเอทานอลจากใบกระถินที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{25}=188.3±22.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สารสกัดเอทานอลจากใบย่านางที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{25}=269.3±12.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดเอทานอลจากใบชะอมที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=144.7±30.6 และ 209.8±31.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 Anti alpha-amylase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)	
			Extract temperature (°C)	
			37	90
A. pennata	Cha om	Ethanol	144.7±30.6[a]	209.8±31.3[a]
A. sativum	Kra tium	Ethanol	>300	215.5±33.5[a]
A. graveolens	Khuen-chai	Hexane	>300	252.8±55.3[a]
C. grandis	Tum lung	Hexane	116.7[a]	212.3±54.5[a]
C. hystrix	Makrut lime	Hexane	266.3±51.0[a]	>300
L. glauca	Kra thin	Hexane	170.4[a]	227.0±18.3[a]
		Ethanol	188.3±22.1[a]	>300
M. cordifolia	Saranae	Hexane	191.5[a]	194.0±47.6[a]
M. charantia	Ma ra kee nok	Hexane	232.1±31.6[a]	>300
O. tenuiflorum	Kaphrao	Hexane	>300	220.1±81.3[a]
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	193.6±14.8[a]	252.0±58.3[a]
S. torvum	Ma khuea phuang	Ethanol	>300	176.4±11.4[a]
T. triandra	Ya nang	Hexane	157.7[a]	223.0±19.4[a]
		Ethanol	269.3±12.9[a]	>300
		Water	>300	240.6±21.6[a]

Positive control	IC_{25} (µg/ml)
Acarbose	3.0

Note: Different characters indicate statistically significant differences ($p< 0.05$).
Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

เมื่อวิเคราะห์ผลของฤดูกาลเก็บตัวอย่างต่อฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ร้อยละ 25 (IC_{25}) พบว่าสารสกัดจากใบโหระพาและดอกขจรพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม และสารสกัดจากผลกระเจี๊ยบเขียวพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ ในขณะที่สารสกัดจากเหง้าข่าที่เก็บตัวอย่างในช่วงฤดูหนาวและฤดูร้อนระหว่างเดือนธันวาคมถึงเมษายนพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบางส่วน (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 9 ชนิด ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (IC_{25} > 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในทุกช่วงฤดูที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ผักกูด บวบ มะระ ผักแว่น ผักหวาน หัวปลี สายบัว ถั่วพู และดอกแค

ตารางที่ 7 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on pancreatic alpha-amylase activities

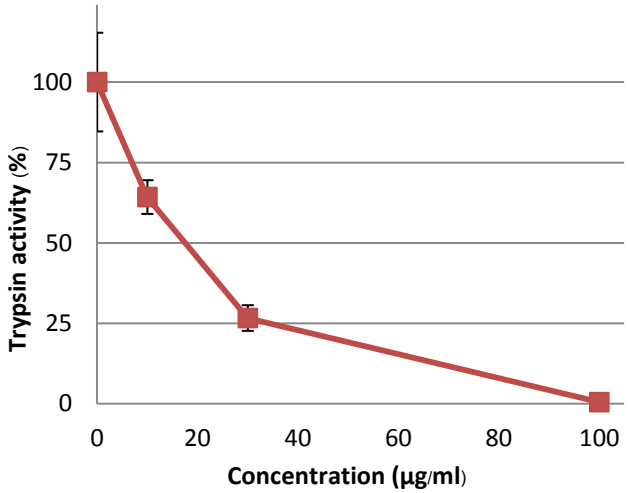
Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)					
			Jun - Jul		Mar - Apr		Dec - Feb	
			Extract temperature (°C)					
			37	90	37	90	37	90
A. esculentus	Kajiab kheow	Hexane	>300	>300	>300	>300	260.0	>300
		Ethanol	>300	>300	>300	>300	192.0	>300
A. cepa	Hom hua yai	Ethanol	223.6	>300	>300	>300	>300	>300
A. tuberosum	Kow choi	Ethanol	>300	157.9	228.7	>300	>300	>300
		Water	>300	149.7	>300	>300	>300	>300
A. sativum	Kra tium	Hexane	>300	>300	>300	>300	147.4	>300
		Ethanol	>300	>300	>300	>300	251.8	>300
A. galanga	Khaa	Hexane	>300	>300	>300	285.3	>300	>300
		Ethanol	>300	>300	>300	>300	273.9	>300
A. graveolens	Khuen-chai	Hexane	>300	>300	>300	263.8	256.6	241.8
C. grandis	Tum lung	Ethanol	149.9	253.2	>300	>300	>300	>300
		Water	183.7	>300	>300	>300	>300	>300
C. hystrix	Makrut lime	Ethanol	188.7	>300	>300	>300	>300	>300
C. citrates	Ta khrai	Ethanol	>300	>300	255.0	>300	>300	>300
L. glauca	Kra thin	Water	>300	>300	204.6	>300	>300	>300
M. cordifolia	Saranae	Ethanol	199.6	>300	>300	>300	>300	>300
M. charantia	Ma ra kee nok	Ethanol	261.7	259.5	>300	>300	>300	>300
		Water	256.8	>300	>300	>300	>300	>300
M. paradisiaca	Hua pli	Hexane	>300	>300	>300	>300	298.2	>300
O. basilicum	Horapha	Hexane	271.3	>300	>300	>300	>300	230.7
		Water	>300	233.9	>300	>300	>300	>300
P. amaryllifolius	Bai toei	Hexane	117.4	>300	192.7	>300	96.2	175.1
		Ethanol	137.6	>300	>300	>300	>300	>300
		Water	212.9	>300	>300	>300	>300	>300
P. sarmentosum	Chaphlu	Ethanol	>300	>300	286.1	291.6	>300	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	>300	160.1	>300	>300	>300	>300
		Water	>300	191.1	>300	>300	>300	>300

ตารางที่ 7 (Continued)

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)					
			Jun - Jul		Mar - Apr		Dec - Feb	
			Extract temperature (°C)					
			37	90	37	90	37	90
T. minor	Kha chon	Hexane	>300	208.5	>300	>300	>300	>300
		Ethanol	199.5	>300	>300	>300	>300	>300
Z. officinale	Khing	Water	>300	>300	>300	>300	196.6	>300

3.3 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินจากตับอ่อนของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ผู้วิจัยใช้ PMSF ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในกลุ่มซีรีนโปรตีเอส (Turini et al., 1969) ซึ่งนิยมใช้ในกระบวนการแยกและทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ เป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยผู้วิจัยพบค่า IC_{50} ของ PMSF อยู่ที่ 15.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 8) โดยคำนวณได้จากภาพที่ 3 อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินโดยเฉพาะเพื่อหาค่า IC_{50} ดังนั้นผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินนี้จึงยังไม่อาจเทียบกับงานวิจัยอื่นได้โดยตรง



ภาพที่ 3 Inhibitory effect of phenylmethylsulfonyl fluoride on pancreatic trypsin activity

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 6 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมทริปซินโดยสามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (<300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ สารสกัดหยาบจาก หัวกระเทียม เหง้าข่า ใบสะระแหน่ ใบชะพลู และผลมะเขือพวง (ตารางที่ 8) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดเฮกเซนจากเหง้าข่าแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=220.7 และ 281.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) โดยมีฤทธิ์ลดลงเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในขณะที่สารสกัดเฮกเซนจากหัวกระเทียมแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่พบฤทธิ์ดังกล่าวมากกว่าหนึ่งฤดูที่เก็บตัวอย่างมา (IC_{50}=278.8±15.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นอกจากนี้สารสกัดเฮกเซนและสารสกัดน้ำจากผลมะเขือพวงให้ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{50}=262.8 และ 286.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 8

เพื่อให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านชนิดอื่นซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 6 ชนิดข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้รอยละ 25 (IC_{25}) โดย PMSF มีค่า IC_{25} อยู่ที่ 6.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ ใบชะพลูและเหง้าขิง มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้บางส่วน (ตารางที่ 9) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่ามีสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ไม่ได้สกัดด้วยเฮกเซน 2 ชนิดออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้บางส่วน ได้แก่ สารสกัดเอทานอลจากหัวกระเทียมที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{25}= 210.2±51.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดเอทานอลจากเหง้าข่าที่สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{25}=176.9±29.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยสารสกัดเฮกเซนจากเหง้าขิงแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้บางส่วนเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=183.8±17.2 และ 254.3±25.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 Anti-trypsin activities of crude extract from Thai vegetables

Thai vegetables	**Common name in Thai**	**Extract solvent**	**IC_{50} (µg/ml)**	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
A. sativum	Kra tium	Hexane	278.8±15.6	>300
A. galanga	Khaa	Hexane	220.7	281.8
M. cordifolia	Saranae	Hexane	279.3	>300
P. sarmentosum	Chaphlu	Water	286.6	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	262.8	>300
		Water	286.6	>300
Positive control			**IC_{50} (µg/ml)**	
PMSF			15.0	

Note: Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

ตารางที่ 9 Anti-trypsin activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables

Thai vegetables	**Common name in Thai**	**Extract solvent**	**IC_{25} (µg/ml)**	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
A. sativum	Kra tium	Ethanol	210.2±51.8[a]	>300
A. galanga	Khaa	Ethanol	>300	176.9±29.4[a]
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	>300	236.9±87.0[a]
Z. officinale	Khing	Hexane	183.8±17.2[a]	254.3±25.4[a]
Positive control			**IC_{25} (µg/ml)**	
PMSF			6.0	

Note: Different characters indicate statistically significant differences ($\rho < 0.05$).
Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

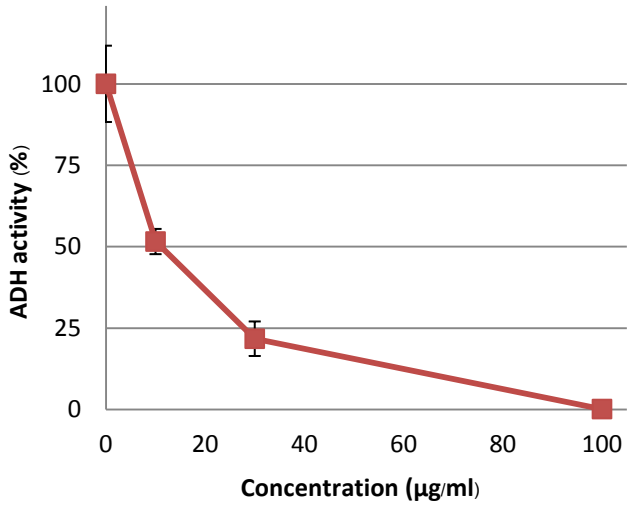
เมื่อวิเคราะห์ผลของฤดูกาลเก็บตัวอย่างต่อฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินโดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ร้อยละ 25 (IC_{25}) พบว่าสารสกัดจากใบกะเพราและดอกขจรพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม และสารสกัดจากใบมะกรูดพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูร้อนเดือนมีนาคมถึงเมษายน และสารสกัดจากใบโหระพาและใบย่านางพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ ในขณะที่สารสกัดจากใบขึ้นฉ่ายที่เก็บตัวอย่างในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนระหว่างเดือนมีนาคมถึงกรกฎาคมพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินบางส่วน (ตารางที่ 10) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 16 ชนิด ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน (IC_{25} > 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในทุกช่วงฤดูที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว ชะอม หอมหัวใหญ่ ตะไคร้ ผักกูด กระถิน บวบ ผักแว่น หัวปลี ผักหวาน มะระขี้นก มะระสายบัว ใบเตย ถั่วพู และดอกแค

ตารางที่ 10 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on pancreatic trypsin activities

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)					
			Jun - Jul		Mar - Apr		Dec - Feb	
			Extract temperature (°C)					
			37	90	37	90	37	90
A. tuberosum	Kow choi	Water	>300	>300	198.8	>300	>300	>300
		Hexane	137.0	187.3	133.4	>300	>300	>300
A. sativum	Kra tium	Ethanol	246.8	213.5	173.6	>300	>300	>300
		Water	>300	227.1	230.0	>300	>300	>300
A. galanga	Khaa	Hexane	97.8	>300	139.9	143.0	>300	>300
		Water	>300	>300	>300	164.2	>300	>300
A. graveolens	Khuen-chai	Hexane	>300	276.7	>300	>300	>300	>300
		Water	>300	>300	288.3	291.5	>300	>300
C. grandis	Tum lung	Ethanol	>300	>300	>300	>300	>300	271.0
C. hystrix	Makrut lime	Hexane	>300	>300	>300	278.7	>300	>300
		Ethanol	>300	>300	>300	257.1	>300	>300
M. cordifolia	Saranae	Water	228.3	>300	>300	>300	>300	>300
O. basilicum	Horapha	Hexane	>300	>300	>300	>300	259.3	>300
		Water	>300	>300	>300	>300	235.6	>300
O. tenuiflorum	Kaphrao	Hexane	272.5	>300	>300	>300	>300	>300
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	166.4	163.1	>300	286.1	>300	261.6
		Ethanol	>300	186.3	>300	>300	>300	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	141.4	177.4	>300	>300	>300	>300
T. minor	Kha chon	Hexane	>300	161.2	>300	>300	>300	>300
		Ethanol	>300	207.8	>300	>300	>300	>300
T. triandra	Ya nang	Hexane	>300	>300	>300	>300	>300	234.4
		Water	>300	>300	>300	>300	247.2	>300
Z. officinale	Khing	Ethanol	>300	266.1	196.6	>300	>300	>300

3.4 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากยีสต์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ผู้วิจัยใช้ nicotinic acid หรือ Niacin ซึ่งเป็นวิตามินบี 3 แต่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ (Baker et al., 1973) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยผู้วิจัยพบค่า IC_{50} ของ nicotinic acid อยู่ที่ 9.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 11) โดยคำนวณได้จากภาพที่ 4 อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสโดยเฉพาะเพื่อหาค่า IC_{50} ดังนั้นผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสนี้จึงยังไม่อาจเทียบกับงานวิจัยอื่นได้โดยตรง



ภาพที่ 4 Inhibitory effect of nicotinic acid on yeast alcohol dehydrogenase (ADH) activity (Bars = SD)

จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส โดยสามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (<300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ สารสกัดหยาบจาก เหง้าข่า ใบขี้นฉ่าย และเหง้าขิง (ตารางที่ 11) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดเฮกเซนและสารสกัดเอทานอลจากเหง้าข่าแสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{50}=259.5±30.3 และ 280.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) โดยพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในสารสกัดเฮกเซนจากเหง้าข่าได้มากกว่าหนึ่งฤดูที่เก็บตัวอย่างมา นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดีในสารสกัดเอทานอลจากเหง้าขิงที่สกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (IC_{50}=287.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดน้ำจากใบขี้นฉ่ายที่สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{50}=292.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 Anti alcohol dehydrogenase activities of crude extract from Thai vegetables

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{50} (µg/ml)	
			Extract temperature (°C)	
			37	90
A. galanga	Khaa	Hexane	259.5±30.3	>300
		Ethanol	280.1	>300
A. graveolens	Khuen-chai	Water	>300	292.8
Z. officinale	Khing	Ethanol	287.3	>300
Positive control			**IC_{50} (µg/ml)**	
Nicotinic acid			9.8	

Note: Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

ตารางที่ 12 Anti alcohol dehydrogenase activities as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from Thai vegetables

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)	
			Extract temperature (°C)	
			37	90
A. tuberosum	Kow choi	Hexane	>300	257.8±8.7[a]
A. galanga	Khaa	Ethanol	211.5±101.7[a]	252.3±1.4[a]
C. hystrix	Makrut lime	Hexane	247.9±17.4[a]	>300
O. tenuiflorum	Kaphrao	Hexane	261.5±43.8[a]	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	225.5±87.5[a]	>300
Z. officinale	Khing	Hexane	251.8±24.1[a]	>300
Positive control			**IC_{25} (µg/ml)**	
Nicotinic acid			4.7	

Note: Different characters indicate statistically significant differences ($p< 0.05$).
Mean ± SD denotes an average of IC_{50} obtained from different seasons.

เพื่อให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านชนิดอื่นซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 4 ชนิดข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้รอยละ 25 (IC_{25}) โดย nicotinic acid มีค่า IC_{25} อยู่ที่ 4.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ ใบกุ้ยฉ่าย ใบมะกรูด ใบกะเพรา และผลมะเขือพวง มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้บางส่วน (ตารางที่ 12) ทั้งนี้ผู้วิจัยพบว่านอกเหนือจากสารสกัดเอทานอลจากเหง้าข่าออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สารสกัดเอทานอลจากเหง้าข่ายังออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์

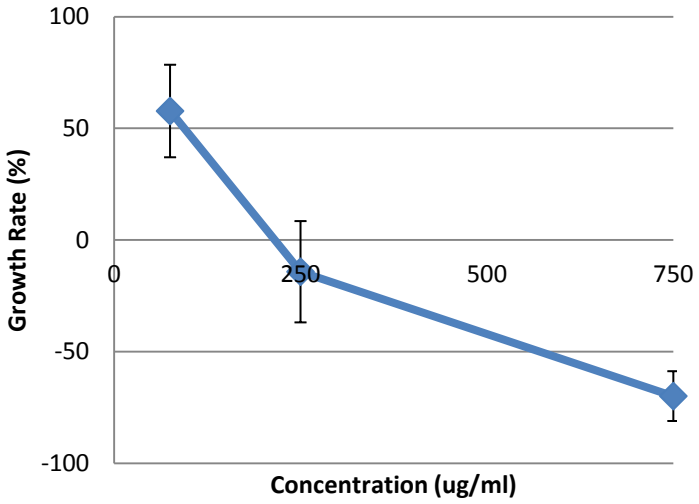
แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้บางส่วนเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (IC_{25}=252.3±1.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 12

เมื่อวิเคราะห์ผลของฤดูกาลเก็บตัวอย่างต่อฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส โดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ร้อยละ 25 (IC_{25}) พบว่าสารสกัดจากสะระแหน่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ โดยพบฤทธิ์ได้ในทุกตัวสกัด นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากหัวกระเทียมจะพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนระหว่างเดือนมีนาคมถึงกรกฎาคม และสารสกัดหยาบจากใบตำลึงจะพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสบางส่วนเมื่อเก็บตัวอย่างมาในช่วงฤดูและฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกุมภาพันธ์ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบมะกรูด ผักกูด ผักแว่น โหระพา และดอกขจร พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสบางส่วนเพียงฤดูเดียว (ตารางที่ 13) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้าน 14 ชนิด ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (IC_{25} > 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในทุกช่วงฤดูที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว ชะอม หอมหัวใหญ่ กระถิน บวบ มะระ หัวปลี ผักหวาน สายบัว ใบเตย ชะพลู ถั่วพู ดอกแค และย่านาง

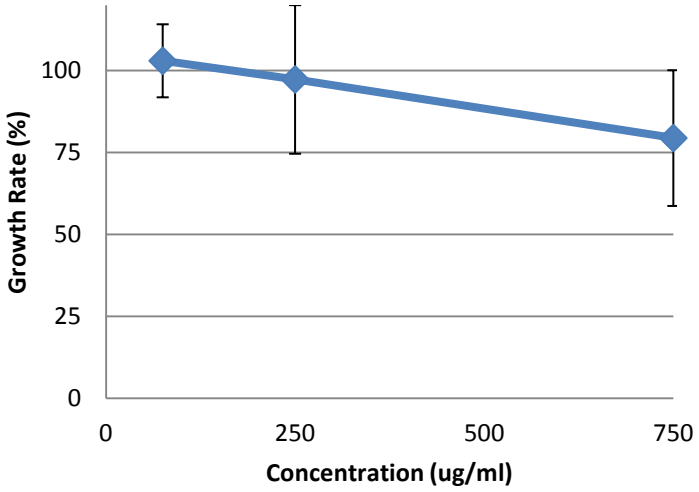
ตารางที่ 13 Comparison of seasonal inhibitory effect of selected crude Thai vegetable extracts on alcohol dehydrogenase activities

Thai vegetables	Common name in Thai	Extract solvent	IC_{25} (µg/ml)					
			Jun - Jul		Mar - Apr		Dec - Feb	
			Extract temperature (°C)					
			37	90	37	90	37	90
A. tuberosum	Kow choi	Hexane	>300	254.1	224.4	267.7	>300	251.6
A. sativum	Kra tium	Hexane	>300	>300	>300	288.8	>300	>300
		Water	201.7	>300	>300	>300	>300	>300
A. galanga	Khaa	Hexane	136.9	>300	201.6	>300	99.3	155.6
A. graveolens	Khuen-chai	Water	206.0	>300	>300	>300	>300	151.9
C. grandis	Tum lung	Ethanol	>300	>300	>300	>300	>300	>300
		Water	>300	>300	>300	291.0	>300	282.3
C. hystrix	Makrut lime	Ethanol	244.0	>300	>300	>300	>300	>300
C. citrates	Ta khrai	Water	158.3	>300	>300	>300	>300	>300
D.esculentum	Phak kuut	Ethanol	>300	>300	>300	>300	225.8	>300
M.crenata	Phak waen	Water	>300	>300	>300	>300	239.3	>300
M. cordifolia	Saranae	Hexane	>300	>300	>300	>300	158.8	>300
		Ethanol	>300	>300	>300	>300	211.6	>300
		Water	>300	>300	>300	>300	189.5	299.7
M. charantia	Ma ra kee nok	Ethanol	262.4	>300	>300	>300	>300	>300
O. basilicum	Horapha	Ethanol	210.1	>300	>300	>300	>300	>300
S. torvum	Ma khuea phuang	Hexane	>300	>300	287.4	261.1	163.6	>300
		Ethanol	241.9	>300	>300	>300	>300	>300
T. minor	Kha chon	Hexane	>300	>300	>300	>300	263.1	>300
		Water	257.2	>300	>300	274.5	>300	>300
Z. officinale	Khing	Hexane	268.8	208.1	234.7	>300	>300	>300
		Ethanol	146.0	>300	258.8	276.3	>300	>300
		Water	>300	170.4	>300	>300	>300	>300

3.5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* โดยสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน



ภาพที่ 5 Inhibitory effect of ampicillin on the growth rate of *E. coli* (Bars = SEM)



ภาพที่ 6 Inhibitory effect of gallic acid on the growth rate of *E. coli* (Bars = SEM)

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ผู้วิจัยใช้ยาปฏิชีวนะ ampicillin เป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยมีรายงานว่าค่าความเข้มข้นของ ampicillin ที่ยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ที่ 10.44 ไมโครโมลาร์ หรือ 3.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Osei et al., 2018) โดยในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบค่า IC_{50} ของ ampicillin อยู่ที่ 104 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 14) ซึ่งคำนวณได้จากภาพที่ 5 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันประมาณ 25 เท่า แสดงให้เห็นว่า ampicillin ที่ใช้เสื่อมประสิทธิภาพลงไปบางส่วนแต่ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ดี นอกจากนี้ผู้วิจัยใช้ gallic acid ซึ่งเป็นตัวแทนของสารประกอบฟีนอลที่พบได้ในผักพื้นบ้านที่นำมาสกัด และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้บางส่วน

โดยพบว่า gallic acid มีค่า IC_{50} มากกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ (>750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่สามารถหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้รอยละ 25 (IC_{25}) อยู่ที่ 742 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสามารถเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* (MIC) ที่ 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Borges et al., 2013) ซึ่งใกล้เคียงกับค่า IC_{50} โดยประมาณของ gallic acid จากภาพที่ 6 แสดงให้เห็นว่าผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเปรียบเทียบได้กับงานวิจัยที่ได้ศึกษามาก่อนหน้านี้

ตารางที่ 14 Antimicrobial potency of crude extract from Thai vegetables against *E. coli*

Thai vegetables	**Common name in Thai**	**Extract solvent**	**IC_{50} (µg/ml)**	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
A. galanga	Khaa	Hexane	>750	625
		Ethanol	642	>750
		Water	637	>750
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	>750	640
T. triandra	Ya nang	Hexane	712	623
		Ethanol	>750	445
Positive control			**IC_{50} (µg/ml)**	
Ampicillin			104	

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่ยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าข่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ดี โดยพบฤทธิ์ยับยั้งในทุกตัวทำละลายที่ใช้สะกัด และมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 625 - 642 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากใบชะพลูที่สกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ใกล้เคียงกันโดยมีค่า IC_{50} ที่ 640 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบย่านางที่สกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} ที่ 445 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 14)

เพื่อให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านชนิดอื่นซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* น้อยกว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 3 ชนิดข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ร้อยละ 25 (IC_{25}) โดย gallic acid มีค่า IC_{25} อยู่ที่ 742 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ เตย สะระแหน่ มะกรูด ผักกูด ดอกขจร และกระชายมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้บางส่วน (ตารางที่ 15) นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากใบ

ย่านางด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สารสกัดหยาบจากข่าด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และสารสกัดหยาบจากข่าด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า IC_{25} น้อยกว่า 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 15) ซึ่งสอดคล้องกับค่า IC_{50} ในตารางที่ 14 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 15 Antimicrobial potency as demonstrated by IC_{25} values of crude extracts from selected Thai vegetables against *E. coli*

Thai vegetables	**Common name in Thai**	**Extract solvent**	**IC_{25} (µg/ml)**	
			Extract temperature (°C)	
			37	**90**
P.amaryllifolius	Bai toei	Hexane	659	>750
		Ethanol	666	>750
		Water	695	>750
M. cordifolia	Saranae	Hexane	614	>750
		Water	>750	596
P. sarmentosum	Chaphlu	Hexane	530	501
		Ethanol	688	>750
		Water	605	650
C. hystrix	Makrut lime	Hexane	>750	675
T. triandra	Ya nang	Hexane	578	470
		Ethanol	>750	<75
		Water	>750	386
A. galanga	Khaa	Hexane	359	<75
		Ethanol	107	291
		Water	<75	349
D. esculentum	Phak kuut	Hexane	597	>750
T. minor	Kha chon	Hexane	695	>750
		Ethanol	570	714
*Boesenbergia rotunda**	Krachai	Hexane	597	>750

Positive control	**IC_{25} (µg/ml)**
Ampicillin	<75
Gallic acid	742

Note: *B. rotunda* extracts were not subject to enzymatic inhibition test.

4. อภิปรายผลการวิจัย

4.1 การสกัดร่วมด้วยเอทานอลและเฮกเซน

ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต้องคำนึงถึงสภาพขั้วของสารที่ต้องการสกัดเป็นหลัก ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่มีสภาพขั้วแตกต่างกันได้แก่ น้ำ เอทานอล และเฮกเซน ซึ่งมีความมีขั้วสัมพัทธ์ (relative polarity) 1.000 0.654 และ 0.009 ตามลำดับ เมื่อทำการแยกสกัดผงผักพื้นบ้านด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดพบว่าเฮกเซนสกัดสารสกัดออกมาได้น้อย อันเนื่องมาจากความไม่มีขั้วของเฮกเซน กอรปกับเซลล์พืชประกอบด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่จึงส่งผลให้เฮกเซนไม่สามารถเข้าไปทำละลายสารภายในเซลล์ได้ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวผู้วิจัยจึงพัฒนาเทคนิคการสกัดร่วมโดยใช้เอทานอลผสมเฮกเซนในอัตราส่วน 1:2 ส่งผลให้ได้สารสกัดหยาบที่ละลายอยู่ในชั้นเฮกเซนออกมาในปริมาณมาก เนื่องจากเฮกเซนและเอทานอลสลับกันทำหน้าที่ในการผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และไซโตซอลเพื่อละลายสารภายในเซลล์และสกัดออกมา โดยเมื่อนำมาแยกชั้นจะได้สารในกลุ่มที่ไม่มีขั้วละลายอยู่ในชั้นเฮกเซนและสารที่มีขั้วละลายอยู่ในชั้นเอทานอล ตามลำดับ นอกจากนี้ปัญหาที่ผู้วิจัยพบอีกส่วนหนึ่งคือในการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ใช้สูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด (68.7 และ 78.3 องศาเซลเซียส ตามลำดับ) ดังนั้นในการสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยการให้ความร้อนผ่านทางน้ำพร้อมกับการเขย่า จึงใช้เวลา 1 นาที และเมื่อเสร็จสิ้นการสกัดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลและเฮกเซน จะอยู่ที่ประมาณ 1:1

4.2 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการย่อยไขมันในระบบทางเดินอาหาร (Birari & Bhutani, 2007) จากผลการศึกษาสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 30 ชนิด พบผักพื้นบ้าน 6 ชนิดเท่านั้นที่สารสกัดหยาบมีคุณสมบัติในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้ดี โดยสารสกัดหยาบดังกล่าวมีฤทธิ์น้อยกว่า Orlistat® ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ (tetrahydrolipstatin) อยู่ประมาณ 40 - 50 เท่า เมื่อเปรียบเทียบจากค่า IC50 โดยผักพื้นบ้านที่น่าสนใจในการพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในการลดน้ำหนักซึ่งมีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสท ได้แก่ ใบมะกรูด ใบเตยและใบชะอม เนื่องจากสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในใบมะกรูดและใบเตยทนต่ออุณหภูมิสูงหรือสามารถสกัดออกมาได้มากขึ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่การศึกษาสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในใบชะอมให้ผลที่น่าเชื่อถือที่สุด เนื่องจากสามารถทำซ้ำได้เมื่อพิจารณาการเก็บตัวอย่างที่มาจากหลายฤดูการผลิต ถึงแม้ว่าอุณหภูมิสูงจะส่งผลลบต่อฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

ของสารออกฤทธิ์ในใบชะอม (ตารางที่ 2 และ 3) ในขณะที่อุณหภูมิสูงส่งผลต่อต่อสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในใบย่านางคล้ายที่พบในใบชะอม กล่าวคือส่งผลลบต่อฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส อย่างไรก็ตามฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในสารสกัดจากใบย่านางมีน้อยกว่าที่พบในสารสะกัดจากใบชะอม นอกจากนี้ใบกุ้ยฉ่ายและผลมะเขือพวงเป็นผักพื้นบ้านเพียง 2 ชนิดที่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสบางส่วนในสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำตามลำดับ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผักพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดนี้ เป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วและอาจเหมาะสมในการศึกษาพัฒนาแยกสารบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการผลิตยาควบคุมน้ำหนักชนิดใหม่ต่อไป

4.3 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแป้งและไกลโคเจนเป็นกลูโคสและมอลโตสในระบบทางเดินอาหาร (Nair et al., 2013) โดยการรับประทานแป้งมากเกินความต้องการของร่างกายเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคอ้วนและโรคเบาหวาน ดังนั้นจึงมีการพัฒนายารักษาโรคเบาหวานขึ้นเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยยับยั้งกิจกรรมการย่อยแป้งของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ Acarbose® ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายโมเลกุลของโพลีแซคคาไรด์จึงยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสแบบแข่งขัน (Rosak & Mertes, 2012) จากผลการศึกษาพบว่าผักพื้นบ้าน 8 ชนิด มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีโดยมีค่า IC_{50} สูงกว่า Acarbose® ประมาณ 40 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่น้อยกว่า และมีผักพื้นบ้าน 11 ชนิดที่น่าสนใจในการพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในการควบคุมการปลดปล่อยน้ำตาลจากการย่อยแป้ง ได้แก่ ใบชะอม ใบเตย ใบกุ้ยฉ่าย เหง้าขิง ใบตำลึง ใบมะกรูด ใบกระถิน ใบสะระแหน่ ใบชะพลู ผลมะเขือพวง และใบย่านาง โดยในใบชะอมและใบเตยนั้นมีสารออกออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วและพบได้ในตัวอย่างที่เก็บมามากกว่าหนึ่งฤดู แต่สารออกฤทธิ์ในใบชะอมทนอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าสารออกฤทธิ์ในใบเตย (ตารางที่ 5 และ 6) ส่วนใบกุ้ยฉ่ายและเหง้าขิงนั้นมีสารออกออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วซึ่งทนอุณหภูมิสูง (ตารางที่ 5) และใบตำลึง ใบมะกรูด ใบกระถิน ใบสะระแหน่ ใบชะพลู และผลมะเขือพวง มีสารออกออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้บางส่วนที่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วโดยพบฤทธิ์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 6) และมีฤทธิ์น้อยกว่า Acarbose® ประมาณ 30 - 75 เท่า นอกจากนี้ใบชะอม หัวกระเทียม ใบกระถิน ผลมะเขือพวง

และใบย่านางเป็นผักพื้นบ้านที่พบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสบางส่วนในสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล โดยใบย่านางนั้นยังพบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสบางส่วนในสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำด้วย (ตารางที่ 6) แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผักพื้นบ้านทั้ง 5 ชนิดนี้ เป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วและอาจเหมาะสมในการศึกษาพัฒนาแยกสารบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการผลิตยาควบคุมน้ำหนักชนิดใหม่ต่อไป โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์ในใบย่านางซึ่งละลายในน้ำได้ดีและทนอุณหภูมิสูง (ตารางที่ 6) ซึ่งเหมาะสมในการนำมาผลิตเครื่องดื่มสมุนไพร

4.4 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน

ในการศึกษานี้ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินถูกนำมาใช้ในการบ่งชี้ถึงความจำเพาะเจาะจงของฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลส เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในกลุ่มโปรตีเอสจะส่งผลข้างเคียงในการย่อยโปรตีน และการดูดซึมกรดอะมิโนซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของร่างกาย โดยเอนไซม์ทริปซินจะตัดพันธะเพปไทด์ทางด้านปลายคาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโนที่มีประจุบวก เช่น ไลซีนและอาร์จินีน โดยปกติพืชบางชนิด โดยเฉพาะในกลุ่ม *Leguminosae* เช่น ถั่วเหลือง จะผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มซีรีนโปรตีเอส โดยแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ Bowman-Birk และ Kunitz (Birk, 1996) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบว่ามีผักพื้นบ้านเพียง 5 ชนิด ที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดี โดยมีค่า IC50 มากกว่า PMSF ประมาณ 15 – 20 เท่า ได้แก่ หัวกระเทียม เหง้าข่า ใบสะระแหน่ ใบชะพลู และผลมะเขือพวง (ตารางที่ 7) โดยสารสกัดเฮกเซนจากเหง้าข่าและขิงมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้และทนต่ออุณหภูมิสูงแสดงให้เห็นถึงสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินในกลุ่มที่ไม่มีขั้วในเหง้าพืชตระกูล *Zingiberaceae* ในขณะที่สารสกัดเฮกเซนและสารสกัดเอทานอลจากหัวกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้โดยพบฤทธิ์ดังกล่าวในตัวอย่างกระเทียมที่เก็บมามากกว่าหนึ่งฤดูแสดงให้เห็นถึงสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินในกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (ตารางที่ 7 และ 8) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยยังพบผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินที่สกัดและละลายได้โดยใช้น้ำ ได้แก่ ใบชะพลูและผลมะเขือพวง ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 6) จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการรับประทานผักพื้นบ้านเหล่านี้ในปริมาณมากอาจส่งผลต่อการย่อยโปรตีนและดูดซึมกรดอะมิโนตามลำดับ โดยสามารถนำสารสกัดจากผักพื้นบ้านดังกล่าวไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับทาภายนอกร่างกาย เช่น ยาสมานแผล เครื่องสำอาง และสารต้านจุลชีพ เป็นต้น

4.5 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

ในการศึกษานี้ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสถูกนำมาใช้ในการบ่งชี้ถึงความจำเพาะเจาะจงของฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร เนื่องจากเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจัดอยู่ในกลุ่ม oxidoreductase ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์ ในขณะที่เอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ได้แก่ ไลเปส แอลฟาอะไมเลส และทริปซิน จัดอยู่ในกลุ่ม hydrolase ซึ่งใช้น้ำในการตัดพันธะ โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นแอลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการเมาเหล้าในมนุษย์ (Eriksson, 2001; Crabb et al., 2004) โดยในปัจจุบันยาที่ใช้รักษาอาการเมาเหล้าคือ 4-methylpyrazole ซึ่งช่วยยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสไม่ให้เปลี่ยนเอทานอลเป็นอะซีทัลดีไฮด์ ส่งผลให้ระดับอะซีทัลดีไฮด์ในเลือดลดลง (Inoue et al., 1985) ดังนั้นผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสอาจนำมาใช้ในการพัฒนายาหรือสมุนไพรในการรักษาอาการเมาเหล้าได้ โดยจากการศึกษาพบว่ามีผักพื้นบ้านเพียง 3 ชนิดเท่านั้น ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดี ได้แก่ เหง้าข่า ใบขี้นฉ่าย และเหง้าขิง โดยสารสกัดจากผักพื้นบ้านดังกล่าวจะละลายในตัวทำละลายมีขั้ว ได้แก่ เอทานอลและน้ำ ยกเว้นในเหง้าข่าที่พบว่ามีสารออกฤทธิ์ที่ละลายในเฮกเซนด้วย (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาฤทธิ์ที่น่าสนใจจะพบว่าสารสกัดเฮกเซนจากข่ายับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และสารสกัดเอทานอลจากข่ายับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ค่อนข้างดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 37 และ 90 องศาเซลเซียส และให้ผลสอดคล้องกันจากตัวอย่างที่เก็บมามากกว่าหนึ่งฤดู (ตารางที่ 8 และ 9) ในขณะที่สารสกัดน้ำจากใบขึ้นฉ่ายยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดีเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ดังกล่าวทนต่ออุณหภูมิสูง นอกจากนี้ยังมีผักพื้นบ้านบางชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้บางส่วนแต่ให้ผลคล้ายกันเมื่อเก็บตัวอย่างมามากกว่าหนึ่งฤดู ได้แก่ ใบกุ้ยฉ่าย ใบมะกรูด ใบกะเพรา และผลมะเขือพวง โดยส่วนใหญ่จะให้ผลเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้นใบกุ้ยฉ่ายที่ให้ผลเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 9) จากข้อมูลข้างต้นผู้ป่วยอาจใช้ผักพื้นบ้านดังกล่าว เช่น เหง้าข่า เป็นสมุนไพรในการแก้อาการเมา หรือพัฒนาเป็นตำรับยาสมุนไพรในการบรรเทาอาการเมาต่อไป

4.6 ผักพื้นบ้านที่ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

ผลพลอยได้หนึ่งจากการศึกษาผักพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสคือการที่ผู้วิจัยพบว่ามีผักพื้นบ้านบางชนิดที่ส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดนี้น้อยมาก ได้แก่ ฝักบวบ ใบผักหวาน สายบัว ฝักถั่วพู และดอกแค ซึ่งผักพื้นบ้านดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการประกอบอาหารสำหรับเด็ก ผู้ป่วย หรือผู้ที่มีปัญหาในระบบย่อยอาหาร ซึ่งจะช่วยให้ร่างกายย่อยอาหารที่รับประทานเข้าไปได้ง่ายขึ้น

4.7 ผักพื้นบ้านที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสแต่ไม่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

จากการวิเคราะห์ผลการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทั้งหมดโดยสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านพบว่ามีผักพื้นบ้าน 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสดี แต่ไม่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ได้แก่ ใบชะอม ใบเตย และใบย่านาง โดยในใบใบย่านางจะพบฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสบางส่วนเมื่อสกัดด้วยน้ำด้วย ดังนั้นใบชะอมจึงเหมาะสมในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพสำหรับควบคุมน้ำตาลและไขมัน ส่วนใบเตยอาจพัฒนาสารสกัดเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ เช่น ข้าวน้ำใบเตยลดน้ำหนัก เป็นต้น และใบย่านางเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นเครื่องสมุนไพรหรือประกอบอาหารที่ใช้น้ำเพื่อใช้ในการคสบคุมน้ำหนัก เป็นต้น

4.8 ผักพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli*

ผักพื้นบ้านหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ตามธรรมชาติ เนื่องจากพืชสามารถผลิตสารป้องกันตัวเองในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ได้แก่ tannins phytoalexin และ gallic acid เป็นต้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ ampicillin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะ และสารประกอบฟีนอล gallic acid ซึ่งมีค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* (MIC) ที่ 1,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Borges et al., 2013) เป็นชุดควบคุม ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน ทั้งนี้ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าผักพื้นบ้านทุกชนิดที่ศึกษา ได้แก่ เตยหอม

สาระแหน่ ชะพูล มะกรูด ย่านาง กระชาย ข่า ผักกูด ดอกขจร มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* แต่มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีหรือยับยั้งได้บางส่วนนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของผักพื้นบ้าน โดยข่าเป็นผักพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลการวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* ที่ต้านทายาปฏิชีวนะ ampicillin และ penicillin โดยพบฤทธิ์มากที่สุดเมื่อสกัดด้วยเฮกเซน (Samsudin et al., 2018) นอกจากนี้มีรายงานว่าข่าแห้งที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* และ *E. coli* (Rini & Widyaningrum, 2018) โดยในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยพบฤทธิ์ยับยั้งได้ดีเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เฮกเซน เอทานอล และน้ำ แสดงให้เห็นว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในข่ามีทั้งสารในกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้ว โดยมีรายงานว่า eugenol และ 1'-acetoxychavicol acetate เป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในสารสกัดจากข่า (Latha et al., 2009) เมื่อพิจารณาผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ร่วมด้วยแล้วผู้วิจัยคาดว่าสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสมีส่วนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในข่าเนื่องจากสารยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินส่งผลต่อการย่อยโปรตีนซึ่งจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตทุกชนิดในขณะที่สารยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดในสิ่งมีชีวิต ส่งผลให้พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในข่าเมื่อสกัดด้วยเฮกเซน เอทานอล หรือน้ำ นอกจากนี้ Karunarathne และคณะ ได้ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเฮกเซนจากข่าในหนูทดลองไม่พบความเป็นพิษที่ระดับ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจากการกิน และทดสอบไม่พบการระคายเคืองต่อผิวหนังที่ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในกระต่าย (Karunarathne et al., 2017) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากข่ามีความปลอดภัยสำหรับการรับประทานหรือการใช้ทาภายนอก ซึ่งสามารถนำมาพัฒนาเป็นสารต้านจุลินทรีย์ได้

5. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสในสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 30 ชนิด พบว่ามีผักพื้นบ้าน 3 ชนิด ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับป้องกันและรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวาน ได้แก่ ใบชะอม (*Acacia pennata*) ใบเตย (*Pandanus amaryllifolius*) และใบย่านาง (*Tiliacora triandra*) เนื่องจากสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและ

แอลฟาอะไมเลสที่ดี (IC_{50} < 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยมีฤทธิ์ต่ำกว่า Orlistat® และ Acarbose® ซึ่งเป็นยารักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานที่เป็นสารเคมีบริสุทธิ์ประมาณ 40 เท่า และพบฤทธิ์ดังกล่าวในตัวอย่างผักพื้นบ้านที่เก็บมามากกว่าหนึ่งฤดู แต่มีฤทธิ์ข้างเคียงน้อยในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (IC_{25} > 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยโปรตีนและการสลายแอลกอฮอล์ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าข่า (*Alpinia galanga*) ให้ผลในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ตรงข้ามกับกลุ่มของสารสกัดหยาบจากใบชะอม ใบเตย และใบย่านาง กล่าวคือสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์เอนไซม์ทริปซินและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสได้ดี (IC_{50} < 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แต่ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและแอลฟาอะไมเลสได้น้อย (IC_{25} > 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมในการพัฒนาเป็นยาใช้ทาภายนอกหรือยาแก้อาการเมาตามลำดับ และผู้วิจัยพบว่ามีผักพื้นบ้าน 5 ชนิดที่สารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้านดังกล่าวไม่พบฤทธิ์หรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดต่ำ (IC_{25} > 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ได้แก่ ฝักบวบ (*Luffa acutangula*) ใบผักหวาน (*Meleintha suavis*) สายบัว (*Nymphaea pubescens*) ฝักถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus*) และดอกแค (*Sesbania grandiflora*) จึงมีคุณสมบัติเหมาะสมในการพัฒนาเป็นอาหารสำหรับเด็ก ผู้ป่วย หรือผู้ที่มีปัญหากับระบบย่อยอาหาร ในส่วนของฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียนั้น ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าข่า ใบย่านาง และใบชะพลู (*Piper sarmentosum*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* ได้ดี (IC_{50} < 750 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยมีฤทธิ์สูงกว่า gallic acid ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลจากพืชที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ประมาณ 10 เท่า โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากเหง้าข่าที่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E coli.* ในทุกตัวทำละลายที่ใช้สกัด นอกจากใช้บรรเทาอาการเมาแล้วเหง้าข่าจึงเหมาะสมในการนำมาพัฒนาเป็นสารต้านจุลินทรีย์เพื่อช่วยบรรเทาอาการติดเชื้อจากแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหาร จากผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางด้านอาหารเพื่อสุขภาพจากผักพื้นบ้านไทย ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการบริโภคผักพื้นบ้านให้เหมาะสมกับรายได้และสุขภาพของตนเองเพื่อป้องกันและบรรเทาอาการของโรคที่พบบ่อย เช่น โรคเบาหวาน โรคอ้วน อาการเมา และอาการถ่ายท้อง เป็นต้น

6. ผลผลิต

6.1. ผลงานตีพิมพ์

6.1.1. อัจฉรา แสงจันทร์, อัจฉรา บุตรดี และสลิล ชั้นโรจน์. (2559). ผลของสารสกัดหยาบจากอบเชยและส้มแขกต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ไลเปส และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 21(3), 268-278.

6.1.2. กมลฉัตร อ่องมะลิ, อัจฉรา บุตรดี และสลิล ชั้นโรจน์. (2560). การยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 22(พิเศษ), 42-54.

6.2. ผลงานเชิงพาณิชย์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ใบตะไคร้แปรรูปผงเป็นอาหารเสริมสุขภาพเพื่อลดการย่อยไขมัน (กำลังดำเนินการพัฒนาร่วมกับภาคเอกชน)

6.3. ผลงานเชิงสาธารณะ

การนำเสนอตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากใบตะไคร้และใบเตยในหัวข้อ “น้ำใบตะไคร้ใบเตยเพื่อสุขภาพสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานและโรคอ้วน” ในงาน “มิติใหม่หอการค้าชลบุรี สู่เวทีความร่วมมือทุกภาคส่วน และ 7 ผลงานนวัตกรรม” ณ มหาวิทยาลัยบูรพา วันที่ 15 มกราคม พ.ศ. 2561

เอกสารอ้างอิง

Baker, H., Luisada-Opper, A., Sorrell, M.F., Thomson, A.D. and Frank, O., 1973. Inhibition by nicotinic acid of hepatic steatosis and alcohol dehydrogenase in ethanol-treated rats. *Experimental and molecular pathology*, *19*(1), pp.106-112.

Birari, R.B. and Bhutani, K.K., 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug discovery today*, *12*(19-20), pp.879-889.

Birk, Y., 1985. The Bowman‐Birk inhibitor. Trypsin‐and chymotrypsin‐inhibitor from soybeans. *International journal of peptide and protein research*, *25*(2), pp.113-131.

Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simoes, M., 2013. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance, 19*(4), pp.256-265.

Chakrabarti, R., Singh, B., Vanchhawng, L. and Thirumurugan, K., 2014. Screening of nine herbal plants for in vitro a-amylase inhibition. *Screening*, *7*(4).

Crabb, D.W., Matsumoto, M., Chang, D. and You, M., 2004. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology. *Proceedings of the nutrition society*, *63*(1), pp.49-63.

Eriksson, C.P., 2001. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (update 2000). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *25*, pp.15S-32S.

Inoue, K., Kera, Y., Kiriyama, T. and Komura, S., 1985. Suppression of Acetaldehyde Accumulation by 4-Methyl pyrazole in Alcohol-Hypersensitive Japanese. *The Japanese Journal of Pharmacology*, *38*(1), pp.43-48.

Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T., Puwaprisirisan, P., Svasti, J. and Assavalapsakul, W., 2012. Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, *12*(1), p.217.

Karunarathne, P. U. H. S., Thammitiyagodage, M. G., & Weerakkody, N. S., 2018. Safety evaluation of galangal (*Alpinia galanga*) extract for therapeutic use as an antimicrobial agent. *International Journal of Pharmaceutical Sciences And Research*, *9*(11), pp.4582-4590.

Latha, C., Shriram, V. D., Jahagirdar, S. S., Dhakephalkar, P. K., & Rojatkar, S. R., 2009. Antiplasmid activity of 1′-acetoxychavicol acetate from *Alpinia galanga* against multi-drug resistant bacteria. *Journal of ethnopharmacology, 123*(3), pp.522-525.

Nair, S.S., Kavrekar, V. and Mishra, A., 2013. In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, *3*(1), pp.128-132.

Osei, E., Kwain, S., Mawuli, G., Anang, A., Owusu, K., Camas, M., ... & Jaspars, M., 2019. Paenidigyamycin A, potent antiparasitic imidazole alkaloid from the *Ghanaian paenibacillus* sp. DE2SH. *Marine drugs, 17*(1), p.9.

Rini, C. S., Rohmah, J., & Widyaningrum, L. Y., 2018. The antibacterial activity test galanga (*Alpinia galangal*) on the growth of becteria *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 420*(1), p.012142.

Rosak, C. and Mertes, G., 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, *5*, p.357.

Samsudin, N. I. P., Lee, H. Y., Chern, P. E., Ng, C. T., Panneerselvam, L., Phang, S. Y., ... & Mahyudin, N. A., 2018. *In vitro* antibacterial activity of crude medicinal plant extracts against ampicillin+ penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Food Research Journal, 25*(2), pp.573-579.

Turini, P., Kurooka, S., Steer, M., Corbascio, A.N. and Singer, T.P., 1969. The action of phenylmethylsulfonyl fluoride on human acetylcholinesterase, chymotrypsin and trypsin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *167*(1), pp.98-104.