รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประเมินองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดต่าง ๆ จากผักมะไห่และสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Evaluation of chemical compositions of various extracts from *Momordica* 'Ma Hai' and their biological activities

กีรติ ตันเรือน (หัวหน้าโครงการ) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ (ผู้ร่วมวิจัย) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

รายงานนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

พ.ศ. 2560

แบบสรุปผู้บริหาร
[Executive Summary]

1.รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย/แผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง การประเมินองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดต่างๆ จากผักมะไห่และสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Evaluation of chemical compositions of various extracts from *Momordica* 'Ma Hai' and their biological activities

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย กีรติ ตันเรือน และ พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ

หน่วยงานที่สังกัด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

หมายเลขโทรศัพท์ 055-267107

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 **งบประมาณที่ได้รับ** 60,000 **บาท**

ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ 1 ปี **ตั้งแต่** เมษายน 2559 **ถึง** เมษายน 2560

2. สรุปโครงการวิจัย

ปัจจุบันการใช้พืชและผลิตภัณฑ์จากพืชได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก และมีแนวโน้มว่าจะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคตระหนักถึงอันตรายและผลข้างเคียงจากการใช้สารเคมี ดังนั้นการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ของพืชจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการใช้ประโยชน์และการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะพืชกินได้ (Edible plant) ที่หลายชนิดเป็นพืชพื้นบ้านซึ่งยังไม่เป็นที่รู้จักและยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของ “ผักมะไห่” ซึ่งเป็นผักพื้นบ้าน ที่มีลักษณะเป็นเถา-เครือคล้ายกับมะระขี้นกแต่ผักมะไห่มีใบที่ใหญ่และหนา ขยายพันธุ์ด้วยหัวหรือเหง้า ส่วนที่นำมารับประทานคือยอดซึ่งมีรสขม อย่างไรก็ตามจากการสืบค้นข้อมูลไม่พบสรรพคุณทางยาและองค์ประกอบทางเคมีของผักมะไห่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดรวมถึงฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซีเตทและน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรีพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มี anethole เป็น

องค์ประกอบหลักโดยมีค่า Relative peak area สูงถึง 66.74 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในทางอุตสาหกรรมใช้ anethole เป็นสารให้กลิ่นอีกทั้งยังมีการรายงานว่า anethole มีฤทธิ์เป็นยากระตุ้น (Stimulant) ยาขับลม (Carmination) และมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการ อาทิ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และฤทธิ์ฆ่าแมลง เป็นต้น นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ 65.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดและ 42.6 มิลลิกรัมสมมูลเคอเซทินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella typhi* พบว่าสารสกัดจากผักมะไห่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดอื่น และเมื่อนำสารสกัดจากผักมะไห่มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมถึงฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ผ่านการนำเสนอในรูปแบบของผลงานทางวิชาการซึ่งสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลของพืชชนิดนี้รวมถึงสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์จากพืชชนิดนี้ต่อไปได้

3.บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

บทคัดย่อ

ผักมะไห่หรือผักไห่ (*Momordica* 'Ma Hai') เป็นพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ Cucurbitaceae ที่สามารถรับประทานได้ โดยนิยมนำส่วนของยอดไปใช้เป็นอาหารอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามพบว่ายังไม่มีการรายงานถึงองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางชีวภาพของพืชชนิดนี้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย สารสกัดเมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซีเตทของผักมะไห่ โดยน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ได้จากการสกัดใบและก้านแห้งด้วยการกลั่นไอน้ำและแยกชั้นด้วยไดคลอโรมีเทนแล้วทำการระเหยไดคลอโรมีเทนออก ส่วนสารสกัดเมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตทได้จากการนำตัวอย่างใบและก้านแห้งมาแช่ด้วยเมทานอล อะซิโตนหรือเอทิลอะซิเตท เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองและระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–

แมสสเปกโทรเมทรี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธี folin-ciocalteu และ aluminium chloride colorimetric ตามลำดับ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) scavenging และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 6 ชนิด (*Bacillus cereus, B. subtilis, Candida albicans, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella typhi*) ด้วยวิธี paper disc-diffusion จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรีพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มีองค์ประกอบที่ระเหยได้ 7 ชนิด โดยพบ anethole ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นในอุตสาหกรรมหลายชนิดเป็นองค์ประกอบหลัก และน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ยังพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ 65.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดและ 42.6 มิลลิกรัมสมมูลเคอเซทินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ขณะที่พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและมีค่า FRAP value เท่ากับ 16.8 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากผักไห่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดอื่น ดังนั้นสารสกัดจากผักไห่จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นสารให้กลิ่นและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารและเครื่องสำอางต่อไปในอนาคต

ABSTRACT

Momordica 'Ma Hai', local known as Puk-Ma Hai or Puk-Hai, is an edible plant in the family Cucurbitaceae. A part of terminal shoot of this plant has been widely used as food. However, the researches regarding chemical constituents and biological activities of this plant are still unknown. Thus, this current study was conducted to investigate the phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil, methanol, acetone and ethyl acetate extracts of this plant. The plant oil was extracted from the dried leaves and stems using stream distillation and partitioned with dichloromethane. Afterwards, the essential oil was obtained after evaporation of the dichloromethane. The methanol, acetone and ethyl acetate were obtained from the extraction with methanol, acetone or ethyl acetate, respectively. Dried leaves and stems

were separately extracted by maceration with methanol, acetone or ethyl acetate for 12 hours, then filtered and evaporated until dryness. The chemical compositions were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total phenolic and total flavonoid contents were also determined using folin-ciocalteu and aluminium chloride colorimetric methods, respectively. The antioxidant activity was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) scavenging and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The extracts were tested for antimicrobial activity against six pathogenic microorganisms (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* and *Salmonella typhi*) by paper disc-diffusion method. GC-MS analysis results revealed that seven volatile constituents were identified and the major component was anethole that is widely used as flavoring substance. The highest total phenolic content (65.6 mg gallic acid equivalent/ g extract) and total flavonoid content (42.6 mg quercetin equivalent/ g extract) were observed in essential oil fraction. While, ethyl acetate fraction exhibited the highest antioxidant activity with an IC_{50} 0.95 mg/mL and FRAP value of 16.8 mg gallic acid equivalent/g dry extract. Furthermore, the essential oil exhibited antimicrobial activity against all tested pathogenic microorganisms in the inhibition zone, in which the essential oil exhibited the highest activity. Therefore, the extracts of *Momordica* 'Ma Hai' in this study are feasibility to develop for use as natural flavoring and antimicrobial agent in food and cosmetic fields in the future.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

กีรติ ตันเรือน
กุมภาพันธ์ 2560

หัวข้องานวิจัยเรื่อง การประเมินองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดต่างๆ จากผักมะไห่และสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
ชื่อผู้วิจัย กีรติ ตันเรือน
คณะ/สังกัด สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2559 จำนวนเงิน 60,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 28 เมษายน 2559 ถึง 27 เมษายน 2560
คำสำคัญ ผักมะไห่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

บทคัดย่อ

ผักมะไห่หรือผักไห่ (*Momordica* 'Ma Hai') เป็นพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ Cucurbitaceae ที่สามารถรับประทานได้ โดยนิยมนำส่วนของยอดไปใช้เป็นอาหารอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามพบว่ายังไม่มีการรายงานถึงองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางชีวภาพของพืชชนิดนี้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย สารสกัดเมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซีเตทของผักมะไห่ โดยน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ได้จากการสกัดใบและก้านแห้งด้วยการกลั่นไอน้ำและแยกชั้นด้วยไดคลอโรมีเทนแล้วทำการระเหยไดคลอโรมีเทนออก ส่วนสารสกัดเมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตทได้จากการนำตัวอย่างใบและก้านแห้งมาแช่ด้วยเมทานอล อะซิโตนหรือเอทิลอะซิเตท เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองและระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธี folin-ciocalteu และ aluminium chloride colorimetric ตามลำดับ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) scavenging และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 6 ชนิด (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella typhi*) ด้วยวิธี paper disc-diffusion จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรีพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มีองค์ประกอบที่ระเหยได้ 7 ชนิด โดยพบ anethole ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นในอุตสาหกรรมหลายชนิดเป็นองค์ประกอบหลัก และน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ยังพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ

65.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดและ 42.6 มิลลิกรัมสมมูลเคอเซทินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ขณะที่พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและมีค่า FRAP value เท่ากับ 16.8 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากผักไห่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดอื่น ดังนั้นสารสกัดจากผักไห่จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นสารให้กลิ่นและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารและเครื่องสำอางต่อไปในอนาคต

Research Title	Evaluation of chemical compositions of various extracts from *Momordica* sp. and their biological activities
Author	Keerati Tanruean
Faculty	Biology program, Faculty of Science and Technology
Institute	Pibulsongkram Rajabhat University
Year	1 year, 28 April 2016 to 27 April 2017
Keywords	*Momordica* 'Ma Hai', phenolic compound, flavonoid, antioxidant activity, antimicrobial activity

ABSTRACT

Momordica 'Ma Hai', local known as Puk-Ma Hai or Puk-Hai, is an edible plant in the family Cucurbitaceae. A part of terminal shoot of this plant has been widely used as food. However, the researches regarding chemical constituents and biological activities of this plant are still unknown. Thus, this current study was conducted to investigate the phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil, methanol, acetone and ethyl acetate extracts of this plant. The plant oil was extracted from the dried leaves and stems using stream distillation and partitioned with dichloromethane. Afterwards, the essential oil was obtained after evaporation of the dichloromethane. The methanol, acetone and ethyl acetate were obtained from the extraction with methanol, acetone or ethyl acetate, respectively. Dried leaves and stems were separately extracted by maceration with methanol, acetone or ethyl acetate for 12 hours, then filtered and evaporated until dryness. The chemical compositions were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total phenolic and total flavonoid contents were also determined using folin-ciocalteu and aluminium chloride colorimetric methods, respectively. The antioxidant activity was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) scavenging and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The extracts were tested for antimicrobial activity against six pathogenic microorganisms (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*,

Pseudomonas fluorescens and *Salmonella typhi*) by paper disc-diffusion method. GC-MS analysis results revealed that seven volatile constituents were identified and the major component was anethole that is widely used as flavoring substance. The highest total phenolic content (65.6 mg gallic acid equivalent/ g extract) and total flavonoid content (42.6 mg quercetin equivalent/ g extract) were observed in essential oil fraction. While, ethyl acetate fraction exhibited the highest antioxidant activity with an IC_{50} 0.95 mg/mL and FRAP value of 16.8 mg gallic acid equivalent/g dry extract. Furthermore, the essential oil exhibited antimicrobial activity against all tested pathogenic microorganisms in the inhibition zone, in which the essential oil exhibited the highest activity. Therefore, the extracts of *Momordica* 'Ma Hai' in this study are feasibility to develop for use as natural flavoring and antimicrobial agent in food and cosmetic fields in the future.

สารบัญเรื่อง

บทที่		หน้า
	แบบสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)	ก
	กิตติกรรมประกาศ	จ
	บทคัดย่อภาษาไทย	ฉ
	บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ซ
	สารบัญเรื่อง	ญ
	สารบัญตาราง	ฏ
	สารบัญภาพ	ฐ
	อภิธานศัพท์	ฑ
1	**บทนำ**	1
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
	ขอบเขตของงานวิจัย	2
2	**ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	3
3	**อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย**	6
	วัสดุอุปกรณ์	6
	สารเคมี	6
	วิธีการดำเนินการวิจัย	7
4	**ผลการวิจัย**	10
	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักมะไห่	10
	สารสกัดผักมะไห่	11
	การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่	12

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

บทที่		หน้า
	การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	14
	การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	14
	การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์	15
5	**อภิปรายและวิจารณ์ผล สรุป และข้อเสนอแนะ**	17
	อภิปรายผลการวิจัย	17
	สรุปผลการวิจัย	18
	ข้อเสนอแนะ	18
บรรณานุกรม		19
ภาคผนวกบทความของงานวิจัยที่ผ่านการเผยแพร่		22
ประวัติผู้วิจัย		27

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตทและน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ 12

2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ที่วิเคราะห์ด้วย GC-MS 13

3 ปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ 14

4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ 15

5 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ 16

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	การเปรียบเทียบเถาและใบของพืชต่าง ๆ (ก) มะไห่ (ข) มะระขี้นก และ (ค) มะไห่พันธุ์เกษตร	4
2	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในธรรมชาติ	5
3	ผักมะไห่ (ก) เถา (ข) ใบ (ค) ดอก และ (ง) ผล	10
4	รากของผักมะไห่ที่อยู่ใต้ดิน	11
5	GC-MS โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่	13
6	การเกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบ ๆ disc บนจานอาหารที่มี *Pseudomonas fluorescens* ของสารสกัดอะซิโตน	16

อภิธานศัพท์

สัญลักษณ์	:	หมายถึง
$DPPH^{\cdot}$	:	DPPH free radical
GC	:	Gas chromatography
GC-MS	:	Gas chromatography-mass spectrometry
IC_{50}	:	ค่าการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ คำนวณจากการสร้างกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัด

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พืชสมุนไพรเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในยา เภสัชกรรม อาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง เป็นต้น และปัจจุบันมีการรายงานถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพร ได้แก่ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ระงับปวด ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Gülçın et al., 2003; Gamal-Eldeen et al., 2014) ซึ่งการใช้พืชสมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรสำหรับรักษาโรคในประเทศไทยได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก และมีแนวโน้มว่าจะได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการผู้บริโภคตระหนักถึงอันตรายจากผลข้างเคียงของยาสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามการใช้สมุนไพรรักษาโรคก็ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากใช้เวลานาน การศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีและสารที่ออกฤทธิ์ในพืชสมุนไพรจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชกินได้ (Edible plant) หลายชนิดซึ่งเป็นพืชพื้นบ้านในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยยังไม่เป็นที่รู้จักและยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ผักมะไห่ซึ่งเป็นผักพื้นบ้านที่พบในภาคเหนือเป็นพืชเถาวัลย์ที่เลื้อยไปตามพื้นดินและเลื้อยขึ้นไปตามรั้ว เป็นพืชที่มีลักษณะคล้ายกับมะระขี้นกแต่ผักมะไห่มีใบที่หนาและเป็นผิวมัน ขยายพันธุ์ด้วยหัวหรือเหง้าและเมล็ด มะไห่นิยมรับประทานเป็นอาหารในโดยรับประทานส่วนของยอดของซึ่งมีรสขม อย่างไรก็ตามจากการสืบค้นข้อมูลไม่พบสรรพคุณทางยาสมุนไพรของผักมะไห่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการศึกษาสรรพคุณทางยาและองค์ประกอบทางเคมีของผักมะไห่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเตทของผักมะไห่ เพื่อให้ทราบข้อมูลทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในสารสกัดของผักมะไห่เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำสารสกัดไปใช้ประโยชน์ในอนาคต นอกจากนี้ยังได้ตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไปและใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาและส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกเพื่อเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซีเตทของผักมะไห่

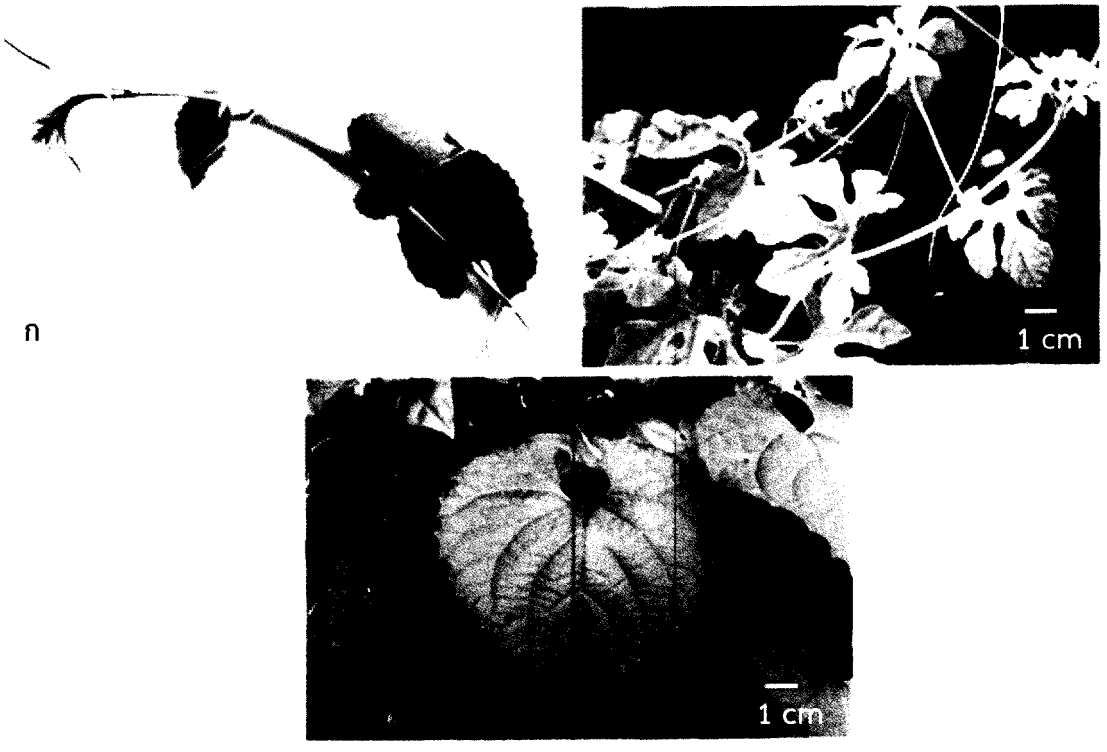
2. เพื่อตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซีเตทของผักมะไห่

ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยครั้งนี้จะเก็บตัวอย่างเถาของผักมะไห่ในพื้นที่ อำเภอแม่ทะจังหวัดลำปาง เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกผักมะไห่ จากนั้นจะสกัดน้ำมันหอมระเหย สารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเตทจากผักมะไห่เพื่อตรวจหาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เทียบกับสารมาตรฐาน และตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดของผักมะไห่

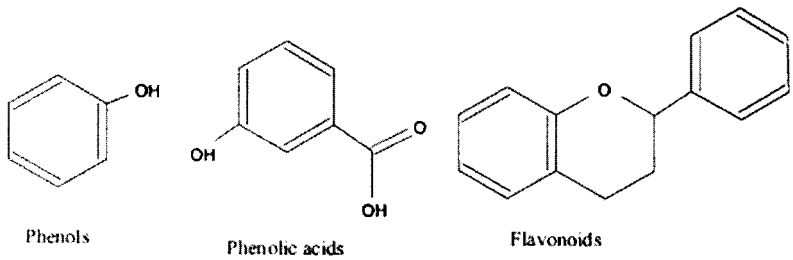
บทที่ 2
ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พืชในสกุล Momordica ที่รู้จักกันดีเป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารโดยพืชที่เป็นที่รู้จักเป็นอย่างดีได้แก่ มะระขี้นก (*Momordica charantia* L. var *Muricata*) และมะระจีน (*Momordica charantia* L. var *Chinensis*) โดยได้มีการรายงานถึงการนำผลมะระทั้งมะระขี้นกและมะระจีนไปใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและรักษาโรคเบาหวาน (ศิรินทรและพินิจ, 2008; Ekezie et al., 2016; Mahmoud et al., 2017) และพืชในสกุล *Momordica* อีกชนิดหนึ่งคือ ฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) ซึ่งเป็นพืชที่มีสารเบต้าแคโรทีนสูง มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายและกำลังได้รับความสนใจจากผู้บริโภคในปัจจุบัน ในส่วนของผักมะไห่ (รูปที่ 1ก) เป็นผักพื้นบ้านทีพบในภาคเหนือของประเทศไทยเป็นพืชเถาวัลย์ที่เจริญเติบโตโดยการเลื้อยไปตามพื้นดินและเลื้อยขึ้นไปตามรั้ว เป็นพืชที่มีลักษณะคล้ายกับมะระขี้นก (รูปที่ 1ข) แต่ผักมะไห่มีใบที่หนาและเป็นผิวมัน วงจรชีวิตของมะไห่ เถาจะตายเมื่อเข้าสู่หน้าแล้งและเมื่อถึงหน้าฝนเถาจะเจริญขึ้นมาใหม่แล้วเจริญต่อไปจนหมดฤดู ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเพื่อปรับปรุงสายพันธุ์ของผักมะไห่และมีชื่อเรียกใหม่ว่า มะไห่พันธุ์เกษตร (รูปที่ 1ค) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีใบใหญ่ขึ้น แตกแขนงได้ดีและมียอดอ่อนมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปีหากมีความชุ่มชื้นเพียงพอสามารถปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจได้ เถาของมะไห่พันธุ์เกษตรที่เลื้อยไปบนพื้นดิน ถ้าแก่จัดจะมีรากแทงออกมาตามข้อใบเหมือนมันเทศและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ แต่มะไห่พันธุ์เกษตรไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยเมล็ด ดังนั้นมะไห่พันธุ์เกษตรจึงขยายพันธุ์ได้ด้วยวิธีใช้หัวในดิน และส่วนของเถาที่แทงรากแล้ว (ลำน้ำ, 2558 (ออนไลน์)) ประโยชน์หลักของผักมะไห่คือใช้เป็นอาหาร ซึ่งผักมะไห่จะมีรสขมเล็กน้อย และขมน้อยกว่ามะระขี้นก แต่กลิ่นของผักสดจะไม่ฉุนมากเหมือนมะระขี้นก



รูปที่ 1 การเปรียบเทียบเถาและใบของพืชต่าง ๆ (ก) มะไห่ (ข) มะระขี้นก และ (ค) มะไห่พันธุ์เกษตร

พืชทั่วไปจะมีสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ซึ่งเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (รูปที่ 2) สารประกอบฟีนอลโดยเฉพาะกลุ่มกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญพืช กรดฟีนอลิกที่พบในพืชมีทั้งที่อยู่แบบอิสระ (free form) เช่น gallic acid ferulic acid coumaric acid เป็นต้น และพบว่าต่อกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งน้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) ส่วนฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกอีกชนิดหนึ่งพบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียวและพบได้ในทุกส่วนของพืช ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอมที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น C6-C3-C6 ซึ่งเกิดจาก phenyl-propanoid (C6-C3) เชื่อมกับ malonyl-CoA (C2) 3 หน่วย



รูปที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในธรรมชาติ
ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound
เข้าถึงเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2560

และเช่นเดียวกันกับกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ก็พบได้ทั้งในรูปอิสระและที่เชื่อมต่อกับโมเลกุลของน้ำตาล ตัวอย่างของสารฟลาโวนอยด์ที่พบในธรรมชาติ ได้แก่ วิตามินอี quercetin และ catechin เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิก ทั้งกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ส่วนใหญ่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Velioglu et al., 1998; Jayaprakasha et al., 2001; Proestos et al., 2005) โดยจะยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังพบว่ามีสมบัติในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ และต้านมะเร็งได้ สารสกัดพืชหลายชนิดที่มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบมีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ ได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางอย่างกว้างขวาง จากข้อมูลที่สืบค้นจะเห็นได้ว่าผักมะไห่ยังถูกใช้ประโยชน์เป็นเพียงแค่อาหารเท่านั้น แต่สรรพคุณทางยาสมุนไพรยังไม่มีข้อมูล ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซีเตทของผักมะไห่ เพื่อให้ทราบข้อมูลทั้งทางเชิงคุณภาพและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่มีอยู่ในสารสกัดของผักมะไห่เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำสารสกัดไปใช้ประโยขน์ในอนาคต นอกจากนี้ยังจะมีการตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไปและใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาและส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกเพื่อเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในอนาคต

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง
2. สเปกโตโฟโตมิเตอร์
3. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมทรี
4. เครื่องเขย่าความถี่สูง
5. เครื่องระเหยชนิดสุญญากาศ
6. ตู้อบลมร้อน
7. กรวยกรอง
8. กระดาษกรอง
9. ขวดวัดปริมาตร
10. ขวดเก็บตัวอย่าง
11. บีกเกอร์
12. กระบอกตวง
13. ขวดรูปชมพู่
14. หลอดทดลอง
15. คิวเวตแก้ว

3.2 สารเคมี

1. Gallic acid
2. Folin-ciocalteu reagent
3. 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH)
4. Methanol
5. Aluminium chloride
6. Sodium nitrite
7. Quercetin
8. Sodium carbonate
9. Acetone
10. 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ)
11. Ethyl acetate
12. Dichloromethane

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเก็บและเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ

เก็บตัวอย่างเถาของผักมะไห่จากนั้นนำตัวอย่างมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บดให้เป็นผงและเก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติเพื่อใช้สกัดต่อไป

3.3.2 การเตรียมสารสกัด

3.3.2.1 นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยเมทานอล อะซิโตนหรือเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 เป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่อง ultrasonicator เป็นเวลา 30 นาที กรองและระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

3.3.3.2 นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มากลั่นด้วยชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำในและแยกชั้นด้วยไดคลอโรมีเทน อัตราส่วน 1 ต่อ 10 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นกำจัดน้ำออก เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

3.3.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

ในการทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจะใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี โดยนำตัวอย่างมาน้ำมันหอมระเหยละลายในอะซิโตนและกรอง การวิเคราะห์ในส่วนแก๊สโครมาโทกราฟีจะใช้เครื่อง 6850 Agilent Technologies/MSD 5973 Hewlett Packard, ดีเทคเตอร์ MS และคอลัมภ์ HP-5MS อุณหภูมิของหัวฉีดและดีเทคเตอร์ตั้งไว้ที่ 220 และ 290 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อุณหภูมิของ oven ตั้งไว้ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และปรับจนถึง 240 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที การวิเคราะห์ทั้งหมดใช้เวลา 55 นาที และมีก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพาที่อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ตัวอย่าง 1 ไมโครลิตรฉีดเข้าไปแบบ splitless ในส่วนของ MS ใช้ระบบ electron ionization ค่าพลังงาน ionization 70 eV อุณหภูมิของหัวฉีดและระบบ MS ตั้งไว้ที่ 220 และ 290 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจะเทียบกับ Wiley7n และ W8N08 และข้อมูลจากการศึกษาของ Adam (2001)

3.3.4 การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์จะใช้วิธีของ Kaewnarin et al. (2014) โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน โดยใช้ตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ น้ำ 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติม sodium nitrite (50 กรัมต่อลิตร) 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติม aluminium chloride (100 กรัมต่อลิตร) 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดแสดงออกมาในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลเคอซิทิน ต่อกรัมสารสกัด

3.3.5 การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะใช้วิธีของ Thitilertdecha et al. (2008) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดหาจากการเติมตัวอย่าง 0.25 มิลลิลิตร ในน้ำ 2.5 มิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิลิตร ของสารละลาย Folin-ciocalteu หลังจากนั้น 5 นาที เติม 20 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตรของ Na_2CO_3 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที 760 นาโนเมตร โดยมี gallic acid เป็นสารมาตรฐานและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะแสดงออกมาในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

3.3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.3.6.1 วิธี DPPH free radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ใช้วิธีของ Gülçin et al. (2003) ความสามารถในการจับกับสารอนุมูลอิสระทำได้โดยการผสมสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร กับสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ของ DPPH ใน ethanol (0.1 มิลลิโมลาร์) ส่วนตัวอย่างควบคุมจะประกอบด้วยเมทานอล 0.5 มิลลิลิตร กับสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ของ DPPH นำตัวอย่างมาเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร การคำนวณค่าการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = [(ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม – ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดลอง)/ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม] x 100

ค่าการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ คำนวณจากการสร้างกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัด

3.3.6.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power ใช้วิธีของ Li et al. (2006) การเตรียมสารละลาย FRAP ประกอบด้วย 10 มิลลิโมลาร์ของสารละลาย TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ hydrocloric acid (20 มิลลิลิตร), 20 มิลลิโมลาร์ ferric (III) chloride (20 มิลลิลิตร) และอะซีเตทบัฟเฟอร์ (5 มิลลิลิตร, 300 มิลลิโมลาร์, pH 3.6) โดยต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง ในการทดลองนำตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ FRAP reagent (1.5 มิลลิลิตร) และ 1.4 มิลลิลิตร ของอะซีเตทบัฟเฟอร์ (300 มิลลิโมลาร์, pH 3.6 จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติเป็นเวลา 30 นาทีและนำไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐานและค่า FRAP value คำนวณออกมาในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

3.3.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียใช้เทคนิค disc diffusion method โดยการนำ disc ที่มีสารสกัดตัวอย่างไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรียเจริญอยู่ ชุดตัวอย่างควบคุม คือ ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ละลายสารสกัดพืช จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดขนาดของบริเวณยับยั้งบนอาหารแข็ง

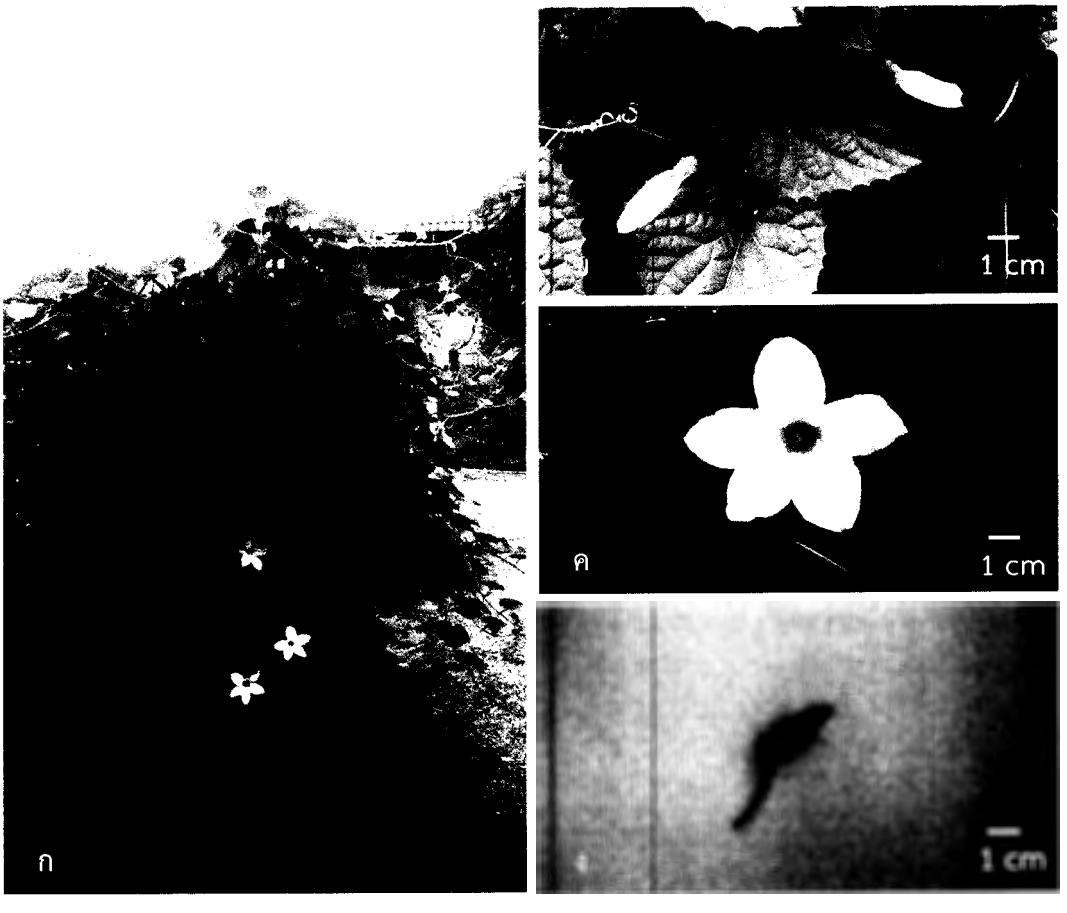
3.3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ สถิติ One Way ANOVA และความแตกต่างของชุดข้อมูลถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 23.0 ที่ $P < 0.05$

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทางพฤกศาสตร์ของผักมะไห่

ผักมะไห่ (*Momordica* sp.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Cucurbiaceae ลักษณะที่สำคัญเป็นพืชไม้เลื้อยแตกแขนงเป็นพุ่ม มีมือเกาะที่ไม่มีการแตกแขนง ใบเดี่ยวรูปหัวใจ (cordate) ปลายใบแหลม (acute) ขอบใบหยักซี่ฟัน (dentate) เรียงตัวแบบสลับ (alternate) ดอกแยกเพศ ดอกเพศเมียเป็นดอกเดี่ยว ก้านดอกยาว 3 ถึง 5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมกัน 5 กลีบสีเขียว กลีบดอกแยกกัน 5 กลีบสีขาว/ครีม/เหลือง ขนาดกว้าง 2 ถึง 2.5 เซนติเมตรและยาว 3.5 ถึง 4.5 เซนติเมตร ด้านในกลีบดอกมีขนสั้นปกคลุมบริเวณโคนกลีบถึงกลางกลีบ รังไข่ใต้วงกลีบ (inferior ovary) มี 3 คาร์เพล (carpel) และผลมีขนาด 1 ถึง 1.2 เซนติเมตรและมีหนาม ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผักมะไห่ (ก) เถา (ข) ใบ (ค) ดอก และ (ง) ผล

ผักมะไห่มีเจริญเติบโตในช่วงเริ่มฤดูฝนจนถึงต้นฤดูหนาว ประมาณเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน จากนั้นเถาจะเริ่มตายและเจริญขึ้นใหม่อีกครั้งจากรากที่อยู่ใต้ดิน (รูปที่ 4) ซึ่งการขยายพันธุ์ผักมะไห่จะใช้การขยายพันธุ์จากส่วนของราก

รูปที่ 4 รากของผักมะไห่ที่อยู่ใต้ดิน

4.2 สารสกัดผักมะไห่

จากการทดลองเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยการกลั่นไอน้ำและแยกชั้นด้วยไดคลอโรมีเทนจากนั้นระเหยไดคลอโรมีเทนออกได้สารสกัดน้ำมันหอมระเหย และการเตรียมสารสกัดจากผักมะไห่ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตท พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 จากตารางจะเห็นว่าตัวทำละลายต่างชนิดกันจะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดผักไห่ที่แตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดเมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักไห่อยู่ในช่วง 0.006 ถึง 0.089 และสารสกัดจากเมทานอลมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงที่สุดและน้ำมันหอมระเหยมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้อยที่สุด

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตทและน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่

สารสกัดของผักมะไห่	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต
สารสกัดเมทานอล	0.089
สารสกัดอะซิโตน	0.020
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	0.032
น้ำมันหอมระเหย	0.006

4.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่

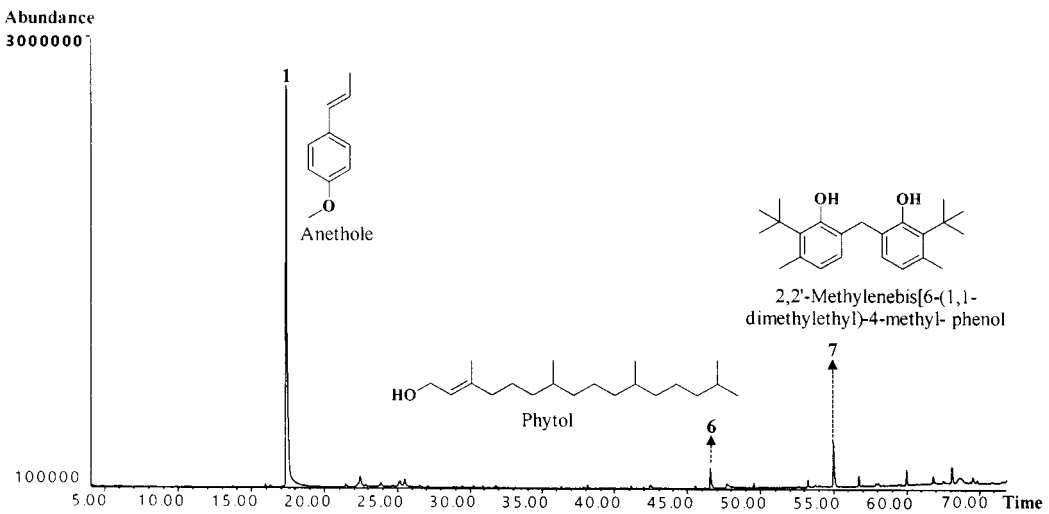
เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรีและเทียบแมสสเปกตรัมของสารประกอบแต่ละชนิดกับฐานข้อมูลของ W8N08 และ Wiley7n ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 จากตารางพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มีองค์ประกอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ 7 ชนิด มีค่า Relative peak area รวมกันเท่ากับ 81.04 เปอร์เซ็นต์ โดยพบ anethole เป็นองค์ประกอบหลักมีค่า Relative peak area สูงถึง 66.74 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในน้ำมันหอมระเหยจากผักไห่ยังพบสารประกอบอื่น ๆ ได้แก่ 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- phenol (6.94 เปอร์เซ็นต์) phytol (3.23 เปอร์เซ็นต์) caryophyllene (2.34 เปอร์เซ็นต์) pamitic acid (0.65 เปอร์เซ็นต์) humulene (0.64 เปอร์เซ็นต์) และ p-acetonylanisole (0.50 เปอร์เซ็นต์) โดย GC โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยจากผักไห่แสดงในรูปที่ 5

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ที่วิเคราะห์ด้วย GC-MS

Peak No.	RI[a]	RI[b]	Assignment compounds	Relative peak area (%)
1	1284	1289	Anethole	66.74
2	1382	1385	p-Acetonylanisole	0.50
3	1406	1417	Caryophyllene	2.34
4	1442	1452	Humulene	0.64
5	1960	1964	Pamitic acid	0.65
6	2100	2122	Phytol	3.23
7	-	-	2,2'-Methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- phenol	6.94

[a] Retention indices using a HP-5MS column

[b] Retention indices from literatures



รูปที่ 5 GC-MS โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่

4.4 การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตทและน้ำมันหอมจากผักมะไห่ใช้วิธี aluminium chloride colorimetric และ folin-ciocalteu ตามลำดับ ผลแสดงในตารางที่ 3 จากตารางจะเห็นได้ว่าสารสกัดทั้งหมดของผักมะไห่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 30.5 ถึง 42.6 มิลลิกรัมสมมูลเคอซิทินต่อกรัมสารสกัด และน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด ขณะที่สารสกัดของผักมะไห่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตั้งแต่ 32.4 ถึง 65.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดเอทิลอะซิเตทสูงที่สุด

ตารางที่ 3 ปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่

สารสกัดของผักมะไห่	องค์ประกอบทางเคมี	
	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลเคอซิทินต่อกรัมสารสกัด)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดเมทานอล	30.5±0.5d	32.4±1.1c
สารสกัดอะซิโตน	33.6±0.2c	48.7±1.3b
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	39.0±0.2b	65.5±0.9a
น้ำมันหอมระเหย	42.6±0.5a	65.6±2.6a

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

**ตัวเลขที่มีอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี Duncan's multiple comparison test ($P < 0.05$)

4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตทและน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ด้วยวิธี DPPH fee radical scavenging และ Ferric reducing antioxidant power ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 จากตารางพบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยจากการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH fee radical scavenging มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดอะซิโตน น้ำมันหอมระเหย และเมทานอล โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ

1.49, 1.81 และ 2.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power ที่สารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 16.88 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือ คือสารสกัดอะซิโตน น้ำมันหอมระเหย และเมทานอล โดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 11.09, 8.70 และ 7.43 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่

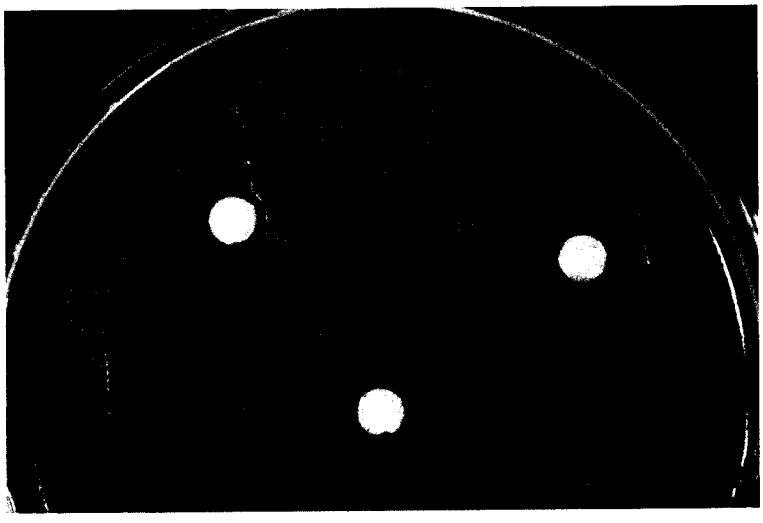
สารสกัดของผักมะไห่	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH fee radical scavenging (IC_{50}, มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	Ferric reducing antioxidant power (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดเมทานอล	2.83±0.03d	7.43±0.43d
สารสกัดอะซิโตน	1.49±0.02b	11.09±0.54b
สารสกัดเอทิลอะซิเตท	0.95±0.02a	16.88±0.39a
น้ำมันหอมระเหย	1.81±0.02c	8.70±0.24c

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

**ตัวเลขที่มีอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี Duncan's multiple comparison test ($P < 0.05$)

4.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ในการตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus, B. subtilis, Candida albicans, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella typhi* ของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่ใช้วิธี Paper disc diffusion โดยประเมินความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากการเกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบ ๆ disc บนจานอาหารแข็งที่มีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 การเกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบ ๆ disc บนจานอาหารที่มี *Pseudomonas fluorescens* ของสารสกัดอะซิโตนของผักมะไห่

ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่แสดงในตารางที่ 5 จากตารางจะเห็นว่าสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยจากผักไห่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำมันหอมระเหยของผักมะไห่

Microorganism	บริเวณใส (มิลลิเมตร)			
	สารสกัดเมทานอล	สารสกัดอะซิโตน	สารสกัดเอทิลอะซิเตท	น้ำมันหอมระเหย
Bacillus cereus	10.33±0.58	9.00±1.00	8.33±0.58	13.33±0.58
Bacillus subtilis	6.67±0.58	11.00±1.00	11.00±1.00	13.00±1.00
Candida albicans	10.67±1.15	7.33±1.53	8.67±0.58	13.33±1.53
Escherichia coli	8.33±0.58	9.00±1.00	8.00±1.00	11.67±0.58
Pseudomonas fluorescens	8.67±0.58	11.67±0.58	12.33±0.58	13.33±1.15
Salmonella typhi	8.67±1.15	9.67±1.53	9.33±0.58	11.00±1.00

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

บทที่ 5
อภิปรายและวิจารณ์ผล สรุป และข้อเสนอแนะ

อภิปรายและวิจารณ์ผล

การเตรียมสารสกัดจากผักมะไห่ด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ เมทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตทและการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นไอน้ำเป็นการใช้ความความสามารถของตัวทำละลายต่างชนิดกันในการสกัดสารองค์ประกอบในผักมะไห่ โดยจากการทดลองตัวทำละลายต่างชนิดกันให้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกันตั้งแต่ 0.006 ถึง 0.089 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารสกัดเมทานอลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงที่สุด เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (polar active constituent) ซึ่งเป็นไปได้ว่าในผักมะไห่มีสารที่มีขั้วเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ และในงานวิจัยก่อนหน้านี้ยังไม่มีการรายงานถึงองค์ประกอบทางเคมีของผักมะไห่มีเพียงการรายงานถึงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของมะระโดยรายงานว่าในน้ำมันหอมระเหยจากมะระมี trans-nerolidol apiole cis-dihydrocarveol และ germacrene D เป็นองค์ประกอบหลัก (Braca et al., 2008) ซึ่งจากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ในงานวิจัยนี้พบ anethole เป็นองค์ประกอบหลัก โดย anethole เป็นสารให้กลิ่นที่มีการใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (ouzo, raki) เครื่องปรุงรสและขนม รวมถึงผลิตภัณฑ์สุขอนามัยในช่องปาก เป็นต้น (Philip, 1999) ซึ่ง anethole เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่พบได้ในน้ำมันหอมระเหยจากเทียนข้าวเปลือก (*Foeniculum vulgare*; Fennel) และยังพบได้ในพืชอีกหลายชนิด เช่น เทียนสัตตบุษย์ (*Pimpinella anisum*; Anise) และโป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*; Star anise) โดย anethole เป็นสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์เป็นยากระตุ้น (stimulant) ยาขับลม (carmination) และมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการ อาทิ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และฤทธิ์ฆ่าแมลง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสารสำคัญอีกหลายชนิด ได้แก่ 2,2'-Methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- phenol, phytol, caryophyllene, pamitic acid, humulene และ p-acetonylanisole ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารสำคัญที่พบเป็นชนิดที่ต่างจากสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะระ ในส่วนของการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากผักมะไห่ที่พบอยู่ในช่วง 32.4 ถึง 65.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 30.5 ถึง 42.6 มิลลิกรัมสมมูลเคอซิทินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ อยู่ในช่วงเดียวกับผักรับประทานได้ชนิดอื่น เช่น โหระพา ผักชี ผักจินดา ชี้นฉ่าย เป็นต้น (Chanwitheesuk et al., 2005) และเมื่อนำสารสกัดจากมะไห่มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH fee radical scavenging ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยการยับยั้งหรือทำลายอนุมูลอิสระและ

Ferric reducing antioxidant power ที่เป็นวิธีการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อนพบว่าสารสกัดจากผักมะไห่ให้ผลสอดคล้องกันทั้งสองวิธี โดยสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและมีค่า FRAP value เท่ากับ 16.8 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนหนึ่งมีผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในพืช และจากการนำสารสกัดจากผักมะไห่มาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella typhi* พบว่าสารสกัดจากผักมะไห่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทุกชนิด โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดอื่น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gulluce et al. (2007) และ Tanruean et al. (2014) ที่มีการรายงานว่าฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดที่ไม่มีขั้ว เช่น น้ำมันหอมระเหยจะสูงกว่าในสารสกัดที่มีขั้ว เช่น น้ำและเมทานอล เป็นต้น นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผักมะไห่ที่พบว่ามี anethole เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดจากพืชที่มี anethole เป็นองค์ประกอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *Candida albicans*, Corynebacterium, *Escherichia coli* และ *Stapphylococcus aureus* เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากผักมะไห่ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักมะไห่มีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และผักมะไห่ซึ่งมี anethole เป็นองค์ประกอบสามารถใช้เป็นแหล่งของสารให้กลิ่นรวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง ยา และอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้

ข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยในครั้งนี้มีข้อจำกัดคือผักมะไห่เป็นพืชที่ยังไม่ทราบถึงชื่อวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจน เนื่องจากการใช้ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์เพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอต่อการเผยแพร่ผลงานวิจัยของผักมะไห่ในวารสารระดับนานาชาติ ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาเพิ่มเติมเพื่อใช้ข้อมูลทางชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการจัดจำแนกชนิดและใช้เป็นข้อมูลในการยืนยันชื่อวิทยาศาสตร์ของผักมะไห่ นอกจากนี้ควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดผักมะไห่เพิ่มเติม ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ฤทธิ์ต้านความดันและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการนำผักมะไห่ไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

ลำน้ำ น่านฟ้า. 2558. ผักมะไห่ (ไม่ใช่มะระขี้นก มะห่อย หรือผักไส่). (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.bansuanporpeang.com/node/17657. 28 ตุลาคม 2558.

ศิรินทร หยิบโชคอนันต์ และ พินิจ ภู่สุนทรธรรม. 2551. การใช้สารสกัดจากมะระขี้นก (*Momordica charantia*) ร่วมกับอินซูลินในการรักษาสุนัขที่ป่วยเป็นเบาหวาน. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.research.chula.ac.th/web/abstract/libraly/vet15.pdf. 19 กุมภาพันธ์ 2560.

Adam, R.P 2001. Identification of essential oils components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Illinois, USA.

Braca, A., Siciliano, T., Arrigo, M.D., Germanò, M.P. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. *Fitoterapia*, 79: 123-125.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A. and Rakariyatham, N. 2005. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chem*. 92: 491-497.

Ekezie, F.-G. C., Suneetha, W. J., Maheswari, K.U. and Kumari, A. 2016. *Momordica charantia* extracts in selected media: Screening of phytochemical content and in vitro evaluation of anti-diabetic properties. *Indian J. Nutr. Diet*. 53: 164.

Gamal-Eldeen, A.M., Kawashty, S.A., Ibrahim, L.F., Shabana, M.M., El-Negoumy, S.I. 2014. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive properties of aerial part of *Vicia sativa* and its flavonoids. *J. Nat. Remedies*. 4: 81-96.

Gülçın, İ., Oktay, M., Kıreçcı, E., Küfrevıoğlu, Ö.İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem*. 83: 371-382.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*, *Food Chem*. 103: 1449-1456.

Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chem. 73: 285-290.

Kaewnarin, K., Niamsup, H., Shank, L. and Rakariyatham, N. 2014. Antioxidant and antiglycation activities of some edible and medicinal plants. *Chiang Mai J. Sci.* 41: 105-116.

Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem.* 96: 254-260.

Mahmoud, M. F., Ashry, F.E.Z.E., Maraghy, N. N. E. and Fahmy, A. 2017. Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats, *Pharm. Biol.* 55: 758-765.

Park, P.J., Je, J.Y. and Kim S.K. 2003. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hetero-chitooligosaccharides prepared from partially different deacetylated chitosans. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4930-4934.

Philip, R. A. 1999. Food Flavorings. Springer. p. 460. ISBN 978-0-8342-1621-1.

Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas, G.J.E. and Komaitis M. 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1190-1195.

Tanruean, K., Kaewnarin, K. and Rakariyatham, N. 2014. Antibacterial and antioxidant activities of *Anethum graveolens* L. dried fruit extracts. *Chiang Mai J. Sci.* 41: 649-660.

Thitilertdecha, N., Teerawutgulrag, A., and Rakariyatham, N. 2008. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT- Food Sci. Technol.* 41, 2029-2035.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.

ภาคผนวก

ภาคผนวก บทความของงานวิจัยที่ผ่านการเผยแพร่

The 2nd International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM2017)

January 25-27, 2017

Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and Biological Activities of Essential Oil from the Local Edible Plant of *Momordica* sp.

Keerati Tanruean[1]*, Piyasatree Techaput[1], Pisit Poolprasert[1], Kanjana Thananoppakun[1], Suttida Wittanalai[2] and Panawan Suttiarporn[3]

Abstract

Introduction : *Momordica* sp., local known as Puk-Mahai or Puk-Hai (Lampang), is an edible plant in the family Cucurbitaceae. A part of terminal shoot of this plant has been widely used as food. However, the researches regarding chemical constituents and biological activities of this plant are still unknown. Thus, this current study was conducted to investigate the phytochemical profile, antioxidant, antidiabetic and antimicrobial activities of the essential oil of this plant. **Materials and Methods:** The plant oil was extracted from the dried leaves and stems using stream distillation and partitioned with dichloromethane. Afterwards, the essential oil was obtained after evaporation of the dichloromethane. The chemical compositions were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total phenolic and total flavonoid contents were also determined using folin-Ciocalteu method and aluminium chloride colorimetric method, respectively. The antioxidant and antidiabetic activities were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) scavenging assay and α-glucosidase inhibition model. The essential oil was tested for antimicrobial activity against six pathogenic microorganisms (*Bacillus cereus, B. subtilis, Candida albicans, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens* and *Salmonella typhi*) by paper disc-diffusion method. **Results:** GC-MS analysis results revealed that seven volatile constituents were identified and the major component was anethole. Total phenolic content (65.6 mg gallic acid equivalent/ g extract) and total flavonoid content (42.6 mg quercetin equivalent/ g extract) were observed. The essential oil showed antioxidant activity with an IC_{50} 1.8 mg/mL and antidiabetic activity with a percent inhibition of 9.3 at 0.1 mg/mL. Furthermore, the essential oil exhibited antimicrobial activity against all tested pathogenic microorganisms in the inhibition zone. **Conclusion:** The essential oil of *Momordica* sp. presented anethole, a phenylpropanoid that is widely used as flavoring substance, as the major compound, and exhibited potential of antimicrobial activity. Therefore, the essential oil of *Momordica* sp. in this study is feasibility to develop for use as natural flavoring and antimicrobial agent in food and cosmetic fields in the future.

Keywords: *Momordica* sp., GC-MS, essential oil, anethole, antioxidant activity, antidiabetic acitivity, antimicrobial activity

---

[1]Biology program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang, Phitsanulok 65000, Thailand.

[2]Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Muang, Uttaradit 53000, Thailand.

[3]Faculty of Science, Energy and Environment, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Rayong Campus, Bankhai, Rayong 21120, Thailand.

***Corresponding author**: Keerati Tanruean, Biology program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang, Phitsanulok 65000, Thailand. E-mail: keerati.t@psru.ac.th

1. Introduction

Plants are known as essential source materials in the medicine, pharmaceutics, foods, beverages and cosmetic fields. Numerous effective metabolites occur in plant possess. Moreover, many beneficial biological activities, such as anticancer, anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant properties have also been presented (Gülçın et al., 2003; Gamal-Eldeen et al., 2014). In northern Thailand, *Momordica* sp., colloquially known as "Puk-Mahai" or "Puk-Hai" (Lampang), is one of the local edible plants belonging to the family Cucurbitaceae (Figure 1). This plant is considered as a climbing plant that has leaf tendril, cordate leaves with an acuminated apex and dentate, and typically has length up to 7.5 cm wide and 13.0 cm long. The terminal shoot of this plant is usually used as foods. However, there have been very little complied research data on this plant, especially the study of phytochemicals and biological activities like antioxidant, antidiabetic and antimicrobial activities. Therefore, the main aim of the present study was to investigate and report the phytochemicals and biological activities of the essential oil of *Momordica* sp. found from Thailand.

Figure 1: *Momordica* sp. leaves, stem, flower and tendril

2. Materials and Methods

Collection of plant material

The leaves and stems of plant materials, *Momordica* sp., were collected from the local area in Lampang province, upper northern part of Thailand. The plants were dried at 45°C for 72 hours, ground into small pieces and stored at room temperature for further extraction.

Preparation of the essential oil

The essential oil was extracted from the dried leaves and stems by stream distillation and partitioned with dichloromethane for 3 hours. The essential oil was obtained after evaporation of the dichloromethane. After that, the essential oil was dehydrated with anhydrous sodium sulphate and stored at 4°C for further analysis

Gas chromatography-mass spectrometry analysis

The analysis of the essential oil composition was performed using a Gas Chromatography (GC) 6890 Agilent Technologies/MSD 5973 Hewlett Packard, equipped with a mass selective detector and HP-5MS capillary column (bonded and cross-linked 5% phenyl-methylpolysiloxane 30 m × 0.25 µm, film thickness 0.25 µm).

The injector temperatures were set at 250°C. The oven temperature was started at 45°C min, then programmed to 250°C at a rate of 3°C /min and held at 250°C for 5 min. Helium was the carrier gas, at a flow rate of 1 mL/min. 1 µL of diluted essential oil (1/5 in dichloromethane, v/v) was injected in the split mode.

MS detection of an electron ionization system with ionization energy of 70 eV was used. GC-MS transfer line temperature were set at 280°C; ion source temperature 230°C; quadrupole temperature 150°C; mass range (mass to charge ratio, *m/z*) 29-550. The components were identified based on a comparison of their relative retention times and the mass spectra with W8N08 and Wiley7n libraries data of the GC-MS system, and previous literature data (Adam, 2001).

Determination of total flavonoid contents

The total flavonoid contents were determined by the method of Kaewnarin et al. (2014) with slightly modification. The extract (0.5 mL) was mixed with 2 mL of methanol, followed by the addition 0.15 mL of 50 g/L $NaNO_2$. After 5 min, 0.15 mL of 100 g/L $AlCl_3$ was added. The reaction was mixed and incubated at room temperature for 15 min, and the absorbance was measured at 415 nm. Quercetin solution was used as a standard for the determination and the results were expressed as mg quercetin equivalent (QE)/g dry extract. The data were presented as the average of the triplicate analyses.

Determination of total phenolic contents

Total phenolic contents were estimated using the protocol of Thitilertdecha et al. (2008) with slight modifications. The procedure involved of combining 0.25 mL of sample (1 mg/mL) with 2.5 mL of deionized water and 0.5 mL of folin-ciocalteu reagent. After 5 min, 0.5 mL of 20% (w/v) Na_2CO_3 was added, and the solution was incubated for 1 hours at room temperature. Absorbance was then measured at 760 nm. Gallic acid solution was used as a standard for the determination and the results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry extract. The data were presented as the average of the triplicate analyses.

Determination of antidiabetic activity

α-Glucosidase (AGH) solution was prepared from rat intestinal acetone powder by partial modification of the procedure reported by Oki et al (1999). 100 mg of intestinal acetone powder was added to 3 mL of 0.9% NaCl solution, homogenized with the sonication and kept in an ice bath. After centrifugation at 6,000 rpm for 30 min at 4°C, the resulting supernatant was kept cold and directly subjected to inhibitory assay. The AGH inhibitory activity was determined by modifying the procedure of Adisakwatana et al. (2009). The 20 µL of the essential oil solution (0.1 mg/mL) was incubated with the AGH solution (10 µL) for 15 min at 37°C. After that, 70 µL of 37 mM D-maltose was added and incubated for 15 min at 37°C. The reaction was stopped in boiling water for 10 min. The concentration of released glucose of the reaction mixtures was determined using the glucose oxidase test. The 900 µL of PGO reagent containing 1 capsule of PGO enzymes to 100 mL of water and 1.6 mL of *o*-dianisidine solution was then added to the reaction mixture and it was then mixed for 30 min at 37°C in water bath. The absorbance of AGH activity was measured at 450 nm. The assay was defined as the percent inhibition under the assay conditions, which was calculated according to the formula:

Percent inhibition = $(A_c - A_s / A_c) \times 100$

Where A_c is the absorbance of the control, and A_s is the absorbance of the mixture containing the test compound. The data were presented as the average of the triplicate analyses.

DPPH free radical scavenging assay

The free radical scavenging ability was determined according to the method of Gülçin et al. (2003) with slight modifications. The 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical ($DPPH^{\bullet}$) solution in ethanol (0.1 mM, 1.5 mL) was mixed with 0.5 mL of different concentrations of each extract, and methanol was used as the control. The mixtures were well shaken and kept at room temperature for 30 min in the dark. The absorbance was measured at 517 nm and gallic acid was used as the comparative standard. The percent of $DPPH^{\bullet}$ discoloration of the samples was calculated according to the formula:

Percent inhibition = $(A_c - A_s / A_c) \times 100$

Where A_c is the absorbance of the control, and A_s is the absorbance of the mixture containing the test compound. The test sample concentrations providing 50% inhibition (IC_{50}) were calculated from the plot of inhibition percentage against extract concentration values. The radical scavenging ability was presented IC_{50} values. The data were presented as the average of the triplicate analyses.

Antimicrobial activity

The essential oil of *Momordica* sp. was dissolved in methanol. Antimicrobial tests, *B. cereus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *E. coli*, *P. fluorescens* and *S. typhi*, were carried out by disc diffusion method using microbial suspensions which equilibrated their concentration to a 0.5 McFarland standard. 100 µL suspensions of each microbial tested spread on Mueller-Hinton agar (MHA) medium. The disc (6 mm in diameter) was impregnated with 10 µL of the essential oil solution (10 mg/mL) and then placed on the inoculated agar. Negative control was prepared using the methanol. The inoculated plates were incubated at 37°C for 24 hours. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the zone of inhibition against the tested microorganisms.

3. Results and Discussion

The phytochemicals of essential oil extracted from leaves and stems of *Momordica* sp. were analyzed by GC/MS. Each compound was identified based on mass spectral matching (≥90%) from W8N08 and Wiley7n libraries. The chemical components and GC chromatogram are shown in Table 1 and Figure 2, respectively. Seven components including anethole, *p*-acetonylanisole, caryophyllene, humulene, pamitic acid, phytol and 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl phenol were identified, which represented a total of 80.8%. In which, anethole (66.7%) was found as the major component. In this regard, no such chemical compounds from leaves and stems of the genus Momordica have been reported. Nonetheless, Braca et al. (2008) observed the chemical constituents especially from seed essential oil. The results revealed that *trans*-nerolidol, apiole, *cis*-dihydrocarveol and germacrene D were the main compounds. Therefore, all chemical compositions from leaves and stems parts in this plant oil are considered as the first report in this time. Moreover, the total phenolic and total flavonoid content were 65.6 mg gallic acid equivalent/ g extract and total flavonoid content 42.6 mg quercetin equivalent/ g extract.

The results of regarding the bioactivities i.e. antioxidant, antidiabetic and antimicrobial activities of the *Momordica* sp. essential oil are presented in Table 2. In the $DPPH^{\bullet}$ scavenging system, the IC_{50} of the essential oil was 1.8 mg/mL which was not displayed good antioxidant activity. As same to the antioxidant activity, the results of the antidiabetic assay based on the α-glucosidase inhibition model showed that the essential oil could exhibited antidiabetic activity with a percent inhibition of 9.3, which was too low when compared to the standard antidiabetic agent (acarbose; 64.1%). In the antimicrobial activity assay, the essential oil of *Momordica* sp. could protect against six pathogenic microorganisms including *B. cereus*, *B.*

subtilis, *C albicans*, *E coli*, *P fluorescens* and *S typhi* with an inhibition zone of 13.3, 13.0, 13.3, 11.7, 13.3 and 11.0 mm, respectively (Table 3). These results correspond with Gulluce et al. (2007) and Tanruean et al. (2014), which reported that the essential oil fraction played poor antioxidant activity when compared with the extract from more polar solvent. On the other hand, the essential oil fraction usually possessed more antimicrobial activity than the extract from more polar solvent.

Table 1: Volatile constituents of *Momordica* sp. essential oil and their relative peak area (%) obtained from GC-MS

Peak No.	RI[a]	RI[b]	Assignment compounds	Relative peak area (%)
1	1284	1289	Anethole	66.7
2	1382	1385	*p*-Acetonylanisole	0.5
3	1406	1417	Caryophyllene	2.3
4	1442	1452	Humulene	0.6
5	1960	1964	Pamitic acid	0.6
6	2100	2122	Phytol	3.2
7	-	-	2,2'-Methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- phenol	6.9
			Total	**80.8**

[a] Retention indices using a HP-5MS column
[b] Retention indices from literatures

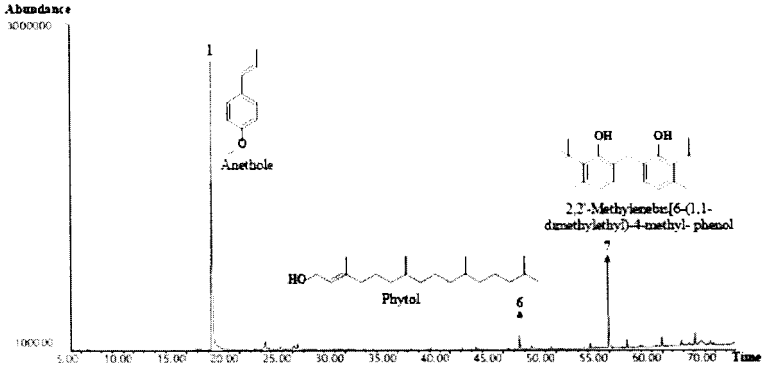


Figure 2: GC chromatogram of essential oil of *Momordica* sp.

Table 2: Total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant and antidiabetic activities of the *Momordica* sp. essential oil

Assays	*Momordica* sp. essential oil
Total phenolic content (mg GAE/g extract)	65.6±2.6
Total flavonoid content (mg QE/g extract)	42.6±0.8
DPPH free radical scavenging activity (IC_{50} mg/mL)	1.8±0.1
*Antidiabetic activity (%)	9.3±1.2

Average ± standard deviation from three replicates
*Antidiabetic activity was studied at 0.1 mg/mL

Table 3: Antimicrobial activities of the essential oil of the *Momordica* sp.

Microorganisms	Clear zone (mm)
Bacillus cereus	13.3±0.6
Bacillus subtilis	13.0±1.0
Candida albicans	13.3±1.5
Escherichia coli	11.7±0.6
Pseudomonas fluorescens	13.3±1.2
Salmonella typhi	11.0±1.0

Average ± standard deviation from three replicates

4. Conclusions

This study can be concluded that the essential oil of *Momordica* sp. could be identified as candidates for a natural flavoring and antimicrobial agents which are likely to further develop for being used as natural flavoring and antimicrobial agent in food and cosmetic fields in the future.

Acknowledgement

This work was financially supported by the Research and Development Institute of Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, Thailand.

References

Adams RP, 2001 *Identification of essential oils components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy*, Allured Publishing Corporation, Illinois, USA.

Adisakwattana S, Charoenlertkul P, Thammarat H., Yibchok-Anun S. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α-glucosidase.*J Enzyme Inhib Med Chem.* 2009; 24: 1194-1200.

Braca A, Siciliano T, Arrigo MD, Germanò MP. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. Fitoterapia. 2008; 79: 123-125.

Gamal-Eldeen AM, Kawashty SA, Ibrahim LF, Shabana MM, El-Negoumy SI. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive properties of aerial part of *Vicia sativa* and its flavonoids. *J Nat Remedies.* 2014; 4: 81-96.

Gülçın İ, Oktay M, Kıreçcı E, Küfrevıoğlu Öİ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem.* 2003; 83: 371-382.

Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A, Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*, *Food Chem.* 2007; 103: 1449-1456.

Kaewnarin K, Niamsup H, Shank L, Rakariyatham N. Antioxidant and antiglycation activities of some edible and medicinal plants. *Chiang Mai J. Sci.* 2014; 41: 105-116.

Oki T, Matsui T, Osajima Y. Inhibitory effect of alpha-glucosidase inhibitors varies according to its origin. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 550-503.

Tanruean K, Kaewnarin K, Rakariyatham N. Antibacterial and antioxidant activities of *Anethum graveolens* L. dried fruit extracts. *Chiang Mai J. Sci.* 2014; 41: 649-660.

Thitilertdecha N, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT-Food Sci Technol.* 2008; 41: 2029-2035.

ประวัติผู้วิจัย

1. **ชื่อ-นามสกุล** (ภาษาไทย) ดร. กีรติ ตันเรือน
   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Dr. Keerati Tanruean
2. **หมายเลขบัตรประชาชน** 3521000039625
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** อาจารย์
4. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก** สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
   มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ต.พลายชุมพล
   อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000
   โทรศัพท์ 055-267107
   โทรศัพท์มือถือ 0814735965
   E-mail: keerati.t@psru.ac.th

ที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ต. พลายชุมพล อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

5. **ประวัติการศึกษา**

วุฒิการศึกษา	สถาบัน	สาขาวิชา	ปีที่จบการศึกษา
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	เทคโนโลยีชีวภาพ	2557
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	เทคโนโลยีชีวภาพ	2552
วิทยาศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี	2549

6. **สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ**
   ชีวเคมี เทคโนโลยีชีวภาพและจุลชีววิทยา
7. **ประสบการณ์เกี่ยวกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

ปี (ระยะเวลา)	สถานะ	เรื่อง(แหล่งทุน)
2552-2554 (2 ปี)	หัวหน้าโครงการ	การผลิตวานิลลินด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ (บริษัทลานนาโปรดักส์ / เสร็จสิ้นโครงการแล้ว)
2553-2554	ผู้ร่วมวิจัย	โครงการการศึกษาระบบการจัดการอาหารนำเข้าที่ด่านอาหารและยาของประเทศไทย (สำนักงานกองทุนสร้างเสริมสุขภาพและแผนงานสร้างเสริมนโยบายสาธารณะที่ดี/ เสร็จสิ้นโครงการแล้ว)
2552-2553	ผู้ร่วมวิจัย	โครงการการศึกษาระบบการจัดการอาหารนำเข้าที่ด่านอาหารและยาในภาคเหนือของประเทศไทย (สำนักงานกองทุนสร้างเสริมสุขภาพและแผนงานสร้างเสริมนโยบายสาธารณะที่ดี/ เสร็จสิ้นโครงการแล้ว)

8. ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

- **Keerati Tanruean**, Khwanta Kaewnarin, Nakarin Suwannarach and Saisamorn Lumyong, Comparative evaluation of phytochemicals, and antidiabetic and antioxidant activities of *Cuscuta reflexa* Roxb. grown on different hosts in northern Thailand, *Natural Product Communications,* 2017, 12(1), 51-54.

- **Keerati Tanruean** and Nuansri Rakariyatham, Optimization of Cultural Conditions for Maximum 4-Vinyl guaiacol Production from Ferulic acid by *Volvariella volvacea, Chiang Mai Journal of Science,* 2016, 43(5), 1027-1036.

- **Keerati Tanruean** and Nuansri Rakariyatham, Efficient synthesis of 4-vinyl guaiacol via bioconversion of ferulic acid by *Volvariella volvacea, Chiang Mai Journal of Science,* 2016, 43(1), 1212-1222.

- **Keerati Tanruean**, Khwanta Kaewnarin and Nuansri Rakariyatham, Antibacterial and antioxidant activities of *Anethum graveolens* L. dried fruit extracts, *Chiang Mai Journal of Science*, 2014, 41(3), 649-660.

- **Keerati Tanruean**, Nopakarn Chandet and Nuansri Rakariyatham, Bioconversion of ferulic acid into high value metabolites by white rot fungi isolated from fruiting-body of the polypore mushroom, *Journal of Medical and Bioengineering*, 2013, 2(3), 168-172.