ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] และผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*)

นายวิโรจน์ เชาว์วิเศษ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2550

EFFECT OF ZINC ON PUERARIN ACCUMULATION IN TUBEROUS ROOTS OF WHITE KWAO KRUA [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] AND THE EFFECT OF WHITE KWAO KRUA CRUDE EXTRACT ON VASCULAR RELAXATION IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Wirot Chaowiset

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Crop Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2007

ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] และผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร.สุดชล วุ้นประเสริฐ)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.ยุวดี มานะเกษม)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.พูนศุข ศรีโยธา)
กรรมการ

(ผศ. สพ.ญ. ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์)
กรรมการ

(รศ. ดร.เสาวณีย์ รัตนพานี)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

วิโรจน์ เชาว์วิเศษ : ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] และผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*) [EFFECT OF ZINC ON PUERARIN ACCUMULATION IN TUBEROUS ROOTS OF WHITE KWAO KRUA [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] AND THE EFFECT OF WHITE KWAO KRUA CRUDE EXTRACT ON VASCULAR RELAXATION IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*).] อ.ที่ปรึกษา : ผศ. ดร.ยุวดี มานะเกษม, 89 หน้า.

Puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] มีฤทธิ์ช่วยในการคลายตัวของหลอดเลือด ได้ทำการทดลอง 2 การทดลองในปี 2549-2550 ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ จำนวน 5 ทรีตเมนท์ คือ ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า การฉีดพ่นด้วยสังกะสีทุกความเข้มข้นให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ทำให้ปริมาณ puerarin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ปริมาณ puerarin สูงที่สุด 194.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือขาวจากการทดลองที่ 1 ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*) ผลการทดลองพบว่า สารสกัดกวาวเครือขาวทุกทรีตเมนท์ทำให้หลอดเลือดหนูขาวมีการคลายตัวมากกว่าช่วงที่ไม่ได้รับสารสกัดกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้หลอดเลือดหนูขาวมีการคลายตัวสูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวน้อยที่สุด 51.0 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น สารสกัดกวาวเครือขาวมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว และการฉีดพ่นสังกะสีให้กับกวาวเครือขาวสามารถเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

WIROT CHAOWISET : EFFECT OF ZINC ON PUERARIN ACCUMULATION IN TUBEROUS ROOTS OF WHITE KWAO KRUA [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] AND THE EFFECT OF WHITE KWAO KRUA CRUDE EXTRACT ON VASCULAR RELAXATION IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*). THESIS ADVISOR : ASST. PROF. YUVADEE MANAKASEM, Ph.D., 89 PP.

ZINC/ PUERARIN/ WHITE KWAO KRUA/ VASCULAR RELAXATION/ RATS

Puerarin in the tuberous roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] can promote vascular relaxation. Two experiments were conducted during the period 2006-2007 at Suranaree University of Technology. The first experiment investigated the effect of zinc on puerarin accumulation in tuberous roots of White Kwao Krua. The experiment was a RCBD with 4 replications and 5 treatments of zinc concentration levels. The White Kwao Krua were sprayed with zinc at concentrations of 0 (distilled water), 50, 100, 200 and 300 mg/L. The results showed that zinc concentration had no statistically significant effect on the diameter, fresh weight, dry weight and moisture content of the tuberous roots. However, it had a statistically significant effect on the amount of puerarin. Zinc at the concentration of 200 mg/L gave the highest amount of puerarin (194.3 μg/g in dry weight). The second experiment studied the effect of White Kwao Krua crude extract from experiment 1 on vascular relaxation in white rats (*Rattus norvegicus*). The results showed that blood vessels which were treated with White Kwao Krua crude extract at every treatment from experiment 1 resulted in highly

significant differences in vascular relaxation compared with untreated blood vessels. The blood vessels of white rats that were treated with acetylcholine together with White Kwao Krua crude extract at the concentration of zinc 200 mg/L gave the highest relaxation. They had the smallest area under the curve (AUC) of vascular contraction (51.0%). Therefore, the White Kwao Krua crude extract showed vascular relaxation in white rats, and spraying zinc onto the White Kwao Krua can increase puerarin in tuberous roots.

School of Crop Production Technology
Academic Year 2007

Student's Signature W. Chaowiset
Advisor's Signature Y. Manakasem
Co-advisor's Signature P. Sriyotha
Co-advisor's Signature S. Kupittayanant

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคลต่าง ๆ ที่ได้ช่วยเหลือและสนับสนุนให้การดำเนินการวิจัยในครั้งสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ผศ. ดร.ยุวดี มานะเกษม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร.พูนศุข ศรีโยธา และ ผศ. สพ.ญ. ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาทางด้านวิชาการและการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

คุณนวลปรางค์ อุทัยดา และคุณสมยง พิมพ์พรม เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยเหลือและจัดเตรียมอุปกรณ์ในการทำวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

คุณจรรจิรา วงศ์วิวัฒนา และคุณนงนภัส โฆษวิฑิตกุล เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ธาตุและสารประกอบ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่กรุณาให้คำปรึกษาในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์สาร และการแปลผลทางด้านเคมี

คุณวัชระ วงศ์วิริยะ เจ้าหน้าที่ประจำอาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่อำนวยความสะดวกในการเตรียมหนูทดลอง

คุณนพรัตน์ พุทธกาล ที่กรุณาให้คำปรึกษาในด้านการใช้เครื่องมือวิเคราะห์การหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ และการแปลผลการทดลอง

ขอขอบคุณเป็นพิเศษ คุณสุพินญา บุญมานพ คุณเกษร เมืองทิพย์ คุณพรพรรณ อู่สุวรรณ คุณบุญร่วม คิดค้า คุณจารุจินันท์ หล้ากวนวัน คุณจุฬาลักษณ์ ทวีบุตร คุณพรสวรรค์ ทองใบ และผู้มีน้ำใจทุกท่านที่ช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ที่ทำให้การปฏิบัติงานเป็นไปได้ด้วยดี

ท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวเชาว์วิเศษ ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อ รวมถึงเป็นที่ปรึกษาและคอยให้กำลังใจเสมอมา จนทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการศึกษา และการดำเนินชีวิตตลอดมา

วิโรจน์ เชาว์วิเศษ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ง

สารบัญ ..... จ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ 3

1.6 รายการอ้างอิง 3

2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชื่อของกวาวเครือขาว 6

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปของกวาวเครือขาว 6

2.3 การเจริญเติบโตของกวาวเครือขาว 10

2.4 นิเวศวิทยาของกวาวเครือขาว 13

2.5 สรรพคุณของกวาวเครือขาวตามตำรายาไทย 13

2.6 สารประกอบทางเคมีที่พบในหัวกวาวเครือขาว 13

2.7 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของกวาวเครือขาว 17

2.8 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ puerarin 18

2.9 จุลธาตุอาหารและความสมดุลในพืช 18

2.10 อิทธิพลของจุลธาตุอาหารต่อการสร้างสาร isoflavones 22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.11 บทบาทของกวาวเครือขาวต่อสุขภาพ 23
2.12 Portal vein และการไหลเวียนของเลือด 24
2.13 หนูขาวหรือหนูแรท (*Rattus norvegicus*) 25
2.14 รายการอ้างอิง 28

3 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham]

บทคัดย่อ 34
3.1 บทนำ 34
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 35
3.3 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 42
3.4 สรุปผลการวิจัย 54
3.5 รายการอ้างอิง 54

4 ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*)

บทคัดย่อ 58
4.1 บทนำ 58
4.2 วิธีดำเนินการวิจัย 59
4.3 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 62
4.4 สรุปผลการวิจัย 68
4.5 รายการอ้างอิง 68

5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] 71

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.2 ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*) 71

5.3 ข้อแสนอแนะ 72

ภาคผนวก 73

ประวัติผู้เขียน 89

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ความเข้มข้นโดยประมาณของจุลธาตุอาหารในใบพืชทั่ว ๆ ไปที่แก่เต็มที่ 20

2.2 กรงที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูแรท 26

3.1 Gradient ของ mobile phase (A) และ (B) 41

ตารางภาคผนวกที่

1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง 76

2 ANOVA ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว 77
ที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

3 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร 77
ของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1

4 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร 78
ของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2

5 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร 78
ของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3

6 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง 79

7 ANOVA ของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว 79
ที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

8 ปริมาณ puerarin จากตัวอย่างที่เก็บครั้งที่ 1-3 80

9 ANOVA ของปริมาณ puerarin จากตัวอย่างที่เก็บครั้งที่ 1-3 80

10 ปริมาณ puerarin เฉลี่ยจากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว 81
ที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

11 ANOVA ของปริมาณ puerarin จากตัวอย่างรากสะสมอาหาร 81
ของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

12 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาว.....82
ช่วงที่ให้สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine
13 ANOVA ของพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาว.....82
ช่วงที่ให้สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 หัว (รากสะสมอาหาร)ของกวาวเครือขาว 7
2.2 ต้นของกวาวเครือขาว 8
2.3 ใบของกวาวเครือขาว 8
2.4 ช่อดอกของกวาวเครือขาว 9
2.5 ฝักของกวาวเครือขาว 9
2.6 เมล็ดของกวาวเครือขาว 9
2.7 การเจริญเติบโตและการพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือขาว ที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา 12
2.8 สารกลุ่ม isoflavones 14
2.9 โครงสร้างของ puerarin 14
2.10 โครงสร้างของ coumestrol 15
2.11 โครงสร้างของ และ mirificoumestan 15
2.12 โครงสร้างของ miroestrol 16
2.13 โครงสร้างของ β-sitosterol 16
2.14 โครงสร้างของ stigmasterol 16
2.15 ตำแหน่งของหลอดเลือด portal vein (hepatic portal) 25
3.1 แผนผังแสดงการปลูกกวาวเครือขาว ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 37
3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการตรวจหา puerarin ด้วย TLC และขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณ puerarin ด้วยวิธี HPLC 39
3.3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว จากตัวอย่างที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง 43
3.4 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว จากตัวอย่างที่เก็บทั้ง 3 44
3.5 TLC โครมาโตแกรมของ puerarin มาตรฐาน และ puerarin (R_f = 0.81) จากสารสกัดกวาวเครือขาว ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ n-butanol : acetic acid : water (5/3/3, v/v/v) 45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.6 HPLC โครมาโตแกรมของ puerarin มาตรฐาน ตรวจโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร 46

3.7 HPLC โครมาโตแกรมของ puerarin จากสารสกัดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวตรวจโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร 47

3.8 UV spectrum โครมาโตแกรมของ puerarin จากสารสกัดกวาวเครือขาว (A) และของpuerarin มาตรฐาน (B) ตรวจโดยใช้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร 48

3.9 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งแรก (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 2 เดือน) 49

3.10 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 4 เดือน) 50

3.11 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 6 เดือน) 50

3.12 ปริมาณ puerarin เฉลี่ยจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง 51

3.13 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1-3 52

4.1 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine 63

4.2 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร DMSO 64

4.3 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine และ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ที่ 4 65

4.4 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อให้สารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองที่ 1 66

ภาพผนวกที่

1 Diagram แสดงขั้นตอนชีวสังเคราะห์ puerarin 74

2 Diagram แสดงขั้นตอนชีวสังเคราะห์ puerarin จาก Shikimic acid pathway 75

3 กราฟมาตรฐานของ puerarin 76

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

4 หนูขาวสายพันธุ์ Wistar Rat 83

5 เครื่องบันทึกการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ (PowerLab System) 83
Instrument และ PowerLab/4SP AD Organ bath system

6 ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ภายนอกเซลล์ (pH_o) ต่อการหดตัวของ portal vein 84
ของหนูตะเภา A: ผลต่อ force, the indo 1 ratio, และ pH_i. B: ผลของ pH_o ต่อ force, the indo 1 ratio และ pH_i on a 2 μM norepinephrine (NE)-precontracted strip. C: ผลของการเปลี่ยนแปลง pH_o ต่อ force, the indo 1 ratio, และ pH_i on a 100 mM KCl-precontracted strip on a 100 mM KCl-precontracted strip

7 ผลของความเข้มข้นของ flavones (open square) galangin (solid squares), ... 85
xanthomicrol (open circles), crysin (solid circles) และ quercetin (triangles)
ต่อการคลายตัวของลำไส้หนู

8 ผลของ genistein ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดกระต่าย 86

9 เครื่อง HPLC 87

10 เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator 88

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมใช้มาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ หลายด้าน เช่น ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ ยาบำรุงสุขภาพ และยาบำรุงสตรีที่มีประจำเดือนไม่ปกติ แก้อาการอ่อนเพลีย ทำให้รับประทานอาหารได้ดี บำรุงสมอง บำรุงโลหิต บำรุงกำลัง แก้ปวดเมื่อยตามลำตัว แก้ตาต้อ (หลวงอนุสารสุนทร, 2474) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากวาวเครือขาวสามารถช่วยลดการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก ตลอดจนโรคหลอดเลือดและหัวใจที่เกิดในสตรีวัยทอง (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการบาดเจ็บของเซลล์สมองใน human neuroblastoma ได้ (สายัณห์ สวัสดิ์ศรี และคณะ, 2546) ช่วยลดการเกิดภาวะกระดูกพรุนที่มีสาเหตุจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน (สมภพ ประธานธุรารักษ์, 2542; Knight and Eden , 1996) ผลทางยาดังกล่าวเกิดจากสารในหัวกวาวเครือขาวที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนในเพศหญิง (Ingham *et al*.,1986; Ingham *et al*., 1989) สารเหล่านี้ได้แก่ สารในกลุ่ม isoflavones เช่น daidzein, genistein, genistin, formononetin และ puerarin กลุ่ม coumarin และกลุ่ม chromene เป็นต้น (รุจน์ สุทธิศรี, 2547) นอกจากนี้ยังพบว่าสารในกลุ่ม flavonoids มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Terao *et al*., 1994; Bos *et al*., 1996; Guo *et al*., 1999; Meng and Wang, 2001) และยังมีรายงานว่า puerarin มีฤทธิ์ช่วยคลายตัวของหลอดเลือด และเพิ่มการไหลเวียนของเลือดซึ่งช่วยลดภาวะหลอดเลือดอุดตัน และลดการเกิดโรคเกี่ยวกับความดันโลหิตสูง (John *et al*., 2004) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิต และเป็นปัญหามากที่สุดของประเทศไทย (สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์, 2549) นอกจากนี้ puerarin ยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็งโดยไปยับยั้งการกลายลักษณะของเซลล์ที่จะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ (Frank *et al*., 1994)

ประเทศไทยส่งออกสมุนไพรปีละหลายร้อยล้านบาท และปริมาณการส่งออกเพิ่มมากขึ้นทุกปี (วันดี กฤษณะพันธ์, 2536) กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ความต้องการใช้เป็นยาบำรุงโลหิต ยาบำรุงสุขภาพ ยารักษาโรค และผลิตภัณฑ์เสริมความงามมีเพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณของกวาวเครือขาวในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว การปลูกกวาว-เครือขาวเพื่อทดแทนมีน้อย อีกทั้งดอกและฝักของกวาวเครือขาวมีอัตราการหลุดร่วงสูง ซึ่งเป็นผล

มาจากช่วงที่มีการออกดอกและติดฝักมีปริมาณน้ำฝนน้อย แห้งแล้ง และความชื้นในดินต่ำ ประกอบกับกวาวเครือขาวติดเมล็ดน้อย เมล็ดส่วนใหญ่ไม่สมบูรณ์ ต้นอ่อนและใบเลี้ยงภายในเมล็ดมีขนาดเล็ก กลุ่มเซลล์ที่เป็นโครงสร้างในใบเลี้ยงมีอาหารสะสมน้อย ทำให้อัตราการเกิดเป็นต้นใหม่มีน้อย (ประสาร ฉลาดคิด, 2546) นอกจากนี้ หัวกวาวเครือขาวที่จะนำมาใช้นั้นควรจะมีสารที่มีฤทธิ์ทางยาในปริมาณสูงด้วย เนื่องจากคุณภาพของสมุนไพรนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรนั้นเป็นหลัก (วันดี กฤษณพันธ์, 2539) ดังนั้น การศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการสะสมสารที่มีฤทธิ์ทางยาในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวจึงเป็นเรื่องสำคัญ และจะก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมากทั้งในเรื่องของปริมาณและคุณภาพ การศึกษาฤทธิ์ของสารประกอบในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่ผ่านมา ได้ก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมากในทางการแพทย์ ไม่ว่าจะเป็นฤทธิ์ของสารในกลุ่ม miroestrol กลุ่ม coumarin กลุ่ม chromeme กลุ่ม flavonoids และการใช้ประโยชน์ของ puerarin เป็นต้น การศึกษาการเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวจึงเป็นสิ่งสำคัญ และเป็นประโยชน์สำหรับนำไปใช้ในทางการแพทย์ธุรกิจสมุนไพร จากการศึกษามูลค่าการบริโภคผลิตภัณฑ์สมุนไพรผ่านร้านยาในประเทศไทย พบว่า ยาบำรุงโลหิตเป็นยาที่ประชาชนจ่ายเงินเพื่อการบริโภคเป็นอันดับหนึ่ง (อาทร ริ้วไพบูลย์, 2546) นอกจากนี้กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรที่ช่วยบำรุงโลหิต การศึกษาการเพิ่มปริมาณของ puerarin โดยการให้ธาตุสังกะสีจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถเพิ่มการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวได้ รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มี puerarin เป็นส่วนประกอบต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาต่อการรักษาโรคความดันโลหิตสูง ภาวะเส้นเลือดอุดตัน และโรคที่มีสาเหตุจากความดันโลหิตสูงอื่น ๆ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวซึ่งได้รับธาตุสังกะสีทางใบ อันเป็นแนวทางในการจัดการธาตุสังกะสีในการปลูกกวาวเครือขาว

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่มี puerarin เป็นส่วนประกอบต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการใช้เป็นยาลดความดันโลหิตและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องในทางเภสัชวิทยา

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความเข้มข้นของธาตุสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวในแปลงทดลอง เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเทคโนโลยี และเพิ่มคุณภาพของ

กวาวเครือขาวโดยการเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหาร และศึกษาอิทธิพลของสารสกัดจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่มี puerarin เป็นส่วนประกอบ ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวในห้องปฏิบัติการแบบ in vitro เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเภสัชวิทยาที่เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคเกี่ยวกับความดันโลหิตสูงต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ของธาตุสังกะสีต่อการเพิ่มปริมาณของ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว ซึ่งเป็นแนวทางในการจัดการธาตุสังกะสีต่อกวาวเครือขาว เพื่อเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวในแปลงปลูก

1.4.2 ได้ข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มี puerarin เป็นส่วนประกอบต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง

1.4.3 ได้แนวทางการผลิตสาร puerarin เพื่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องในการใช้รักษาโรคต่อไป

1.4.4 สามารถนำข้อมูลไปใช้ในการวางแผนการผลิต และการดำเนินธุรกิจเกี่ยวกับสมุนไพรกวาวเครือขาวได้

1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.5.1 หน่วยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ของกวาวเครือขาว

1.5.2 ผู้ปลูกกวาวเครือขาวและผู้ประกอบธุรกิจด้านสมุนไพร

1.5.3 สถาบันการศึกษาทั่วไป

1.6 รายการอ้างอิง

คณะเภสัชศาสตร์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ. (2549). **โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension).** มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.pharmacy.msu.ac.th/learning/ therapy/index.html

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว. **วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

รุจน์ สุทธิศรี, (2547). **สารเอสโตรเจนจากพืช (phyoestrogen).** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัช-ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

วันดี กฤษณพันธ์. (2539). **สมุนไพรน่ารู้.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์. (2549). **เคล็ดไม่ลับ อาหารลดความดันเลือดสูง.** [ออนไลน์]. ได้จาก http://www.tttonline.net/health_show.php?type_id=300

สมภพ ประธานธุรารักษ์. (2542). กวาวเครือและไฟโตเอสโตรเจน. ใน **ณัฐนันท์ สินชัยพานิช และคณะ. บรรณาธิการ. การประชุมเภสัชกรรมประจำปี 2542:** เภสัชกรพัฒนาเพื่อการพึ่งพาตนเอง. กรุงเทพฯ: เภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย. หน้า 25-41.

สายัณห์ สวัสดิ์ศรี บัณฑิต จันทะยานี สุรพจน์ วงศ์ใหญ่ วันเพ็ญ ทรัพย์เจริญ และ Niel, S. (2546). กวาวเครือขาวช่วยป้องกันสมองบาดเจ็บใน human neuroblastoma. ใน **เอกสารการสัมมนาการเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านการพัฒนาสมุนไพร.** สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

หลวงอนุสารสุนทร. (2474). **ตำรายาหัวกวาวเครือ.** เชียงใหม่: โรงพิมพ์อุปติพงศ์.

อาทร ริ้วไพบูลย์. (2546). **การศึกษาการบริโภคสมุนไพรผ่านร้านยาในประเทศไทยปี 2546**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

Frank, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M. and Narala, K.K. (1994). Quantization of phytoestrogen in legume by HPLC. **J. Agri. Food Chem.** 42 : 1905-1913.

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. (1986). A chemical investigation of *Pueraria mirifica* root. **Z. Natureforsch.** 41: 403-408.

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. (1989). Minor isoflavone from root of *Pueraria mirifica*. **Z. Natureforsch.** 44: 742-762.

John, I.B., Daniel, E.K. and Ashok, K.S. (2004). Effects of Purified Puerarin on Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol. **Journal of Medicinal Food.** 7(2): 180-186.

Bos, M.A., Vennat, B., Meunier, M.T., Pourrat, A. and Fialip, J. (1996). Procyanidins from tormentil: antioxidant properties towards lipo-peroxidation and anti-elastase activity. **Biol. Pharm. Bull.** 19: 146–148.

Guo, Q., Zhao, B., Shen, S., Huo, J. and Xin, W. (1999). ESR study on the structure–antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. **Biochem. Biophys. Acta**. 1427: 13-23.

Meng, D.S. and Wang, S.L. (2001). Antitumor effect of quercetin. Chin. **Tradit. Herb. Drugs.** 32: 186–188.

Terao, J., Piskula, M. and Yao, Q. (1994). Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. **Arch. Biochem. Biophys.** 308: 278–284

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชื่อของกวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวที่รู้จักกันในปัจจุบัน เดิมมีความเข้าใจกันว่าเป็น *Butca superba* Roxb. ซึ่งเป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) จนกระทั่งในปี พ.ศ.2496 Suvatabandhu และ Airy Shaw พบว่า กวาวเครือขาวเป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Pueraria* จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) เช่นเดียวกัน จึงได้กำหนดชื่อวิทยาศาสตร์เป็น [*Pueraria mirifica* Airy Shaw et. Suvatabandhu] (Kashemsanta *et. al.*, 1952) ต่อมา ชวลิต นิยมธรรม (2538) ได้ให้ชื่อวิทยาศาสตร์ของกวาวเครือขาวใหม่เป็น [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] เนื่องจากมีลักษณะใกล้เคียงกับ *Pueraria candollei* Grah. หรือที่เรียกว่า เครือเขาปู้ หรือตาลานเครือ ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoideae ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ.2518 ได้กำหนดให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวนและมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า [*Pueraria candollei* Grah. ex. Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvat) Niyomdh.] แต่ชื่อท้องถิ่นของพืชชนิดนี้ในแต่ละที่เรียกแตกต่างกัน เช่น กาวเครือ จานเครือ กวาวเครือขาว ทองเครือ ตานจอมทอง กวาวหัว ตาลานเครือ จอมทอง เป็นต้น (วุฒิ วุฒธรรมเวช, 2540)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไปของกวาวเครือขาว (ชวลิต นิยมธรรม, 2538)

2.2.1 หัว (ภาพที่ 2.1)

หัว หรือรากสะสมอาหาร (tuberous roots) มีลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดใหญ่และคอดยาวเป็นตอน ๆ ต่อเนื่องกัน ส่วนที่กลมมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 10-70 เซนติเมตร เปลือกมีลักษณะแข็ง บริเวณด้านนอกมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ความหนาของเปลือกประมาณ 2-4 มิลลิเมตร เนื้อภายในมีสีขาวขุ่นและมองเห็นเป็นวงปี

2.2.2 ลำต้น (ภาพที่ 2.2)

ลำต้นเป็นเถาขึ้นยึดเกาะกับต้นไม้ใหญ่หรือเสา อาจมีความยาวถึง 5 เมตร เถามีการแตกแขนงออกไปจากกิ่งหลัก เถาที่แก่จะมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ยอดอ่อนและกิ่งอ่อนมีสีเขียว และมีขนสั้น ๆ ปกคลุม

2.2.3 ใบ (ภาพที่ 2.3)

เป็นใบประกอบแบบขนนก ก้านหนึ่งมีใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับ ก้านใบประกอบยาว 10-28 เซนติเมตร หูใบเป็นรูปไข่ โคนใบมนหรือเป็นติ่งยื่นลงมา ใบย่อยด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนสั้นประปราย ใบย่อยใบกลางเป็นรูปไข่ กว้าง 9-15 เซนติเมตร ยาว 15-30 เซนติเมตร ปลายมนถึงเรียวแหลม โคนสอบถึงมน เส้นแขนงใบข้างละ 5-7 เส้น

2.2.4 ช่อดอก (ภาพที่ 2.4)

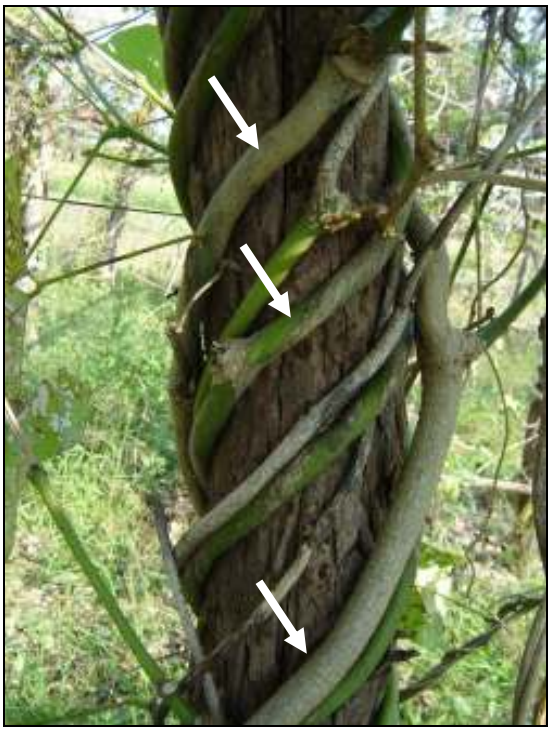
ลักษณะเป็นช่อเดี่ยว และช่อแขนง ออกตามปลายกิ่ง ยาว 20-30 เซนติเมตร ก้านช่อดอกมีขนสั้น ๆ ดอกรูปดอกถั่วขนาดยาว 4-7 เซนติเมตร กลีบรองดอกเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง มีกลีบดอก 5 กลีบ ลักษณะกลีบตั้งแผ่กว้าง กลีบข้างแคบ กลีบกระทบโค้งแหลมยาวเป็น 4-5 เท่าของกลีบรองดอก กลีบดอกมีน้ำเงินอ่อน ดอกออกเป็นกระจุกในระยะผลัดใบ กระจุกละ 3-5 ดอก

2.2.5 ฝัก และเมล็ด (ภาพที่ 2.5 และ 2.6)

ฝักมีลักษณะแบนรูปขอบขนาน ฝักแน่นเห็นก้านเด่นชัด ผิวมีขนสั้น ๆ ประปรายถึงเกลี้ยง กว้างประมาณ 7 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร มี 3-4 เมล็ดต่อฝัก เมล็ดค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร

ภาพที่ 2.1 หัว (รากสะสมอาหาร) ของกวาวเครือขาว

หมายเหตุ ถ่ายจากแปลงทดลอง ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2.2 ต้นของกวาวเครือขาว

ภาพที่ 2.3 ใบของกวาวเครือขาว

<u>หมายเหตุ</u> ภาพที่ 2.2 และ 2.3 ถ่ายจากแปลงทดลอง ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพที่ 2.4 ช่อดอกของกวาวเครือขาว

ภาพที่ 2.5 ฝักของกวาวเครือขาว

ภาพที่ 2.6 เมล็ดของกวาวเครือขาว

หมายเหตุ ภาพที่ 2.4, 2.5 และ 2.6 ถ่ายจากแปลงทดลอง ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3 การเจริญเติบโตของกวาวเครือขาว

2.3.1 การเจริญเติบโตของลำต้น หรือเครือเถา

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวในแปลงทดลองของประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า เครือเถามีการเจริญเติบโตเร็วมาก และในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้เกิดการกระตุ้นการแตกเครือเถาและใบอ่อน นอกจากนี้ ชรินทร์ วังใจ และยุทธนา สมิตะสิริ (2530) ยังพบว่าในสภาพแห้งแล้ง น้ำน้อย อุณหภูมิในตอนกลางวันประมาณ 30-37 องศาเซลเซียส ลำต้นของกวาวเครือขาวจะยืดตัวตามความยาวอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม ส่วนช่วงที่ฝนตกติดต่อกันและอุณหภูมิต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส ลำต้นจะชะงักการเจริญเติบโตด้านความสูงหรือทางความยาว แต่จะมีการเพิ่มขนาดของใบและก้านอย่างรวดเร็ว อัตราการเจริญช่วงแรกจะต่ำ แต่เมื่อความยาวของต้นอยู่ในช่วง 10-30 เซนติเมตร จะมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

2.3.2 การเจริญเติบโตของใบ

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาวตลอดปีของ วรรณลักษณ์ จันทร์เงิน และยุทธนา สมิตะสิริ (2530) พบว่า ใบของกวาวเครือขาวจะเจริญเต็มที่ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน จากนั้นใบจะเริ่มหลุดร่วงในเดือนตุลาคม และทิ้งใบหมดต้นในเดือนธันวาคม ช่วงเดือนมีนาคมถึงต้นเดือนเมษายนจะเริ่มแตกใบใหม่ ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ปริมาณน้ำฝนน้อย ประสาร ฉลาดคิด (2546) ได้วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์กับการผลัดใบพบว่ามีความสัมพันธ์กัน โดยความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจะทำให้เกิดการร่วงของใบสูง สรุปได้ว่าความชื้นสัมพัทธ์เป็นปัจจัยที่สำคัญในการกระตุ้นการหลุดร่วงของใบ

2.3.3 การออกดอกและการติดฝัก

ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า กวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองจะมีการออกดอกเร็วกว่ากวาวเครือขาวในธรรมชาติประมาณ 2 เดือน เนื่องจากได้รับน้ำและปุ๋ยอย่างเพียงพอ โดยกวาวเครือขาวที่ปลูกในแปลงทดลองจะเริ่มออกดอกในเดือนพฤศจิกายน ส่วนกวาวเครือขาวในธรรมชาติจะเริ่มออกดอกเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงเวลาที่มีกลางวันสั้น ทำให้มีผลต่อการออกดอกของกวาวเครือขาวซึ่งเป็นพืชวันสั้น พรทิพย์ จันทร์ราช (2547) พบว่า กวาวเครือขาวออกดอกในเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคมและเริ่มติดฝักในเดือนกุมภาพันธ์ จากนั้นพัฒนาจนถึงฝักแก่ในเดือนเมษายน นอกจากนี้ยังพบว่า กวาวเครือขาวที่ให้ปุ๋ยสูตร 12-24-12 อัตรา

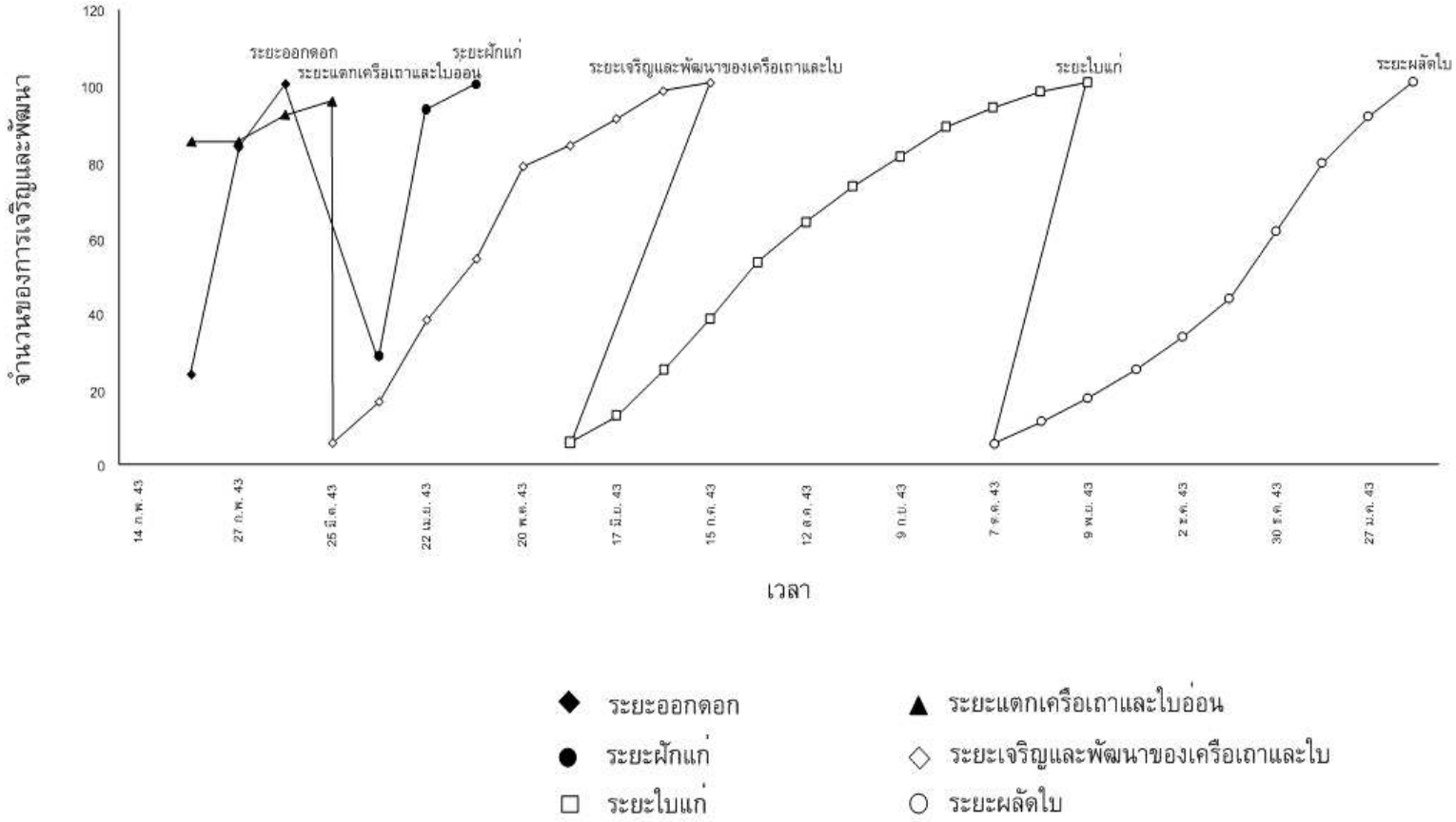
35 กิโลกรัมต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยแคลเซียมโบรอน 10 ppm และ NAA 100 ppm มีความยาวช่อดอก จำนวนฝักต่อช่อดอก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด มากที่สุด

2.3.4 การงอกของเมล็ด

ชรินทร์ วังใจ และยุทธนา สมิตะสิริ (2530) รายงานว่า รูปแบบการงอกของเมล็ดกวาวเครือขาวเป็นแบบ hypogeal germination โดย cotyledon กับ hypocotyl อยู่ใต้ดิน ส่วนที่โผล่พ้นดินมากคือ epicotyl กับ plumule จากนั้นจึงเจริญเติบโตเป็นใบจริง ซึ่งมีใบแรกออกมา 2 ใบ เรียกว่า primary leaf ถัดมาเป็นใบประกอบมี 3 ใบย่อย เรียกว่า trifoliate leaf ประกอบกันแบบ palmately การจัดเรียงตัวของใบเป็นแบบ spiral และจากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกวาวเครือขาวในเรือนทดลองของกลุ่มงานพฤกษชีพการวิทยา (2544) พบว่า วิธีการเพาะโดยแช่เมล็ดในน้ำ 15 ชั่วโมง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปเพาะในกระบะพลาสติกขนาด 15x20 เซนติเมตร ที่บรรจุขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 2:1 ทำให้กวาวเครือขาวมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด

2.3.5 การสะสมสารสำคัญในรากสะสมอาหารของกาวเครือขาว

ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า กวาวเครือขาวที่มีอายุมากขึ้นจาก 4, 8, 12 และ 16 เดือน ตามลำดับ มีปริมาณสาร daidzein และ genistein เพิ่มมากขึ้นตามอายุของกวาวเครือขาวที่เพิ่มขึ้น โดยกวาวเครือขาวที่มีอายุ 16 เดือน มีปริมาณของสารทั้ง 2 ชนิดสูงที่สุด นอกจากนี้ สมโภชน์ ทับเจริญ และคณะ (2549) พบว่า กวาวเครือขาวที่อายุมากขึ้นจะมีผลผลิตสูงขึ้น และมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน



ภาพที่ 2.7 การเจริญเติบโตและการพัฒนาในรอบปีของกวาวเครือขาว ที่อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

<u>หมายเหตุ</u> จาก ประสาร ฉลาดคิด (2544)

2.4 นิเวศวิทยาของกวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวเป็นพืชเฉพาะถิ่นของไทย พบมากตามป่าเบญจพรรณในภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่และลำปางที่ความสูง 300-800 เมตร จากระดับน้ำทะเล (ชวลิต นิยมธรรม, 2538) นอกจากนี้กองบรรณาธิการวารสาร UPDATE (2542) กล่าวว่า กวาวเครือขาวพบได้ทั่วไปทั้งที่ราบและที่สูงบนภูเขา แต่พบในที่ราบน้อยกว่าเพราะมีการแผ้วถางไถพรวนพื้นที่เพื่อทำการเกษตร จึงทำให้พบกวาวเครือขาวในที่ราบน้อยกว่าบริเวณเชิงเขาและบนภูเขา อรดี สหวัชรินทร์ (2542) รายงานว่า พบกวาวเครือเจริญเติบโตอยู่ทั่วไปตามป่าไผ่ด้วยเช่นกัน เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ (2548) รายงานว่าพบกวาวเครือขาวในธรรมชาติ 9 แหล่ง คือ เชียงใหม่ กำแพงเพชร เลย กาญจนบุรี แหล่งโคราช (ลพบุรี สระบุรี โคราช) ประจวบคีรีขันธ์ เชียงราย ปราจีนบุรี และเพชรบูรณ์ (เขาค้อ)

2.5 สรรพคุณของกวาวเครือขาวตามตำรายาไทย

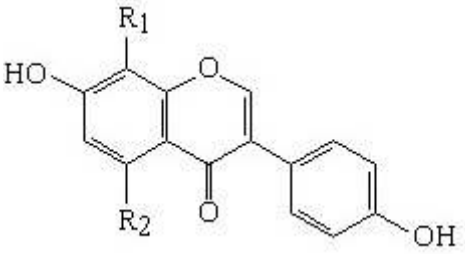
เป็นยาอายุวัฒนะสำหรับผู้สูงอายุใช้ได้ทั้งหญิงและชาย ทำให้ร่างกายกระชุ่มกระชวย ทำให้ผิวหนังเหี่ยวย่นกลับเต่งตึงมีน้ำมีนวล ช่วยเสริมหน้าอก กระตุ้นให้เต้านมขยายตัว หากรับประทานไป 1-2 เดือน จะทำให้นมตึงใหญ่ขึ้น ช่วยให้เส้นผมที่หงอกกลับมาดำขึ้น เพิ่มปริมาณเส้นผม แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ทำให้ความจำดี ทำให้มีพลัง และช่วยให้การเคลื่อนไหวการเดินเหินคล่องแคล่ว (หลวงอนุสารสุนทร, 2474) นอกจากนี้ กวาวเครือขาวยังช่วยบำรุงโลหิต ลดอาการของโรคที่เกิดจากหลอดเลือดตีบตัน ทำให้การไหลเวียนของเลือดดี และช่วยให้รับประทานอาหารมีรสชาติอร่อย (รุจน์ สุทธิศรี, 2547)

2.6 สารประกอบทางเคมีที่พบในหัวกวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญซึ่งแบ่งออกเป็นหลายกลุ่ม คือ กลุ่ม flavonoids กลุ่ม coumarins กลุ่ม chromene และกลุ่ม steroids เป็นต้น (รุจน์ สุทธิศรี, 2547)

2.6.1 สารกลุ่ม flavonoids ได้แก่

isoflavones เช่น genistein, daidzein, kwakhurin และ kwakhurin hydrate เป็นต้น และ isoflavone glycosides ได้แก่ daidzin, genistin, puerarin และ mirificin เป็นต้น (ภาพที่ 2.8 และ 2.9)



genistein : R1 = H, R2 = OH

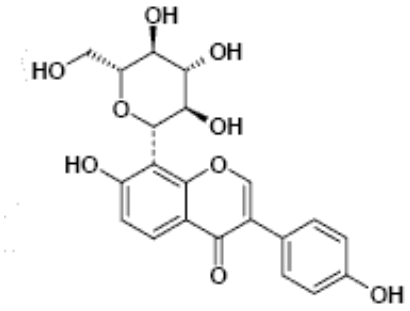
daidzein : R1 = H, R2 = H

puerarin : R1 = -glucose, R2 = H

mirificin : R1 = -glucose-apiose, R2 = H

ภาพที่ 2.8 สารกลุ่ม isoflavones

หมายเหตุ จาก รุจน์ สุทธศรี (2547)

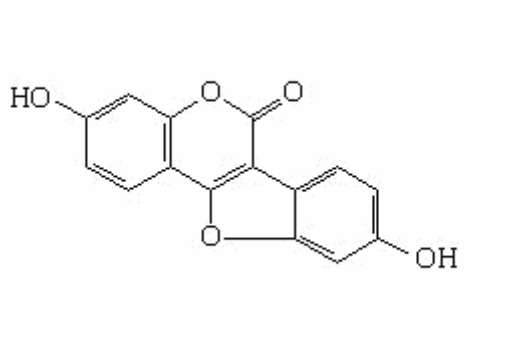


ภาพที่ 2.9 โครงสร้างของ puerarin

หมายเหตุ จาก http://www. www.wilshiretechnologies.com/.../puerarin.gif

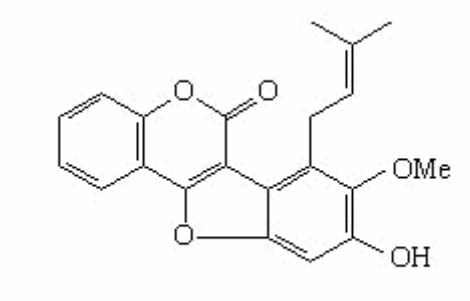
2.6.2 สารกลุ่ม coumarins

ได้แก่ coumestrol (ภาพที่ 2.10), mirificoumestan, mirificoumestan glycol และ mirificoumestan hydrate (ภาพที่ 2.11)



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างของ coumestrol

หมายเหตุ จาก รุจน์ สุทธศรี (2547)

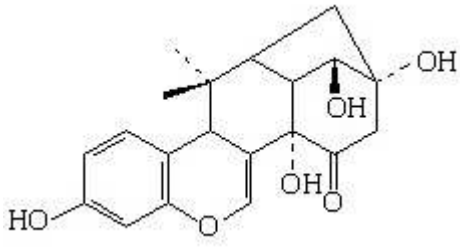


ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของ mirificoumestan

หมายเหตุ จาก รุจน์ สุทธศรี (2547)

2.6.3 สารกลุ่ม chromene

ได้แก่ miroestrol (ภาพที่ 2.12) ซึ่งเป็นสารที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน พบปริมาณ 0.002-0.003 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

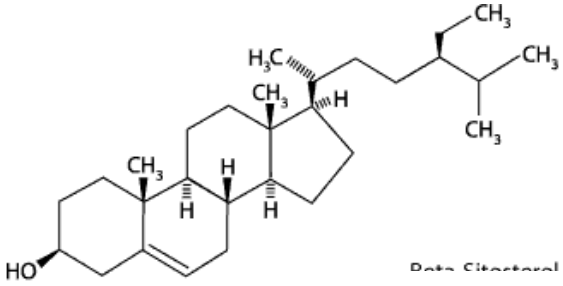


ภาพที่ 2.12 โครงสร้างของ miroestrol

หมายเหตุ จาก รุจน์ สุทธศรี (2547)

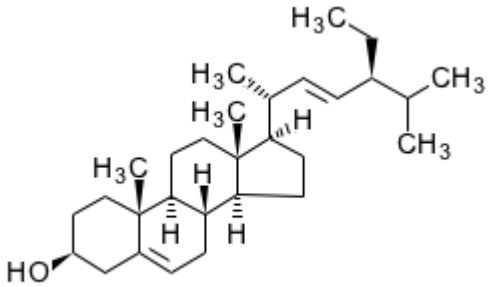
2.6.4 สารกลุ่ม steroids

ได้แก่ β-sitosterol (ภาพที่ 2.13) และ stigmasterol (ภาพที่ 2.14)



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของ β-sitosterol

หมายเหตุ จาก http:// www.genome.ad.jpFigcompoundC01753.gif



ภาพที 2.14 โครงสร้างของ stigmasterol

หมายเหตุ จาก http:// www.genome.ad.jpFigcompoundC05442.gif

2.6.5 สารอื่นๆ

ได้แก่ alkane alcohols, ไขมัน และ น้ำตาล

2.7 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของกวาวเครือขาว

งานวิจัยส่วนใหญ่เน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์ที่คล้ายกับฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน และผลการทดลองเกือบทั้งหมดเป็นการศึกษาในสัตว์ทดลอง ซึ่งมีการศึกษาในมนุษย์น้อยมาก งานวิจัยในช่วงแรก ๆ มุ่งไปที่การศึกษาฤทธิ์ของสาร miroestrol พบว่า ในสัตว์ทดลองมีฤทธิ์ประมาณ 2 ใน 3 ของสาร stilbestrol เมื่อทดลองให้หนูถีบจักรที่ยังไม่โตเต็มที่กินสารนี้เข้าไป และมีฤทธิ์ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของสาร 17β-estradiol เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนูขาว แต่เมื่อให้โดยวิธีเดียวกันนี้กับหนูถีบจักร พบว่ามีฤทธิ์เป็น 2.2 เท่าของสาร estrone การทดลองกับสตรีที่ประจำเดือนมาไม่ปกติ 10 คน โดยให้สารนี้ในขนาด 1 และ 5 มิลลิกรัม วันละ 6 ครั้ง พบว่าสารนี้แสดงฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) อย่างรุนแรง โดยแสดงผล 2-3 สัปดาห์หลังจากเริ่มให้สารนี้ (รุจน์ สุทธิศรี, 2547) ผลอื่น ๆ ของกวาวเครือขาวได้แก่ นกกระทาที่ได้รับผงกวาวเครือขาวผสมในอาหาร 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร จะทำให้นกกระทาเกิดอาการบวม มีฝีหนองตามร่างกาย (อารี ช่วยชู และคณะ, 2527) หนูขาวที่ได้รับผงกวาวเครือขาวปริมาณ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเป็นเวลา 14 วัน ทำให้เกิดการอักเสบของเซลล์ตับและมีเลือดคั่งในหลอดเลือดดำ และยังทำให้ชั้น cortex ของต่อมหมวกไตหนาขึ้น (วราภรณ์ พงษ์ดำ และคณะ, 2530) นอกจากนี้ยังพบว่า การให้สารสกัดกวาวเครือขาวแก่หนูถีบจักรในปริมาณสูง จะทำให้หนูถีบจักรเกิดอาการชักกระตุกและตายหลังจากให้สารสกัด 2-3 นาที (ยุทธนา สมิตะสิริ และเสรี แปงจิตต์, 2530)

นอกจากนี้ยังมีรายงานผลของกวาวเครือขาวต่อระบบต่าง ๆ ของสัตว์ทดลอง เช่น ผลต่อระบบเลือด ซึ่ง สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย และสุวิทย์ เจศรีชัย (2528) พบว่า การให้กวาวเครือขาวแก่นกกระทาในปริมาณสูง ทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดของนกระทาเพิ่มขึ้น คล้ายกับการศึกษาของอนุสรณ์ วนาสัณฑ์ (2532) ที่พบว่า สารสกัดจากกวาวเครือขาวทำให้ปริมาณคลอเรสเตอรอล (cholesterol) ในเลือดของหนูทดลองเพิ่มขึ้น และทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ลดลง ยุพดี ลางคลิจันทร์ (2527) รายงานว่า เมื่อให้กวาวเครือขาวแก่หนูเพศผู้ จะทำให้ขนาดและน้ำหนักของต่อมหมวกไตของหนูเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ นันทวัน บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร (2530) รายงานว่า สารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวมีฤทธิ์เหมือนเอสโตรเจน มีผลใช้คุมกำเนิด โดยยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน การสร้างอสุจิ การหลั่งน้ำนม และการออกไข่ของสัตว์ทดลอง ยุทธนา สมิตะสิริ และสันติ ศักดารัตน์ (2538) พบว่า เมื่อให้ผงกวาวเครือขาว 100 มิลลิกรัมต่อวันแก่หนูทดลองที่ตั้งท้องในระยะแรก โดยให้ติดต่อ 7 วัน ทำให้หนูทดลองเกิดการแท้งได้ 100 เปอร์เซ็นต์

และเมื่อให้หนูทดลองกินผงกวาวเครือขาวติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน เกิดการยับยั้งการเจริญของต่อมน้ำนม อรพินท์ จินตสถาพร และคณะ (2546ก) พบว่า ปลาสลิดที่ได้รับกวาวเครือขาว 200 ppm ระยะเวลา 60 วัน ทำให้รังไข่มีการพัฒนาสูง มีระดับเอสโตรเจนสูง และช่วยให้มีการเจริญเติบโตดี นอกจากนี้ อรพินท์ จินตสถาพร และคณะ (2546ข) ยังพบว่า การเสริมกวาวเครือขาวในอาหารปลานิล 1 - 3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปลานิลเพศเมียมีการพัฒนาของรังไข่เพิ่มขึ้น เป็นต้น

2.8 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ puerarin

Puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวเป็นสารกลุ่ม isoflavonoid ที่เป็น glycoside ของ daidzein มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{20}O_9$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 432.38 โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยวงแหวนหลัก 3 วง และมีหมู่ฟังก์ชันซึ่งเป็นกลูโคสเกาะอยู่ 1 โมเลกุล ชีวสังเคราะห์ของ puerarin เกิดขึ้นใน phenylpropanoid pathway (ภาพผนวกที่ 1) จากการศึกษาฤทธิ์ของ puerarin กับหนูทดลอง พบว่า หนูทดลองมีการขับถ่ายปัสสาวะออกมาได้ดี ซึ่งสามารถช่วยลดการเกิดโรคเกี่ยวกับท่อปัสสาวะอุดตันได้ (Yasuda *et al*., 1995) และจากการศึกษาของ Chen *et al*., (2004) พบว่า puerarin สามารถช่วยลดอาการขาดน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองได้ โดยจะช่วยในกระบวนการ plasma beta-endorphin-like immunoreactivity (BER) ใน streptozotocin-induced diabetic rats (STZ-diabetic rats) ของหนูทดลอง John *et al.* (2004) ได้ศึกษาและพบว่า puerarin มีฤทธิ์ช่วยลดอาการโรคพิษสุราเรื้อรัง (alcoholism) ได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ของ puerarin ในทางเภสัชวิทยาที่สามารถช่วยลดอาการป่วยในด้านต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ในการขยายตัวและเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในหลอดเลือด coronary artery ช่วยลดภาวะเส้นเลือดอุดตันในหลอดเลือดแดง ช่วยลดความดันภายในหลอดเลือด คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น (John *et al*., 2004)

2.9 จุลธาตุอาหารและความสมดุลในพืช

จุลธาตุอาหารเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชถึงแม้ว่าพืชจะต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม แต่หากพืชขาดจุลธาตุอาหารเหล่านี้ ก็อาจส่งผลให้การเจริญเติบโตผิดปกติได้ (ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2535) ความสมดุลของจุลธาตุอาหารในพืชเป็นปัจจัยที่สำคัญมากและควบคุมได้ยากกว่าความสมดุลของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง เพราะช่วงที่เหมาะสมของระดับจุลธาตุอาหารแต่ละธาตุนั้นแคบกว่าของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองมาก อิทธิพลร่วมระหว่างธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และจุลธาตุอาหาร หรือระหว่างจุลธาตุอาหารด้วยกันเอง ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางจากนักวิชาการ เพราะบางธาตุเกื้อกูลประโยชน์ซึ่งกันและกัน

(synergism) และบางธาตุก็ขัดขวางหรือยับยั้งความเป็นประโยชน์ต่อพืช (antagonism) แต่ส่วนใหญ่แล้วพฤติกรรมขัดขวางหรือยับยั้งความเป็นประโยชน์ต่อพืช ดูเหมือนจะมีมากกว่าพฤติกรรมเกื้อกูลประโยชน์ซึ่งกันและกัน (ยงยุทธ โอสถสภา, 2543)

2.9.1 หน้าที่ของจุลธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืช

ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช (essential elements) นั้นมี 16 ธาตุ ธาตุที่พืชใช้ในปริมาณที่น้อยมากมี 7 ธาตุ ซึ่งเรียกว่า จุลธาตุอาหาร (micronutrient หรือ micronutrient element หรือ minor element) ยงยุทธ โอสถสภา (2543) ได้กล่าวถึงหน้าที่ของจุลธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

1) ธาตุเหล็ก (Fe) เป็นองค์ประกอบและช่วยในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ช่วยในการดูดธาตุอาหารอื่น ๆ ช่วยในการสังเคราะห์โปรตีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ และเป็นองค์ประกอบของ cytrochrome ใน mitochondria

2) ธาตุแมงกานีส (Mn) เมื่ออยู่ร่วมกับธาตุเหล็กจะเป็นตัวควบคุม oxidation-reduction potential ช่วยในขบวนการสังเคราะห์แสง และเป็นตัวกระตุ้น (activator) ของเอ็นไซม์หลายชนิด เช่น phosphoglucomutase, choline esterase และ beta-ketodecarboxylase เป็นต้น

3) ธาตุทองแดง (Cu) มีหน้าที่ทางอ้อมในขบวนการสร้างคลอโรฟิลล์ และช่วยป้องกันการทำลายคลอโรฟิลล์ที่อาจเกิดขึ้นได้ ทำให้พืชมีอายุยาวขึ้น เป็นตัวกระตุ้น (activator) ของเอ็นไซม์หลายชนิด เช่น ascorbic acid oxidase, lactase และ tyrosinase และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ออกซิเดชัน (oxidation) ในพืช เป็นต้น

4) ธาตุโบรอน (B) ช่วยทำให้พืชใช้ธาตุแคลเซียมอย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยให้พืชใช้ธาตุโพแทสเซียมได้มากขึ้น

5) ธาตุโมลิบดีนัม (Mo) ช่วยการตรึงไนโตรเจน และจำเป็นต่อกระบวนการสร้างคลอโรฟิลล์และเอ็นไซม์บางชนิดในพืช

6) ธาตุคลอรีน (Cl) มีความสำคัญต่อขบวนการสังเคราะห์แสงและทำให้พืชแก่เร็วขึ้น

7) ธาตุสังกะสี (Zn) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน และมีบทบาททางอ้อมในการสร้างคลอโรฟิลล์ รวมทั้งเป็นตัวกระตุ้น (activator) ของเอ็นไซม์หลายชนิด เช่น carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase และ peptidase เป็นต้น

2.9.2 ปริมาณของสังกะสีที่พืชต้องการ

ความเข้มข้นของสังกะสีที่มีในใบแก่ของพืช (ตารางที่ 2.1) ช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างเหมาะสมที่สุดคือ 25-150 ppm (ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2535) ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสงระยะออกฝักคือ 20-75 ppm (Mortvedt *et al*., 1972) และอัตราความเข้มข้นของสังกะสีที่เหมาะสมสำหรับความต้องการของถั่วเหลืองคือ 5-50 ppm (Buckman and Brady, 1969)

ตารางที่ 2.1 ความเข้มข้นโดยประมาณของจุลธาตุอาหารในใบพืชทั่ว ๆ ไปที่แก่เต็มที่

ความเข้มข้นในใบพืชเต็มที่ (ppm)			
จุลธาตุอาหาร	พอเพียง	ขาดแคลน	มากเกินไปหรือเป็นพิษ
Fe	50 - 250	<50	ไม่มีรายงาน
Mn	20 - 500	<20	>500
จุลธาตุอาหาร	พอเพียง	ขาดแคลน	มากเกินไปหรือเป็นพิษ
Cu	5 - 20	<4	>20
Zn	25 - 150	<20	>400
B	20 - 100	<15	>200
Mo	0.5 – 9	<0.1	ไม่มีรายงาน
Cl	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน

หมายเหตุ จาก ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2535)

2.9.3 บทบาทหน้าที่ของธาตุสังกะสีในพืช (ยงยุทธ โอสถสภา, 2543; มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2535; Vitosh *et al*., 1997 และ George and Michael, 2002)

1) บทบาทเกี่ยวกับเอ็นไซม์

เอ็นไซม์หลายชนิดมีสังกะสีเป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้าง (zinc-enzyme) สังกะสีมีหน้าที่ในเอ็นไซม์ ดังนี้

1.1) ช่วยการเร่งปฏิกิริยา (catalytic functions) โดยเป็นส่วนของ catalytic site ของเอ็นไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (carbonic anhydrase) และเอ็นไซม์คาร์บอกซีเพ็บทิเดส (carboxypeptidese)

1.2) ความสำคัญในเชิงโครงสร้าง (structural function) อะตอมของสังกะสีในโครงสร้างทำพันธะโคออดิเนต กับหมู่ –S ของซีสเทอีน (cystein) จำนวนสี่หมู่ เกิดโครงสร้างตติยภูมิที่มีความเสถียรมาก เช่น เอ็นไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เป็นต้น

1.3) ในกระบวนการสังเคราะห์แสงเฉพาะปฏิกิริยามืด (dark reaction) เป็นขั้นตอนการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นน้ำตาลนั้น ในพืชที่ใช้กระบวนการแบบซีสาม (C_3- photosynthetic pathway) เอ็นไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรสช่วยเพิ่มปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายได้ในไซโทซอลและคลอโรพลาสต์มาก สำหรับปฏิกิริยามืดในมีโซฟิลล์ของพืชพวกที่ใช้วิถีการสังเคราะห์แสงแบบซีสี่ (C_4-photosynthetic pathway) ขั้นตอนแรกที่สำคัญก็คือปฏิกิริยาไฮเดรชันของคาร์บอนไดออกไซด์ให้ได้ HCO^-_3 ปริมาณมากพอสำหรับการสังเคราะห์กรดมาลิก (malic acid) หรือกรดแอสพาทิก (aspatic acid) ดังนั้น เอ็นไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส จึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการนี้ด้วย (Hatch and Burnell, 1990)

1.4) สังกะสีมีบทบาทร่วมกับโพแทสเซียมในการควบคุมการปิดเปิดของปากใบ เมื่อพืชขาดสังกะสีเซลล์คุม (guard cells) จะไม่เต่งและปากใบปิด บทบาทที่ทำให้ปากใบเปิดคือ เป็นองค์ประกอบในเอ็นไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส ซึ่งเร่งปฏิกิริยาไฮเดรชันของคาร์บอนไดออกไซด์เป็น HCO^-_3 และสะสมในเซลล์คุมที่เป็นตัวละลายส่วนหนึ่ง

1.5) ช่วยให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์คุมมีโครงสร้างที่แข็งแรงและมั่งคง ทำให้การนำโพแทสเซียมเข้าไปสะสมในเซลล์คุมดำเนินไปได้ตามปกติ นอกจากนี้ ยังช่วยให้โพแทสเซียมภายในเซลล์คุมไม่รั่วไหลออกไปยังเซลล์ข้างเคียง จึงมีศักย์ออสโมซิสเพียงพอที่จะเกิดความเต่งและเปิดปากใบ สำหรับพืชที่ขาดสังกะสีจะมีฟลักซ์ขาออก (efflux) ของโพแทสเซียมจากเซลล์คุมเป็นเหตุให้ปากใบปิด (Sharma *et al*., 1995)

1.6) สังกะสีช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ fructose-1,6-bisphosphatase ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยา fructose-1,6-bisphosphate ไปเป็น fructose-6-phosphate ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ซูโครสและแป้ง เป็นผลให้ปริมาณของซูโครสและแป้งลดลง (ยงยุทธ โอสถสภา, 2543) การสังเคราะห์ phophoenolpyruvic acid (PEP) จากกระบวนการไกลโคไลซิสลดลง และส่งผลกระทบถึงเมทาบอลิซึมใน shikimic acid pathway โดยลด phenylalanine ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสร้างสารกลุ่ม flavonols, flavones และ isoflavones (Niranjan and Gurdev, 1995)

1.7) สังกะสีช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ aldolase ซึ่งเร่งปฏิกิริยาแยก fructose-1,6-bisphosphate เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม จำนวน 2 ชนิด ที่มีบทบาทในกระบวนการไกลโคไลซิส (ยงยุทธ โอสถสภา, 2543) ซึ่งช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ phosphoenolpyruvic acid (PEP) ที่เป็นสารตั้งต้นของการผลิตสารกลุ่ม isoflavones หากพืชขาดธาตุ

สังกะสีซึ่งลดลงตามไปด้วย ทำให้การสังเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นของ secondary metabolites เช่น tryptophan tyrosine และ phynylalanine มีน้อยลง (Niranjan and Gurdev, 1995)

1.8) การขาดธาตุสังกะสีทำให้อัตราการสังเคราะห์โปรตีนลดต่ำลงโดยทำให้เกิดการตกค้างและการสะสมของกรดอะมิโนและเอไมด์มากกว่าปกติ และยังทำให้กิจกรรมของเอ็นไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (carbonic anhydrase) ลดลงมาก และยังมีผลทำให้กิจกรรมของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตอีกสองชนิดลดลงด้วย คือ เอ็นไซม์ aldolase และเอ็นไซม์ fructose-1,6-bisphosphate

2) บทบาทในการสังเคราะห์โปรตีน

การขาดธาตุสังกะสีจะทำให้อัตราการสังเคราะห์โปรตีนของพืชลดลงอันเนื่องมาจาก

2.1) สังกะสีเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอ็นไซม์ RNA polymerase กล่าวคือ เอ็นไซม์หนึ่งโมเลกุลต้องมีสังกะสี 2 อะตอม เมื่อดึงธาตุนี้ออกไป กิจกรรมของเอ็นไซม์จะหยุดลง

2.2) สังกะสีช่วยให้ไรโบโซมดำรงโครงสร้างที่ดีไว้ได้ ribosomal RNA ในเซลล์ของยูกลีนาปกติจะมีปริมาณสังกะสี 650-1280 ไมโครกรัมใน RNA 1 กรัม แต่ถ้ามีปริมาณสังกะสีเพียง 300-380 ไมโครกรัมใน RNA 1 กรัม ไรโบโซมจะแตกสลาย (disintegrate) แต่จะกลับมารวมกันใหม่เมื่อได้รับธาตุนี้เพียงพอ (Prask and Plocks, 1971)

2.3) พืชที่ขาดสังกะสี RNA จะสลายตัวเร็วกว่าปกติ เนื่องจากกิจกรรมของเอ็นไซม์ ribonuclease (RNase) จะสูงขึ้น เมื่อเพิ่มสังกะสีให้พืชอย่างเพียงพอ กิจกรรมของ ribonuclease จะลดลง ขณะเดียวกันปริมาณโปรตีนในพืชก็สูงขึ้น การขาดสังกะสีมีผลต่อเอ็นไซม์รวดเร็ว เนื่องจากกิจกรรมของเอ็นไซม์ดังกล่าวลดลง ก่อนที่จะมีอาการขาดธาตุนี้ปรากฏให้เห็น (Johnson and Simons, 1979)

2.10 อิทธิพลของจุลธาตุอาหารต่อการสร้างสาร isoflavones

Kozlovskii *et al.* (2000) พบว่า การให้สังกะสีกับ *Penicillium citrinum* สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างสาร citrinin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม isoflavones เพิ่มขึ้นได้ ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า การฉีดพ่นสารละลายทองแดงมีผลทำให้ปริมาณสาร daidzein และ genistein แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการฉีดพ่นด้วยสารละลายทองแดงความเข้มข้น 300 ppm ทำให้ปริมาณ daidzein และ genistein มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด และที่ความเข้มข้นนี้พบว่า รูป (forms) ของ

สารประกอบทองแดงที่ต่างกันคือ $CuCl_2$, $CuSO_4$ และ CuEDTA ไม่มีผลทำให้ปริมาณของสาร daidzein และ genistein แตกต่างกัน พรทิพย์ จันทร์ราช (2547) พบว่า การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm, $MnCl_2$ 1,000 ppm และ $FeCl_2$ 1,000 ppm ทำให้ปริมาณ coumestrol ในหัวกวาวเครือขาวเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $CuCl_2$ 1,000 ppm ให้ปริมาณ coumestrol มากที่สุด Hakamatsuka (1991) รายงานว่า การให้ $CuCl_2$ 10 mM กับลำต้นถั่ว Kudzu (*Pueraria lobata*) ที่หั่นเป็นชิ้น ๆ นาน 2 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณของ daidzein, genistein และ coumestrol เพิ่มขึ้น 5-10 เท่า Andrew *et al.* (1994) รายงานว่า การให้จุลธาตุ เช่น $CuCl_2$, $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ แก่ถั่วอัลฟาฟา (*Medicago sativa* L.) ทำให้มีการสร้างสารกลุ่ม isoflavones เพิ่มมากขึ้น

2.11 บทบาทของกวาวเครือขาวต่อสุขภาพ

2.11.1 ความดันโลหิตสูง (hypertension)

สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์ (2549) กล่าวว่า ความดันโลหิตสูงเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิต และเป็นปัญหามากที่สุดของประเทศไทย โรคความดันโลหิตสูงพบ 1 คน ในทุก ๆ 5 คน ยิ่งอายุมากขึ้น และ/หรือน้ำหนักตัวมากขึ้น ยิ่งมีโอกาสเป็นโรคความดันเลือดสูงมากขึ้น ชมรมความดันโลหิตสูงแห่งประเทศไทย (2549) รายงานว่า ความดันโลหิตสูงพบในหญิง (ร้อยละ 5.6) มากกว่าชาย (ร้อยละ 5.2) เล็กน้อย ภาคกลางเป็นพื้นที่ที่พบผู้ป่วยมากที่สุด ประมาณ 3 เท่าของภาคอื่น ๆ ผู้ที่อาศัยอยู่ในเขตเทศบาลจะมีอัตราเป็นความดันโลหิตสูง มากกว่าผู้ที่อาศัยนอกเขตเทศบาลอย่างชัดเจน และเป็นเช่นเดียวกันทุกภาคโดยที่เพศชายในเขตเทศบาลจะมีอัตราการเป็นความดันโลหิตสูงมากกว่านอกเขตเทศบาลประมาณ 3.5 เท่า และในเพศหญิงเท่ากับ 2.8 เท่า ที่น่าเป็นห่วงคือจากกลุ่มตัวอย่างที่สำรวจพบความดันโลหิตสูง 1,606 ราย (ซึ่งรวมพวกที่มีประวัติความดันโลหิตสูง) มีเพียงร้อยละ 10.2 เท่านั้นที่ทราบว่าตนเองเป็นความดันโลหิตสูง และร้อยละ 71.3 ของผู้ที่ทราบว่ามีภาวะนี้ได้รับการรักษา การที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงนาน ๆ โดยไม่ได้รับการรักษาจะทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนเกี่ยวกับหลอดเลือดแดง เช่น โรคที่เกี่ยวกับอวัยวะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1) หัวใจ จะมีผลต่อหัวใจ 2 ทาง คือทำให้หัวใจโต และหลอดเลือดหัวใจหนาตัวและแข็งตัวขึ้น ทำให้เกิดการเจ็บหน้าอกจากหัวใจขาดเลือด หรือหัวใจล้มเหลว ทำให้มีอาการเหนื่อยหอบ นอนราบไม่ได้ หรือหัวใจเต้นผิดปกติ ทำให้มีอาการใจสั่น

2) สมอง เป็นสาเหตุของอัมพาต อัมพฤกษ์ มักจะเกิดจากหลอดเลือดเล็ก ๆ อุดตันโดยเกล็ดเลือด หรือเกิดจากหลอดเลือดในสมองแตก ทำให้เลือดออกในเนื้อสมอง

3) ไต เป็นอวัยวะที่มีหลอดเลือดมากที่สุดในร่างกาย ทำหน้าที่กรองของเสียออกจากเลือด ความดันโลหิตสูงก็มีผลต่อหลอดเลือดที่ไตเช่นเดียวกับหลอดเลือดหัวใจ โดยทำให้เลือดไป

เลี้ยงไตไม่เพียงพอ มีผลให้ไตเสื่อมสมรรถภาพจนถึงขั้นไตวาย ผู้ป่วยจะมีอาการเริ่มแรกของภาวะไตวาย คือปัสสาวะบ่อยตอนกลางคืน ขาบวมตอนสาย หากเป็นมากจะมีอาการอ่อนเพลียไม่ค่อยมีแรง ซึ่งมักพบในผู้ป่วยไตวาย และคลื่นไส้อาเจียน และซึมลงในผู้ป่วยไตวายระยะท้าย ๆ

4) ตา เลือดออกที่จอตา หลอดเลือดเล็ก ๆ ที่จอตาอุดตัน หรือทำให้จอตาหลุดลอกออกได้ ผู้ป่วยอาจไม่มีอาการใด ๆ หรือตามัวจนถึงตาบอดได้ และโรคเบาหวานมักพบร่วมกับความดันโลหิตสูง ทำให้เกิดผลแทรกซ้อนทางตาได้เร็ว

5) หลอดเลือด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดทั่วร่างกาย ทำให้หลอดเลือดตีบแคบ หรือโป่งพอง มีผลทำให้เลือดไปเลี้ยงบริเวณแขนขา และอวัยวะภายในลดลง ผู้ป่วยเดินไม่ได้ไกลเพราะปวดขาจากการขาดเลือด ซึ่งต้องนั่งพักจึงจะหายและเดินต่อได้

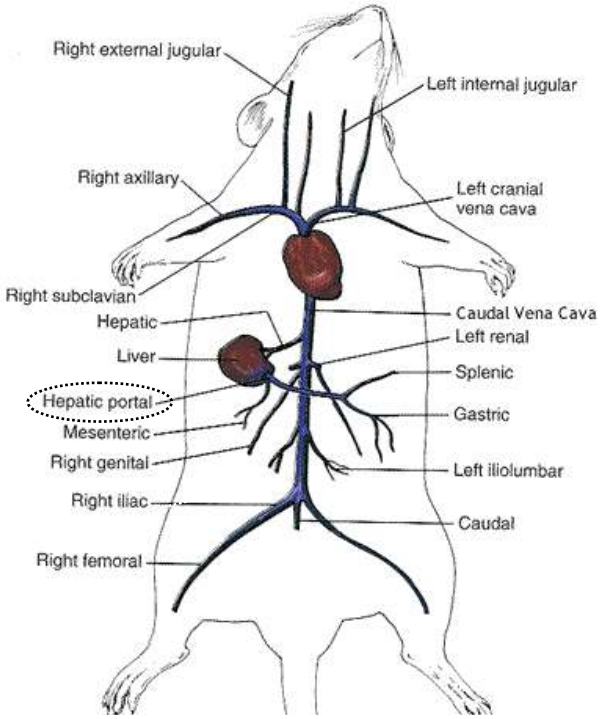
2.11.2 วิธีการรักษาผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง

1) การรักษาโดยไม่ใช้ยา โดยปรับปรุงเปลี่ยนแปลงวิถีการดำเนินชีวิต เพื่อลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น การลดอาหารประเภทไขมัน เลือกรับประทานอาหารที่มีเส้นใย เช่น ผัก ถั่ว และผลไม้ให้มากขึ้น การงดสูบบุหรี่ และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (คณะเภสัชศาสตร์ และวิทยาศาสตร์สุขภาพ, 2549) เป็นต้น

2) การรักษาด้วยยา ซึ่งมีหลายกลุ่ม ยาแต่ละชนิดมีการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันออกไป ฤทธิ์ของยาลดความดันนั้น ส่วนหนึ่งเกิดจากการทำให้เกิดการขยายตัวของผนังหลอดเลือด เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการไหลเวียนของเลือด ทำให้ลดการตีบตันของเส้นเลือดบางจุด เป็นผลให้เลือดสามารถไหลเวียนได้สะดวกมากขึ้น

2.12 Portal vein และการไหลเวียนของเลือด

Portal vein คือหลอดเลือดดำที่ลำเลียงเลือดจาก splanchnic circulation จากช่องท้องไปสู่ตับ (ภาพที่ 2.13) เป็นเส้นเลือดที่มีการไหลเวียนของเลือด และมีแรงดันของเลือดสูง (Mac, 1992) อัตราการไหลเวียนของเลือดในท่อลำเลียงนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น แรงดันในหลอดเลือด การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดและด่างทั้งภายนอกและภายในท่อลำเลียง (intracellular pH : pH_i, extracellular pH : pH_0) การเปลี่ยนแปลง pH_i และ pH_0 ทำให้ท่อลำเลียงเกิดการปรับสมดุลของกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) การเปลี่ยนแปลง pH_i ของ portal vein ในหนูนั้น เมื่อค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการลำเลียงเลือดภายในเพิ่มขึ้น โดยทำให้เกิดการลดแรงกระตุ้นไฟฟ้าทำให้ท่อลำเลียงลดการหดตัวลง (Smith *et al.*, 2002; Taggart *et al.*, 1994)



ภาพที่ 2.13 ตำแหน่งของเส้นเลือด portal vein (hepatic portal)

หมายเหตุ จาก webanatomy.net/anatomy/portal_system.jpg

2.13 หนูขาวหรือหนูแรท (*Rattus norvegicus*) (สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ, 2550)

2.14.1 ลักษณะทั่วไป

หนูขาวเป็นหนูที่มีขนาดใหญ่ หางยาว แต่ไม่มีขนที่หาง ขนทั้งตัวสีขาว ตาแดง เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว มีวงจรการเป็นสัดสั้นและสม่ำเสมอตลอดปี ระยะตั้งท้องสั้น ให้ลูกดก จับต้องได้ง่าย และเป็นที่นิยมนำมาใช้ทดลองอย่างแพร่หลายนั้น เป็นสัตว์ที่มีพฤติกรรมอยู่รวมกันได้ไม่มีการต่อสู้ทำร้ายร่างกาย แย่งตัวผู้หรือแย่งตัวเมียกัน

2.14.2 ข้อมูลทางสรีรวิทยาของหนูขาว

ระยะรอบการเป็นสัด 4- 5 วัน ช่วงเป็นสัด 13-15 ชั่วโมง ระยะตั้งท้อง 20-22 วัน จำนวนลูกต่อครอก 8-12 ตัว อายุเมื่อหย่านม 19-21 วัน น้ำหนักตัวเมื่อหย่านม (ตัวผู้และตัวเมีย) 45-70 กรัม น้ำหนักตัวเมื่อโตเต็มวัยตัวผู้ 300-350 กรัม ตัวเมีย 200-250 กรัม อายุเมื่อพร้อมผสมพันธุ์ (ตัวผู้และตัวเมีย) 8-10 สัปดาห์ อายุยืน 3-4 ปี

2.14.3 การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

นำหนูขาวสายพันธุ์ Wistar rat เพศเมีย มาเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองตามข้อบังคับของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ (2550) ดังนี้

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานเลี้ยง : ขนาดของพื้นที่และส่วนสูงที่ไม่เพียงพอของกรงมีส่วนสร้างความกดดัน และความเครียดกับหนู กรงที่มีขนาดเล็ก ส่วนสูงเตี้ยเกินกว่าที่หนูจะยืนได้ และพื้นกรงไม่เหมาะสม เป็นสาเหตุที่สร้างความกดดันแก่หนูได้ทั้งสิ้น วัสดุอุปกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูขาวมีดังนี้

1) กรง

ตารางที่ 2.2 กรงที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงหนูขาว

ชนิดกรง	ขนาด	จำนวนหนูต่อกรง	ลักษณะหนู
กรงแขวนใหญ่	12” x 11” x 7.5”	2	แม่หนูผสมและตั้งท้อง 0-1 สัปดาห์
กรงแขวนเล็ก	10” x 7” x 10”	1	แม่หนูตั้งท้อง 1-2 และ 2-3 สัปดาห์
กรงอลูมิเนียมใหญ่	14” x 29” x 6”	5-10	หนูพักท้อง, หนูรอผสมพันธุ์
กรงสแตนเลสใหญ่	14” x 29” x 6”	5-10	หนูอายุ 3-8 สัปดาห์
กรงสแตนเลสเล็ก	10” x 17.5” x 7”	1-14	แม่พร้อมลูก

2) วัสดุรองนอน

ใช้ขี้กบเป็นวัสดุจากโรงไม้ ซึ่งนิยมใช้เป็นวัสดุรองนอนกันทั่วโลก เนื่องจากซึมซับน้ำได้ดีและไม่ยุ่ย ขี้กบควรมาจากไม้เนื้ออ่อน ถ้ามาจากไม้เนื้อแข็งมักมีเหลี่ยม มีมุมแข็งและแหลมคม และมียางเป็นอันตรายต่อสัตว์ได้ วัสดุรองนอน เช่น ขี้กบ แกลบ และกระดาษ

3) อาหาร

หนูขาวต้องการอาหารประมาณ 20-30 กรัมต่อตัวต่อวัน อาหารเป็นอาหารอัดเม็ด เป็นวิวัฒนาการมาจากอาหารป่น โดยพ่นไอน้ำเข้าไปคลุกอาหารป่น ผสมตามสูตรก่อนเข้าเครื่องอัดเม็ด หรือปั้นเป็นก้อนให้ได้ขนาดที่ต้องการ เม็ดไม่แข็งเกินไป

4) น้ำ

หนูขาวต้องการน้ำประมาณ 20-35 มิลลิลิตรต่อวัน น้ำดื่มหนูขาวต้องเป็นน้ำสะอาดปราศจากเชื้อ *Psudomonas aeroginosa* โดยเป็นน้ำกรองผสมคลอรีนที่มีความเข้มข้น 12 ppm

5) การจัดสภาพแวดล้อมที่พอเหมาะ

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงหนูขาวเป็น 25±2 องศาเซลเซียส ความต่างไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่สัตว์สามารถปรับตัวได้ เมื่ออุณหภูมิสูง สัตว์จะเบื่ออาหาร กินน้ำมาก ไม่ผสมพันธุ์ หงุดหงิด ไม่เลี้ยงลูก กัดลูก เหนื่อย หอบ เลียตัวเอง เมื่ออุณหภูมิต่ำมีปัญหาคือ กินอาหารมาก กินน้ำน้อย นอน ไม่ผสมพันธุ์ ไม่เลี้ยงลูก

6) ความชื้นสัมพัทธ์

คือปริมาณไอน้ำในอากาศวัดค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ ความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่อการระเหยของน้ำ และการเจริญเติบโตของเชื้อโรค เชื้อรา ความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเลี้ยงหนูขาวคือ 60-90 เปอร์เซ็นต์ ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำจะทำให้หนูขาวเป็นโรคหางขวั้น

7) การถ่ายเทอากาศ

เพื่อถ่ายเทเอาอากาศใหม่เข้ามาแทนอากาศเก่า เป็นการถ่ายเอาออกซิเจนเข้ามาแทนคาร์บอนไดออกไซด์ในห้อง เป็นการถ่ายเอาอากาศสะอาดเข้ามาแทนอากาศที่มีกลิ่นในห้องเป็นการถ่ายเอาอากาศแห้งเข้ามาแทนอากาศชื้นในห้องสามารถทำได้โดยการติดตั้งพัดลมดูดอากาศออกและเข้า

8) แสง

แสงมีมีความสำคัญต่อวงจรการเป็นสัด หนูขาวมีความต้องการแสง 350-400 ลักซ์ นานไม่น้อยกว่า 10 ชั่วโมง แต่ที่นิยมใช้คือมีอัตราส่วนของ 12 ชั่วโมงมืด และ 12 ชั่วโมงสว่าง

9) เสียง

วัดค่าเป็นเดซิเบล ความถี่วัดเป็นเฮิสซ์ เสียงเป็นอันตรายที่เกิดกับสัตว์ได้ ตกใจ เครียด ไม่สืบพันธุ์ พฤติกรรมเปลี่ยนไป ไม่เลี้ยงลูก ปกติหนูรับเสียงได้ 50 เดซิเบล

หนูขาวสายพันธุ์ Wistar และ Spague Dawley นิยมนำไปศึกษาและวิจัยในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านโภชนาการ (nutrition) ได้แก่ การศึกษาประโยชน์และโทษของโภชนะต่าง ๆ เป็นต้น ด้านพยาธิวิทยา (pathology) ได้แก่ การศึกษาด้านการเกิดเนื้องอก เป็นต้น ด้านเภสัชวิทยา (pharmacology) ได้แก่ การทดสอบความปลอดภัยของยาชนิดต่าง ๆ (drug testing) ทดสอบความปลอดภัยของวัคซีน (vaccine testing) การทดสอบความเป็นพิษ (toxicology) เป็นต้น ด้านสรีรวิทยา (physiology) ได้แก่ การศึกษาทางด้านสรีรวิทยาการสืบพันธุ์ วิทยาการต่อมไร้ท่อ ระบบไหลเวียนเลือด เป็นต้น และด้านพฤติกรรมศาสตร์ (behavioral study) เป็นต้น

2.14 รายการอ้างอิง

กลุ่มงานพฤกษชีพการวิทยา. (2544). การศึกษาการงอกของเมล็ดกวาวเครือขาว. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ: **ว.วิชาการเกษตร.** 21(1): 12-18.

กองบรรณาธิการ. (2542). เปิดใจ รศ.ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ ผู้เปิดประเด็นกวาวเครือสู่สังคมไทย. **วารสาร UPDATE** ก.ย.-ต.ค.: 47-51.

คณะเภสัชศาสตร์ และวิทยาศาสตร์สุขภาพ. (2549). **โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension).** มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.pharmacy.msu.ac.th/learning/ therapy/index.html

ชมรมความดันโลหิตสูงแห่งประเทศไทย. (2549). **โรคความดันโลหิตสูง.** [ออนไลน์].ได้จาก: http://www. atrazeneca.co.th/thai/patient3.html

ชรินทร์ วังใจ และ ยุทธนา สมิตสิริ. (2530). ชีววิทยาบางประการของกวาวเครือขาว: 5) การเจริญของกวาวขาวในธรรมชาติ. ใน **เอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประ เทศไทยครั้งที่ 13** (หน้า 476-477). สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชวลิต นิยมธรรม. (2538). **กวาวเครือ. อนุกรมวิธานพืชอักษร ก.** ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: เพื่อนพิมพ์.

นงลักษณ์ วิบูลสุข. (2543). บทบาทของธาตุสังกะสีในดินและพืช. กรุงเทพฯ: **วารสารดินและปุ๋ย.** 13: 138-141.

นันทวัน บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2530). **สมุนไพรพื้นบ้าน.** กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชน จำกัด.

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว. **วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

ประสาร ฉลาดคิด. (2544). สิ่งแวดล้อมกับการเจริญเติบโตในรอบปีของกวาวเครือขาว. ใน **เอกสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3** วันที่ 18-19 กรกฎาคม 2545. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พรทิพย์ จันทร์ราช. (2547). การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestral ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*). **วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2541). การใช้กวาวเครือในแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. ใน **เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ** (หน้า 1-8). กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2535). **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.** ภาควิชาปฐพีวิทยา. กรุงเทพฯ: หน้า 459-556.

มหาวิทยาลัยมหิดล. (2546). **กวาวเครือขาว.** โครงการจัดทำข้อมูลสมุนไพรเชิงพาณิชย์เพื่อบริการ. คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา. (2543). **ธาตุอาหารพืช**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: หน้า 286-352.

ยุทธนา สมิตะสิริ และชรินทร์ วังใจ. (2539). ชีววิทยาบางประการของกวาวขาว : 1) ดอก ฝัก และเมล็ด. ใน **เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 12** (หน้า 264-265). มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรุงเทพฯ.

ยุทธนา สมิตะสิริและ สันติ ศักดารัตน์. (2538). รูปแบบของสมุนไพรกวาวเครือขาวที่เหมาะสมสำหรับใช้คุมกำเนิดนกพิราบ. **วารสารเทคโนโลยีสุรนารี** 2(2): 89-96.

ยุทธนา สมิตะสิริ และเสรี แปงจิตต์. (2530). ฤทธิ์ในการคุมกำเนิดของกวาวเครือขาวในหนูขาว. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่** 14: 75-85.

ยุพดี ลางคลิจันทร์. (2527). การศึกษาผลของกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) ที่มีต่ออวัยวะสืบพันธุ์และการสืบพันธุ์ในหนูเพศผู้. **วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.**

รัตนา ปานเรียนแสน. (2543). ลักษณะของประชากรกวาวเครือขาวจากแหล่งต่างๆของประเทศไทย. **วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.**

รุจน์ สุทธิศรี (2547). **กวาวเครือขาว.** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

รุจน์ สุทธิศรี (2547). **สารเอสโตรเจนจากพืช (phyoestrogen).** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

วรรณลักษณ์ จันทร์เงิน และยุทธนา สมิตะสิริ. (2530). ชีววิทยาบางประการของกวาวเครือขาว : 1) ดอก ฝัก และเมล็ด. ใน **เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13** (หน้า 470-471) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. สงขลา.

วราภรณ์ พงษ์ดำ ยุทธนา สมิตะสิริ สุรพงษ์ อุดมพันท์ และวีระ วงศ์คำ. (2530). ผลของกวาวเครือขาวต่อเม็ดเลือดขาวของหนูขาวเพศผู้. ใน **เอกสารการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีครั้งที่ 13.** มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วันดี กฤษณพันธ์. (2539). สมุนไพรน่ารู้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. **วารสาร UPDATE** ก.ย.-ต.ค. หน้า 47-51.

วิชัย เชิดชีวศาสตร์. (2541). ข้อเสนอแนะ และทิศทางการวิจัยกวาวเครือขาวในอนาคต. ใน **เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องกวาวเครือ** (หน้า 36-38). กรุงเทพฯ. สถาบันการแพทย์แผนไทย. กรมการแพทย์.

วุฒิ วุฒธรรมเวช. (2540). **สารานุกรมสมุนไพรไทย.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์. (2549). **เคล็ดไม่ลับ อาหารลดความดันเลือดสูง.** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.tttonline.net/health_show.php?type_id=300

สมภพ ประธานธุรารักษ์. (2542). กวาวเครือและไฟโตเอสโตรเจน. ใน ณัฐนันท์ สินชัยพานิช และคณะ. บรรณาธิการ. ใน **เอกสารการประชุมเภสัชกรรมประจำปี 2542: เภสัชกรพัฒนาเพื่อการพึ่งพาตนเอง** (25-41). เภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ. (2550). **หนูแรท (*Rattus nuvergicus*).** มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.nlac.mahidol.ac.th/nlacwwwtha/spec_outSDRat.htm

สุทิน เกตุแก้ว. (2542). **กินอยู่เพื่อสุขภาพเล่ม 2 วิตามิน และเกลือแร่.** กรุงเทพฯ: สุขภาพใจการพิมพ์.

หลวงอนุสารสุนทร. (2474). **ตำรายาหัวกวาวเครือ.** เชียงใหม่: โรงพิมพ์อุปติพงศ์.

อนุสรณ์ วนาสัณฑ์. (2532). ผลของสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์และสารบางอย่างในเลือดหนูขาว. **วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.**

อรดี สหวัชรินทร์. (2542). กวาวเครือ สมุนไพรครอบจักรวาล. **ว.เคหะการเกษตร.** 23(3): 127-135.

อรพินท์ จินตสถาพร รุ่งกานต์ กล้าหาญ ศรีน้อย ชุ่มคำ และอรทัย ไตรวัฒนานนท์. (2546). **ผลของกวาวเครือต่อการเติบโต สุขภาพปลา และยับยั้งพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ปลานิล.** แนวทางการพัฒนาสมุนไพรของไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อรพินท์ จินตสถาพร อุทัยวรรณ คันโธ อรวรรณ สติยาลัย ศรีน้อย ชุ่มคำ ทัศนีย์ สุวรรณยอด และพัฒนพงศ์ ชูแสง. (2546). **ผลของกวาวเครือต่อการเติบโต และระดับฮอร์โมนบางชนิดในปลาสลิด.** แนวทางการพัฒนาสมุนไพรของไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อารี ชูช่วย อุดร จรรยาธรรม สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย และยุทธนา สมิตะสิริ. (2530). พิษของกวาวเครือขาวต่อนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่น. **ว. วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่** 11: 46-55.

Buckman, H.O. and Brady, N.C. (1969). **The nature and properties of soil7th**. Ed. New York: The Macmillan Co. 654 p.

Chen, W.C., Hayakawa, S., Yamamoto, T., Su, H.C., Liu, I.M. and Cheng, J.T. (2004). Mediation of beta-endorphin by the isoflavone puerarin to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. **Plant Med.** 70(2):113-6. [Online]. Available: http://www. nlm.nih.gov

Frank, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M. and Narala, K.K. (1994). Quantitation of phytoestrogen in legume by HPLC. **J. Agri. Food Chem.** 42: 1905-1913.

Hatch, M.D. and Burnell, J.N. (1990). Carbonic anhydrase activity in leaves and its role in the first step of C4 photosynthesis. **Plant Physiol.** 93: 825-828. [Online]. Available: http:// www. atrazeneca.co.th/thai/patient3.html

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. (1986). A chemical investigation of *Pueraria mirifica* root. Z. **Natureforsch.** 41: 403-408.

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. (1989). Minor isoflavone from root of *Pueraria mirifica*. Z. **Natureforsch.** 44: 742-762.

James, J.C. (1992). **Available Zinc in Soil. Faculty of Soil and Land Resources.** Clemson University. [Online]. Available: http://soils.clemson.edu/Zn.htm

John, I., Baker, Daniel, E., Keyler, and Ashok, K.S. (2004). Effects of Purified Puerarin on Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol. **Journal of Medicinal Food.** 7(2): 180-186. [Online]. Available: http://www.liebertonline.com/action/showPreferences

Johnson, A.D. and Simons, J.G. (1979). Diagnosis indices of zinc deficiency in tropical legumes. **J. Plant Nutr.** 1: 123-149.

Jones, C.A. (1981). Proposed modification of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) for interpreting plant analysis. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 12: 785-794.

Kashemsanta, L., Suvatabanhu, K. Airy Shaw., A.K. (1952). A New Species of *Pueraria* (Leguminosae) from Thailand, Yielding an Oestrogenic Principle. **Kew Bull.** 4: 549-551.

George, R. and Michael, S. (2002). **Zinc for crop production.** Reagent of the University of Minesota. [Online]. Available: http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystem /DC072.html

Knight, D.C and Eden, J.A. (1996). A Review of the clinical effect of phytoestrogen. Obstetrics and Gynecology. 87(5): 897-904.

Kozlovskii, A.G., Zhelifonova, V.P., Vinokurova, N.G. and Ozerskaia, S.M. (2000). Effect on microelements on biosynthes of secondary metabolites in the fungus *Penicillium citrinum* Thom VKM F-1079. **Mikrobiologiia.** 2000 Sep-Oct. 69(5): 642-649.

Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shamigol, T, and Wray, S. (2000). The effects of inhibiting myisin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. **Europe Journal Physiology.** 440: 315-321.

Mac, M.P.M. (1992). Mechanism and consequences of portal hypertension. **Drug.** 44: 1-13.

Martens, D.C. and Weasterman, D.T. (1991). **Fertilizers applications for correcting micronutrient deficiencies. In Micronutrients in Agriculture**. eds. J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, and R.M. Welch, Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America. PP. 549-592.

Mortvedt, J.J., Giordano, P.M. and Lindsay, W.L. (1972). **Micronutrient in agriculture. USA : Soil Science Society of America**. Inc. Madison. Wisconsin.

Niranjan P. and Gurdev, S.K. (1995). **Host Plant Resistance to Insects.** Philippines : International Rice Research Institute. 22-59.

Prask, J.A. and Plocks, D.J. (1971). A role of zinc in the structural integrity of the cytoplasmic ribosomes of *Euglena gracilis*. **Plant Physiol.** 48: 150-155.

Sharma, P.N., Tripathi, A. and Bisht, S.S. (1995). Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. **Plant Physiol.** 107: 751-756.

Smith, R.D., Eisner, D.A. and Susan, W. (2002). pH-induced change in calcium: Function consequences and mechanisms of action in guinea pig. **AJP-Heart.** 283: 2518-2526.

Taggart, M., Austin, C. and Wray, S. (1994). A comparison of the effects of intracellular and extracellular pH on contraction in isolated rat portal vein. **J. Physiol.** 475: 285-292.

The Gym Sports Research Center. (2006). **Natural Reduction of High Blood Pressure.** [Online]. Available: http://www.usgyms.net/index.html

Vitosh, M.L., Warncke, D.D. and Lucas, R.E. (1997). **Soil and Soil Management.** Department of Crop and Soil Sciences. Michigan State University Extension. [Online]. Available: http://web1.msue.msu.edu/imp/modf1/05209706.html

Yasuda, T., Kano, Y., Saito, K. and Ohsawa, K. (1995). Urinary and biliary metabolites of puerarin in rats. Tohoku College of Pharmacy, Miyagi, Japan. **Biol. Pharm. Bull.** 18(2): 300-303. [Online]. Available: http://www.nlm.nih.gov

บทที่ 3
ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham]

บทคัดย่อ

Puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] มีฤทธิ์ในการขยายตัวของหลอดเลือด ลดการเกิดโรคที่เกี่ยวกับความดันโลหิตสูงได้ วัตถุประสงค์ของการทดลองเพื่อศึกษาผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม 2549 ถึงเดือนตุลาคม 2549 ที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (RCBD) 4 ซ้ำ จำนวน 5 ทรีตเมนท์ คือ ทรีตเมนท์ที่ 1 กลุ่มควบคุม (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น) ทรีตเมนท์ที่ 2 ฉีดพ่นด้วยสังกะสีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนท์ที่ 3 ฉีดพ่นด้วยสังกะสีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนท์ที่ 4 ฉีดพ่นด้วยสังกะสีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และทรีตเมนท์ที่ 5 ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าการฉีดพ่นด้วยสังกะสีทุกความเข้มข้นทำให้กวาวเครือขาวมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ทำให้ปริมาณ puerarin แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เท่ากับ 87.7, 113.0, 129.0, 194.3 และ 146.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่า การฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin มากที่สุด

3.1 บทนำ

Puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมีฤทธิ์ในการขยายตัวของหลอดเลือด ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือด ลดภาวะเส้นเลือดอุดตัน และช่วยลดความดันภายในหลอดเลือด (John et al., 2004) และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง ช่วยลดอาการของโรคพิษสุราเรื้อรัง ช่วยให้การขับถ่ายปัสสาวะคล่องขึ้น โดยลดการอุดตันในท่อปัสสาวะ จาก

การศึกษากับหนูทดลองที่ให้ puerarin พบว่า หนูทดลองมีการขับปัสสาวะออกมาได้ดี (Yasuda *et al*., 1995) Chen *et al.* (2004) พบว่า puerarin สามารถลดอาการขาดน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองได้ จากการศึกษาการสะสม isoflavones ในพืช พบว่า จุลธาตุ เช่น Zn, Cu, Mn และ Fe มีผลต่อปริมาณ isoflavones ในถั่วอัลฟาฟา (*Medicago sativa* L.) (Andrew *et al*., 1994) Takashi *et al.* (1990) พบว่า การให้ $CuCl_2$ แก่ถั่ว Kudzu (*Pueraria montana* var. *labota*) ทำให้ปริมาณ daidzein, genistein และ coumestrol เพิ่มขึ้น 5 - 10 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า การฉีดพ่นสารละลายทองแดงให้กับกวาวเครือขาว ทำให้ปริมาณ daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาวมีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 300 ppm มีการสะสม daidzein และ genistein ในหัวกวาวเครือขาวมากที่สุด สารประกอบทองแดงในรูปของ $CuCl_2$, $CuSO_4$ และ Cu-EDTA ทำให้การสะสม daidzein และ genistein ไม่แตกต่างกันทางสถิติ พรทิพย์ จันทร์ราช (2547) พบว่า การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วย $CuCl_2$ 1,000 ppm, $MnCl_2$ 1,000 ppm และ $FeCl_2$ 1,000 ppm ทำให้มีการสะสม coumestrol ในหัวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ Kozlovskii *et al.* (2000) พบว่า การให้สังกะสีกับ *Penicillium citrinum* สามารถกระตุ้นการสร้างสาร citrinin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม isoflavones ให้เพิ่มขึ้นได้

สังกะสีเป็นจุลธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเป็นส่วนประกอบของเอ็นไซม์และช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์หลายชนิด ช่วยกระตุ้นการสร้างคลอโรฟิลล์ และเป็นปัจจัยร่วม (cofactor) ที่ช่วยในกระบวนการเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอนในปฏิกิริยาชีวเคมีของพืช (Jones, 1991 and Jensen *et al.*, 1972) ซึ่งช่วยให้มีการสร้างสารสำคัญในพืช ดังนั้น การให้สังกะสีกับกวาวเครือขาวสามารถเพิ่มคุณภาพของกวาวเครือขาวโดยการเพิ่มการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหาร ซึ่งจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นยารักษาโรคต่อไปได้

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 สถานที่ทำการวิจัย

ทำการทดลองที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนมีนาคม 2549 ถึง ตุลาคม 2549 วัดและเก็บรวบรวมข้อมูลที่ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาการผลิตพืช อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 (F3) และวิเคราะห์ผลทางเคมีที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ธาตุและสารประกอบ อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1 (F1) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.2 การเตรียมต้นกวาวเครือขาว

ใช้ต้นกวาวเครือขาวอายุ 5 ปี ก่อนทำการทดลอง 1 เดือน ทำการตัดแต่งกิ่งแขนงและก้านช่อดอกของกวาวเครือขาวแบบหนัก (hard pruning) ปรับสภาพดินบริเวณรอบโคนต้นโดยการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ โดยหว่านให้ทั่วบริเวณรอบโคนต้นรัศมี 30 เซนติเมตร แล้วฝังกลบ ให้น้ำด้วยระบบสปริงเกอร์ 3 วันต่อครั้งในช่วงเช้า กำจัดวัชพืชด้วยเครื่องตัดหญ้าทุก 2 สัปดาห์

3.2.3 แผนการทดลอง และการพ่นสารละลายสังกะสี

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) (ภาพที่ 3.1) 4 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น จำนวน 5 ทรีตเมนท์ ดังนี้

ทรีตเมนท์ที่ 1 (T1) กลุ่มควบคุม (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น)

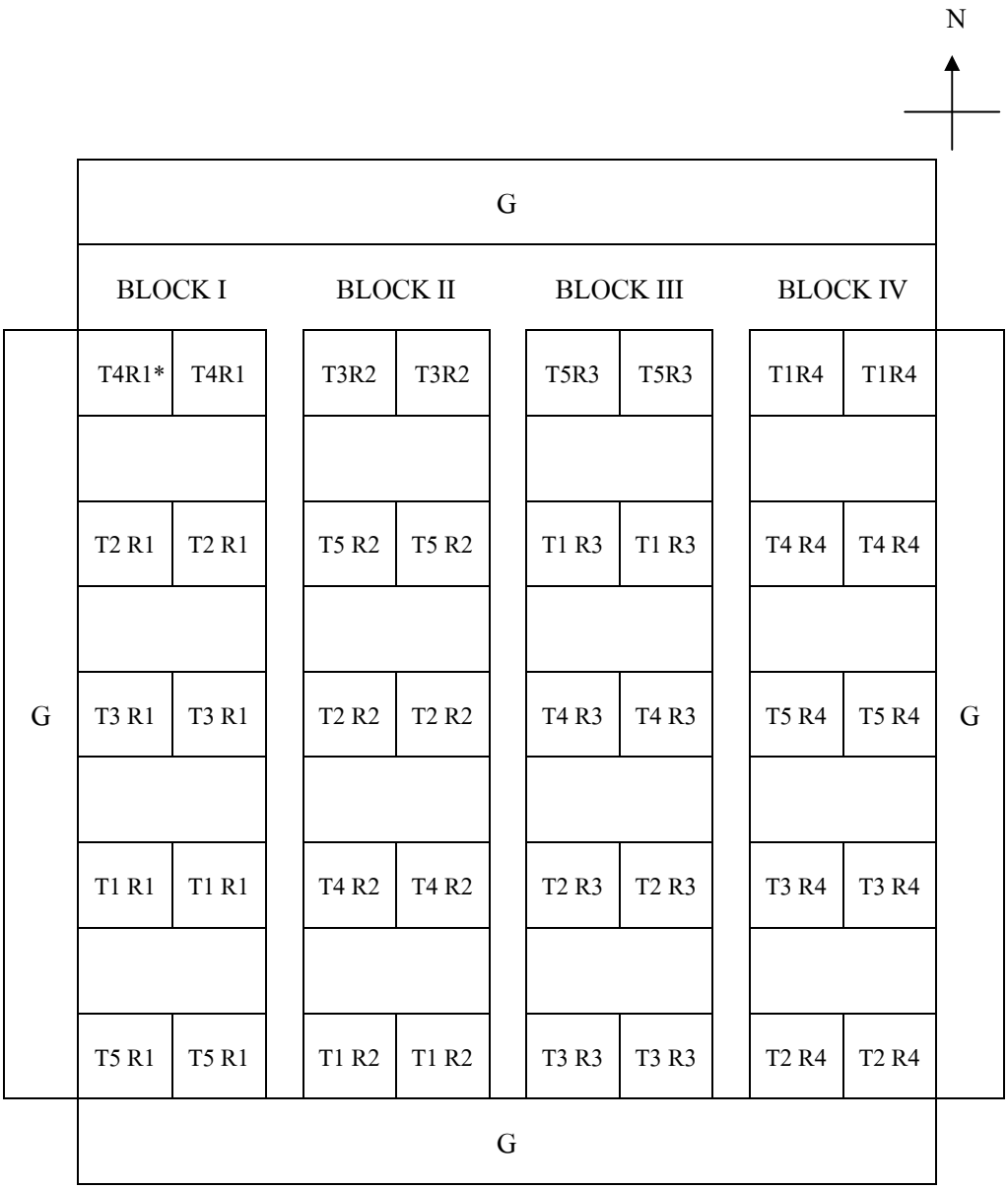
ทรีตเมนท์ที่ 2 (T2) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ทรีตเมนท์ที่ 3 (T3) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ทรีตเมนท์ที่ 4 (T4) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ทรีตเมนท์ที่ 5 (T5) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

ใช้สังกะสีในรูป $ZnSO_4$ (ซิงค์ซัลเฟต) เตรียมสารละลาย $ZnSO_4$ ในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 0, 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการละลายในน้ำกลั่น เติมสารจับใบ tween20 ลงในสารละลายสังกะสีทุกความเข้มข้นในอัตราส่วน 0.1 มิลลิลิตรต่อสารละลาย 1 ลิตรในทุก ทรีตเมนท์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมสาร ใช้เครื่องพ่นสารแบบสะพายข้างความจุ 3 ลิตรแบบใช้แรงดันอากาศ ฉีดพ่นสารละลาย $ZnSO_4$ ที่ใบของกวาวเครือขาวโดยให้เปียกทั่วทั้งใบ (run off) ฉีดพ่นครั้งแรกเมื่อวันที่ 1 มีนาคม 2549 และพ่นห่างกัน 2 สัปดาห์ต่อครั้ง จนถึงเดือนกันยายน 2549 รวมการฉีดพ่นทั้งหมด 14 ครั้ง



ภาพที่ 3.1 แผนผังแสดงการปลูกกวาวเครือขาว ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

<u>หมายเหตุ</u> G แทน กวาวเครือขาวที่ปลูกเป็นแนวป้องกัน (guard row)

T แทน ทรีตเมนท์ของการทดลอง

R แทน ซ้ำของการทดลอง

* 1 ซ้ำ มี 2 sub-sample

3.2.4 การเก็บตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

เก็บตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวรวมทั้งหมด 3 ครั้ง ครั้งแรกเก็บเมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม 2549 (หลังการฉีดพ่นสารละลาย $ZnSO_4$ 2 เดือน) ครั้งที่ 2 เก็บเมื่อวันที่ 1 กรกฎาคม 2549 (หลังการฉีดพ่นสารละลาย $ZnSO_4$ 4 เดือน) และครั้งที่ 3 เก็บเมื่อวันที่ 1 กันยายน 2549 (หลังการฉีดพ่นสารละลาย $ZnSO_4$ 6 เดือน) โดยใช้จอบและเสียมขุดห่างจากโคนต้นประมาณ 30-60 เซนติเมตร เลือกตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่มีขนาดและอายุใกล้เคียงกันในทุกซ้ำของการทดลอง โดยสังเกตลักษณะสีของรากสะสมอาหาร ซึ่งรากสะสมอาหารที่เกิดขึ้นใหม่จะมีสีน้ำตาลอ่อน จากนั้นนำไปล้างน้ำให้สะอาดและผึ่งจนแห้ง

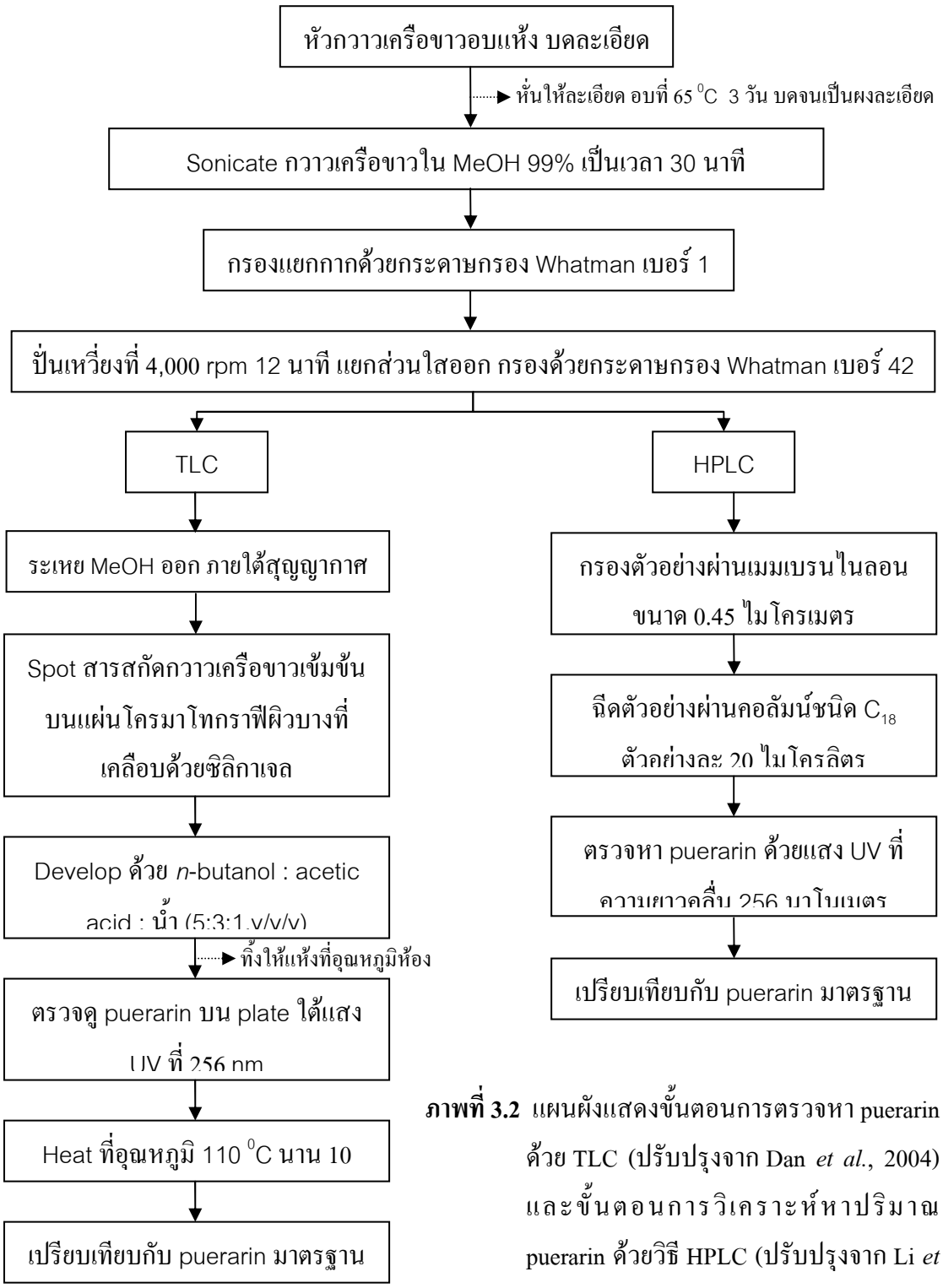
3.2.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล

วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ ชั่งน้ำหนักสดด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำไปหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ และอบให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 72 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักของกวาวเครือขาวที่อบแห้ง และปล่อยให้เย็นแล้วด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร วิเคราะห์วาเรียนซ์ (analysis of variance : ANOVA) ของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SPSS Vol. 13 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.2.6 การสกัด puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (Li *et al*., 2003)

นำกวาวเครือขาวที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด (blender) แล้วร่อนผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 0.1 มิลลิเมตร นำผงกวาวเครือขาวที่ร่อนได้ในปริมาณ 10 กรัม ของแต่ละทรีตเมนท์ใส่ลงใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในแต่ละ flask สกัดสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่อง ultrasonic processor โดยจุ่มแท่งสกัด (probe) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรลงใน flask ดังกล่าว โดยกำหนดให้คลื่นเสียงปล่อยออกมาเป็นแบบพัลซ์ (pulse) 3 วินาทีต่อครั้ง ใช้เวลาในการสกัดทั้งหมด 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (vacuum pump) ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) สารที่กรองได้ที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที นาน 12 นาที แยกส่วนใสออก นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 ปรับปริมาตรสารสกัดที่ได้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นแบ่งสารสกัดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปตรวจหา puerarin ด้วย thin layer

chromatography (TLC) อีกส่วนหนึ่งนำไปตรวจหา puerarin และวิเคราะห์ปริมาณด้วย high performance liquid chromatography (HPLC)



ภาพที่ 3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการตรวจหา puerarin ด้วย TLC (ปรับปรุงจาก Dan *et al.*, 2004) และขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณ puerarin ด้วยวิธี HPLC (ปรับปรุงจาก Li *et al.*, 2003 และประสาร ฉลาดคิด, 2546)

3.2.7 การตรวจหา puerarin ด้วย TLC (Dan *et al*., 2004)

ระเหยเมทานอลในสารสกัดจากข้อ 3.2.6 ออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) จนเหลือปริมาตร 5 มิลลิลิตร spot สารสกัดเข้มข้นบนแผ่นโครมาโตกราฟีแบบผิวบางที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลขนาด 10 x 10 เซนติเมตร โดย spot จุดละ 2 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต และ spot สาร puerarin มาตรฐานลงบนแผ่นโครมาโตกราฟีแบบผิวบางแผ่นเดียวกัน จุดละ 2 ไมโครลิตร ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง วางแผ่นโครมาโตกราฟีแบบผิวบางที่แห้งแล้วลงใน 3 เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) 3 ระบบ ระบบที่ 1 ประกอบด้วย *n*-butanol : acetic acid : น้ำ (5:3:1 โดยปริมาตร) ระบบที่ 2 ประกอบด้วย chloroform : MeOH : water (65:25:4 โดยปริมาตร (Dominique *et. al*, 1998)) และระบบที่ 3 ประกอบด้วย chloroform : MeOH (20:1 โดยปริมาตร) ซึ่งอยู่ในโถแก้ว (tank) ปิดสนิท เมื่อเสร็จการโครมาโตกราฟี นำแผ่นโครมาโตกราฟีนั้นออกมาผึ่งลมให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ตรวจหา puerarin ในสารสกัดกวาวเครือขาว ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet: UV) ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร เทียบกับ puerarin มาตรฐาน โดยเปรียบเทียบตำแหน่งของ puerarin ในสารสกัดกวาวเครือขาวกับ puerarin มาตรฐาน ยืนยันผลการตรวจหาโดยนำแผ่น โครมาโตกราฟีแบบผิวบางแผ่นเดิมมาทำให้ร้อน โดยวางลงบนเครื่องทำแผ่นร้อน (hot plate) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที เปรียบเทียบตำแหน่งของ puerarin จากสารสกัดกวาวเครือขาวกับ puerarin มาตรฐาน

ขั้นตอนและวิธีการสกัดสารแสดงดังภาพที่ 3.2

3.2.8 การหาปริมาณของ puerarin ด้วย HPLC (Li *et al*., 2003 และประสาร ฉลาดคิด, 2546)

กรองสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้จากข้อ 3.2.6 ด้วยกระดาษกรองไนลอนเมมเบรน (nylon filter membrane) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ (vacuum filter pump) ใส่สารสกัดกวาวเครือขาวที่กรองแล้วลงในขวด (vial) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วฉีดสารสกัดกวาวเครือขาวในขวด vial ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อครั้งต่อตัวอย่างผ่านคอลัมน์ชนิด hypersil ODS C_{18} ขนาด 4.6 x 150 มิลลิเมตร และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร ของ HP รุ่น 4100 ที่มี diode array เป็น detector แยก puerarin โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) acetic acid ในน้ำ (A) และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) acetic acid ใน acetonitrile (B) โดยทำเป็น gradient (ตารางที่ 3.1) ใช้อัตราการเคลื่อนที่ของสารเท่ากับ 1.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจหา puerarin ด้วยแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร อุณหภูมิของระบบที่ใช้เท่ากับ 35 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบตำแหน่งของ puerarin ในสารสกัดกวาวเครือขาวกับสาร puerarin มาตรฐาน แล้วนำพื้นที่ใต้กราฟของ puerarin ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดกวาวเครือขาวมา

คำนวณหาปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสาร puerarin มาตรฐาน ความเข้มข้น 2, 4, 6,….., 26, 28 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งวิเคราะห์ในสภาวะ (conditions) เดียวกับสภาวะที่ใช้วิเคราะห์สารสกัดกวาวเครือขาว

ขั้นตอนและวิธีการหาปริมาณของ puerarin ด้วย HPLC แสดงดังภาพที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 Gradient ของ mobile phase (A) และ (B)

เวลา (นาที)	ปริมาตรของ mobile phase (%)	
	(A)	(B)
0	90	10
30	72	28
45	72	28

3.2.9 การเก็บรวบรวมข้อมูลปริมาณ puerarin และการวิเคราะห์ผล

รวบรวมข้อมูลพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของ puerarin ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดกวาวเครือขาวในแต่ละทรีตเมนท์และแต่ละซ้ำ จากหัวกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง และรวบรวมข้อมูลปริมาณ puerarin ที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้กราฟ วิเคราะห์วาเรียนซ์ (analysis of variance : ANOVA) ของปริมาณ puerarin ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SPSS Vol. 13 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.3 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

3.3.1 การวิเคราะห์ความสมดุลของธาตุสังกะสีเบื้องต้น (preliminary test)

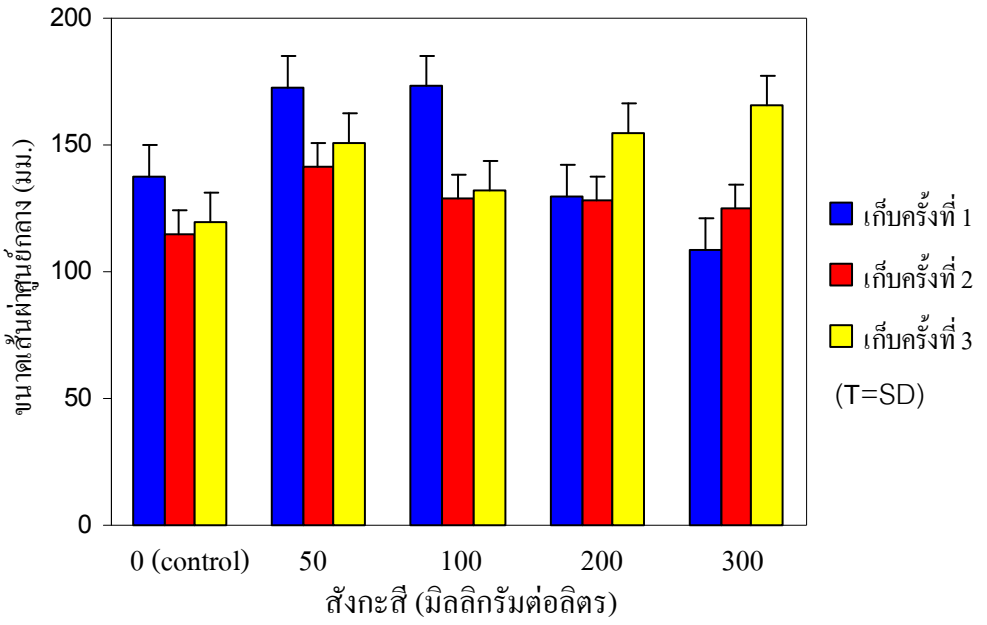
การวิเคราะห์ความสมดุลของธาตุสังกะสีเบื้องต้นในแปลงปลูกกวาวเครือขาวโดยวิธีการวิเคราะห์ดิน พบว่า ดินบริเวณแปลงปลูกกวาวเครือขาวมีลักษณะเป็นดินร่วนเหนียว สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีสัตว์ในดินหลายชนิด เช่น ไส้เดือน กิ้งกือ และแมลงต่าง ๆ ซึ่งลักษณะดินเช่นนี้เป็นดินที่มีอินทรียวัตถุสูง (ภาคปฐพีวิทยา, 2541) ส่วนดินที่มักจะพบการขาดสังกะสี เช่น ดินทราย ดินที่มีความเป็นกรดสูง ดินที่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตจำนวนมาก และดินที่มีการชะล้างสูง (ห้างหุ้นส่วนจำกัด ทีม-เกษตร, 2550) จากการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินบริเวณแปลงปลูก พบว่า มีค่าเท่ากับ 6.0 ซึ่ง Sprague (1964) และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ.เชียงใหม่ (2550) รายงานว่า ความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 6.0-6.5 เป็นระดับที่ธาตุอาหารจะเป็นประโยชน์ต่อพืชมากที่สุด หากดินมีความเป็นกรด-ด่างสูงหรือต่ำเกินไป (>5, 7.5<) สังกะสีจะแตกตัวเป็นประจุได้น้อย

และพืชนำไปใช้ได้น้อยลง การวิเคราะห์ความสมดุลของธาตุสังกะสีเบื้องต้นในแปลงปลูกกวาว-เครือขาวโดยวิธีการวิเคราะห์ต้นของกวาวเครือขาว พบว่า กวาวเครือขาวมีลักษณะของต้นและใบที่สมบูรณ์ ไม่พบอาการผิดปกติของการขาดธาตุสังกะสี คือ ไม่มีอาการใบด่างเหลืองระหว่างเส้นใบ (interveinal chlorosis) อาการกิ่งแห้งตาย และข้อปล้องสั้นที่ทำให้มีลักษณะเป็นกระจุก (rosette) (สมบุญ เตชภิญญาวัฒน์, 2535; Kaya, 2002) ผลการวิเคราะห์ที่ได้อาจเป็นผลมาจากแปลงปลูกกวาวเครือขาวมีการดูแลที่ดี มีการบำรุงดินด้วยปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยพืชสด และมีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ จึงทำให้ดินบริเวณนี้มีอินทรียวัตถุสูง มีความเป็นกรด-ด่างของดินที่เหมาะสมต่อกวาว-เครือขาว ลักษณะของกวาวเครือขาวที่ใช้ทดลองจึงมีความสมบูรณ์ จึงสมมุติฐานได้ว่า กวาวเครือ-ขาวไม่ขาดธาตุสังกะสี และอยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษ

3.3.2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

จากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง พบว่า การฉีดพ่นด้วยสังกะสีทุกระดับความเข้มข้นให้กับกวาวเครือขาว ไม่ทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น การฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งแรก เท่ากับ 137.88, 172.83, 173.2, 129.75 และ 108.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 เท่ากับ 115.06, 141.33, 128.78, 128.44 และ 124.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 เท่ากับ 119.48, 151.00, 131.83, 154.81 และ 165.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.3 และตารางภาคผนวกที่ 1) การเจริญและพัฒนาของพืชโดยทั่วไปจะเกิดขึ้นทีละน้อย และเป็นไปอย่างช้า ๆ เช่น การเจริญของใบ ลำต้น และราก ซึ่งการเจริญของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวอาจเกิดขึ้นช้า ทำให้ขนาดของรากสะสมอาหารไม่มีความแตกต่างกัน (สมบุญ เตชภิญญาวัฒน์, 2548 และ Bergmann, 1992) สังกะสีมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ออกซินที่มีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ (Mortvedt *et al.* 1972) ดังนั้น ธาตุสังกะสีจึงน่าจะทำให้ขนาดของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้น แต่ในการทดลองนี้ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดของรากสะสมอาหาร อาจเป็นผลมาจากสภาพดินบริเวณแปลงทดลองที่ปลูกกวาวเครือขาว เป็นดินที่มีส่วนประกอบของอณุภาคดินเหนียว (clay) มาก ทำให้มีโครงสร้างที่หนาแน่น (ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541) และช่วงทำการทดลองเป็นช่วงฤดูแล้ง ดินมีลักษณะแข็ง รวมถึงลักษณะการยืดและขยายตัวของผนังเซลล์ของรากสะสมอาหารเป็นแบบถาวร ทำให้การเจริญเป็นไปอย่างช้า ๆ

(ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์, 2545; ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2549) ดังนั้น กวาวเครือขาวที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสังกะสี จึงมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารไม่แตกต่างกัน (ตารางภาคผนวกที่ 2)

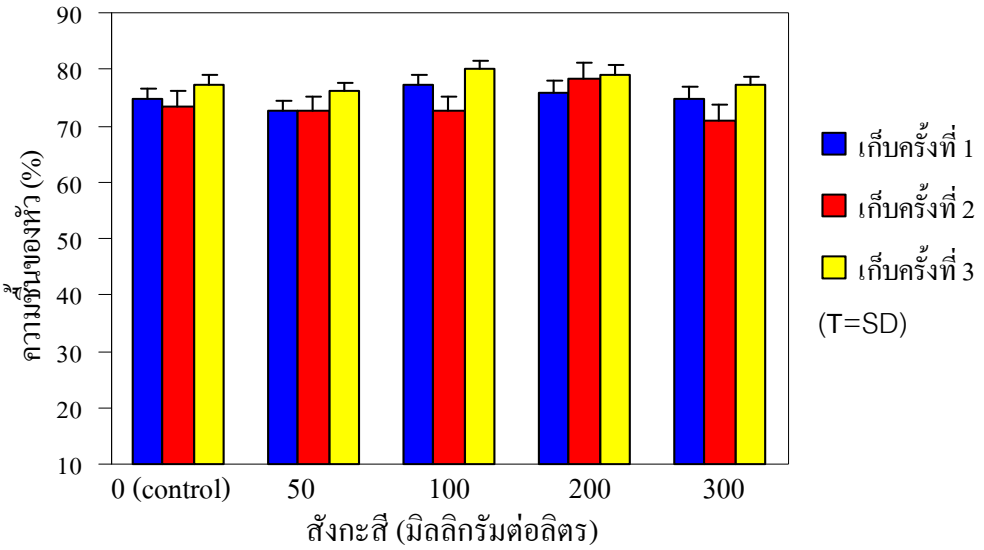


ภาพที่ 3.3 เส้นผ่าศูนย์กลางของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว จากตัวอย่างที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

3.3.3 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

การฉีดพ่นด้วยสังกะสีทุกความเข้มข้นให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น การฉีดพ่นด้วย $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของที่เก็บครั้งแรก (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 2 เดือน) เท่ากับ 74.65, 72.53, 77.20, 78.26 และ 71.06 ตามลำดับ รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 4 เดือน) มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารเท่ากับ 73.36, 72.53, 72.50, 78.26 และ 71.06 ตามลำดับ และรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 6 เดือน) มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารเท่ากับ 77.40, 76.21, 79.95, 79.19 และ 77.14 ตามลำดับ (ภาพที่ 3.4 และตารางภาคผนวกที่ 6) เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากระหว่างทำการทดลองมีการให้น้ำกับกวาวเครือขาว อย่างสม่ำเสมอ โดยให้น้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ความชื้นในดินมีความสม่ำเสมอ ทำให้อัตราการดูดและคายน้ำจึงไม่แตกต่างกัน (ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์, 2545) นอกจากนี้ รากสะสมอาหารของ

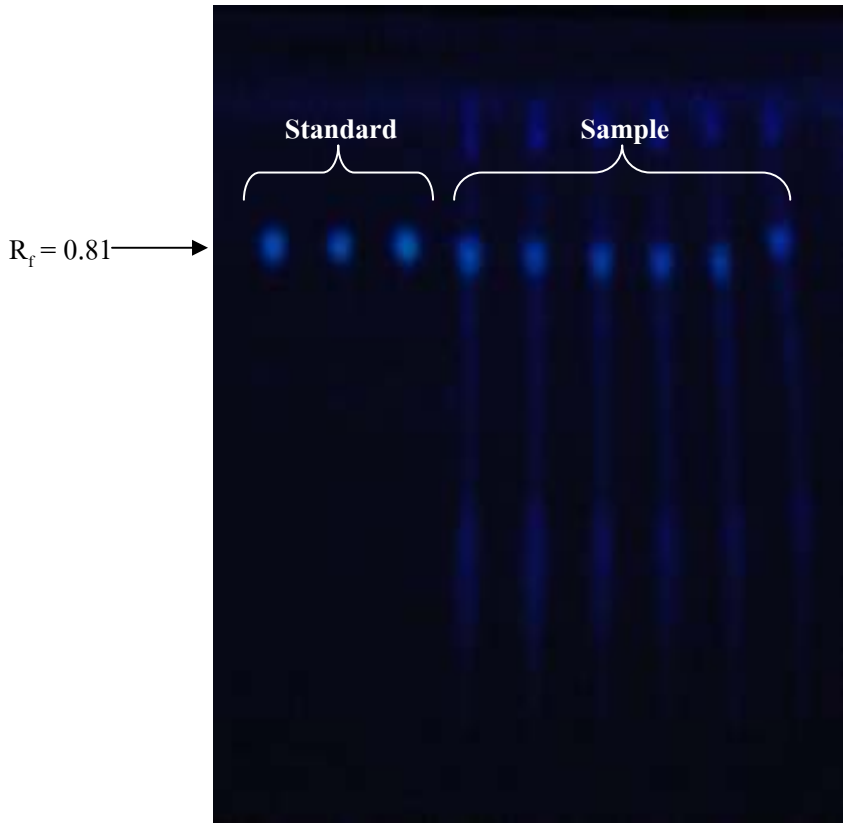
กวาวเครือขาวที่นำมาทดลองนั้น มีการเลือกขนาดที่สม่ำเสมอและอายุที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้น เปอร์เซ็นต์ความชื้นในรากสะสมอาหารที่วิเคราะห์ได้จึงไม่แตกต่างกัน



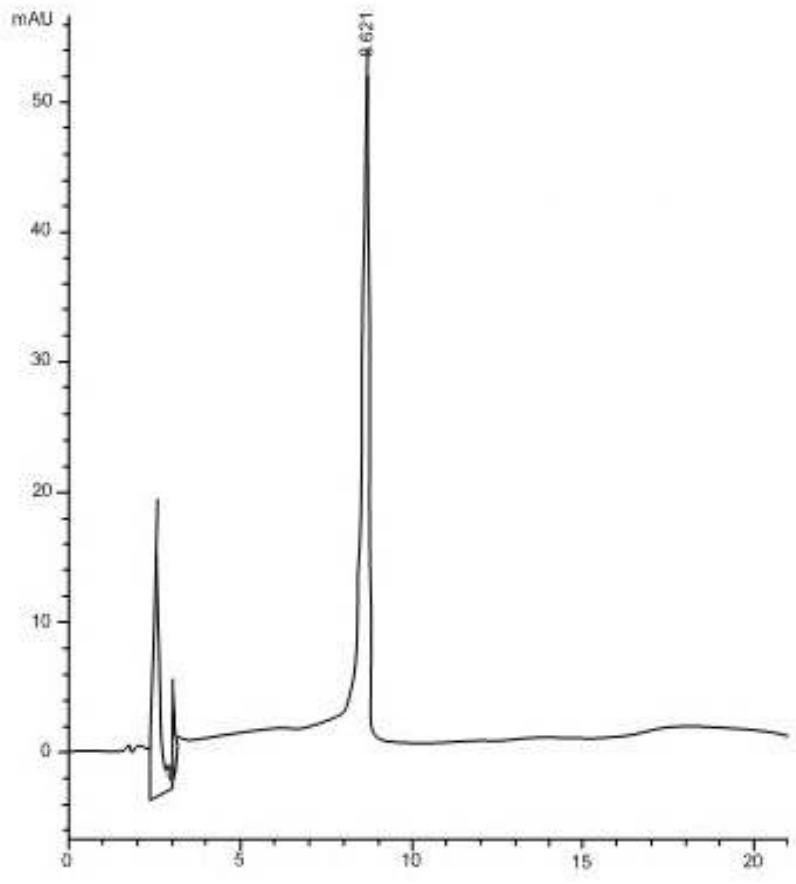
ภาพที่ 3.4 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว จากตัวอย่างที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

3.3.4 การตรวจหา puerarin

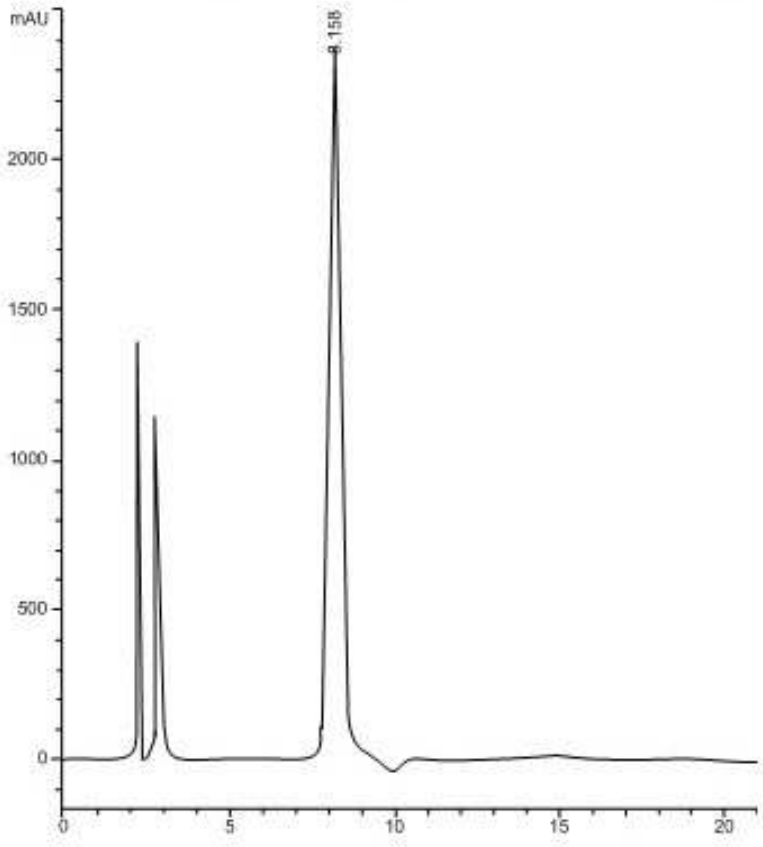
การตรวจหา puerarin จากสารสกัดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวด้วยวิธี TLC โดยใช้ n-butanol : acetic acid : water (5:3:1 โดยปริมาตร) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (ภาพที่ 3.5) โดยเปรียบเทียบตำแหน่งของ R_f ของ puerarin จากสารสกัดกวาวเครือขาวกับค่า R_f ของ puerarin มาตรฐาน พบสารที่ตำแหน่งเดียวกับตำแหน่งของ puerarin มาตรฐาน ซึ่งมี R_f เท่ากับ 0.81 นอกจากนี้ยังได้ใช้เฟสเคลื่อนที่อีก 2 เฟสคือ chloroform : MeOH : water (65:25:4 โดยปริมาตร) และ chloroform : MeOH (20:1โดยปริมาตร) พบตำแหน่งของ puerarin ในสารสกัดกวาวเครือขาวเท่ากันกับสาร puerarin มาตรฐาน จึงยืนยันผลการทดลองโดยวิเคราะห์ puerarin ด้วย HPLC พบว่า puerarin จากสารสกัดกวาวเครือขาว มี peak ที่มี retention time เท่ากับ retention time ของ puerarin มาตรฐาน (ภาพที่ 3.6) และมีรูปแบบ (pattern) ของ UV spectrum ที่เหมือนกัน (ภาพที่ 3.7) ส่วนปริมาณของ puerarin คำนวณจากพื้นที่ peak ของ puerarin จากสารสกัดกวาวเครือขาวเปรียบเทียบกับ puerarin มาตรฐาน ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 3.8, 3.9, 3.10, 3.11 และ 3.12



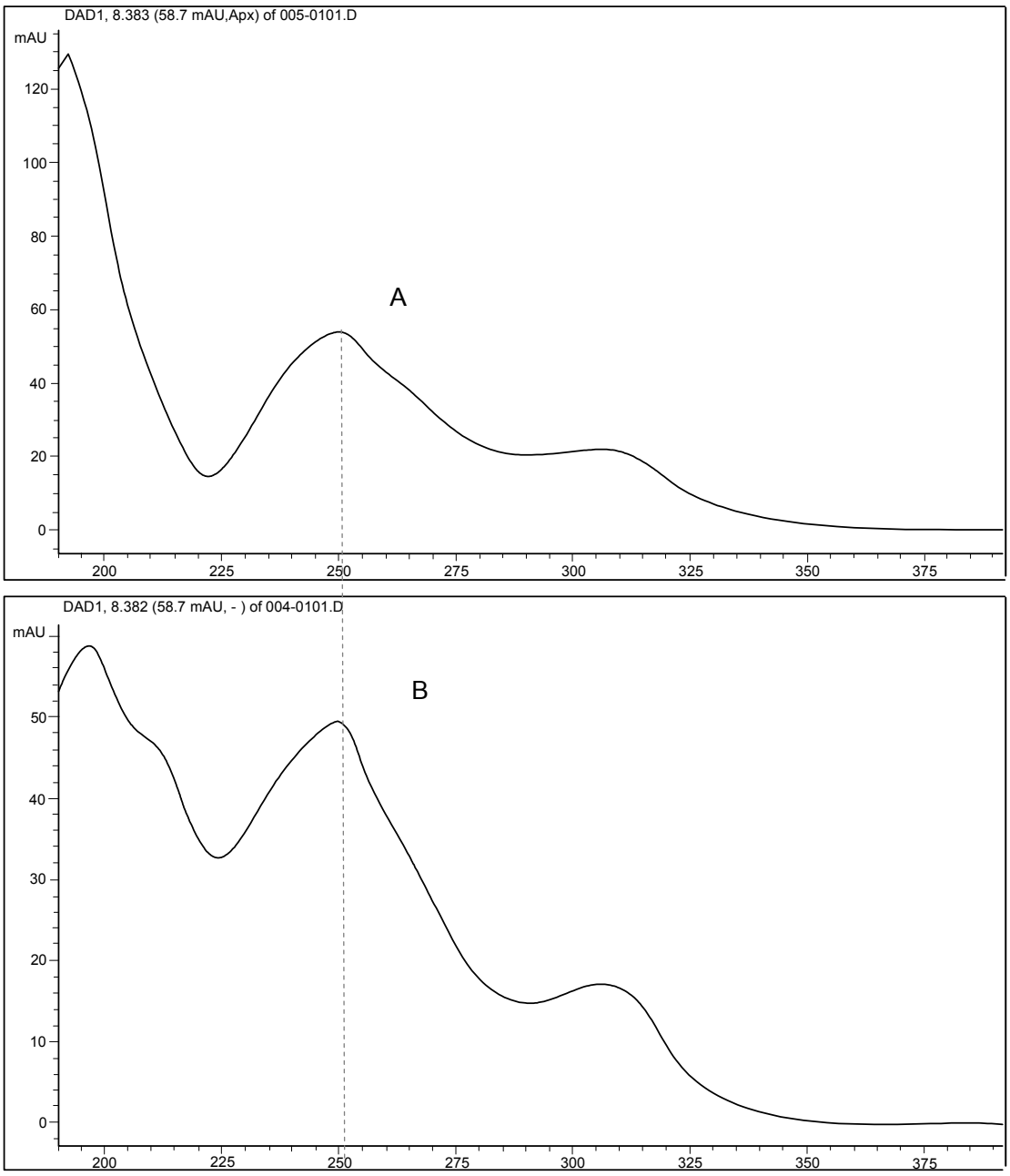
ภาพที่ 3.5 TLC โครมาโตแกรมของ puerarin มาตรฐาน และ puerarin (R_f = 0.81) จากสารสกัดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ n-butanol : acetic acid : water (5:3:1 โดยปริมาตร)



ภาพที่ 3.6 HPLC โครมาโตแกรมของ puerarin มาตรฐาน ตรวจหาโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร

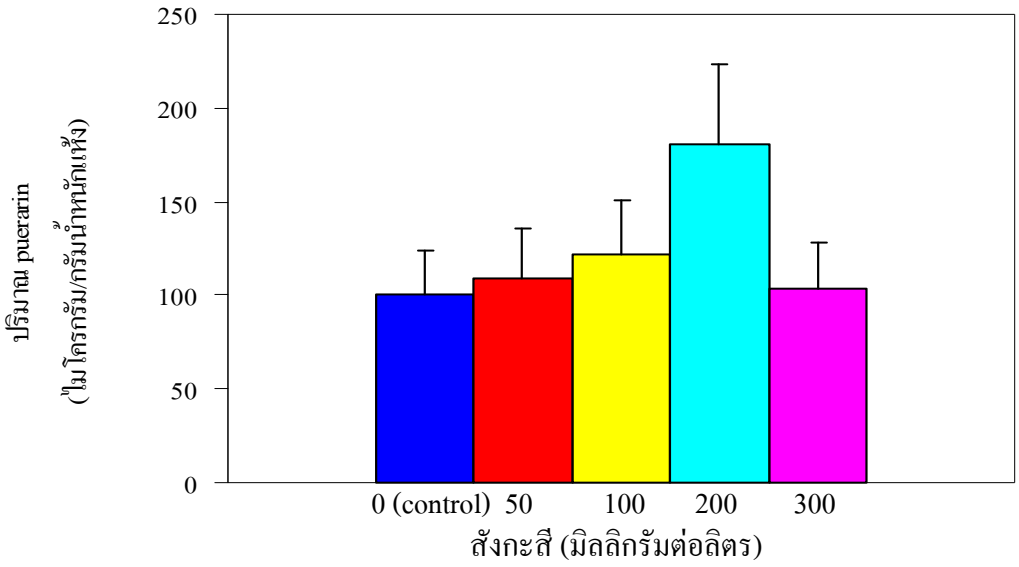


ภาพที่ 3.7 HPLC โครมาโตแกรมของ puerarin จากสารสกัดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว ตรวจหาโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร

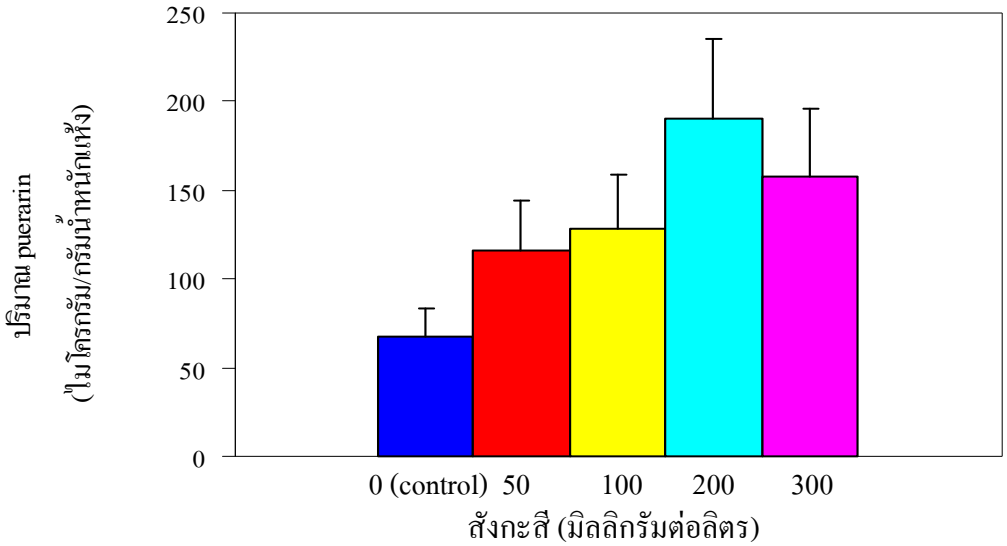


ภาพที่ 3.8 UV spectrum โครมาโตแกรม puerarin จากสารสกัดรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (A) และ puerarin มาตรฐาน (B) ตรวจหาโดยใช้แสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร

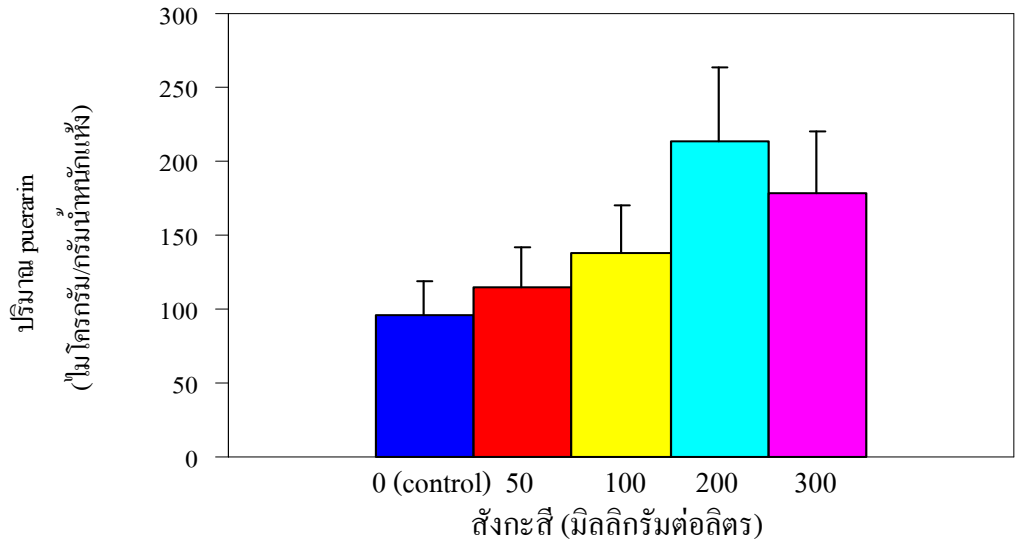
รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งแรก (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 2 เดือน) พบว่า การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 103.5, 109.3, 122.1, 180.8 และ 100.6 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ภาพที่ 3.8) รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 4 เดือน) พบว่า การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 67.6, 116.2, 128.0, 190.7 และ 158.2 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ภาพที่ 3.9) และรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 6 เดือน) พบว่า การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 96.1, 114.5, 137.5, 213.2 และ 178.4 และ ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ภาพที่ 3.10)



ภาพที่ 3.9 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งแรก (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 2 เดือน) (I = SD)

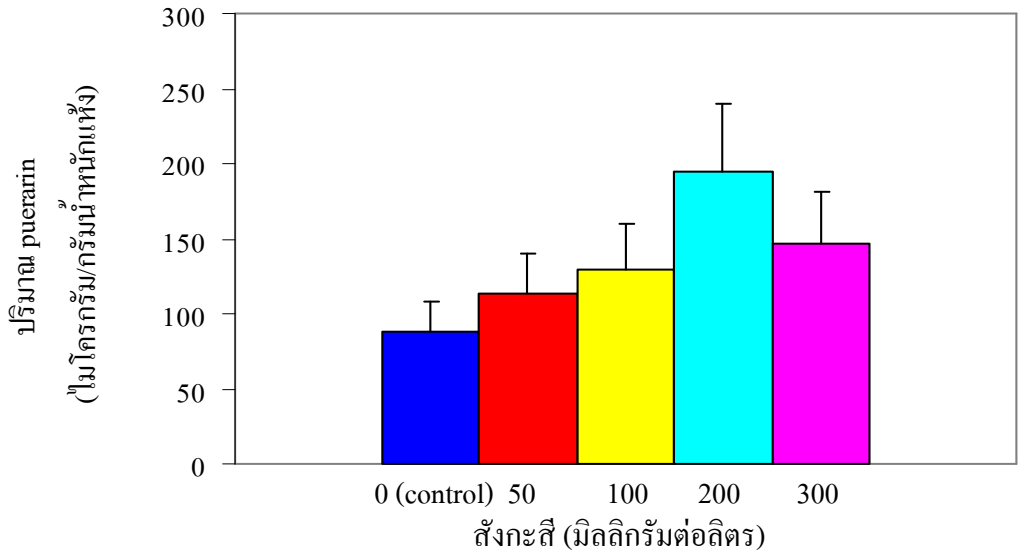


ภาพที่ 3.10 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 4 เดือน) (T = SD)



ภาพที่ 3.11 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 (เมื่อฉีดพ่น $ZnSO_4$ ไปแล้ว 6 เดือน) (T = SD)

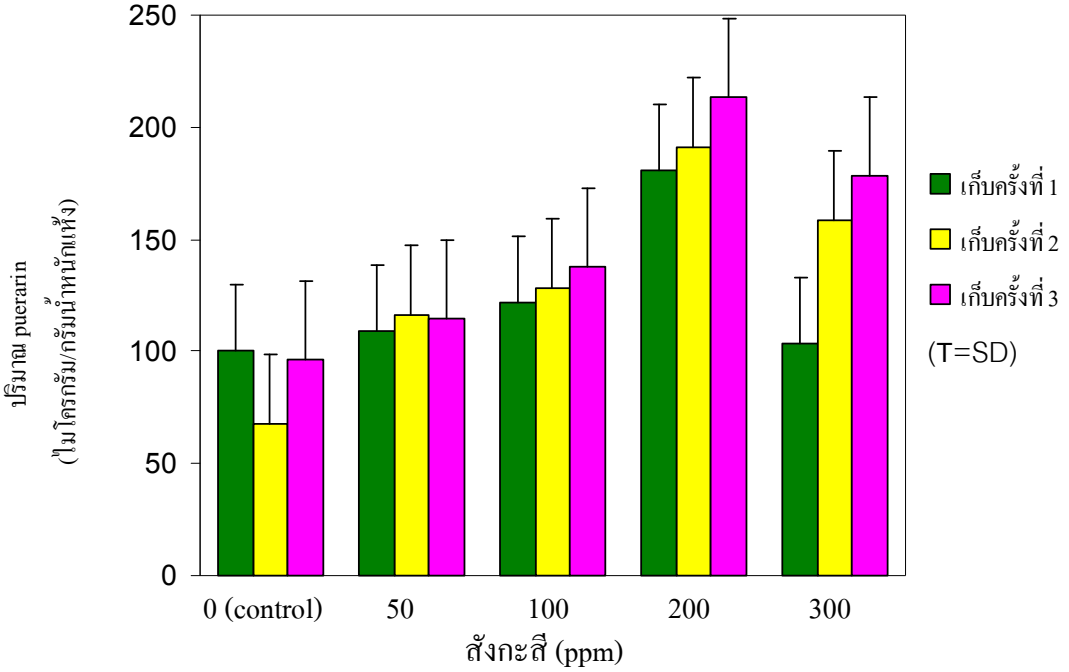
จากปริมาณ puerarin เฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง จะเห็นได้ว่า การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วย $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรให้รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin เฉลี่ยสูงที่สุด คือ 194.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 146.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 129.0 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง การฉีดพ่น $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 113.0 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และกลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น ให้ปริมาณ puerarin เฉลี่ยเท่ากับ 87.7 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ภาพที่ 3.11)



ภาพที่ 3.12 ปริมาณ puerarin เฉลี่ย จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง ($\bar{x}$ = SD)

จากการวิเคราะห์ปริมาณของ puerarin ด้วย HPLC พบว่า ปริมาณของ puerarin เพิ่มขึ้นเมื่อกวาวเครือขาวมีอายุมากขึ้น โดยกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 จะมีปริมาณ puerarin มากกว่ากวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2 และกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1 ตามลำดับ (ภาพที่ 3.12) สอดคล้องกับการศึกษาของ ประสาร ฉลาดคิด (2546) ที่พบว่า กวาวเครือขาวที่มีอายุมากขึ้น จาก 4 เดือน

จนถึง 16 เดือน จะมีปริมาณ daidzein และ genistein เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ นอกจากนี้ สมโภชน์ ทับเจริญ และคณะ (2549) พบว่า กวาวเครือขาวที่อายุมากขึ้นจะมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญเพิ่มขึ้นด้วย



ภาพที่ 3.13 ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1-3

จากผลการวิจัยพบว่า การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วย $ZnSO_4$ ที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเท่ากับ 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปริมาณ puerarin เพิ่มขึ้นจาก 87.7 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จนถึง 194.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง การที่กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นดังกล่าว อาจเป็นเพราะสังกะสีสามารถกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ 2 ชนิดในกระบวนการไกลโคไลซิสซึ่งก็คือเอ็นไซม์ fructose-1,6-bisphosphatase ซึ่งเร่งปฏิกิริยา fructose-1,6-bisphosphate ไปเป็น fructose-6-phosphate และเอ็นไซม์ aldolase ที่ช่วยแยก fructose-1,6-bisphosphate ให้เป็น dihydroxy acetonephosphate และ glyceroldehyde 3-phosphate ซึ่ง glyceroldehyde 3-phosphate นี้จะถูกเปลี่ยนเป็น phophoenolpyruvate (PEP) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารกลุ่ม flavonols, flavones และ isoflavones (สมบุญ เตชภิญญาวัฒน์, 2548) ดังนั้น การสังเคราะห์สารกลุ่ม flavones และ isoflavones จึงเพิ่มขึ้นด้วย และความเข้มข้นของสังกะสีที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร อาจทำให้การทำงานของเอ็นไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้ดีที่สุด จึงทำให้มีการสังเคราะห์ puerarin มากที่สุด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kozlovskii *et al.* (2000) ที่พบว่า การให้สังกะสีกับ

Penicillium citrinum สามารถกระตุ้นการสร้างสาร citrinin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม isoflavones ให้เพิ่มมากขึ้น สังกะสียังมีอิทธิพลทางอ้อมต่อการสังเคราะห์ puerarin คือ ช่วยให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์คุม (guard cell) มีโครงสร้างที่ดีและมั่นคง ทำให้การนำโพแทสเซียมเข้าไปสะสมในเซลล์คุมเป็นไปตามปกติ และยังช่วยให้โพแทสเซียมภายในเซลล์คุมไม่รั่วไหลออกไปยังเซลล์ข้างเคียง จึงมีศักย์ออสโมซิสเพียงพอที่ จะเกิดความเต่งและเปิดปากใบ พืชที่ขาดสังกะสีจะมีฟลักซ์ขาออก (efflux) ของโพแทสเซียมจากเซลล์คุมเป็นเหตุให้ปากใบปิด ส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง (Sharma *et al*., 1995) นอกจากนี้ สังกะสียังช่วยในการสร้างคลอโรฟิลล์ ซึ่งทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น (ยงยุทธ โอสถสภา, 2543; สมบุญ เตชภิญญาวัฒน์, 2548; Salispury and Ross, 1974) และทำให้การสังเคราะห์สารตั้งต้นของสารกลุ่ม isoflavones เพิ่มขึ้นด้วย

จากการสังเกตพบว่า ปริมาณ puerarin ลดต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มเป็น 300 ppm อาจเป็นเพราะสังกะสีที่ความเข้มข้นสูงทำให้เอ็นไซม์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาลดลง และยังทำให้ทำให้เยื่อหุ้มผ่าน (membrane permeability) เกิดความผิดปกติและไม่สามารถรักษาความสมดุลของฟอสฟอรัสที่อยู่ในเซลล์ได้ เกิดการรั่วไหลของสารประกอบที่แตกตัวเป็นอะตอมในสารละลายที่เป็นตัวนำไฟฟ้า (electrolyte) ทำให้ใบของกวาวเครือขาวมีอาการไหม้และหงิกงอ (Kaya, 2002; http://www.geocities.com, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vitosh (1997) ที่พบว่า สังกะสีที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือสูงกว่านี้ เป็นระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อพืช ซึ่งพืชไม่สามารถต้านทานความเข้มข้นที่ระดับนี้ได้

อิทธิพลของจุลธาตุต่อการเพิ่มสารในกลุ่ม isoflavones นี้ ยังมีผู้ศึกษาอีก เช่น ประสาร ฉลาดคิด (2546) พบว่า การฉีดพ่นสารละลายทองแดงซึ่งเป็นจุลธาตุเช่นเดียวกับสังกะสี ทำให้ปริมาณ daidzein และ genistein ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุม และความเข้มข้นของทองแดงที่ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ daidzein และ genistein สูงสุด พรทิพย์ จันทร์ราช (2547) พบว่า การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วย $CuCl_2$ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร, $MnCl_2$ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ $FeCl_2$ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปริมาณ coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $CuCl_2$ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ coumestrol ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Hakamatsuka (1991) รายงานว่า การให้ $CuCl_2$ 10 mM กับลำต้นถั่ว Kudzu (*Pueraria lobata*) ที่หั่นเป็นชิ้น ๆ นาน 2 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณของ daidzein, genistein และ coumestrol เพิ่มขึ้น 5-10 เท่า นอกจากนี้ Andrew *et al.* (1994) ยังรายงานว่า การให้จุลธาตุ เช่น $CuCl_2$, $MnCl_2$ และ $FeCl_2$ แก่ถั่วอัลฟาฟา (*Medicago sativa* L.) ทำให้มีการสร้างสารกลุ่ม isoflavones เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

3.4 สรุปผลการวิจัย

การฉีดพ่นสารละลาย $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้นของสังกะสีระดับต่าง ๆ ให้กับกวาวเครือขาว ไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหาร แต่ทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น ปริมาณ puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3 มากกว่าครั้งที่ 2 มากกว่าครั้งที่ 1 ตามลำดับ ความเข้มข้นของสังกะสีต่างกันมีผลทำให้ปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การฉีดพ่นกวาวเครือขาวด้วยสังกะสีเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวสูงที่สุด 194.3 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ความเข้มข้นของสังกะสีที่สูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวลดลง และทำให้ใบของกวาวเครือขาวเกิดอาการไหม้และหงิกงอ

3.5 รายการอ้างอิง

ประสาร ฉลาดคิด. (2546). อิทธิพลของสภาพแวดล้อม และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอก การติดฝักและเมล็ด และการสะสมสาร Daidzein และ Genistein ในหัวกวาวเครือขาว. **วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์. (2545). **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพของพืชเบื้องต้น.** พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 227 หน้า.

พรทิพย์ จันทร์ราช. (2547). การออกดอก การติดฝักและการสะสมสาร Coumestral ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*). **วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

ภาควิชาปฐพีวิทยา. (2541). **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น : Introduction to soil science**. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 547 หน้า.

ยงยุทธ โอสถสภา. (2543). **ธาตุอาหารพืช.** ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 286-352.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ. (2549). **การเติบโตและพัฒนาการของพืช. สรีรวิทยาของพืช.** กรุงเทพ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 177-199.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2548). **ชีววิทยาพืช.** กรุงเทพฯ: จามจุรีโปรดักท์. 297 หน้า.

สมโภชน์ ทับเจริญ เกรียงศักดิ์ สอาดรักษ์ และภาณี ทองนำพัก. (2549). ผลผลิตและปริมาณสาระสำคัญของกวาวเครือขาว จากการปลูกด้วยเมล็ดพันธุ์. ใน **เอกสารการประชุมทาง-**

วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 44 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 217-223.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ.เชียงใหม่. (2550). **การวินิจฉัยและการคาดคะเนการขาดธาตุอาหารของพืช**. [Online]. Available: http://www.oard1.org/service/anasoil.htm

ห้างหุ้นส่วนจำกัดทีม-เกษตร. (2550). **หน้าที่และความสำคัญของธาตุอาหารเสริมพืช.** [Online]. Available: http://www.teamkaset.com

Andrew, D.P., Sarah, A.T. and Robert, E. (1994). The effect of heavy metal on isoflavone metabolism in alfafa (*Medicago sativa*). **Plant Physiology.** 106:195-202.

Bergmann, W. (1992). **Nutritional disorder of plant.** Gustav Fischer Verlag Jena, New York.

Chen, W.C., Hayakawa, S., Yamamoto, T., Su, H.C., Liu, I.M. and Cheng, J.T. (2004). Mediation of beta-endorphin by the isoflavone puerarin to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. **Plant Med.** 70(2):113-116.

Dan, L., Sung-Hoon, P., Jae-Hoon, S., Hee-Seob, L., Shuang-Yan, T., Cheon-Seok, P., and Kwan-Hwa, P. (2004). In vitro enzymatic modification of puerarin to puerarin glycoside by maltogenic amylase. **Carbohydrate research.** 339: 2789-2797.

Dominique, P.B., Andrew, M.H. and Young, C. (1998). The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **ELSEVIER. Aquaculture.** 161(1998): 27–43.

George, R. and Michael, S. (2002). **Zinc for crop production.** Reagent of the University of Minesota. [Online]. Available: http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystem /DC072.html

Hakamatsuka, T., Ebizuka. Y., and Sankawa, U. (1991). Induce Isoflavonoid From Copper Chloride Treat Stems of *Pueraria lobata.* **Phytochemistry.** 30(5): 1481-1482.

Jensen, W.A. and Salisbury, F.B. (1972). **Botany: an ecological approach.** Wadsworth Publ. Co., Inc., Belmont, CA. 756 p.

John, I.B., Daniel, E., Keyler, and Ashok, K.S. (2004). Effects of Purified Puerarin on Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol. **Journal of Medicinal Food.** 7(2): 180-186. [Online]. Available: http://www.liebertonline.com/action/showPreferences

Johnson, A.D. and Simons, J.G. (1979). Diagnosis indices of zinc deficiency in tropical legumes. **J. Plant Nutr.** 1: 123-149.

Jones, C.A. (1981). Proposed modification of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) for interpreting plant analysis. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.** 12: 785-794.

Jones, J.B. Jr., Wolf, B. and Mills, H.A. (1991). **Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide.** Athens (GA): Micro-Macro Publishing. 130 p.

Kashemsanta, L., Suvatabanhu, K. Airy Shaw., A.K. (1952). A New Species of *Pueraria* (Leguminosae) from Thailand, Yielding an Oestrogenic Principle. **Kew Bull.** 4: 549-551.

Kaya, C. (2002). Effect of supplementary phosphorus on acid phosphatase enzyme activity and membrane permeability of zinc-toxic tomato plants. **J. plant nutr**. 25(3): 599-611.

Knight, D.C and Eden, J.A. (1996). A Review of the clinical effect of phytoestrogen. Obstetrics and Gynecology. 87(5): 897-904.

Kozlovskii, A.G., Zhelifonova, V.P., Vinokurova, N.G. and Ozerskaia, S.M. (2000). Effect on microelements on biosynthes of secondary metabolites in the fungus *Penicillium citrinum* Thom VKM F-1079. **Mikrobiologiia.** 2000 Sep-Oct. 69(5): 642-649.

Li, M.Q., Sheng, X. and Shao, X.G. (2003). Separation and determination of *Pueraria lobata* isoflavonoid extract by reverse phase high performance liquid chromatography. **Fenxi Huaxue.** 31: 178-180.

Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shamigol, T, and Wray, S. (2000). The effects of inhibiting myisin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. **Europe Journal Physiology.** 440: 315-321.

Mac, M.P.M. (1992). Mechanism and consequences of portal hypertension. **Drug.** 44: 1-13.

Martens, D.C. and Weasterman, D.T. (1991). **Fertilizers applications for correcting micronutrient deficiencies. In Micronutrients in Agriculture**. eds. J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, and R.M. Welch, Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America. PP. 549-592.

Mortvedt, J.J., Giordano, P.M. and Lindsay, W.L. (1972). **Micronutrient in agriculture. USA : Soil Science Society of America**. Inc. Madison. Wisconsin.

Niranjan P. and S.K. Gurdev. (1995). **Host Plant Resistance to Insects.** Philippines : International Rice Research Institute. 22-59.

Prask, J.A. and Plocks, D.J. (1971). A role of zinc in the structural integrity of the cytoplasmic ribosomes of *Euglena gracilis*. **Plant Physiol.** 48: 150-155.

Salispury, F.B. and Ross, C. (1974). **Plant Physiology.** Prentice-Hall of India Private Limited. New Delhi.

Sharma, P.N., Tripathi, A. and Bisht, S.S. (1995). Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. **Plant Physiol.** 107: 751-756.

Silva, F., Da, J.J.R. and Willium, R.J.P. (1993). **The biological chemistry of the element.** Oxford: Clarendon Press.

Smith, R.D., Eisner, D.A. and Susan, W. (2002). pH-induced change in calcium: Function consequences and mechanisms of action in guinea pig. **AJP-Heart.** 283: 2518-2526.

Sprague, H.B. (1964). **Hunger Signs in Crops.** David McKay, New York.

Vitosh, M.L., Warncke, D.D. and Lucas, R.E. (1997). **Soil and Soil Management.** Department of Crop and Soil Sciences. Michigan State University Extension. [Online]. Available: http://web1.msue.msu.edu/imp/modf1/05209706.html

Yasuda, T., Kano, Y., Saito, K. and Ohsawa, K. (1995). Urinary and biliary metabolites of puerarin in rats. Tohoku College of Pharmacy, Miyagi, Japan. **Biol. Pharm. Bull.** 18(2): 300-303.

บทที่ 4

ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*)

บทคัดย่อ

รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญหลายกลุ่ม สารกลุ่ม flavonoids เป็นกลุ่มที่มีปริมาณมากที่สุด ฤทธิ์ของสารกลุ่ม flavonoids สามารถช่วยให้เส้นเลือดมีการคลายตัวได้ จึงศึกษาผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว โดยทำการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน 2550 ถึง เดือนสิงหาคม 2550 ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (RCBD) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวช่วงที่มีการให้สารสกัดกวาวเครือขาวจากการทดลองที่ 1 ทั้ง 5 ทรีตเมนท์ คือ กวาวเครือขาวที่ฉีดพ่นด้วยสังกะสีที่ความเข้มข้น 0 (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น), 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับช่วงที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือขาว ผลการทดลองพบว่า สารสกัดกวาวเครือขาวทุกทรีตเมนท์ทำให้หลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวมากกว่าช่วงที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือขาวอย่างมีนัย สำคัญยิ่งทางสถิติ การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ที่ 1 ให้เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์อื่น การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ที่ 4 ทำให้หลอดเลือดหนูขาวมีการคลายตัวได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) น้อยที่สุด 51 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (100 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้น สารสกัดกวาวเครือขาวมีผลทำให้หลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวได้

4.1 บทนำ

กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] เป็นพืชสมุนไพรที่ช่วยบำรุงโลหิต ลดอาการของโรคที่เกิดจากหลอดเลือดตีบตัน ทำ

ให้การไหลเวียนของเลือดดี และช่วยให้รับประทานอาหารมีรสชาติอร่อย ซึ่งผลดังกล่าวเกิดจากสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว ที่มีอยู่หลายกลุ่ม เช่น กลุ่ม flavonoids กลุ่ม coumarins กลุ่ม chromene และกลุ่ม steroids ซึ่งกลุ่ม flavonoids มีปริมาณสูงที่สุด (รุจน์ สุทธิศรี, 2547) สารกลุ่ม flavonoids ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมีฤทธิ์ช่วยป้องกันการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดอุดตัน (Vitor *et al*., 2004; Stocker and O'Halloran, 2004) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Knekt *et al.* (2002) และ Jenkins *et al*. (2003) ที่พบว่า ผู้ที่ได้รับสารกลุ่ม flavonoids จะมีอัตราการเกิดโรคหัวใจลดต่ำลง ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม flavonoids ในสารสกัดกวาวเครือขาวด้วยวิธี HPLC ของ Surapote (2001) พบว่า สารที่พบมากที่สุดคือ puerarin มีปริมาณ 141.11 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง การศึกษาฤทธิ์ของ puerarin ในทางเภสัชวิทยา พบว่า สามารถช่วยลดอาการป่วยในด้านต่าง ๆ เช่น ช่วยในการขยายตัวและเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในหลอดเลือด coronary artery ซึ่งช่วยลดความดันภายในเส้นเลือด ช่วยลดภาวะหลอดเลือดอุดตัน และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังช่วยลดอาการของโรคพิษสุราเรื้อรัง (alcoholism) ได้อีกด้วย (John *et al*., 2004)

จากการทดลองที่ 1 เป็นการเพิ่มปริมาณของ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวโดยการฉีดพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และจากฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ puerarin ดังกล่าว จึงนำสารสกัดกวาวเครือขาวจากการทดลองที่ 1 มาทดสอบฤทธิ์ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว เพื่อเป็นแนวทางการใช้หรือผลิตเป็นยารักษาโรคที่เกี่ยวกับความดันโลหิตสูง เนื่องจากงานวิจัยเกี่ยวกับกวาวเครือขาวส่วนใหญ่เน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยทดสอบกับมดลูกของสัตว์ทดลองต่าง ๆ (รุจน์ สุทธิศรี, 2547) แต่การศึกษาเกี่ยวกับหลอดเลือดโดยตรงนั้นมีน้อย ดังนั้น การศึกษาผลของสารสกัดในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เพิ่มปริมาณ puerarin ด้วยการให้สังกะสีจึงเป็นแนวทางและเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญในการนำไปรักษาโรคต่าง ๆ โดยการใช้สมุนไพรกวาวเครือขาว และการนำไปผลิตเป็นยารักษาโรคที่เกี่ยวกับความดันโลหิตสูงซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิต และเป็นปัญหามากที่สุดของประเทศไทย (สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์, 2549)

4.2 วิธีดำเนินการวิจัย

4.2.1 สถานที่ทำการวิจัย

ทำการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาพืช อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 (F3) และห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของมนุษย์ อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษาบรมราชินีนาถ (F9) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนมิถุนายน 2550 ถึง เดือนสิงหาคม 2550

4.2.2 กลุ่มตัวอย่าง วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีในการทดลอง

1) รากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว จากการทดลองที่ 1 จำนวน 5 ทรีตเมนท์ ดังนี้
   ทรีตเมนท์ที่ 1 (T1) กลุ่มควบคุม (ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น)
   ทรีตเมนท์ที่ 2 (T2) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
   ทรีตเมนท์ที่ 3 (T3) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
   ทรีตเมนท์ที่ 4 (T4) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
   ทรีตเมนท์ที่ 5 (T5) ฉีดพ่นด้วยสารละลาย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 300 มิลลิกรัมต่อลิตร
2) หนูขาวสายพันธุ์ Wistar rat เพศเมีย น้ำหนักตัว 180-250 กรัม (ภาพผนวกที่ 4)
3) เครื่องบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Power Lab system) และ Organ bath system (ภาพผนวกที่ 5)
4) อุปกรณ์ที่ใช้ผ่าตัดหนู
5) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6) สารเคมี: dimethyl sulfoxide (DMSO), acetylcholine (Ach.)
7) Tissue bathing medium: Krebs's solution (pH 7.4) ประกอบด้วย NaCl 154.0 mM, KCl 5.4 mM, $CaCl_2$ 2.0 mM, $MgSO_4$ 1.2 mM, Hepes 10.0 mM และ glucose 12.0 mM

4.2.3 การเตรียมสารสกัดจากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว

นำรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวทั้ง 5 ทรีตเมนท์จากการทดลองที่ 1 ที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด (blender) แล้วร่อนผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 0.1 มิลลิเมตร นำผงกวาวเครือขาวที่ร่อนได้ในแต่ละทรีตเมนท์ปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว (flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงในแต่ละ flask ปิดปากด้วยฟอล์ย (foil) สกัดสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องกำเนิดความถี่เหนือเสียง (ultrasonic processor) โดยจุ่มแท่งสกัด (probe) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรลงใน flask (ขวดแก้ว) ที่มีผงกวาวเครือขาวและเมทานอลผสมกันอยู่ ในแต่ละ flask โดยกำหนดให้คลื่นเสียงปล่อยออกมาเป็นแบบพัลซ์ (pulse) 3 วินาทีต่อครั้ง ใช้เวลาในการสกัดทั้งหมด 30 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (vacuum filter pump) ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) สารที่กรองได้ที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที นาน 12 นาที แยกส่วนใสออกและนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 จากนั้นระเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator) จนสารละลายข้นเหนียว นำสารที่ได้มาเข้าเครื่อง freeze dry เพื่อทำให้แห้ง ชั่งสารแต่

ละทรีตเมนท์ปริมาณ 500 มิลลิกรัมผสมกับ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า (vortex)

4.2.4 การทดสอบผลของสารสกัดกวาวเครือขาวต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

1) ทำให้หนูตายด้วยวิธีการเคลื่อนกระดูกคอ (cervical dislocation) โดยใช้ปากคีบ (forceps) จากนั้นใช้กรรไกรเปิดช่องท้องและตัดหลอดเลือด portal vein (hepatic portal) จากนั้นเก็บตัวอย่างหลอดเลือดใน Kreb's solution (physiological saline solution)

2) นำตัวอย่างหลอดเลือดที่ได้มาทดลองทันที หรือเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแต่ไม่เกิน 12 ชั่วโมงใน Kreb's solution

3) ตัดหลอดเลือดตามแนวกล้ามเนื้อออกเป็น 2 ชิ้น ต่อ 1 ตัวอย่างใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo-microscopy

4) นำตัวอย่างชิ้นของหลอดเลือดมาทดลอง เพื่อศึกษาการหดและคลายตัวด้วยเครื่องบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (PowerLab System) และ Organ bath system ตามวิธีของ Longbottom *et al.* (2000) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ให้หลอดเลือดมีการหดและคลายตัวเป็นธรรมชาติ (spontaneous contraction) ใน Kreb's solution โดยใช้เวลา 1 ชั่วโมง ช่วงที่ 2 เติมสาร acetylcholine (1.0 μM) ที่เตรียมใน Kreb's solution เพื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดมีอัตราการหดตัวมากขึ้น โดยใช้เวลา 30 นาที และช่วงที่ 3 เติมสารสกัดกวาวเครือขาวจากข้อที่ 4.2.3 ทรีตเมนท์ละ 100 ไมโครลิตรที่เตรียมใน Kreb's solution 100 มิลลิลิตรร่วมกับ acetylcholine (1.0 μM) โดยใช้เวลา 30 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อสารสกัดกวาวเครือขาว 1 ทรีตเมนท์ (n=3)

5) เปรียบเทียบการหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวช่วงที่กระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine (คิดเป็น 100%) และช่วงที่ให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวในแต่ละทรีตเมนท์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 (T1 ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น, T2 ฉีดพ่นด้วย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 50 มิลลิกรัมต่อลิตร, T3 ฉีดพ่นด้วย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 100 มิลลิกรัมต่อลิตร, T4 ฉีดพ่นด้วย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และ T5 ฉีดพ่นด้วย $ZnSO_4$ ที่มี Zn 300 มิลลิกรัมต่อลิตร)

4.2.5 การทดสอบผลของตัวทำละลาย DMSO ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว

เนื่องจากในการเตรียมสารสกัดกวาวเครือขาวใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย เพื่อให้แน่ใจว่าการคลายตัวของหลอดเลือดไม่ได้เป็นผลมาจาก DMSO จึงได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของ DMSO ต่อการคลายตัวของหลอดเลือด โดยมีรายละเอียดดังนี้ นำตัวอย่างหลอดเลือดมาทดลองการหดและคลายตัวด้วยเครื่องบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1

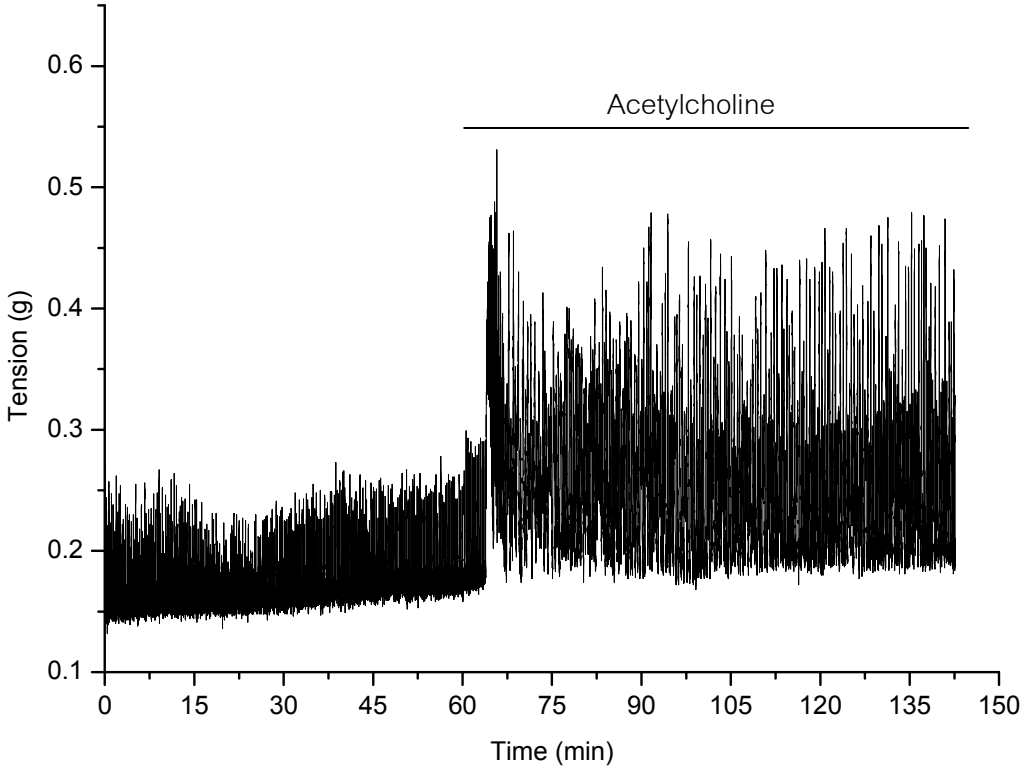
ปล่อยให้หลอดเลือดมีการหดและคลายตัวเป็นธรรมชาติ (spontaneous contraction) ใน Kreb's solution โดยใช้เวลา 1 ชั่วโมง ช่วงที่ 2 เติม acetylcholine (1.0 μM) ที่เตรียมใน Kreb's solution เพื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดมีอัตราการหดตัวที่สูงขึ้น โดยใช้เวลา 30 นาที และช่วงที่ 3 เติม DMSO ปริมาตร 100 ไมโครลิตรที่เตรียมใน Kreb's solution 100 มิลลิลิตรร่วมกับ acetylcholine (1.0 μM) โดยใช้เวลา 30 นาที

4.2.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล และการวิเคราะห์ผล

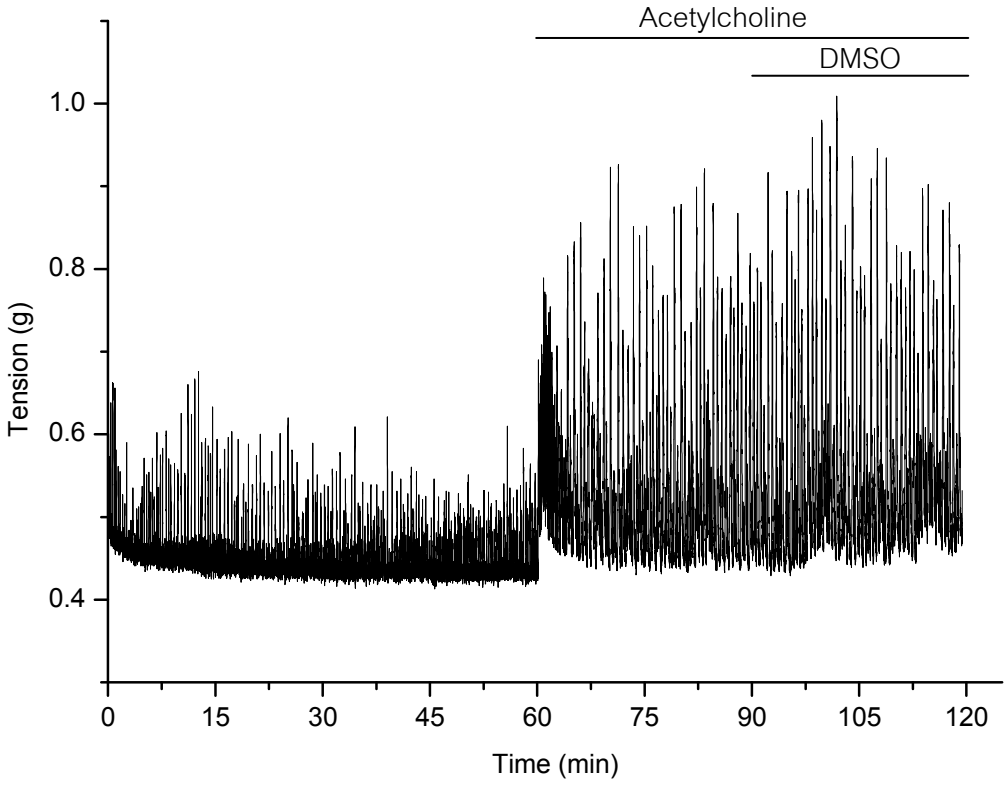
เก็บรวบรวมข้อมูลของพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (area under the curve: AUC) ของการหดและคลายตัวของหลอดเลือด จากตัวอย่างหลอดเลือดช่วงที่ได้รับการกระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine และช่วงที่ได้รับ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวในแต่ละทรีตเมนท์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 วิเคราะห์วาเรียนซ์ (ANOVA) แบบ randomized completely block design (RCBD) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SPSS Vol.13 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

4.3 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

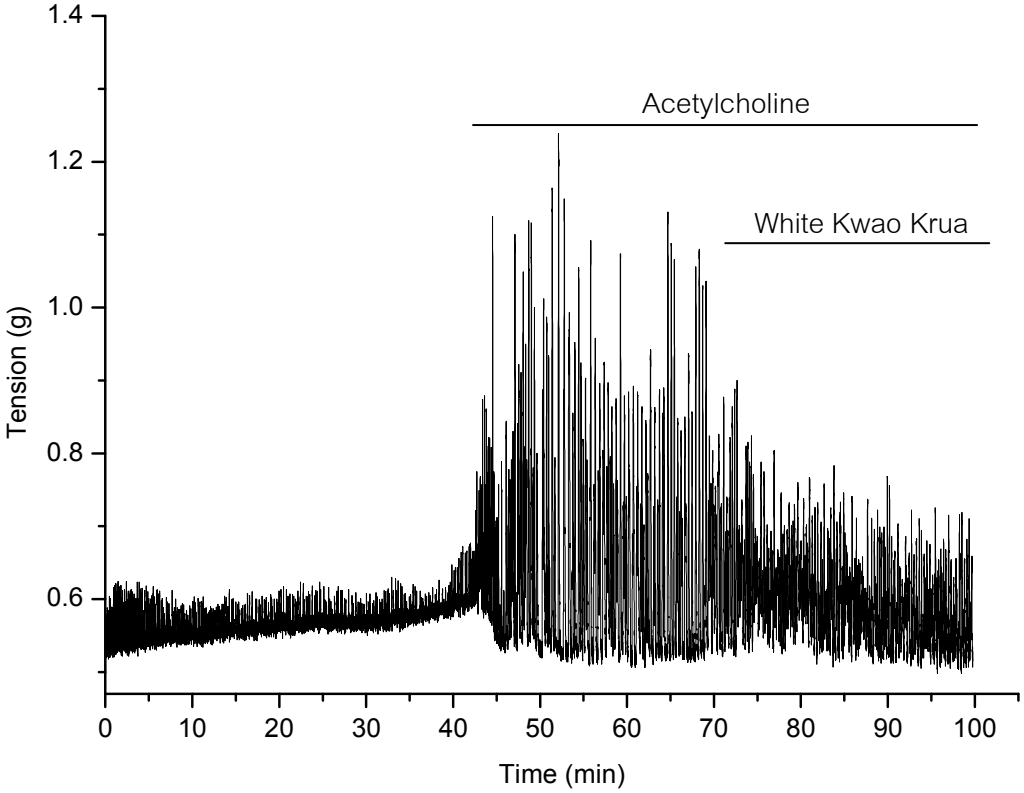
เมื่อวิเคราะห์การหดและคลายตัวของหลอดเลือดของหนูขาวใน Organ bath system ด้วยเครื่องบันทึกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Power Lab) โดยแบ่งเป็น 3 ช่วง คือ ช่วง spontaneous contraction ช่วงที่กระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine และช่วงที่ให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้จากการทดลองที่ 1 พบว่า หลอดเลือดช่วงที่ได้รับสาร acetylcholine จะมีอัตราการหดตัวของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.1) และช่วงที่ให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาว พบว่า หลอดเลือดมีอัตราการหดตัวลดลงหรือมีการคลายตัวเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.2) การทดสอบผลของ DMSO (dimethyl sulfoxide) ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสกัดกวาวเครือขาว ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว พบว่า DMSO ไม่มีผลต่อการหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (ภาพที่ 4.3) ดังนั้น จึงยืนยันได้ว่าการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเป็นผลมาจากสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่อยู่ในกวาวเครือขาวเท่านั้น



ภาพที่ 4.1 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine (ช่วงเวลาตั้งแต่ 0-60 นาที เป็นการหดตัวแบบ spontaneous contraction หลังจากนั้นเป็นการกระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine (1.0 μM) แกนตั้งของภาพแสดงแรงตึงในการหดตัว (tension) มีหน่วยเป็นกรัม (g) แกนนอนแสดงเวลาที่ใช้ในการทดลอง (time) มีหน่วยเป็นนาที (min) บาร์ (—) แสดงเวลาที่ใส่สาร) (n=3)



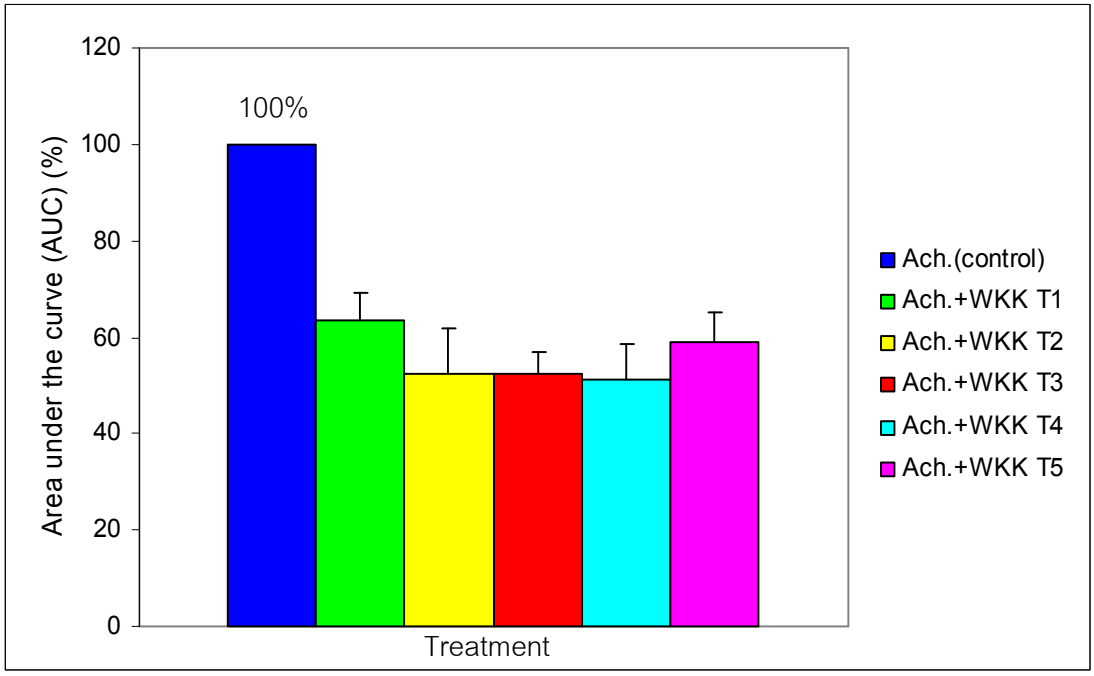
ภาพที่ 4.2 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร DMSO (ช่วงเวลาตั้งแต่ 0-60 นาที เป็นการหดตัวแบบ spontaneous contraction หลังจากนั้น นาทีที่ 60-90 เป็นการกระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine (1.0 μM) และนาทีที่ 90-120 เป็นทดสอบผลของ DMSO แกนตั้งของภาพแสดงแรงตึงในการหดตัว (tension) มีหน่วยเป็นกรัม (g) แกนนอนแสดงเวลาที่ใช้ในการทดลอง (time) มีหน่วยเป็นนาที (min) บาร์ (—) แสดงเวลาที่ใส่สาร) (n=3)



ภาพที่ 4.3 การหดและคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับสาร acetylcholine และ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ที่ 4 (ช่วงเวลาตั้งแต่ 0-40 นาที เป็นการหดตัวแบบ spontaneous contraction หลังจากนั้นช่วงเวลาตั้งแต่ 40-70 นาที เป็นการกระตุ้นการหดตัวด้วย acetylcholine (1.0 μM) และช่วงเวลา 70-100 นาที เป็นการใส่สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine แกนตั้งของภาพแสดงแรงตึงในการหดตัว (tension) มีหน่วยเป็นกรัม (g) แกนนอนแสดงเวลาที่ใช้ในการทดลอง (time) มีหน่วยเป็นนาที (min) บาร์ (—) แสดงเวลาที่ใส่สาร) (n=3)

พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (area under the curve: AUC)

เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งของการหดตัวของหลอดเลือดหนูช่วงที่ให้สาร acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้จากการทดลองที่ 1 พบว่า การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์อื่น โดยมีพื้นที่ใต้เส้นโค้งเท่ากับ 63.37 ± 5.88% ส่วนการให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีพื้นที่ใต้เส้นโค้งเท่ากับ 52.49 ± 9.24%, 52.62 ± 4.48%, 51.00 ± 7.70% และ 59.02 ± 6.09% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4 และตารางภาคผนวกที่ 12)



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาว เมื่อให้สารสกัดกวาวเครือขาวทรีตเมนท์ต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองที่ 1 (T = SD)

จากผลการวิจัยจะเห็นได้ว่า การหดตัวของหลอดเลือดของหนูขาวที่ได้รับ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้จากการทดลองที่ 1 ซึ่งเพิ่มปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารด้วยการฉีดพ่นสังกะสีให้กับกวาวเครือขาวนั้น สอดคล้องกับปริมาณ puerarin ในแต่ละทรีตเมนท์ โดยทรีตเมนท์ที่ 1 มีปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่วิเคราะห์ได้น้อยที่สุดและทำให้หลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวได้น้อยที่สุดเช่นกัน ส่วนทรีตเมนท์ที่ 4 มีปริมาณ puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่วิเคราะห์ได้มากที่สุด และทำให้หลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวได้มากที่สุดเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ของ puerarin ของ John *et al.* (2004) ที่พบว่า puerarin มีฤทธิ์ในการคลายตัวของหลอดเลือด ซึ่งช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดและช่วยลดภาวะหลอดเลือดอุดตันได้

ผลการวิจัยนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Xu *et al.* (2007) ที่พบว่า สารกลุ่ม flavonoids มีฤทธิ์ช่วยให้หลอดเลือด coronary artery ของหนูตะเภามีการคลายตัวได้ดี และสารกลุ่ม flavonoids ทุกชนิดที่นำมาทดลองสามารถช่วยให้หลอดเลือดมีการคลายตัวได้ (ภาพผนวกที่ 6) Hnatyszyn1 *et al.* (2004) พบว่า สารกลุ่ม flavonoids คือ quercetin และ quercetin 3-metyl ether) ที่ได้จาก *Achyrocline satureioides* ปริมาณ 0.075 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถช่วยให้หลอดเลือดของหนูตะเภามีการคลายตัวได้ 79.8±8.4% และ 66.0±4.8% Hana *et al.* (1997) พบว่า สารกลุ่ม flavonoids สามารถช่วยให้ลำไส้เล็ก (ileum) ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อชนิดเรียบเช่นเดียวกับหลอดเลือดมีการคลายตัวได้ (ภาพผนวกที่ 7) Sheng, *et al.* (2002) พบว่า genistein มีผลต่อต่อการคลายตัวของหลอดเลือดกระต่าย ความเข้มข้นของ genistein เพิ่มขึ้น จะทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (ภาพผนวกที่ 8) นอกจากนี้ การศึกษาของ Laekeman *et al.* (1986); Duarte *et al.* (1993, 2001); Ko *et al.* (1999) และ Perez-Vizcano *et al.* (2002) ยังสนับสนุนด้วยว่า flavonoids สามารถช่วยในการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบเช่นกล้ามเนื้อของหลอดเลือดได้

โดยปกติแล้วค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของ portal vein จะอยู่ที่ 6.96±0.04 (Taggart *et al.*, 1995) ผลของการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ (pH_i) และภายนอกเซลล์ (pH_o) ทำให้เกิดกลไก (mechanisms) และเกิดแรง (force) ที่ทำให้หลอดเลือดมีการหดและการคลายตัว (Smith, 2002) เมื่อความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์กล้ามเนื้อลดลง จะทำให้หลอดเลือดมีการหดตัว แต่ไม่มีผลยืนยันว่าความเป็นกรดภายในเซลล์เมื่อเพิ่มขึ้นจะทำให้หลอดเลือดมีการหดตัวมากขึ้น (Austin *et al.*, 2000) ซึ่งผลการวิจัยนี้อาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงระดับของ Ca^{2+} และ H^+ ในกล้ามเนื้อเรียบ เช่น หลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดการหดและการคลายตัวของหลอดเลือด ซึ่งมีผลต่อการไหลเวียนของเลือด และความดันภายในหลอดเลือด (Austin *et al.*, 2000) ซึ่งในการทดลองครั้ง

นี้ สารสกัดกวาวเครือขาวอาจมีผลทำให้การเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์น้อยลง จึงทำให้การหดตัวของเซลล์ของหลอดเลือดลดลง หรือหลอดเลือดมีการคลายตัวมากขึ้นนั่นเอง

4.4 สรุปผลการวิจัย

การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวทั้ง 5 ทรีตเมนท์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 กับหลอดเลือดหนูขาว สามารถทำให้อัตราการหดตัวของหลอดเลือดของหนูขาวลดลง หรือมีการคลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือขาว ส่วนเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวเมื่อได้รับ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 1 มีการคลายตัวน้อยที่สุด ส่วนการให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 4 มีการคลายตัวได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้งของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวน้อยที่สุด

4.5 รายการอ้างอิง

ขนิษฐา ทองโปร่ง และยุทธนา สมิตะศิริ. (2530). **การศึกษากวาวเครือขาวที่ได้จากต่างแหล่ง : ฤทธิ์เอสโตรเจน ผลต่อพฤติกรรมการขัน และผลวิเคราะห์ดิน.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รุจน์ สุทธิศรี, (2547). **สารเอสโตรเจนจากพืช (phytoestrogen).** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์. (2549). **เคล็ดไม่ลับ อาหารลดความดันเลือดสูง.** [ออนไลน์]. ได้จาก http://www.tttonline.net/health_show.php?type_id=300

Austin, C. and Wray, S. (2000) Interactions Between Ca^{2+} and H^{+} and Functional Consequences in Vascular Smooth Muscle. **Circulation Research.** 86:355-363.

Duarte, J., Prez, V., F., Utrilla, P., Jimnez, J., Tamargo, J. and Zarzuelo, A. (1993). Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure – activity relationships. **Gen. Pharmacol.** 24: 857–862.

Guo, Q., Zhao, B., Shen, S., Huo, J. and Xin, W. (1999). ESR study on the structure–antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. **Biochem. Biophys. Acta**. 1427: 13-23.

Hana, M.H. and Shtaywy, S.A. (1997). Pharmacological Effects of Selected Flavonoids on Rat Isolated Ileum: Structure-Activity Relationship **Gen. Pharmac.** 28(5): 767-771.

Hnatyszyn, O., Moscatelli1, V., Rondina1, R., Costa, M., Arranz, C., Balaszczuk, A., and Ferraro1, G. (2004). Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig *corpus cavernosum.* **Phytomedicine.** 11: 366–369.

Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., D'Costa, M.A., Jackson, C.J.A., Vidgen, E., Singer, W., Silverman, J.A., Koumbridis, G., Honey, J., Rao, A.V., Fleshner, N., Klotz, L., (2003). Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. **J. Urol**. 169: 507–511.

John, I.B., Daniel, E.K. and Ashok, K.S. (2004). Effects of Purified Puerarin on Voluntary Alcohol Intake and Alcohol Withdrawal Symptoms in P Rats Receiving Free Access to Water and Alcohol. **Journal of Medicinal Food.** 7(2): 180-186.

Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Helio, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. Am. **J. Clin. Nutr.** 76: 560–568.

Ko, W.C., Kuo, S.W., Sheu, J.R., Lin, C.H., Tzeng, C.M. and Chen, C.M. (1999). Relaxant effects of quercetin methyl ether derivatives in isolated Guinea pig trachea and their structure-activity relationships. **Planta Med.** 65: 273–275.

Laekeman, G.M., Claeys, M., Rwangabo, P.C., Herman, A.G. and Vlietinck, A.J. (1986). Cardiovascular effects of 3-Methylquercetin. **Planta Med.** 6: 433–558.

Longbottom, E.R., Luckas, M.J.M., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shmigol, T, and Wray, S. (2000). The effects of inhibiting myisin light chain kinase on contraction and calcium signaling in human and rat myometrium. **Europe Journal Physiology.** (440): 315-321.

Meng, D.S. and Wang, S.L. (2001). Antitumor effect of quercetin. Chin. **Tradit. Herb. Drugs.** 32: 186–188.

Perez-Vizcåno, F., Ibarra, M., Cogolludo, A.L., Duarte, J., Zaragoza-Arnaez, F., Moreno, L., Lopez-Lopez, G. and Tamargo, J. (2002). Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. **J. Pharmacol. Exper. Ther.** 302(1): 66–72.

Sheng, J.E., Qing, L. and Rui-Rong, H. (2002). Action of genistein on tension of isolated rabbit femoral artery and its mechanism. **Acta Physiologica Sinica**. 54(5): 422-426.

Smith, R.D., Eisner, D.A. and Susan, W. (2002). pH-induced change in calcium: Function consequences and mechanisms of action in guinea pig. **AJP-Heart.** (283): 2518-2526.

Stocker, R., O'Halloran, R.A. (2004). Dealcoholized red wine decreases atherosclerosis in apo lipoprotein E gene-deficient mice independently of inhibition of lipid peroxidation in the artery wall. Am. **J. Clin. Nutr.** 79: 123–130.

Surapote, W. (2001). **Certificate of Analysis Crude Extract *Pueraria mirifica*.** Pharmaceutical Analysis Section. Faculty of Pharmacy. Rangsit University. Patumtani. Thailand.

Taggart, M.J., Austin, C. and Wray, S. (1995). Contribution of extracellular calcium to intracellular pH-induced changes in spontaneous force of rat portal vein. **Exp. Physiol.** 80: 69-78**.**

Vitor, R.F., Mota-Filipe, H., Teixeira, G., Borges, C., Rodrigues, A.I., Teixeira, A., Paulo, A. (2004). Flavonoids of an extract of Pterospartum tridentatum showing endothelial protection against oxidative injury. **J. Ethnopharmacol.** 93: 363–370.

Xu, Y.C., Leung, S.W.S., Yeung, D.K.Y., Hu, L.H., Chen, G.H., Che, C.M. and Man, R.Y.K. (2007). Structure–activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. **Phytochemistry.** 68(2007):1179–1188.

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 ผลของสังกะสีต่อการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham]

5.1.1 การฉีดพ่นสังกะสีทุกความเข้มข้นให้กับกวาวเครือขาวไม่ทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารแตกต่างกันทางสถิติ

5.1.2 กวาวเครือขาวที่ได้รับสังกะสี มีการสะสม puerarin เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น

5.1.3 ความเข้มข้นของสังกะสีที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวมากที่สุด

5.1.4 ความเข้มข้นของสังกะสีที่ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้กวาวเครือขาวมีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารลดลง ใบมีอาการไหม้และหงิกงอ

5.2 ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาว (*Rattus norvegicus*)

5.2.1 การทดสอบผลของสารสกัดกวาวเครือขาวที่ได้จากการทดลองที่ 1 กับหลอดเลือด portal vein (hepatic portal) ของหนูขาว พบว่า สารสกัดวาวเครือขาวสามารถทำให้อัตราการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวลดลง หรือหลอดเลือดมีการคลายตัวมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงที่ไม่ได้ให้สารสกัดกวาวเครือขาว

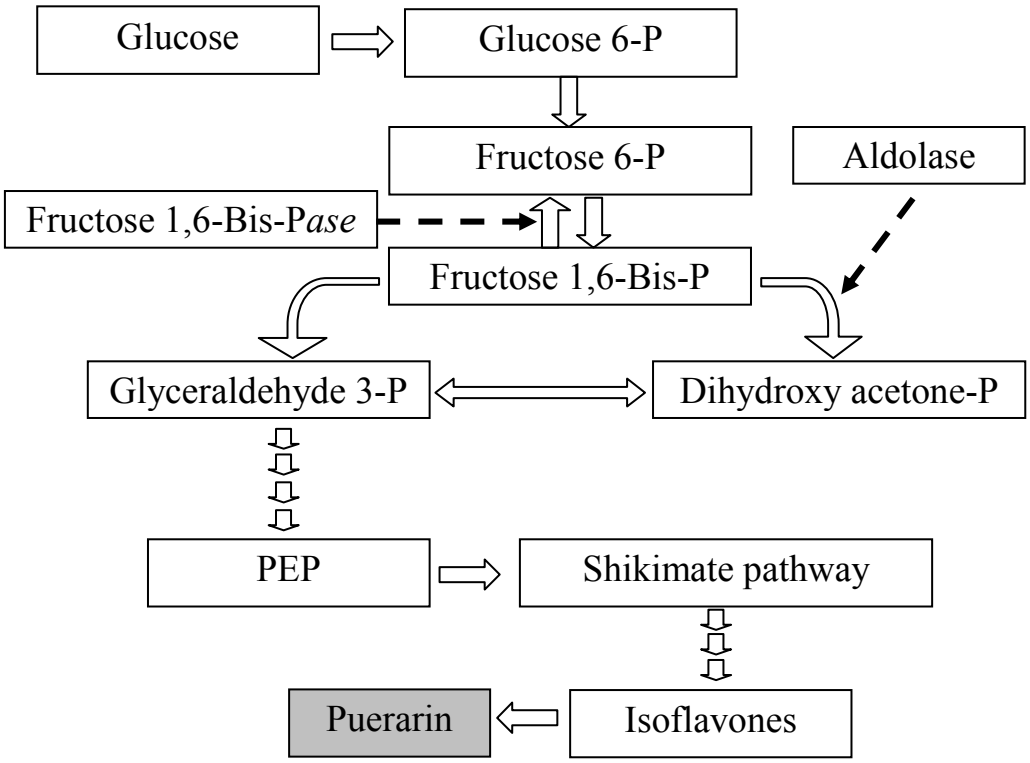
5.2.2 การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 1 ให้เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) มากที่สุด หรือมีการคลายตัวของหลอดเลือดหนูขาวน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์อื่น ๆ การให้ acetylcholine ร่วมกับสารสกัดกวาวเครือขาวจากทรีตเมนท์ที่ 4 ให้เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) น้อยที่สุด หรือหลอดเลือดของหนูขาวมีการคลายตัวได้ดีที่สุด

5.3 ข้อเสนอแนะ

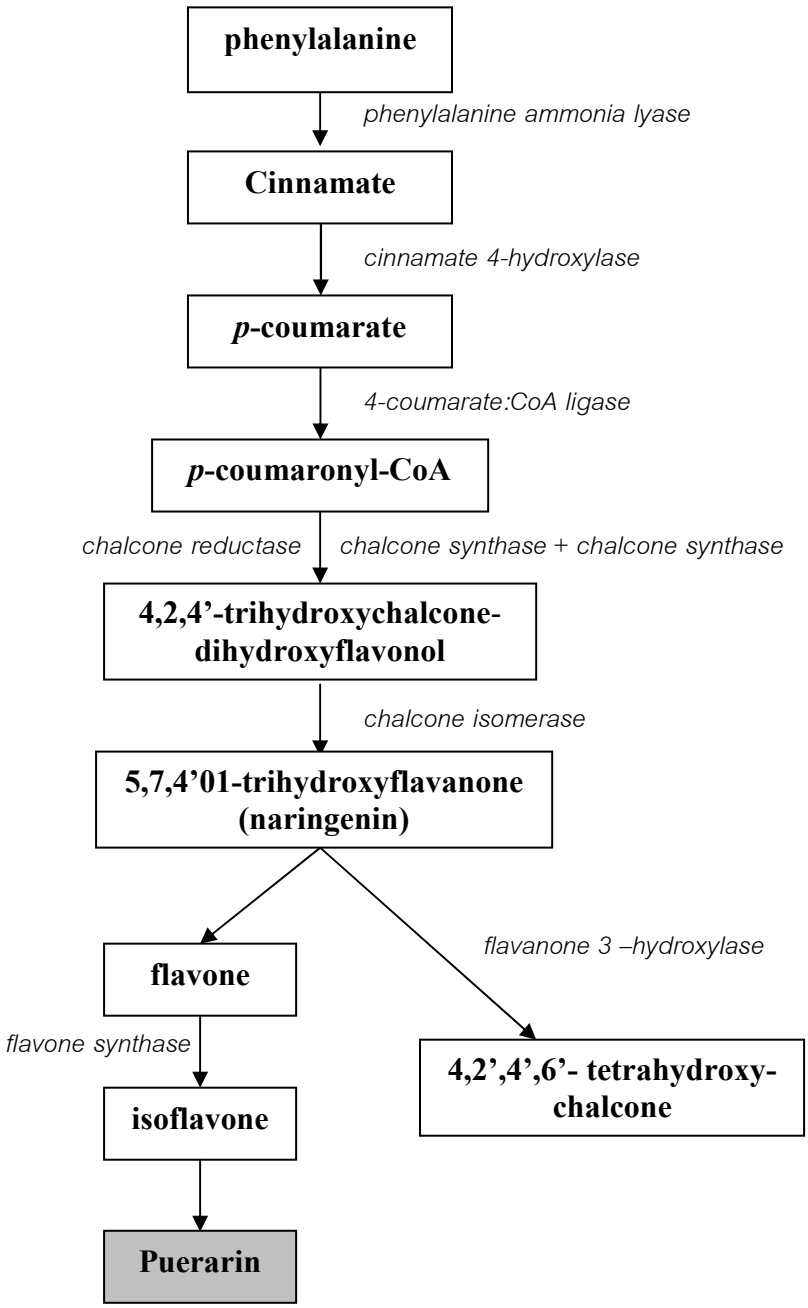
5.3.1 การปลูกกวาวเครือขาวเพื่อให้มีการสะสม puerarin ในรากสะสมอาหารมากที่สุดนั้น ควรพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือต่ำกว่า ไม่ควรใช้ความเข้มข้นของสังกะสีเกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ควรมีการจัดการเรื่องธาตุอาหารหลักตามความเหมาะสม ระดับความเข้มข้นของสังกะสีนี้เหมาะสมกับกวาวเครือขาวที่มีอายุประมาณ 6 ปี ควรศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมกับอายุของกวาวเครือขาว เพื่อการสะสม puerarin มากที่สุด

5.3.2 เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อการนำไปใช้จริง จึงควรมีการศึกษาต่อเนื่องต่อไป เพื่อหาปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดกวาวเครือขาวที่ให้ผลต่อการคลายตัวของเส้นเลือดในระดับที่ไม่เป็นอันตราย ก่อนนำไปใช้กับคนต่อไป

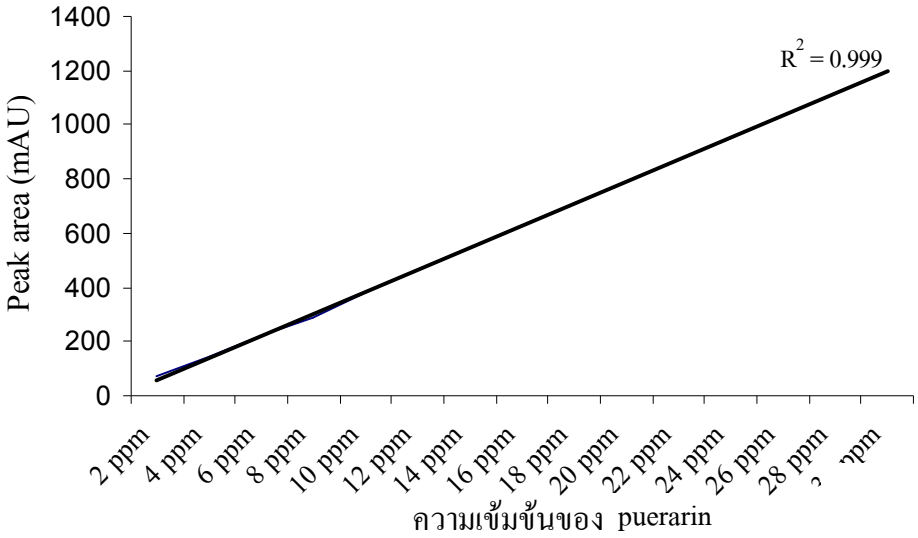
ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 Diagram แสดงขั้นตอนชีวสังเคราะห์ puerarin



ภาพผนวกที่ 2 Diagram แสดงขั้นตอนชีวสังเคราะห์ puerarin จาก Shikimic acid pathway



ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของ puerarin

ตารางภาคผนวกที่ 1 เส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Zn	เส้นผ่าศูนย์กลาง (มม.)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0 (control)	137.88ab[1/]	115.06 a[1/]	119.48 a[1/]
50 mg/L	172.83b	141.33a	151.00ab
100 mg/L	173.20b	128.78a	131.83a
200 mg/L	129.75ab	128.44a	154.81ab
300 mg/L	108.87a	124.87a	165.67b

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ANOVA ของเส้นผ่าศูนย์กลางรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Source	df	MS		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
Treatment	4	3157.124 ^{ns}	355.337^{ns}	1235.911 ^{ns}
Replications	3	2315.972 ^{ns}	461.550 ^{ns}	1430.546 ^{ns}
Error	12	967.130 ^{ns}	1013.323 ^{ns}	1148.234 ^{ns}
Total	19	6440.226	1830.21	3814.691

^{ns} = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1

Zn	เก็บครั้งที่ 1*		
	นน. แห้ง	นน. สด	% ความชื้น
0 (control)	683.68a$^{1/}$	3059.65a$^{1/}$	74.65a$^{1/}$
50 mg/L	908.88c	3913.77c	72.53a
100 mg/L	680.33a	2806.92a	77.20a
200 mg/L	864.23c	3423.32b	75.97a
300 mg/L	796.90b	3265.02ab	74.73a

* ครั้งที่ 1 (หลังการฉีดพ่น Zn 2 เดือน)

$^{1/}$ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 2

Zn	เก็บครั้งที่ 2*		
	นน. แห้ง	นน. สด	% ความชื้น
0 (control)	537.03ab[1/]	1857.53a[1/]	73.36ab[1/]
50 mg/L	660.21b	2674.57b	72.53ab
100 mg/L	726.18c	2712.22b	72.50a
200 mg/L	493.19a	1752.89a	78.26b
300 mg/L	658.30b	2489.22b	71.06ab

* ครั้งที่ 2 (หลังการฉีดพ่น Zn 4 เดือน)

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 3

Zn	เก็บครั้งที่ 3*		
	นน. แห้ง	นน. สด	% ความชื้น
0 (control)	687.40a[1/]	2918.13a[1/]	77.40 a[1/]
50 mg/L	722.13ab	3901.38c	76.21a
100 mg/L	625.22a	3162.20a	79.95a
200 mg/L	818.20b	3472.35bc	79.19a
300 mg/L	870.08c	3715.55c	77.14a

* ครั้งที่ 3 (หลังการฉีดพ่น Zn 6 เดือน)

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Zn	เปอร์เซ็นต์ความชื้น		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0 (control)	74.65a[1/]	73.36 a[1/]	77.40 a[1/]
50 mg/L	72.53a	72.53a	76.21a
100 mg/L	77.20a	72.50a	79.95a
200 mg/L	75.97a	78.26a	79.19a
300 mg/L	74.73a	71.06a	77.14a

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 7 ANOVA ของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Source	df	MS		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 2
Treatment	4	12.085[ns]	49.527[ns]	9.527[ns]
Replications	3	17.045[ns]	26.838[ns]	17.862[ns]
Error	12	12.975[ns]	25.362[ns]	38.140[ns]
Total	19	42.105	101.727	65.529

[ns] = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 8 ปริมาณ puerarin จากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1-3

Zn	ปริมาณ puerarin (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	ครั้งที่ 1 (mean ± SD)	ครั้งที่ 2 (mean ± SD)	ครั้งที่ 3 (mean ± SD)
0 (control)	100.60 ± 23.89 a[1/]	67.60 ± 16.06 a[1/]	96.10 ± 22.82 a[1/]
50 mg/L	109.30 ± 25.96 a	116.20 ± 27.60 b	114.50 ± 27.19 a
100 mg/L	122.10 ± 29.00 a	128.00 ± 30.40 bc	137.50 ± 32.66 ab
200 mg/L	180.70 ± 42.92 b	190.70 ± 45.29 d	213.20 ± 50.64 c
300 mg/L	103.50 ± 24.58 a	158.20 ± 37.57 cd	178.40 ± 42.37 bc

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 9 ANOVA ของปริมาณ puerarin จากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บครั้งที่ 1-3

Source	df	MS		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
Treatment	4	91003.16*	166179.7**	179169.7**
Replications	3	17716.89[ns]	11213.37*	17060.2*
Error	12	3666.361	24022.22	41271.31
Total	19	112386.4	201415.3	237501.2

[ns] = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.05$)

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 10 ปริมาณ puerarin จากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Zn	ปริมาณ puerarin (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) mean ± SD
0 (control)	87.7 ± 20.82 a[1/]
50 mg/L	113 ± 26.84 ab
100 mg/L	129 ± 30.64 b
200 mg/L	194.3 ± 46.15 c
300 mg/L	146.3 ± 34.75 b

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 11 ANOVA ของปริมาณ puerarin จากตัวอย่างรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวที่เก็บทั้ง 3 ครั้ง

Source	df	MS
Treatment	4	4816.526**
Replications	3	782.450[ns]
Error	12	347.467
Total	19	5946.443

[ns] = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 12 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวช่วงที่ให้สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine

กลุ่มทดลอง	พื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) (%) mean ± SD
Ach. (control)	100
Ach. + WKK T1	63.37±5.88 a[1/]
Ach. + WKK T2	52.49±9.24 b
Ach. + WKK T3	52.62±4.48 b
Ach. + WKK T4	51.00±7.70 b
Ach. + WKK T5	59.02±6.09 ab

Ach. = acetylcholine, WKK = White Kwao Krua, T = Treatment

[1/] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

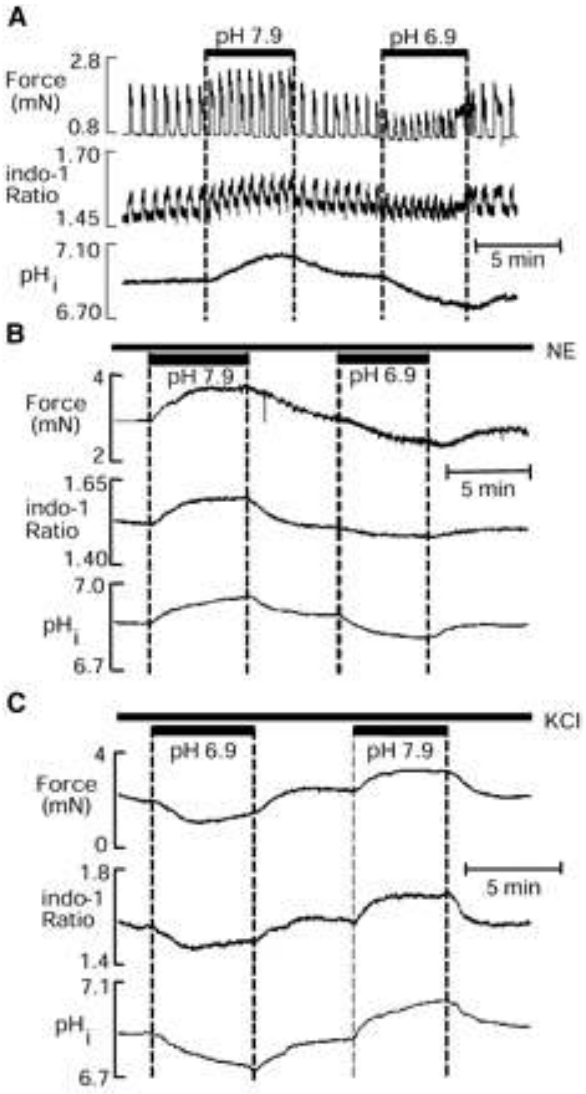
ตารางภาคผนวกที่ 13 ANOVA ของพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) ของการหดตัวของหลอดเลือดหนูขาวช่วงที่ให้สารสกัดกวาวเครือขาวร่วมกับ acetylcholine

Source	df	MS
Treatment	4	83.877*
Replications	2	123.833*
Error	8	28.116
Total	14	235.826

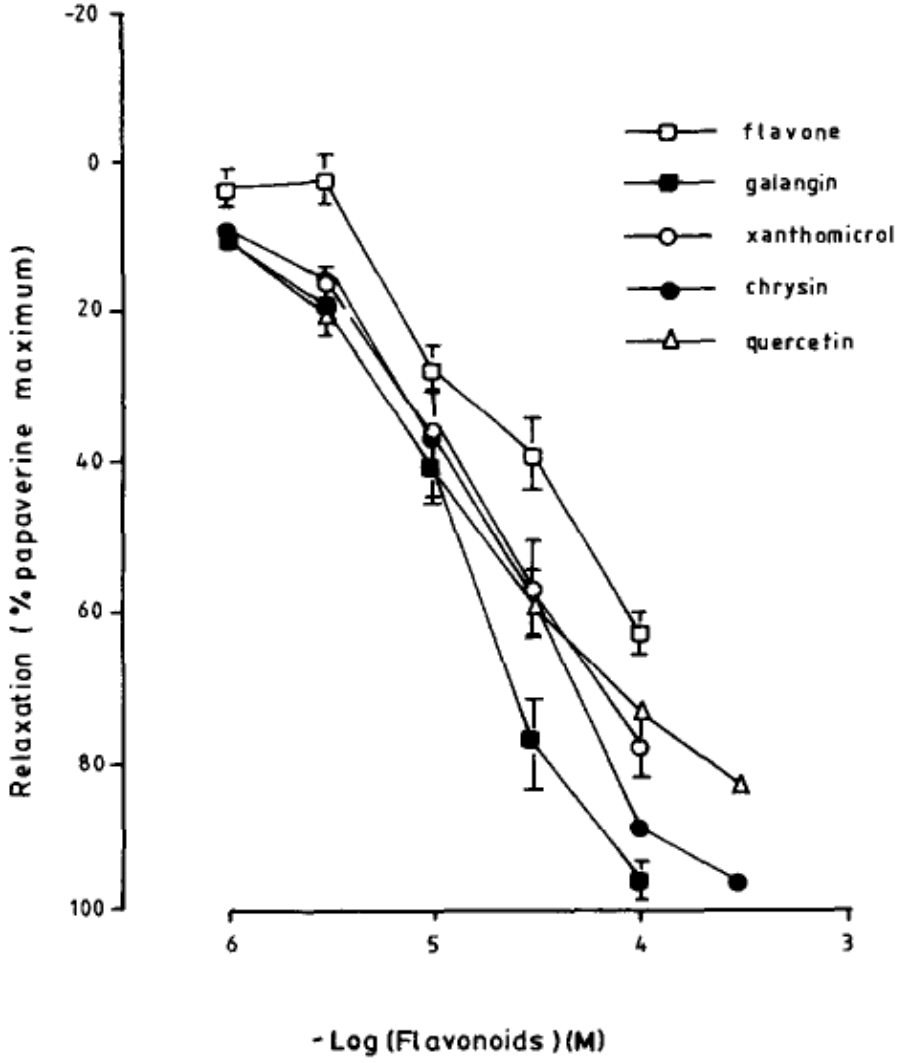
* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ภาพผนวกที่ 4 หนูขาวสายพันธุ์ Wistar Rat

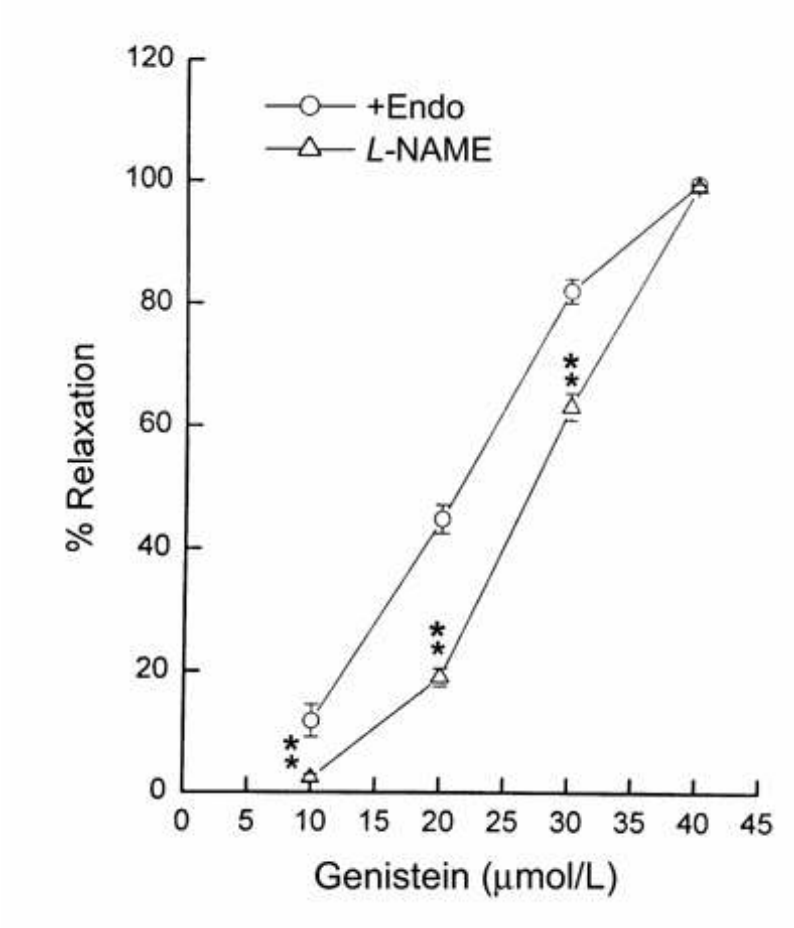
ภาพผนวกที่ 5 เครื่องบันทึกการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ (Power Lab System) PowerLab/4SP AD Instrument และ Organ bath system



ภาพผนวกที่ 6 ผลของการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์ (pH_o) ต่อการหดตัวของ portal vein ของหนูตะเภา A: ผลต่อ force, the indo 1 ratio, และ pH_i. B: ผลของ pH_o ต่อ force, the indo 1 ratio,และ pH_i on a 2 μM norepinephrine (NE)-precontracted strip. C: ผลของการเปลี่ยนแปลง pH_o ต่อ force, the indo 1 ratio, และ pH_i on a 100 mM KCl-precontracted strip. (Smith, 2002)



ภาพผนวกที่ 7 ผลของความเข้มข้นของ flavones (open square) galangin (solid squares), xanthomicrol (open circles), crysin (solid circles)และ quercetin (triangles) ต่อการคลายตัวของลำไส้หนู (Hana *et al*., 1997)



ภาพผนวกที่ 8 ผลของ genistein ต่อการคลายตัวของหลอดเลือดกระต่าย (Sheng, *et al*., 2002)

ภาพผนวกที่ 9 เครื่อง HPLC

ภาพผนวกที่ 10 เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator)

ประวัติผู้เขียน

นายวิโรจน์ เชาว์วิเศษ เกิดเมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2525 ที่อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี เริ่มศึกษาชั้นประถม 1-6 ที่โรงเรียนวัดสำนักตะค่า ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1-6 ที่โรงเรียนบรรหารแจ่มใสวิทยา 1 จังหวัดสุพรรณบุรี และสำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2547 ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต ด้านสรีรวิทยาของพืช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สถานที่ติดต่อ บ้านเลขที่ 288/2 หมู่ 6 ตำบลสนามคลี อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี 72230 E-mail address: den21den21@hotmail.com, k9denden@yahoo.com