

บุญร่วม คิคคำ : ผลของสารชักนำต่อผลผลิตและปริมาณไอโซฟลาโวนอยด์ของหัว
กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu)
Niyomdham] และฤทธิ์ของสารในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรท (*Rattus
norvegicus*) [THE EFFECT OF ELICITORS ON YEILD AND ISOFLAVONOIDS IN THE
TUBEROUS ROOT OF WHITE KWAO KRUA [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*
(Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] AND HYPOGLYCEMIC EFFECT ON RATS
(*Rattus norvegicus*)] อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี มานะเกษม, 122 หน้า.

พิวราลินและจินิสทีอินเป็นสารไอโซฟลาโวนอยด์ที่พบมากในหัวกวาวเครือขาว ทำให้สาร
สกัดจากพืชดังกล่าวมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีผลในการขยาย
หลอดเลือด และอาจลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวานได้ ได้ทำการวิจัย 3 ชุดการ
ทดลองที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในเดือนมกราคม 2549 ถึง เดือนมีนาคม 2552 เพื่อเพิ่ม
ปริมาณพิวราลินและจินิสทีอิน โดยใช้สารชักนำที่เหมาะสม และเพื่อศึกษาผลของสารสกัดจาก
กวาวเครือขาวต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทที่เป็นเบาหวาน ชุดการทดลองที่ 1 ใช้สาร
โคโคซาน กรดซาลิไซลิก และคอปเปอร์คลอไรด์ อย่างละ 5 ความเข้มข้น เพื่อชักนำฤทธิ์ต้านอนุมูล
อิสระในหัวกวาวเครือขาว ที่ปลูกใน growth chamber ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 4
ซ้ำ เริ่มชักนำเมื่อกวาวเครือขาวอายุ 4 เดือน จำนวน 4 ครั้ง แต่ครั้งห่างกัน 7 วัน เก็บข้อมูลหลัง
สิ้นสุดการชักนำที่ 1 วัน 7 วัน 15 วันและ 30 วัน พบว่าที่เวลา 7 วันหลังการชักนำด้วยกรดซาลิไซ
ลิกที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้หัวกวาวเครือขาวมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูง
ที่สุดเท่ากับ 49.9 เปอร์เซ็นต์และมี FRAP values เท่ากับ 6.05 ไมโครโมลของ Fe^{2+} /กรัมน้ำหนักแห้ง
แตกต่างจากทุกความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและที่ 15 วันหลังการชักนำด้วยโคโคซานที่
ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตรและคอปเปอร์คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้
หัวกวาวเครือขาวมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 54.7 และ 49.9 เปอร์เซ็นต์และมี
FRAP values เท่ากับ 5.72 และ 6.05 ไมโครโมลของ Fe^{2+} /กรัมน้ำหนักแห้ง แตกต่างจากทุกความ
เข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ชุดการทดลองที่ 2 ใช้โคโคซานที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/
ลิตร กรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตรและคอปเปอร์คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 200
มิลลิกรัม/ลิตรเป็นสารชักนำร่วมกันเพื่อชักนำปริมาณของพิวราลิน จินิสทีอินและฤทธิ์ต้านอนุมูล
อิสระในหัวกวาวเครือขาวที่ปลูกใน growth chamber และปลูกในโรงเรือนวางแผนการทดลองแบบ
สุ่มสมบูรณ์และที่ปลูกในแปลงทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อกร่วมกัน พบว่าการ
ใช้โคโคซานที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับคอปเปอร์คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 200
มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ปริมาณของพิวราลินและจินิสทีอินในหัวของกวาวเครือขาวที่ปลูกใน growth

chamber และที่ปลูกในโรงเรือนมีปริมาณสูงที่สุดและแตกต่างจากทรีตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีพิวรารินเท่ากับ 423 และ 386 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และมีจลินีสที่อินเท่ากับ 22.6 และ 22.4 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของพิวรารินและจลินีสที่อินเมื่อชักนำในต้นที่ปลูกในแปลงทดลอง ขณะที่การใช้โคโตซานที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับกรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร และคอปเปอร์คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้กวางเครือขาวที่ปลูกใน growth chamber ปลูกในโรงเรือน และปลูกในแปลงทดลองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2,482 1,050 และ 1,026 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมี FRAP value เท่ากับ 4.55 4.73 และ 6.69 ไมโครโมลของ Fe²⁺/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 3 นำหัวกวางเครือขาวที่ปลูกใน growth chamber และชักนำด้วยโคโตซานที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับคอปเปอร์คลอไรด์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/ลิตร จากการทดลองที่สอง ที่มีพิวรารินสูงที่สุดมาสกัดด้วย เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ป้อนหนูแรทพันธุ์วีสตาร์อายุ 10 สัปดาห์ ทั้งในหนูปกติและหนูเป็นเบาหวาน เพื่อเปรียบเทียบผลการลดระดับน้ำตาลในเลือดกับกลุ่มควบคุม พบว่าสารสกัดกวางเครือขาวไม่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทในภาวะที่มีระดับน้ำตาลสูงเฉียบพลันทั้งในหนูปกติและหนูเบาหวาน แต่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 30 วัน โดยในวันที่ 14 ของการป้อนสารสกัดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ 28.95 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่ 21 ลดได้ 26.37 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าสารสกัดกวางเครือขาวไม่มีผลก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อตับอ่อนและเนื้อเยื่อตับของหนูเบาหวาน จากการทดลองทำให้ได้สารชักนำที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของพิวรารินและจลินีสที่อินคือการใช้โคโตซานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับคอปเปอร์คลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/ลิตร และได้ข้อมูลเบื้องต้นว่าสารสกัดจากกวางเครือขาวขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทที่เป็นเบาหวานได้ตั้งแต่วันที่ 14 ของการป้อนอย่างต่อเนื่อง

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

BUNRUAM KHITKA : THE EFFECT OF ELICITORS ON YEILD AND
ISOFLAVONOIDS IN THE TUBEROUS ROOT OF WHITE KWAO KRUA
[*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham]
AND HYPOGLYCEMIC EFFECT ON RATS (*Rattus norvegicus*). THESIS
ADVISOR : ASST. PROF. YUVADEE MANAKASEM, Ph.D., 122 PP.

WHITE KWAO KRUA/ ELICITORS/ ISOFLAVONOIDS/ ANTIOXIDANT/
HYPOGLYCEMIC EFFECT

Puerarin and genistein are isoflavonoids in the tuberous roots of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham]. Hence, White Kwao Krua (WKK) contains estrogen-like substances. It contains antioxidants and has vascular relaxation properties. It was decided to determine whether it also has a hypoglycemic effect on diabetic rats. Three sets of experiments were conducted at Suranaree University of Technology from January 2006 to March 2009. These were to study the antioxidant activities and to increase the amount of puerarin and genistein in the tuberous roots of WKK through the use of elicitors. Furthermore, whether the crude extract of WKK has a hypoglycemic effect on diabetic rats was also investigated. The first set of experiments was set up as a complete randomized design with five concentrations of each elicitor (chitosan, salicylic acid and CuCl_2) which were applied 4 times over one month to WKK grown in a growth chamber. The experiment had 4 replications. The data were collected at 1, 7, 15 and 30 days after the final application of the elicitors. The results showed that all concentrations of elicitors used could promote statistically significant differences in the antioxidant activities of WKK. Salicylic acid at 100 mg/L gave the highest

antioxidant activities [% inhibition by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method = 58.3%, ferric reducing antioxidant power (FRAP) values = 5.89 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$] at 7 days after application. Chitosan at 1,000 mg/L and CuCl_2 at 200 mg/L gave the highest antioxidant activities (% inhibition = 54.7 and 49.9% by the DPPH method) and had FRAP values = 5.72 and 6.05 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$ at 15 days after application. In the second set of experiments, chitosan at 1,000 mg/L, salicylic acid at 100 mg/L, and CuCl_2 at 200 mg/L were used together to induce and to increase the amount of puerarin and genistein, and to increase antioxidant activity in WKK grown in the growth chamber, in the greenhouse, and in the field. The experiments in the growth chamber and in the greenhouse were set up as complete randomized designs with 8 treatments and 4 replications. The experiment in the field was set up as a randomized complete block design with 8 treatments and 3 replications. The result showed that WKK that were treated with chitosan at 1,000 mg/L plus CuCl_2 at 200 mg/L gave the highest amount of puerarin and genistein when grown in the growth chamber and in the greenhouse. The result for this treatment was significantly different from other treatments. The puerarin content after this treatment was 423 and 386 $\mu\text{g/g dw}$, and the genistein content was 22.6 and 22.4 $\mu\text{g/g dw}$. However, there were no statistically significant differences in the amount of puerarin and genistein for WKK that was grown in the field. The treatment of chitosan at 1,000 mg/L, plus salicylic acid at 100 mg/L, plus CuCl_2 at 200 mg/L, gave the highest antioxidant activities for the WKK that were grown in the growth chamber, in the greenhouse, and in the field. The IC_{50} results for these treatments were 2,482, 1,050 and 1,026 $\mu\text{g/ml}$ by the DPPH method, and the FRAP values were 4.55, 4.73 and 6.69 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g dw}$, respectively. The third set of experiments involved WKK that were grown in a growth chamber with treatment using chitosan at 1,000 mg/L plus CuCl_2 at 200

mg/L, which gave the highest puerarin content from the second experiment. Samples from WKK grown under these conditions were used to test the hypoglycemic effect in normal rats and in diabetic rats. Those WKK were extracted with 80% ethanol, and the crude extract was given to 10 week old rats, both normal and diabetic. The results showed that the crude extract could not reduce the blood sugar level in normal and acute diabetic rats. But, after repeated daily oral administration in chronic diabetic rats for 30 days, the crude extract statistically significantly reduced blood sugar levels compared to those of the control group by 28.92% and 26.37% on days 14 and 21. Furthermore, histopathology findings showed no evidence of lesions related to the extract toxicity. Therefore, chitosan at 1,000 mg/L plus CuCl_2 at 200 mg/L could increase the amount of puerarin and genistein in WKK. In addition, the WKK crude extract administered orally daily at 100 mg/kg body weight to chronic diabetic rats showed an hypoglycemic effect from day 14.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2008

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____