บทที่ 4

ผลการวิจัย

การวิจัยเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษของกระเจี๊ยบเขียวต่อเซลล์เพาะเลี้ยง โดยผลการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

1. เพื่อศึกษาลักษณะผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว

2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียว ได้แก่ สารพอลิแซ็กคาไรด์ กลูตาไทโอน แอนติออกซิแดนท์ ฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล

3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของกระเจี๊ยบเขียวต่อเซลล์เพาะเลี้ยง

1. ลักษณะผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว

1.1 รูปร่าง ขนาด สี ผิว และน้ำหนักผลกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีลักษณะผลเรียวยาว ผิวผลมีขนปกคลุมทั่วผล สีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม มี 5 เหลี่ยม ความกว้างผล ความยาวผล และน้ำหนักผลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสายพันธุ์ SR18-0059 PC 5707 มีความกว้างผล ความยาวผล และน้ำหนักผล เท่ากับ 2.2±0.20 เซนติเมตร 9.8±0.36 เซนติเมตร และ18.5±0.19 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 รูปร่าง ขนาด สีผล ผิวผล และน้ำหนักผลกระเจี๊ยบเขียว

สายพันธุ์	ผิวผล	สีผล	ความกว้างผล (ซม.)	ความยาวผล (ซม.)	จำนวนเหลี่ยม	น้ำหนักผล (กรัม)
SR18-0058 PC 5706	มีขน	เขียวเข้ม	1.8±0.18b[1/]	8.5±0.23b[1/]	5	11.0±0.83b[1/]
SR18-0059 PC 5707	มีขน	เขียวอ่อน	2.2±0.20a	9.8±0.36a	5	18.5±0.19a
SR18-0060 PC 5709	มีขน	เขียวอ่อน	2.1±0.22ab	8.7±0.51b	5	12.8±0.35b

[1/] = Means followed by common letters are not significant difference as determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 % level of confidence

1.2 จำนวนผลต่อต้นและผลผลิตต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียว

1.2.1 จำนวนผลต่อต้น กระเจี๊ยบเขียวแต่ละสายพันธุ์มีจำนวนผลต่อต้นแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยจำนวนผลต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0058 PC 5706 มากที่สุด เท่ากับ 32.95±1.45 ผล รองลงมา คือ SR18-0059 PC 5707 เท่ากับ 27.64±0.95 ผล และ SR18-0059 PC 5709 น้อยที่สุด เท่ากับ 18.71±1.08 ผล (ตารางที่ 4.2)

1.2.2 น้ำหนักผลต่อต้น กระเจี๊ยบเขียวแต่ละสายพันธุ์มีน้ำหนักผลต่อต้นแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยจำนวนผลต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0058 PC 5706 มากที่สุด เท่ากับ 441.01±5.75 กรัม รองลงมา คือ SR18-0059 PC 5707 เท่ากับ 363.89±6.11 กรัม และ SR18-0059 PC 5709 น้อยที่สุด เท่ากับ 322.81±2.45 กรัม (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 จำนวนผลต่อต้นและน้ำหนักผลต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียว

สายพันธุ์	จำนวนผลต่อต้น (ผล)	น้ำหนักผลต่อต้น (กรัม)
SR18-0058 PC 5706	32.95±1.45a[1/]	441.01±5.75a[1/]
SR18-0059 PC 5707	27.64±0.95b	363.89±6.11b
SR18-0060 PC 5709	18.71±1.08c	322.81±2.45c

[1/] = Means followed by common letters are not significant difference as determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 % level of confidence

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียว

2.1 ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ กระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0058 PC5706 มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดเท่ากับ 10.2% w/w ซึ่งไม่แตกต่างกับสายพันธุ์ SR18-0060 PC5709 ที่มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 8.84% w/w แต่แตกต่างกับสายพันธุ์ SR18-0058 PC5707 ที่มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์น้อยที่สุด เท่ากับ 7.42% w/w (ตารางที่ 4.3)

2.2 ปริมาณกลูตาไทโอน คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกลูตาไทโอน จากสมการ $y = 0.0143x - 0.0163$ $R^2 = 0.9832$ พบว่ากระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณกลูตาไทโอนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) โดยกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0059 PC 5709 มีปริมาณกลูตาไทโอนมากที่สุด เท่ากับ 0.1026 µM เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 สายพันธุ์คือ SR18-0059 PC 5707 และ SR18-0059 PC 5706 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.0855 µM และ 0.0878 µM ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ กระเจี๊ยบเขียวแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณฟลาโวนอยด์แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0059 PC 5707 มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 0.412 mg catechin/g sample รองลงมา คือ SR18-0060 PC 5709 เท่ากับ 0.325 mg catechin/g sample และ SR18-0058 PC 5706 น้อยที่สุด เท่ากับ 0.303 mg catechin/g sample (ตารางที่ 4.3)

2.4 ปริมาณโพลีฟีนอล กระเจี๊ยบเขียวแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณโพลีฟีนอลแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0059 PC 5707 มีปริมาณโพลีฟีนอลมากที่สุด เท่ากับ 1.361 mg GAE/g sample รองลงมา คือ SR18-0058 PC 5706 เท่ากับ 1.213 mg GAE/g sample และ SR18-0060 PC 5709 น้อยที่สุด เท่ากับ 1.138 mg GAE/g sample (ตารางที่ 4.3)

2.5 ปริมาณแอนติออกซิแดนท์

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay IC_{50} ซึ่งค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50 % จากการวิเคราะห์พบว่า กระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0060 PC 5707 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 17.875 mg/ml รองลงมา คือ SR18-0058 PC 5706 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 21.353 mg/ml และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้น้อยที่สุดคือ SR18-0059 PC 5709 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 22.969 mg/ml อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของกระเจี๊ยบเขียวกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น วิตามิน ซี วิตามิน E และ Butylated hydroxytoluene (BHT) พบว่ากระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน (ตารางที่ 4.4)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS โดยค่าคำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน Trolox จากสมการ $y = 0.1635x - 0.0633$ $R^2 = 0.9996$ พบว่ากระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานได้ดีที่สุดคือ สายพันธุ์ SR18-0059 PC 5707 เท่ากับ 0.974 mg Trolox/g sample รองลงมาสายพันธุ์ คือ SR18-0058 PC 5706 เท่ากับ 0.896 mg Trolox/g sample และ SR18-0060 PC 5709 เท่ากับ 0.853 mg Trolox/g sample ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของกระเจี๊ยบเขียวกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น วิตามิน E และ Butylated hydroxytoluene (BHT) พบว่า กระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน (ตารางที่ 4.4)

ABTS inhibition activities (%) หรือ เป็นการคำนวณหาค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml พบว่ากระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ SR18-0059 PC

5707 มีปะสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ได้ดีที่สุด เท่ากับ 31.800 % เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ อันได้แก่ สายพันธุ์ SR18-0060 PC 5709 และสายพันธุ์ SR18-0058 PC 5706 ที่ค่าการยับยั้งเท่ากับ 27.844 % และ 29.247 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

จะเห็นได้ว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี DPPH assay IC_{50} ABTS และค่า ABTS inhibition activities (%) มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าสายพันธุ์ SR18-0059 PC 5707 มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสสระทั้ง DPPH และ ABTS ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ กลูตาไทโอน ฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล

สายพันธุ์	พอลิแซ็กคาไรด์ (% w/w)	กลูตาไทโอน (μM)	ฟลาโวนอยด์ (mg catechin/g sample)	โพลีฟีนอล (mg GAE/g sample)
SR18-0058 PC 5706	10.20a[1/]	0.0855	0.303c[1/]	1.213b[1/]
SR18-0059 PC 5707	7.42b	0.0878	0.412a	1.361a
SR18-0060 PC 5709	8.84a	0.1026	0.325b	1.138c

[1/] = Means followed by common letters are not significant difference as determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 % level of confidence

ตารางที่ 4.4 ปริมาณแอนติออกซิแดนท์

สายพันธุ์	DPPH assay IC_{50} (mg/ml)	ABTS (mg Trolox/g sample)	ABTS inhibition activities (%)
SR18-0058 PC 5706	21.353b[1/]	0.896c[1/]	29.247b[1/]
SR18-0059 PC 5707	17.875c	0.974c	31.800a
SR18-0060 PC 5709	22.969a	0.853c	27.844b
Vitamin C	0.005d	-	-
Vitamin E	0.012d	499.371a	-
BHT	0.109d	483.402b	-

[1/] = Means followed by common letters are not significant difference as determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at the 95 % level of confidence

3. การทดสอบความเป็นพิษของกระเจี๊ยบเขียว

3.1 การทดสอบสารเคมีเบื้องต้น (Chemical screening) พบว่า ผลกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล ตรวจสอบพบโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และน้ำตาลรีดิวซ์ แต่ตรวจสอบไม่พบแอลคาลอยด์ และซาโปนิน (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 การทดสอบสารเคมีเบื้องต้น

การทดสอบ	**สารสกัดผลกระเจี๊ยบเขียว 3 สายพันธุ์**		
สารเคมีเบื้องต้น	**SR18-0058 PC 5706**	**SR18-0059 PC 5707**	**SR18-0060 PC 5709**
โพลีฟีนอล	+	+	+
แอลคาลอยด์	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	+	+	+
ซาโปนิน	-	-	-
น้ำตาลรีดิวซ์	+	+	+

หมายเหตุ + ตรวจสอบพบ และ – ตรวจสอบไม่พบ

3.2 ความเป็นพิษของกระเจี๊ยบเขียว พบว่า สารสกัดผลกระเจี๊ยบเขียวต่อการมีชีวิตของเซลล์ Hs 746T และ RAW264.7 ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยสารสกัดผลกระเจี๊ยบเขียวความเข้มข้น 0 20 40 60 80 100 500 และ 1,000 μg/ml มีค่าร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ Hs 746T และ RAW264.7 มากกว่า 90 จึงไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (ตารางที่ 4.6) และค่า IC_{50} ของสารสกัดผลกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่ามากกว่า 500 μg/ml เป็นสารสกัดที่ไม่มีพิษ (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.6 ค่าร้อยละการมีชีวิตของเซลล์

สายพันธุ์	Cell lines	Conc. (μg/ml)	% viability	
			24 Hrs.	48 Hrs.
SR18-0058 PC 5706	Hs 746T	0	100.000	100.000
		20	99.864	95.929
		40	99.548	95. 596
		60	97.558	93. 885
		80	95.477	93. 092
		100	93.894	92.640
		500	93.733	91.510
		1,000	91.677	90.571
SR18-0059 PC 5707	Hs 746T	0	100.000	100.000
		20	99.457	97.286
		40	98.915	96.612
		60	98.236	96.272
		80	97.467	95.706
		100	96.377	95.104
		500	94.868	93.199
		1,000	92.250	92.084
SR18-0060 PC 5709	Hs 746T	0	100.000	100.000
		20	99.593	98.544
		40	98.960	98.253
		60	97.965	97.308
		80	97.015	95.156
		100	96.397	95.908
		500	95.863	93.941
		1,000	92.853	91.536
SR18-0058 PC 5706	RAW264.7	0	100.000	100.000
		20	99.343	99.336
		40	99.146	99.159
		60	98.482	98.361
		80	97.041	96.856

สายพันธุ์	Cell lines	Conc. (μg/ml)	% viability	
			24 Hrs.	48 Hrs.
		100	96.523	95.926
		500	94.565	93.467
		1,000	93.589	92.453
SR18-0059 PC 5707	RAW264.7	0	100.000	100.000
		20	99.390	99.203
		40	99.363	99.100
		60	98.717	98.261
		80	98.298	97.597
		100	97.664	97.125
		500	95.816	95.791
		1,000	93.779	93.472
SR18-0060 PC 5709	RAW264.7	0	100.000	100.000
		20	99.531	99.114
		40	99.274	99.044
		60	98.780	98.394
		80	98.357	97.933
		100	97.819	96.914
		500	95.413	95.362
		1,000	93.480	93.852

ตารางที่ 4.7 ค่าความมีชีวิตร้อยละ 50

สายพันธุ์	Cell lines	IC_{50}	
		24 Hrs.	48 Hrs.
SR18-0058 PC 5706	Hs 746T	1,397.200	1,573.042
SR18-0058 PC 5706	RAW264.7	1,521.400	1,853.470
SR18-0059 PC 5707	Hs 746T	1,519.216	1,690.070
SR18-0059 PC 5707	RAW264.7	1,715.796	1,930.950
SR18-0060 PC 5709	Hs 746T	1,519.216	1,042.822
SR18-0060 PC 5709	RAW264.7	1,606.952	1,786.778