

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ความเป็นพิษ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ทำการทดลองโดยดำเนินการดังต่อไปนี้

- 3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง
- 3.2 การเตรียมสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน
- 3.3 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน
 - 3.3.1 การทดสอบพิษเฉียบพลัน
 - 3.3.2 การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง
- 3.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน
- 3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน
 - 3.5.1 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด
 - 3.5.2 การศึกษาฤทธิ์เพิ่มน้ำหนักตัว
 - 3.5.3 การศึกษาฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด
 - 3.5.4 การศึกษาฤทธิ์ต่อค่าทางโลหิตวิทยา และฤทธิ์ต่อค่าทางเคมีโลหิต
 - 3.5.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การเตรียมสารสกัดใบมะม่วง

1. ใบมะม่วงที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ คือ มะม่วงกะล่อน/มะม่วงป่า (*Mangifera caloneura* Kurz) ได้มาจากอำเภอควีน จังหวัดยโสธร
2. ทำการเก็บใบมะม่วงกะล่อนในช่วงเช้า เวลา 08.00 น. - 11.00 น. โดยเลือกใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป นำมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วบดเป็นผงละเอียด
3. นำผงสมุนไพรไปสกัดโดยการหมักด้วยเอทานอล 85 % โดยใช้อัตราส่วน ผงใบมะม่วง : เอทานอล เป็น 1 : 4 (น้ำหนัก : ปริมาตร) หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นกากออกโดยใช้ผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง
4. นำส่วนที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยใช้ Rotary Evaporator จากนั้นนำไปทำการ Freeze dry เพื่อให้ได้สารสกัดที่แห้งขึ้นต่อไป
5. นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เพื่อรอไว้สำหรับการทดลองต่อไป

3.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง คือ หนูขาวสายพันธุ์ Wistar ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (Male and Female albino Wistar rats) น้ำหนักตัว 200 - 250 กรัม ก่อนการทดลองนำหนูมาพักเพื่อให้หนูสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของห้องทดลอง ซึ่งควบคุมอุณหภูมิประมาณ 23 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-60% ให้ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ประมาณ 1 สัปดาห์ และให้หนูได้รับอาหารและน้ำดื่มตลอดเวลา การปฏิบัติและดูแลสัตว์ทดลอง ได้รับการอนุมัติวิจัยในสัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เลขที่ 0005/2556

3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน

นำสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยนำไปวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้สำหรับแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในสารสกัด ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (low volatile substation) หรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High molecular weight compounds) โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่จะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟสคือ เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) หรือ คอลัมน์ (Column) และเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ น้ำกลั่น acetic acid (pH 2.74) (solvent A) และ acetonitrile (solvent B) ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน การแยกสารผสมที่อยู่ในสารสกัดออกจากกันขึ้นอยู่กับความสามารถในการ เข้ากันได้ ดีของสารสกัดกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเฟสที่อยู่กับที่ โดยสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสเคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง สารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งเรียกว่า โครมาโตแกรม (Chromatogram) ซึ่งตรวจวัดโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คือ Gallic acid, Catechin และ Quercetin

3.4 การทดสอบความเป็นพิษของสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน

3.4.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

1. การวางแผนการทดลอง

ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันโดยวิธี Fixed-dose และป้อนครั้งเดียว โดยแบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง 8 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.5 % Tween 80

กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 1, 000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

กลุ่มที่ 3 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 1, 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

กลุ่มที่ 4 หนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 2, 000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ทำการป้อนสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนทางปากโดยใช้เข็มป้อน (Orogastric tube) ก่อนป้อนนำสารสกัดมาละลายใน 0.5 % Tween 80 แล้วป้อนสารขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

2.1 หลังจากป้อนสารสกัดสังเกตอาการความเป็นพิษ ได้แก่ การหายใจ การขับถ่าย การกินอาหาร การเคลื่อนไหว อาการชัก เดินเซ ซึม อาเจียน เบื่ออาหาร บันทึกอาการความเป็นพิษ และนับจำนวนหนูทดลองที่ตาย ในชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 และ 24 ชั่วโมง (สังเกตอย่างละเอียดใน 2 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นสังเกตทุก ๆ 2 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง)

2.2 หลังจากนั้นสังเกตอาการต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 14 วัน และชั่งน้ำหนักและจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวของหนูทดลองในวันที่ 0, 7 และ 14 ของการทดลองตามลำดับ

2.3 เมื่อครบ 14 วัน ทำให้หนูสลบด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วทำการผ่าตัด จากนั้นดูเลือดจากหัวใจ บรรจุเลือดใส่หลอดสำหรับเก็บเลือด นำเลือดที่ได้ไปตรวจหาค่าเคมีโลหิต ซึ่งได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Crea), Total protein (TP), Albumin (Alb), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) และ Alkaline phosphatase (ALP) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาค่าเคมีในเลือดอัตโนมัติ ที่ศูนย์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม นอกจากนี้ทำการสังเกตรูปร่างลักษณะ และพยาธิสภาพ พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ (Liver) ไต (Kidney) และหัวใจ (Heart) เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

2.4 การคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ คำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ} = \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัว}}$$

3. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Means) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (Standard Error Means)

3.2 สถิติทดสอบข้อตกลงเบื้องต้น ได้แก่ Outlier, Randomness, Normality และ Homogeneity of Variance

3.3 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน ได้แก่ One - Way ANOVA (One-way analysis of variance)

3.4 เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

3.5 คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในคอมพิวเตอร์

3.4.2 การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

1. การวางแผนการทดลอง

ทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังโดยวิธี Repeated-dose โดยแบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีหนูทดลอง 8 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูปกติควบคุมที่ได้รับสารละลาย 0.5 % Tween 80

กลุ่มที่ 2 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ทำการป้อนสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนทางปากโดยใช้เข็มป้อน (Orogastric tube) ก่อนป้อนนำสารสกัดมาละลายใน 0.5 % Tween 80 แล้วป้อนสารขนาด 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม โดยป้อนสารสกัดทุกวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

2.1 ในระหว่างการทดลองสังเกตอาการความเป็นพิษ ได้แก่ การหายใจ การขับถ่าย การกินอาหาร การเคลื่อนไหว อาการชัก เดินเซ ซึมเศร้า อาเจียน และเบื่ออาหาร และนับจำนวนหนูทดลองที่ตายพร้อมทั้งชั่งน้ำหนักตัวหนูทดลองทุกสัปดาห์ จนครบ 6 สัปดาห์

2.2 เมื่อครบ 6 สัปดาห์ ทำการอดอาหารหนูเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำให้หนูสลบด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) แล้วทำการผ่าตัด จากนั้นดูดเลือดจากหัวใจ บรรจุเลือดใส่หลอดสำหรับเก็บเลือด นำเลือดที่ได้ไปตรวจหาค่าเคมีโลหิต ซึ่งได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Crea), Total protein (TP), Albumin (Alb), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) และ Alkaline phosphatase (ALP) และค่าโลหิตวิทยา ซึ่งได้แก่ White blood cells (WBC), Red blood cell (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Mean cell volume mean cell hemoglobin (MCV), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCH), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), Lymphocyte (Lym), Monocyte (Mono), Eosinophils (Eo) และ Platelets (Plt) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาค่าเคมีในเลือดอัตโนมัติ ที่ศูนย์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม นอกจากนี้ ทำการสังเกตรูปร่างลักษณะ และพยาธิสภาพ พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ (Liver) ไต (Kidney) และหัวใจ (Heart) เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

2.3 การคำนวณหาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ คำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ} = \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัว}}$$

3. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Means) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (Standard Error Means)

3.2 สถิติทดสอบข้อตกลงเบื้องต้น ได้แก่ Outlier, Randomness, Normality และ Homogeneity of Variance

3.3 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน ได้แก่ t - test

3.4 เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

3.5 คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในคอมพิวเตอร์

3.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน

3.5.1 ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง
2. การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวาน

เหนี่ยวนำหนูให้เป็นเบาหวานด้วยการฉีดสเตรปโตโซโตซิน (Streptozotocin ; STZ) ในขนาด 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งละลายใน 20 mM Citrate buffer, pH 4.5 ที่เตรียมใหม่ ๆ แบบฉีดครั้งเดียว เข้าช่องท้อง (Intra-peritoneal injection) หลังการฉีด STZ แล้วให้หนู ดื่มน้ำตาลซูโครส 2% เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Talubmook *et al.*, 2003) หลังจากนั้น 3 วัน ทำการอดอาหารหนูเป็นเวลา 8 ชั่วโมง วัดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้กลูโคมิเตอร์ (Glucometer) เลือกหนูที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรมาเป็นหนูเบาหวาน และนำมาใช้ในการทดลอง

3. การดำเนินการทดลอง

3.1 แบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว แต่ละกลุ่มได้รับสิ่งทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูปกติที่ได้รับ 0.5% Tween 80

กลุ่มที่ 2 หนูปกติที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานควบคุมที่ได้รับ 0.5 % Tween 80

กลุ่มที่ 4 หนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

3.2 ป้อนสารสกัดแก่หนูทดลองทุกวัน ก่อนป้อนนำสารสกัดมาผสม 0.5% Tween 80 แล้วป้อนสารสกัดขนาด 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ทำการป้อนสารสกัดที่เวลาประมาณ 18.00 น. ทุกวัน วันละครั้งขนาด 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนหนูกลุ่มที่ 1 และ 3 ให้ได้รับ 0.5% Tween 80 ในขนาด 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม

3.3 ทำการชั่งน้ำหนักหนู และวัดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองทุกตัว สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนครบ 6 สัปดาห์

3.4 เมื่อครบ 6 สัปดาห์ ทำการอดอาหารหนูเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำให้หนูสลบด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) แล้วทำการผ่าตัด จากนั้นดูดเลือดจากหัวใจ บรรจุเลือดใส่หลอดสำหรับเก็บเลือด นำเลือดที่ได้ไปทำการวัดระดับไขมันในเลือดโดยใช้เครื่อง Automatic blood chemical analyzer (BT 2000 plus, Germany) ตรวจหาค่าเคมีโลหิต ซึ่งได้แก่ Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Crea), Total protein (TP), (Alb) Albumin, Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) และ Alkaline phosphatase (ALP)

และหาค่าโลหิตวิทยา ซึ่งได้แก่ White blood cells (WBC), Red blood cell (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Mean cell volume mean cell hemoglobin (MCV), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCH), Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), Lymphocyte (Lym), Monocyte (Mono), Eosinophils (Eo) และ Platelets (Plt) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาค่าเคมีในเลือดอัตโนมัติ ที่ศูนย์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

4. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Means) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (Standard Error Means)

4.2 สถิติทดสอบข้อตกลงเบื้องต้น ได้แก่ Outlier, Randomness, Normality และ Homogeneity of Variance

4.3 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน ได้แก่ One -Way ANOVA (One - way analysis of variance)

4.4 เมื่อเมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

4.5 คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในคอมพิวเตอร์

3.5.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบโดยวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อนด้วยวิธี DPPH assay

1. ดำเนินการทดลองดังนี้

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน Methanol

1.2 เตรียมสารสกัดจากใบมะม่วงกะล่อน ความเข้มข้น 1,000, 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3 นำสารสกัดในข้อ 1.2 จำนวน 750 ไมโครลิตร และ DPPH 750 ไมโครลิตร ในอัตราส่วน 1 : 1 ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่า Absorbance ด้วย UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร วัดค่า Absorbance ทุกหลอดรวมทั้งหลอดควบคุม (DPPH) โดยมี Vitamin C เป็นสารมาตรฐาน

1.4 คำนวณหาค่า % radical scavenging จากสูตร

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{\text{Act} - \text{Asample} \times 100}{\text{Actr}}$$

Actr = Absorbance control

Asample = Absorbance ของสารสกัด

1.5 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่างกับค่า % radical scavenging และคำนวณหาค่า 50% Effective concentration (EC_{50}) (EC_{50} = ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์)

2. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

2.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Means) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (Standard Error Means)

2.2 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน ได้แก่ t – Test

2.3 เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

2.4 คำนวณค่าสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในคอมพิวเตอร์