บทที่ 4

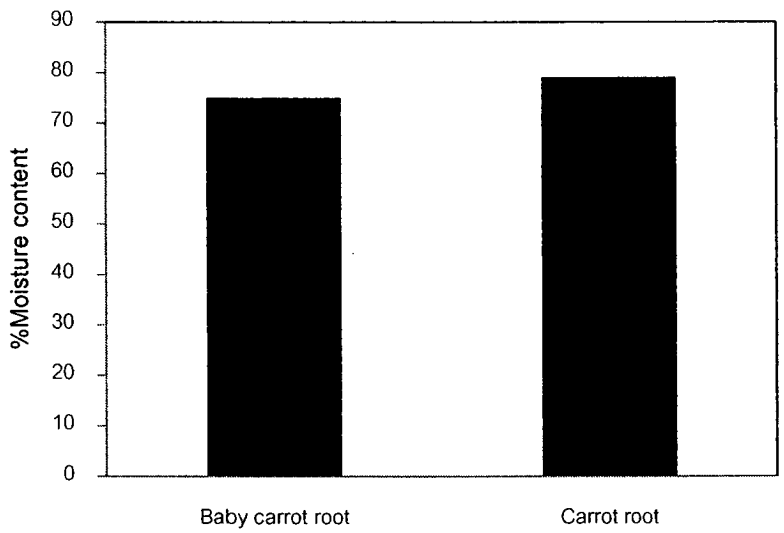
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ผลของปริมาณน้ำของแครอทและเบบี้แครอท ที่ระเหยภายหลังจากการอบในตู้ hot air oven ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณของสารสกัดหยาบของรากแครอทและเบบี้แครอทที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอล

1.1 ปริมาณน้ำของรากเบบี้แครอทและแครอท ที่ระเหยภายหลังจากการอบในตู้ hot air oven ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่ระเหย (%Moisture content)

ตารางที่ 12 แสดงถึงค่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำที่ระเหยไปของรากแครอทและเบบี้แครอท

Herbs	% Moisture content
Baby carrot root	75.04
Carrot root	79.07



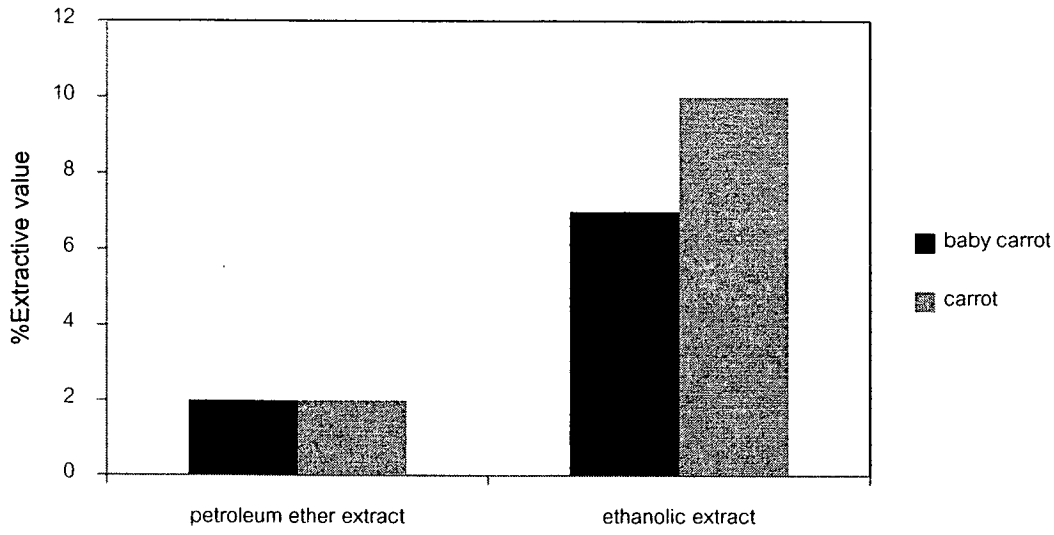
ภาพที่ 42 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ของน้ำที่ระเหยไปของรากแครอทและเบบี้แครอท

จากการทดสอบพบว่าปริมาณน้ำที่ระเหยไปภายหลังจากการนำสมุนไพรหั่นเป็นชิ้นบางๆ แล้วนำเข้าตู้อบ hot air oven ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส น้ำของรากเบบี้แครอทและแครอท ระเหยไป 75.04 และ 79.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.1 ปริมาณของสารสกัดหยาบของรากเบบี้แครอทและแครอทที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอล ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารสกัดที่ได้เทียบกับปริมาณสมุนไพรก่อนการสกัด (% Extractive value) แสดงดังในตารางที่ 13 และภาพที่ 43

ตารางที่ 13 แสดงถึงค่าเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารสกัดที่ได้

Extracts	% Extractive value
Baby carrot (petroleum ether extract)	2
Baby carrot (ethanolic extract)	10
Carrot (petroleum ether extract)	2
Carrot (ethanolic extract)	7



ภาพที่ 43 แสดงถึงปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอล

การทดลองนี้มีการสกัดสมุนไพรแห้งด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ก่อนจากนั้นนำมาสกัดต่อเนื่องด้วยเอทานอลแล้วค่อยนำไประเหยตัวทำละลายออกแล้วนำมาชั่งนำสารสกัดหยาบมาชั่งน้ำหนักแล้วเปรียบเทียบกับสมุนไพรเริ่มต้นซึ่งมีน้ำหนัก 10 กรัม จากผลการทดสอบพบว่าปริมาณของสาร

สกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดปิโตรเลียมอีเทอร์ให้ปริมาณที่เท่ากันคือ 2 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำหนักของสมุนไพรเริ่มต้น ในขณะที่สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณของสารสกัดที่มากกว่าคือ 10 และ 7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณมาก

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท

ตารางที่ 14 แสดงถึงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท

Extracts	Total phenolic content (mg GAE/g dry plant material)
Baby carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	NA
Baby carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	35.9±4.0
Carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	NA
Carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	30.7±3.1

NA = not available

จากการทดลองพบว่าสารประกอบฟีนอลิกพบในสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล ซึ่งเบบี้แครอทมีสารประกอบฟีนอลิก 35.9±4.0 ค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม (mg GAE/g dry weight sample) และแครอทมีสารประกอบฟีนอลิก 30.7±3.10 ค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม แต่ในสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ไม่พบสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกพบในสารสกัดหยาบของรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยเอทานอล และพบมากที่สุดในเบบี้แครอท ซึ่งการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง และแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SEM)

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอท และเบบี้แครอท

ตารางที่ 15 แสดงถึงปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท

Extracts	Total flavonoid content (mg QE/g dry plant material)
Baby carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	17.7±2.7
Baby carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	35.3±6.8
Carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	3.7±0.7
Carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	20.4±2.8

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์พบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยแอทานอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 35.3±6.8 และ 20.4±2.8 มิลลิกรัมของเควอซิทินต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม (mg QE/g dry plant material) ซึ่งมีปริมาณมากกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์จากรากเบบี้แครอทและแครอทที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ 17.7±2.7 และ 3.7±0.7 มิลลิกรัมของเควอซิทินต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม ตามลำดับดังนั้นปริมาณฟลาโวนอยด์สามารถพบในสารสกัดที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอลซึ่งพบมากในสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอท ซึ่งการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง และแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SEM)

4. ผลการวัดปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิด DPPH ในสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 16 แสดงถึงปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระชนิด DPPH

Extracts	Antioxidant activity by DPPH assay (mg VCEAC/g dry plant material)
Baby carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	5.0±0.4
Baby carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	33.0±1.1
Carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	4.5±0.9
Carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	27.5±1.7

จากการทดลองความสามารถของสารหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทในการต้านฤทธิ์สารอนุมูลอิสระชนิด DPPH ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองเป็น % radical scavenging activity จากนั้นนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค และคำนวณเป็นหน่วยค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม (mg VCEAC/g dry plant material) ซึ่งผลได้แสดงดังตารางที่ 16 พบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณมากที่สุดคือ 33.0±1.1 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลเช่นกันซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 27.5±1.7 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม ส่วนสารสกัดหยาบจากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยคือ 5.0±0.4 และ 4.5±0.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อ 1 กรัมสมุนไพรแห้ง 1 กรัม การทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง และแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SEM)

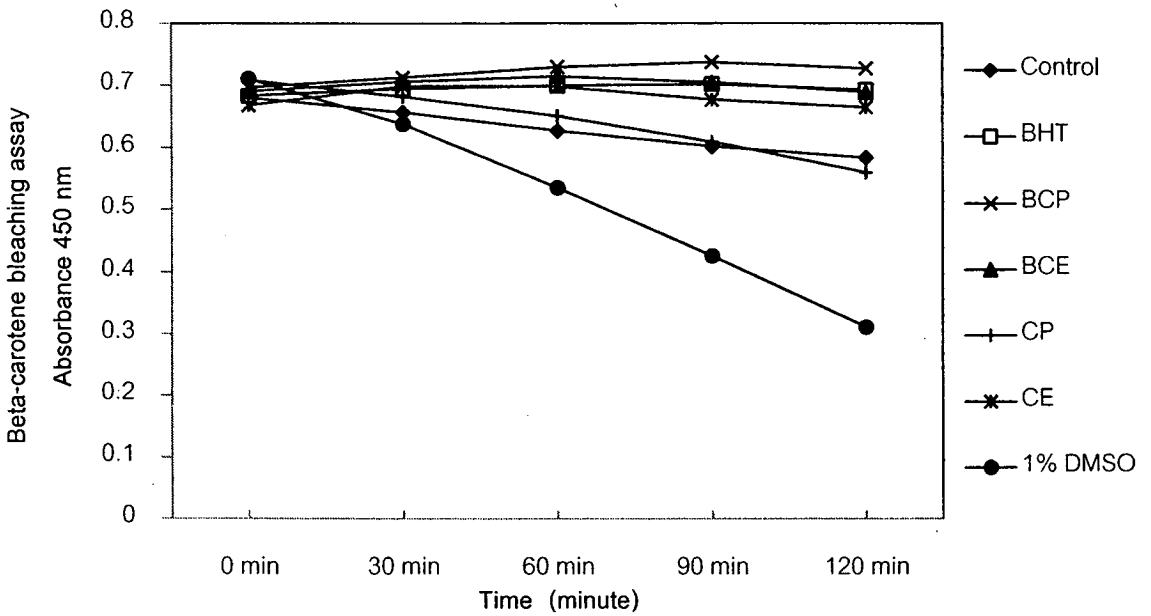
5. ผลการวัดปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิด ABTS ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทโดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 17 แสดงถึงปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระชนิด ABTS

Extracts	Antioxidant activity by ABTS assay (mg VCEAC/g dry plant material)
Baby carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	14.7±0.9
Baby carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	42.2±3.9
Carrot (petroleum ether extract) 1 mg/ml	4.5±1.0
Carrot (ethanolic extract) 1 mg/ml	34.5±2.8

ผลการวัดฤทธิ์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดเอบีทีเอสของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทพบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเอทานอลมีฤทธิ์มากกว่าสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์มากที่สุด คือ 42.2±3.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม(mg VCEAC/g dry plant material) และมีค่า IC 50 เท่ากับ 0.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาอันดับที่สองคือ สารสกัดหยาบจากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลคือ 34.5±2.8 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม ซึ่งมีค่า IC 50 เท่ากับ 0.838 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และอันดับที่สามคือสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ คือ 14.7±0.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม และอันดับสุดท้ายนั่นคือสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ซึ่งมีปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 4.5±1.0 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคต่อสมุนไพรแห้ง 1 กรัม ซึ่งจะเห็นได้ว่าเบบี้แครอทออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าแครอทในทั้ง 2 ตัวทำละลาย และการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง และแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SEM)

6. **ผลของการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทโดยวิธี** Beta-carotene bleaching assay



ภาพที่ 44 แสดงถึงความสามารถในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมัน

Control: emulsion+absolute methanol BHT: positive control

BCP: baby carrot (petroleum ether extract) BCE: baby carrot (ethanolic extract)

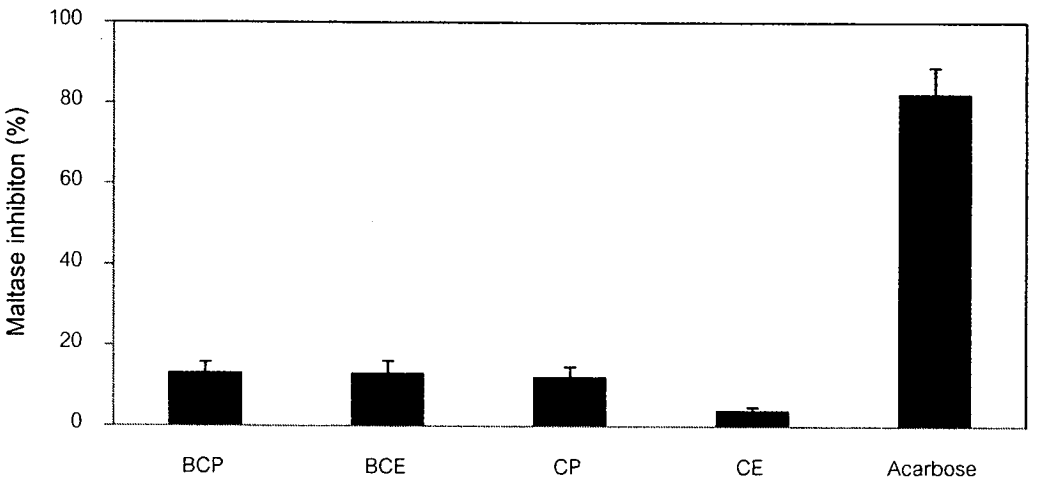
CP: carrot (petroleum ether extract) CE: carrot (ethanolic extract)

1%DMSO = negative control

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันวัดโดยการดูการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนซึ่งถ้าหากในสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีสารที่ยับยั้งการฟอกสีของเบต้าแครโรทีนได้ สีของเบต้าแครโรทีนจะเข้มกว่ากลุ่มควบคุม แต่ถ้าหากสารสกัดสมุนไพรไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนได้จะส่งผลทำให้สีของเบต้าแคโรทีนจางลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งจากการทดสอบ พบว่าเมื่อผ่านไป 120 นาทีสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการออกซิเดชันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (control) มากที่สุดคือ สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (BCP) รองลงมาคือ 3,5-Di-tert-4-butylhydroxytoluene (BHT), สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (BCE) และสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (CE) แต่สารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (CP) สามารถยับยั้งการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนได้ตั้งแต่ 0-60 นาทีเมื่อ

เทียบกับกลุ่มควบคุม และ DMSO ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ไม่สามารถยับยั้งการฟอกจากสีเบต้าแคโรทีนได้ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการทดลองนี้เชื่อถือได้เนื่องจากกลุ่มควบคุมลบ (1%DMSO) ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้และ กลุ่มควบคุมบวก (BHT) สามารถที่จะยับยั้งการฟองจากสีที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมันได้ และการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง

7. ผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอท และเบบี้แครอท ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (α-glucosidase)



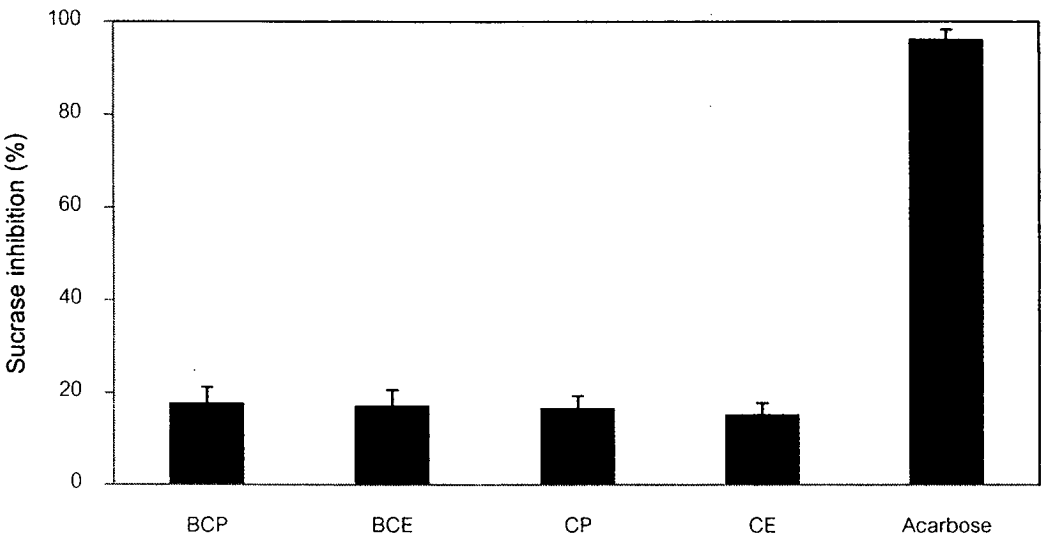
ภาพที่ 45 แสดงถึงความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเอนไซม์มอลเตส

BCP: baby carrot (petroleum ether extract) BCE: baby carrot (ethanolic extract)

CP: carrot (petroleum ether extract) CE: carrot (ethanolic extract)

จากการทดลองฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเอนไซม์มอลเตสพบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียม (BCP) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์มอลเตสมากที่สุดในสารสกัดสมุนไพรคือ 13.28±2.50 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (BCE) 13.20±2.88 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียม (CP) 12.35±2.37 เปอร์เซ็นต์และสุดท้ายสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (CE) ซึ่งสามารถยับยั้งเอนไซม์มอลเตสได้เพียง 4.06±0.75 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองนี้ acarbose ที่ความ

เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นกลุ่มควบคุมบวกที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์มอลเตสมากถึง 82.42±6.45 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมสามารถยับยั้งเอนไซม์มอลเตสได้ดีกว่าเอทานอล และสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทออกฤทธิ์ได้ดีกว่าแครอทดังภาพที่ 45 และการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง



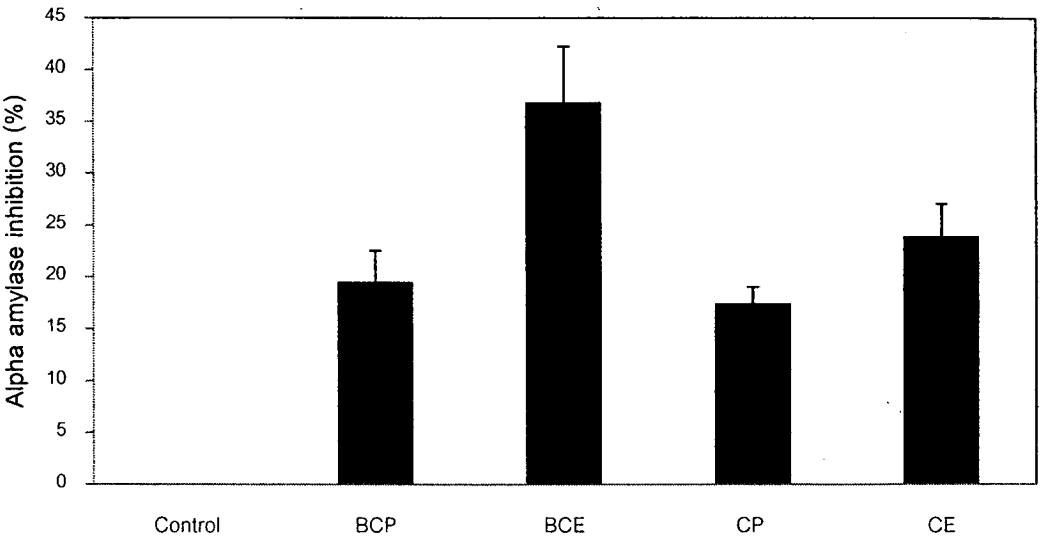
ภาพที่ 46 แสดงถึงความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครส

BCP: baby carrot (petroleum ether extract) BCE: baby carrot (ethanolic extract)

CP: carrot (petroleum ether extract) CE: carrot (ethanolic extract)

จากการทดลองฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครสพบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (BCP) และที่สกัดด้วยเอทานอล (BCE) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครส คือ 17.90±3.36 และ 17.25±3.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียอีเทอร์ (CP) และเอทานอล (CE) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครสคือ 16.71±2.60 และ 15.41±2.39 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครสมากกว่าเอทานอลและสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทออกฤทธิ์ได้ดีกว่าแครอทและ acarbose มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ซูเครสมากที่สุดคือ 96.28±2.05 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 46 และการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง

8. ผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase)



ภาพที่ 47 แสดงถึงความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

BCP: baby carrot (petroleum ether extract) BCE: baby carrot (ethanolic extract)

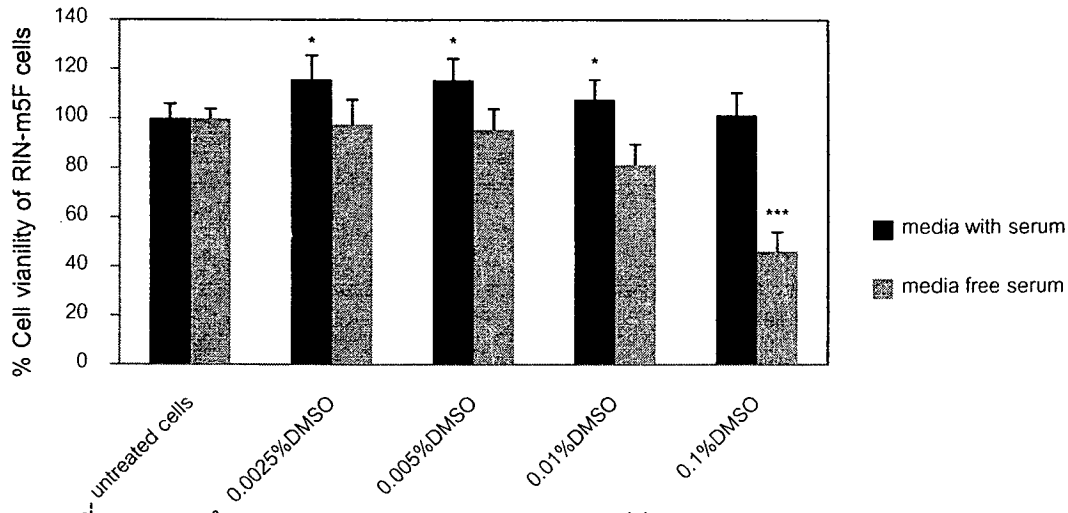
CP: carrot (petroleum ether extract) CE: carrot (ethanolic extract)

จากการทดลองพบว่า acarbose ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นกลุ่มควบคุมบวกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสมากที่สุดคือ 88.85±2.05 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (BCE) ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสได้ 36.88±5.39 เปอร์เซ็นต์, สารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอล (CE) ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสได้ 23.95±3.11 เปอร์เซ็นต์, คือ สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (BCP) ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสได้ 19.56±2.97 และสุดท้ายคือสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (CP) ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสได้ 17.50±1.58 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสมากกว่าปิโตรเลียมอีเทอร์และสารสกัดจากรากแครอทออกฤทธิ์ได้ดีกว่าแครอท ดังแสดงในภาพที่ 47 และการทดลองนี้ทำการทดสอบ 3 ครั้งโดยแต่ละครั้งทำตัวอย่างละ 3 ครั้ง

9. **ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลาย** dimethly sulfoxide (DMSO) **และสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทในการวัดการมีชีวิตรอด** (cell viability) **ของเซลล์ตับอ่อนของหนูและเซลล์กล้ามเนื้อของหนู โดยวิธี** MTT assay

ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลาย DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี fetal bovine serum และไม่มี fetal bovine serum เพื่อเลือกเงื่อนไขในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพว่าอาหารเลี้ยงเซลล์แบบไหนที่เหมาะแก่การทดสอบและ ทดสอบความเข้มข้นของสารละลาย DMSO แบ่งเป็น 4 ความเข้มข้น คือ 0.0025, 0.005, 0.01 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังจากการทดสอบด้วย MTT นำค่าที่ได้มาเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารละลาย DMSO แล้วเลือกอาหารเลี้ยงเซลล์และความเข้มข้นของ DMSO ที่ไม่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์มาทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่มีความเข้มข้น 0.78125, 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด และเมื่อได้ความเข้มข้นสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่ไม่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับ DMSO และสารสกัด หลังจากนั้นให้นำความเข้มข้นนั้นมาทำการทดสอบการกระตุ้นการกลั่งอินซูลินและการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ต่อไป

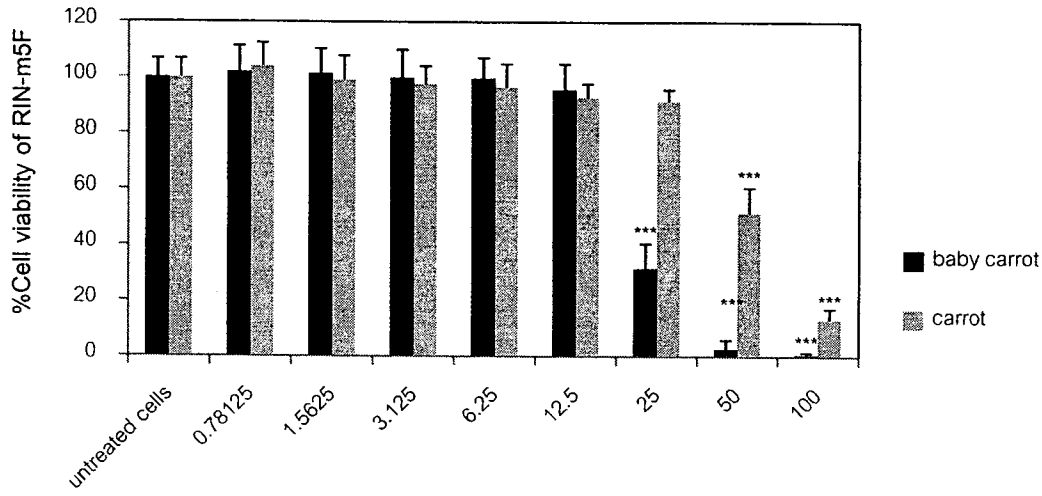
9.1 **ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลาย** dimethly sulfoxide (DMSO) **และสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทในการวัดการมีชีวิตรอด** (cell viability) **ของเซลล์ตับอ่อนของหนู**



ภาพที่ 48 แสดงถึงผลของสารละลาย DMSO ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ตับอ่อนของหนู

(*p<0.05 และ ***p<0.001)

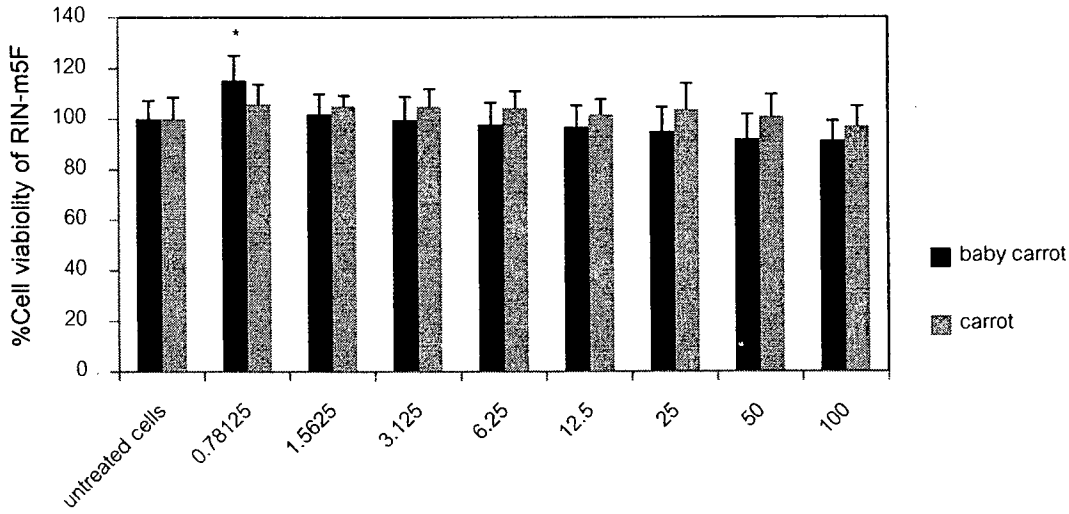
จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลาย DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี fetal bovine serum 10 เปอร์เซ็นต์พบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย DMSO ที่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเทียบกับ แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลาย DMSO ที่ 0.0025-0.01 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี fetal bovine serum เพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (* หมายถึง $p<0.05$) สำหรับเซลล์ตับอ่อนของหนูที่ได้รับสารละลาย DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มี fetal bovine serum ที่ความเข้มข้น 0.025-0.01 เปอร์เซ็นต์ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ดังภาพที่ 48 ดังนั้นจึงเลือกอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มี fetal bovine serum มาทำการทดสอบกับสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทต่อไป



ภาพที่ 49 แสดงถึงผลของสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของแครอทและเบบี้แครอทต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ตับอ่อนของหนู (***$p<0.001$)

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ตับอ่อนของหนูพบว่า สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 0.78125-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่เป็นพิษต่อเซลล์ตับอ่อนของหนู แต่ที่ความเข้มข้น 25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลต่อการทำลายเซลล์ตับอ่อนที่ระดับนัยสำคัญ 99 เปอร์เซ็นต์ (*** หมายถึง $p<0.001$) เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด และสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 0.78125-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีผลต่อการทำลายเซลล์ตับอ่อนของหนูเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดแต่ที่

ความเข้มข้น 50-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลต่อการทำลายเซลล์ตับอ่อนที่ระดับนัยสำคัญ 99 เปอร์เซ็นต์ (*** หมายถึง p<0.001) เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังภาพที่ 49

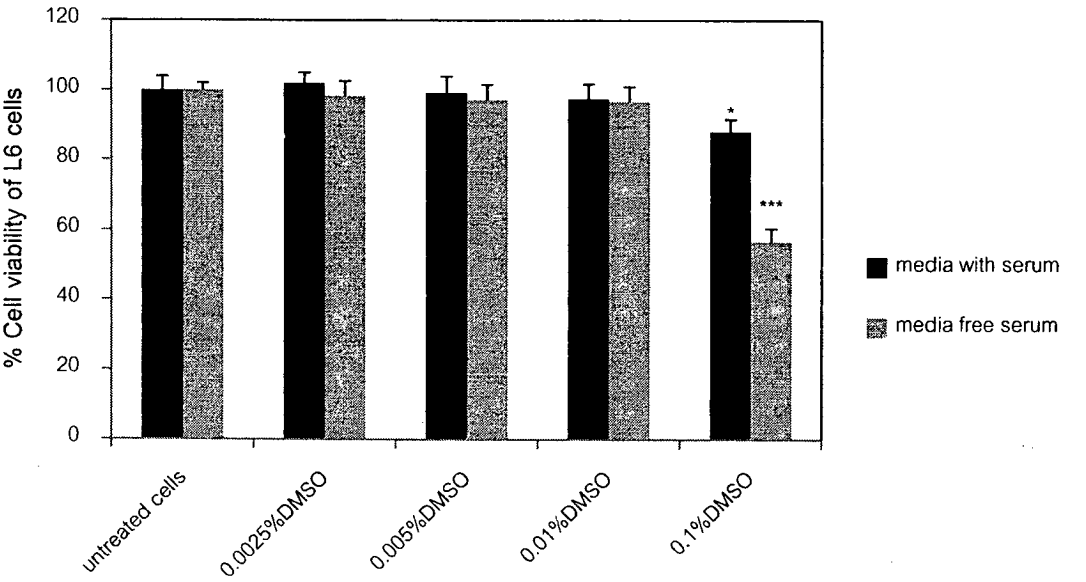


ภาพที่ 50 แสดงถึงผลของสารสกัดเอทานอลของแครอทและเบบี้แครอทต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ตับอ่อนของหนู (*p<0.05)

จากการทดสอบผลของสารสกัดเอทานอลของรากแครอทที่ความเข้มข้น 0.78125-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่เป็นพิษต่อเซลล์ตับอ่อนของหนูเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้สมุนไพร ซึ่งสามารถใช้ได้ทุกความเข้มข้นในการทดสอบกับเซลล์ตับอ่อนของหนูและสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่ความเข้มข้น 0.78125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลทำให้เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสมุนไพร แต่สารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่ความเข้มข้น1.56-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีผลต่อเซลล์ตับอ่อนของหนู ดังแสดงในภาพที่ 50

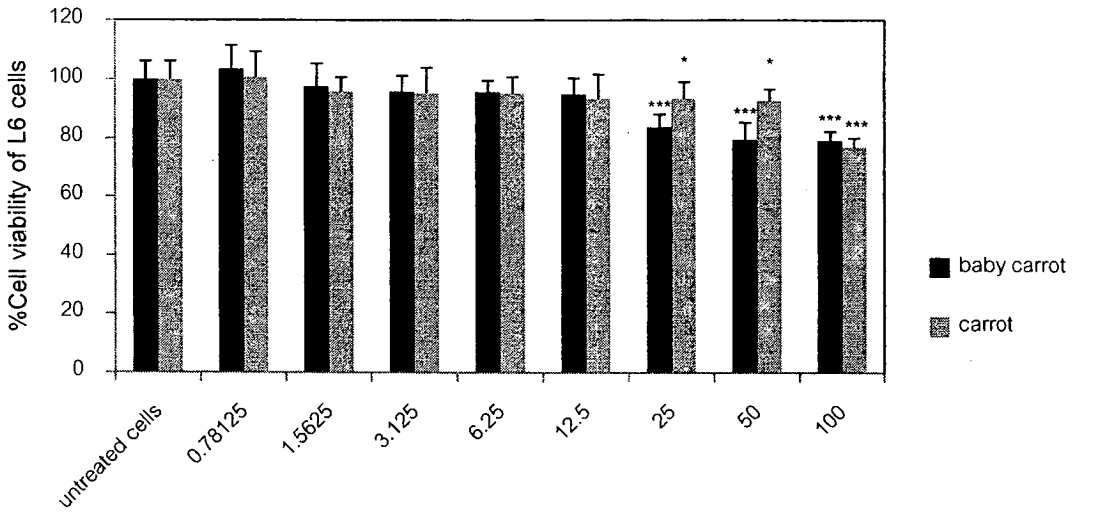
ดังนั้นจากภาพที่ 49-50 จึงเลือกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทซึ่งสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมาทำการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเซลล์ตับอ่อนของหนู เพื่อให้อยู่ในเงื่อนไขเดียวกันและเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน

9.2 **ผลของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารละลาย** dimethly sulfoxide (DMSO) **และสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทในการวัดการมีชีวิตรอด** (cell viability) **ของเซลล์กล้ามเนื้อของหนู**



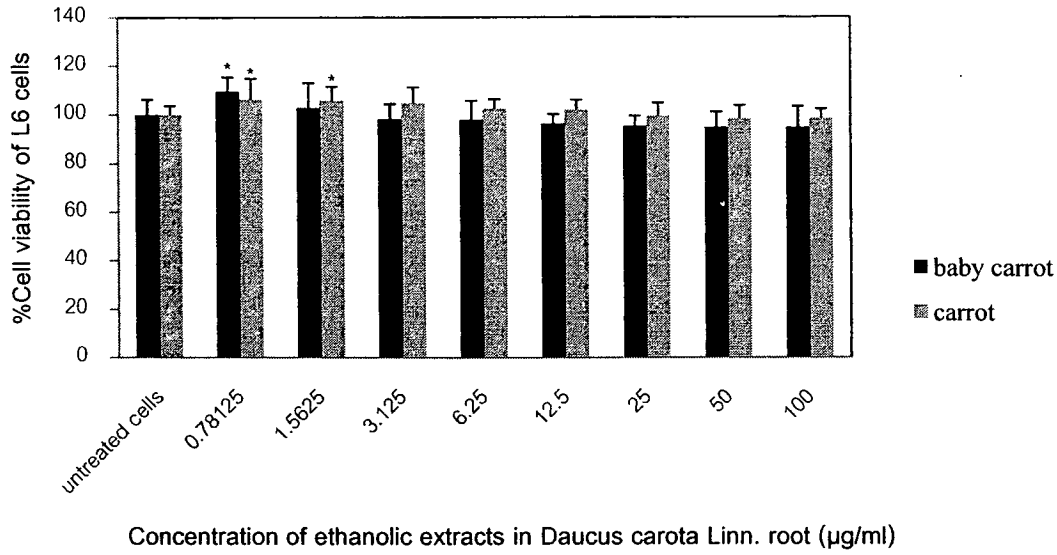
ภาพที่ 51 แสดงถึงผลของสารละลาย DMSO ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์กล้ามเนื้อของหนู (*p<0.05 และ ***p<0.001)

จากการทดสอบผลของสารละลาย DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี fetal bovine serum พบว่า สารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์มีผลต่อการทำลายเซลล์ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารละลาย DMSO และสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 0.0025-0.01 เปอร์เซ็นต์ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ส่วนสารละลาย DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มี fetal bovine serum ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นพิษต่อการทำลายเซลล์ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ (***p<0.001) เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารละลาย DMSO และสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 0.0025-0.01 เปอร์เซ็นต์มีค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์ไม่แตกต่างจากเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสละลาย DMSO ดังนั้นสารละลาย DMSO ที่ที่ความเข้มข้น 0.0025-0.01 เปอร์เซ็นต์ทั้งในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีและไม่มี fetal bovine serum สามารถนำมาเลือกใช้ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ ดังนั้นจึงเลือกเงื่อนไขอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มี fetal bovine มาใช้ในการละลายสารสกัดเพื่อลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจาก fetal bovine serum ได้



ภาพที่ 52 แสดงถึงผลของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์กล้ามเนื้อของหนู (*p<0.05 และ ***p<0.001)

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 0.78125-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรไม่เป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดสมุนไพร แต่ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของรากแครอทและเบบี้แครอทมีผลต่อการทำลายเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดสมุนไพร และการมีชีวิตรอดของเซลล์ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นดังแสดงในภาพที่ 52

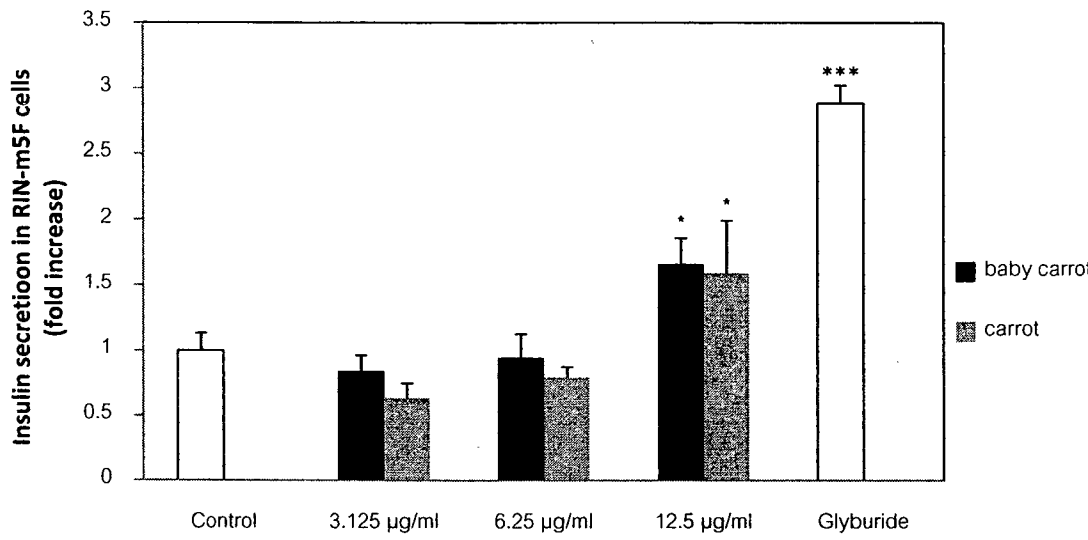


ภาพที่ 53 แสดงถึงผลของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์กล้ามเนื้อของหนู (*p<0.05)

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 1.5625-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดสมุนไพร แต่ที่ความเข้มข้น 0.78125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรทำให้เซลล์ตับมีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด และสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 3.125-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด แต่ที่ความเข้มข้น 0.78125-1.5625 มีผลทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังแสดงในภาพที่ 53 ซึ่งจากภาพแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์กล้ามเนื้อของหนูที่ลดลง

ดังนั้นจากภาพที่ 52-53 จึงเลือกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทซึ่งสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทานอลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อให้อยู่ในเงื่อนไขเดียวกันและเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันมาทำการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในการกระตุ้นการกลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อของหนู

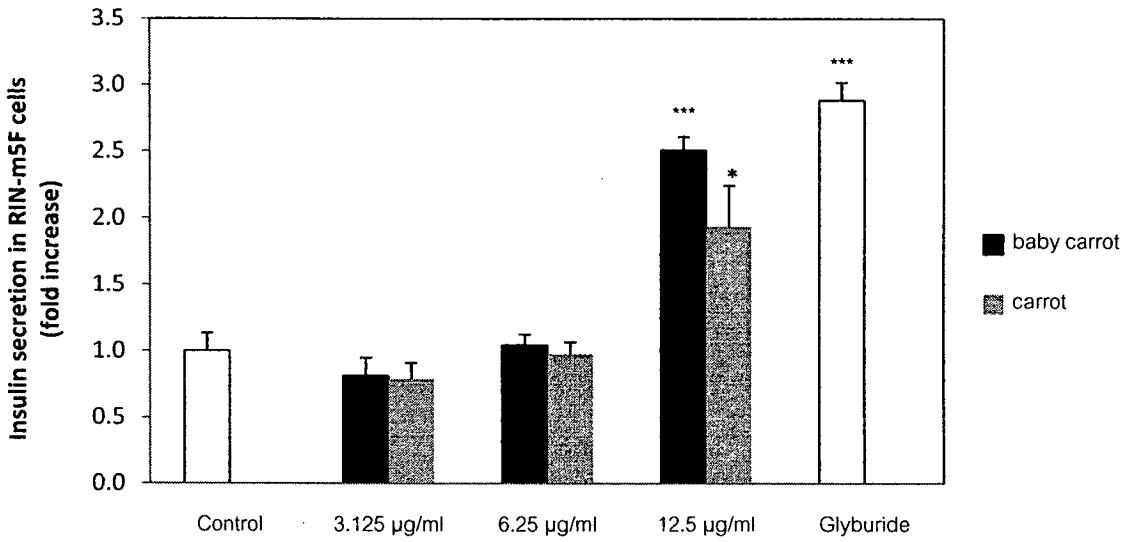
10. ผลของการทดสอบฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเซลล์ตับอ่อนของหนู ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท



Glucose 11.1 mM	+	+	+	+	+
Petroleum ether extract	-	+	+	+	-
Glyburide	-	-	-	-	+

ภาพที่ 54 แสดงถึงผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเซลล์ตับอ่อน (*p<0.05และ ***p<0.001)

ความเข้มข้นของสารสกัดจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่นำมาทดสอบคือ 3.125, 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นนี้ไม่มีผลต่อการทำลายเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด การทดสอบนี้เซลล์ตับอ่อนได้รับน้ำตาล 11.1 มิลลิโมลาร์เพื่อทำให้เกิดภาวะเบาหวาน จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรมาทดสอบความสามารถในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน พบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถกระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้ 1.66±0.20 และ 1.60±0.40 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดตามลำดับ และ acarbose ซึ่งเป็น positive control กระตุ้นการหลั่งอินซูลิน 2.88±0.14 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด ดังแสดงในภาพที่ 54 และความสามารถในการหลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น

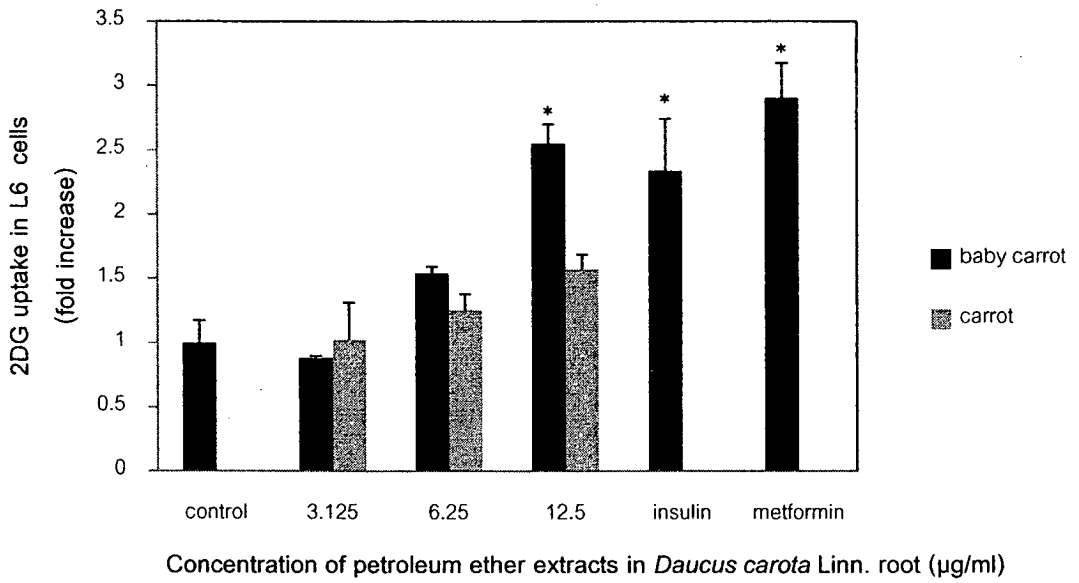


Glucose 11.1 mM	+	+	+	+	+
Ethanolic extract	-	+	+	+	-
Glyburide	-	-	-	-	+

ภาพที่ 55 แสดงถึงผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเซลล์ตับอ่อนของหนู (*p<0.05และ ***p<0.001)

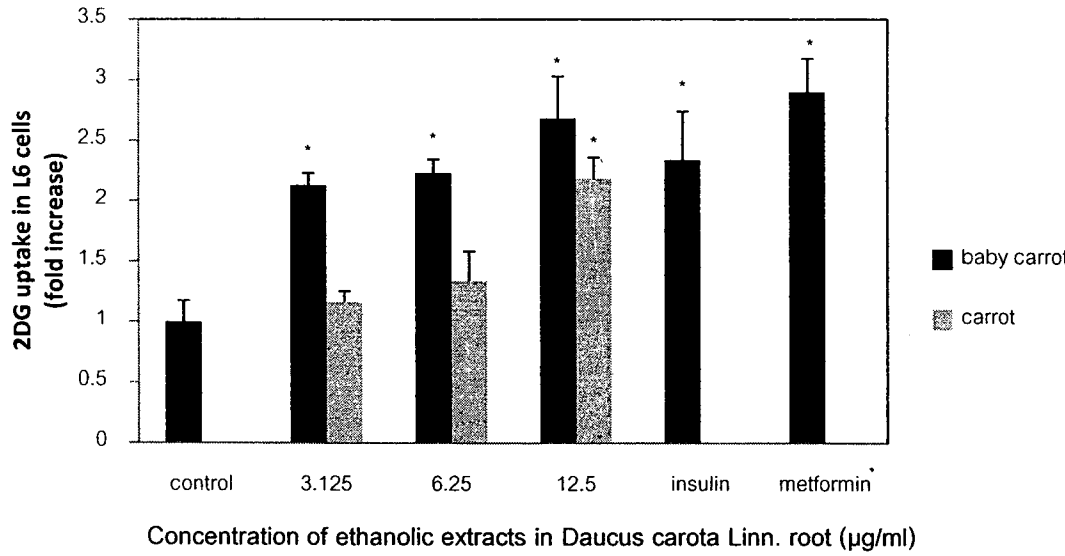
จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้ 2.51±0.10 และ 1.93±0.31 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดตามลำดับ และ glybureide กระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้มากที่สุด และความสามารถในการหลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 55

11. การทดสอบฤทธิ์ในการกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อของหนู ของสารสกัดหยาบจากรากแครอทและเบบี้แครอท



ภาพที่ 56 แสดงถึงผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ในการกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อของหนู (*$p<0.05$)

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อของหนูนำมาทดสอบการกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ และในการทดสอบนี้ใช้ insulin ความเข้มข้น 100 นาโนโมลาร์และ metformin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นกลุ่มควบคุมบวกและเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดเป็นกลุ่มควบคุมลบ จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ 2.55±0.15 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (*$p<0.05$) สำหรับ insulin และ metformin กระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อของหนู 2.34±0.40 และ 2.91±0.27 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดตามลำดับซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (*$p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 56



ภาพที่ 57 แสดงถึงผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทและแครอทที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ในการกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อของหนู (*$p<0.05$)

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบจากรากเบบี้แครอทที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ 2.13±0.10, 2.23±0.11 และ 2.69±0.35 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดตามลำดับซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (*$p<0.05$) และสารสกัดหยาบจากรากแครอทที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ 2.34±0.40 เท่าของเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด สำหรับ insulin และ metformin กระตุ้นการหลั่งอินซูลินได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (*$p<0.05$) และความสามารถในการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 57