สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# รายงานการวิจัย

# การคัดเลือกสมุนไพรไทยต้านโรคอัลไซเมอร์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้

# Screening of Thai medicinal plants for anti-Alzheimer's disease, antioxidant and antimicrobial activities and their application

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

ROH
ส867ก
2556

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 137307
วัน.เดือน.ปี 22 ธ.ค. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

b.2619978
.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การคัดเลือกสมุนไพรไทยต้านโรคอัลไซเมอร์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้

แหล่งเงิน เงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 160,000 บาท

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง กันยายน พ.ศ. 2557

หัวหน้าโครงการวิจัย: รศ .ดร .สุรีย์ นานาสมบัติ

หน่วยงานต้นสังกัด: สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

## บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติของสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดซึ่งสกัดด้วยเมทานอลพบว่าสมุนไพรไทยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดคือ ว่านน้ำ (*Acorus calamus*) ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) หญ้าฝรั่น (*Crocus sativus*) บัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus*) และมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) และในการศึกษากิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ผลปรากฏว่าในบรรดาสมุนไพรทั้งหมดที่ทดสอบ สารสกัดจากกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ดอกบัวสัตตบงกช (*Nelumbo nucifera*) รากระย่อม (*Rauvolfia serpentina*) และบัวบก (*Centella asiatica*) มีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดี (การยับยั้งมากกว่าร้อยละ 70) สำหรับสารสกัดจากสมอไทย (*Terminalia chebula*) สมุลแว้ง (*Cinnamomum bejolghota*) สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) และมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดคือสารสกัดจากสีเสียดเทศและสมุลแว้ง จากนั้นจึงได้คัดเลือกสมุนไพรเหล่านี้มาผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรรวมทั้งหมด 10 สูตร ในการหมักไวน์ได้ผสมน้ำองุ่นปั่นกับน้ำสมุนไพรแต่ละสูตรในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 โดยเปรียบเทียบการหมักในสภาวะที่แตกต่างกัน 2 สภาวะคือในสภาวะที่ 1 ได้ผสมกากสมุนไพรเข้ากับน้ำองุ่นปั่นและน้ำสมุนไพรส่วนในสภาวะที่ 2 ใช้ของผสมเช่นเดียวกับสภาวะที่ 1 แต่ไม่เติมกากสมุนไพร ผลปรากฏว่าน้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรสูตรที่ประกอบด้วยกระชายดำร้อยละ 2.64 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 สมอไทยร้อยละ 0.88 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 ซึ่งผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีกิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแทนนินทั้งหมดสูง

**คำสำคัญ:** สมุนไพรไทย กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมต้านอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านจุลินทรีย์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน เครื่องดื่มสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Research Title: Screening of Thai medicinal plants for anti-Alzheimer's disease, antioxidant and antimicrobial activities and their application**

**Researcher: Associate Professor Dr. Suree Nanasombat**

**Faculty of Science, Department of Biology, KMITL**

## ABSTRACT

In this study, 34 methanolic crude extracts of Thai medicinal plants were tested for their activities. The plant extracts of *Acorus calamus*, *Cassia alata*, *Crocus sativus*, *Nymphaea lotus* and *Phyllanthus emblica* showed strong antimicrobial activity. The study of anti-acetylcholinesterase activity revealed that the extracts of *Kaempferia parviflora*, *Nelumbo nucifera*, *Rauvolfia serpentina* and *Centella asiatica* exhibited strong acetylcholinesterase inhibitory activity (>70 % inhibition). The extracts of *Terminalia chebula*, *Cinnamomum bejolghota*, *Uncaria gambir* and *P. emblica* had the strongest antioxidant activity. The extracts of *U. gambir* and *C. bejolghota* had the highest total phenolic and total flavonoid contents. Then, some medicinal plants were selected to produce a total of 10 formulations of pasteurized meditional plant beverages and grape wine fortified with medicinal plants. In fermentation of these wines, blended grape juice was mixed with medicinal plant water of each formulation in the ratio of 60:40. Two different fermentation conditions were compared. The first condition, pieces of sliced medicinal plant materials were mixed the blended mixture of grape juice and medicinal plant water. In the second condition, the same mixture was used, but the pieces of sliced medicinal plant materials were not added. The results showed that a pasturized medicinal plant beverage and grape wine fortified with medicinal plant water of the same formulation with this pasteurized beverage which contained 2.64% *Kaempferia parviflora*, 1.76% *Phyllanthus emblica Linn.*, 0.88% *Terminalia chebula*, 0.62% *Ardisiacolorata*, 0.62% *Clitor ternatea L.* and 0.62% *Ginkgo biloba L.* had the highed antioxidant activities (90.40% and 94.11% DPPH radical inhibition and reducing capacity of 4.22 and 3.57 mmol Fe(II)/100 ml beverages, respectively). In addition, these two beverages at 10,000 dilution of the beverage had the highest antiacetylcholinesterase activity, total phenolic, flavonoid tannin contents.

**Keywords:** Thai medicinal plant, antioxidant activity, anti-acetylcholinesterase activity, antimicrobial activity, phenolics, flavonoids, tannin, medicinal plant beverages

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยเรื่องนี้ (แหล่งทุน: งบรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556)




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| **บทคัดย่อภาษาไทย** | ก |
| **บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** | ข |
| **กิตติกรรมประกาศ** | ค |
| **สารบัญ** | ง |
| **บทที่ 1 บทนำ** | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 3 |
| **บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** | 4 |
| **บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย** | 14 |
| **บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล** | 29 |
| **บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** | 63 |
| **เอกสารอ้างอิง** | 66 |
| **ประวัตินักวิจัย** | 74 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จุลินทรีย์โดยเฉพาะยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกมีบทบาทในการเสียของเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น เครื่องดื่มที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (carbonated soft drinks) น้ำผักและน้ำผลไม้ (Lawlor และคณะ, 2009) และไวน์ (Stewart และคณะ, 2007) เครื่องดื่มที่เสียโดยยีสต์จะมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส อันเป็นผลเนื่องมาจากกิจกรรมของยีสต์ เช่น การเกิดแก๊สปริมาณมากในเครื่องดื่มที่มีกรดทั้งชนิดที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาล ซึ่งอาจจะทำให้ภาชนะบรรจุเสียรูปร่างหรือขยายตัวและทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการตกตะกอน ขุ่น หรือเกิดฟิล์มที่ผิวหน้า เกิดกลิ่นรสผิดปกติจากกลิ่นหมักของแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์และเอสเทอร์ (Loureiro และ Querol, 1999) ส่วนการเสียโดยแบคทีเรียในเครื่องดื่ม (เช่น ไวน์) โดยแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus* และแบคทีเรียกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter* จะทำให้เกิดการผลิตสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรสผิดปกติ (Costello และ Henschke, 2002; Bartowsky และ Henschke, 2008)

ดังนั้นเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหารประเภทเครื่องดื่ม จึงมีความจำเป็นที่จะต้องควบคุมการเจริญของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่ม ถึงแม้ว่าวิธีการที่ใช้ในการถนอมอาหารบางวิธี เช่น การใช้สารเคมีสามารถใช้ในการป้องกันการเสียของอาหารประเภทเครื่องดื่มและยืดอายุในการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีอาจทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ ผู้บริโภคในปัจจุบันจึงมีความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่ปราศจากสารเคมีกันเสียกันมากขึ้น และเป็นอาหารที่มีความปลอดภัยในด้านจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดความต้องการสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เช่น สารต้านจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพร สำหรับพืชสมุนไพรไทยยังมีรายงานน้อยเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านการเจริญของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาสมบัติของสมุนไพรไทยในการต้านจุลินทรีย์เหล่านี้

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease) เป็นโรคสมองเสื่อม (dementia) ชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากที่สุดในกลุ่มประชากรผู้สูงอายุ โดยผู้สูงอายุ 1 คนในทุกๆ 8 คนของประชากรที่มีอายุมากกว่า 65 ปี คาดว่าป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งร้อยละ 40 - 50 ของผู้ป่วยที่มีอายุผ่าน 85 ปีไปแล้วอาจเป็นโรคอัลไซเมอร์ (Swerdlow, 2011) ประชากรผู้สูงอายุที่เป็นโรคสมองเสื่อมมีอยู่ทั่วโลก องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ว่าอัตราการเกิดโรคสมองเสื่อมจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมากทั้งในประเทศที่ยังพัฒนาไม่มากและในประเทศที่กำลังพัฒนา ในปี ค.ศ. 2025 คาดว่าประเทศที่กำลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาจะมีประชากรผู้สูงอายุ (อายุ 60 ปีและมากกว่า 60 ปีขึ้นไป) จำนวนประมาณ 3 ใน 4 ของประชากรทั้งหมด (1.2 พันล้านคน) และเมื่อถึงปี ค.ศ. 2040 ประมาณร้อยละ 71 ของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมจำนวน 81.1 ล้านคนจะอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา และจะมีผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมรายใหม่ประมาณ 4.6 ล้านคนเพิ่มขึ้นในทุกๆปี โดยการเพิ่มขึ้นของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมสูงที่สุดพบว่าอยู่ในประเทศจีนและแถบบริเวณเอเชียใต้ (Kalaria และคณะ, 2008) ในกรณีของโรคอัลไซเมอร์ผู้ป่วยจะมีอาการเสื่อมของหน้าที่การรับรู้และสูญเสียความทรงจำเป็นหลัก (Desgranges, 1998) โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท มีผลต่อสมองในบริเวณหลักๆ ซึ่งรวมไปถึงระบบส่วนนอก (cortex) และขอบ (limbic) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสูญเสียความทรงจำและสูญเสียอย่างน้อยหนึ่งในหน้าที่ที่เกี่ยวกับการรับรู้อื่นๆ โรคอัลไซเมอร์มักจะเริ่มมีอาการคล้ายกับการสูญเสียความทรงจำในระยะสั้นและตามด้วยการเสื่อมหน้าที่ในด้านการรับรู้ การเรียนรู้และความเข้าใจ รวมทั้งมีอารมณ์แปรปรวน (Whitehouse, 1998) มีรายงานว่าสมองของผู้ป่วยที่เป็นโรคอัลไซเมอร์ขาดสารที่ชื่อว่าอะซิทิลโคลีน (acetylcholine) ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ของระบบประสาทส่วนกลางที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเรียนรู้และความสนใจที่เพิ่มขึ้น (White และคณะ, 1977) ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาหนึ่งในสาเหตุของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ที่มีการรายงานมากที่สุดคือการขาดดุลของสมอง (brain deficit) ในระบบโคลิเนอร์จิก (cholinergic system) ซึ่งเป็นระบบของปลายประสาทที่ให้สารอะซิทิลโคลีน (Hollander และคณะ, 2005) ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะไปทำให้เกิดการไฮโดรลิซิสของสารอะซิทิลโคลีนที่ช่องว่างโคลิเนอร์จิก (cholinergic synapse) จึงใช้เป็นเป้าหมายในการรักษาอาการของโรคอัลไซเมอร์เพื่อเพิ่มการสื่อสัญญาณของโคลิเนอร์จิค (cholinergic transmission) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมียาสังเคราะห์ 4 ชนิดที่ได้รับการรับรองให้ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้แล้ว เช่น ยาทาครีน (tacrine) ยาโดนีพีซิล (donepezil) ยาไรวาสติกมีน (rivastigmine) และยามีแมนทีน (memantine) (Anekonda และ Reddy, 2005) แต่มีรายงานว่ายาสังเคราะห์เหล่านี้มีจำกัดและทำให้เกิดผลข้างเคียงมากในผู้ป่วยบางราย สำหรับยาที่ได้จากพืชสมุนไพรซึ่งได้มีการใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ส่วนใหญ่เป็นสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) เช่น ไฟโซสติกมีน (Physostigmine) แยกได้จาก *Physostigma venenosom* กาแลนทามีน (Galantamine) แยกได้จาก *Galanthus nivalis* และฮิวเปอร์ซีน เอ (Huperzine A) แยกได้จาก *Huperzia serrata* (Howes และคณะ, 2003) เมื่อหลายปีที่ผ่านมานักวิจัยหลายท่านได้ศึกษากิจกรรมในการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของพืชสมุนไพรในหลายๆประเทศ (Mukherjee และคณะ, 2007; Vinutha และคณะ, 2007; Ingkaninan และคณะ, 2003) แต่ก็ยังมีสมุนไพรหลายชนิดที่ยังไม่เคยมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเร็วๆนี้มีหลักฐานซึ่งชี้ให้เห็นว่าอนุมูลอิสระของออกซิเจน (reactive oxygen species) เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งได้ให้ข้อมูลว่าคุณลักษณะบางประการในเซลล์ของการเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคนี้อาจเป็นสาเหตุหรือเป็นผลของสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในร่างกาย (oxidative stress) (Zhu และคณะ, 2004) ซึ่ง oxidative stress เป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาและดำเนินต่อไปของโรคอัลไซเมอร์รวมทั้งการเกิดโรคสมองเสื่อมอื่นๆ ได้มีข้อมูลจากงานวิจัยจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการเกิดสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันโดยเฉพาะ neuronal lipids โปรตีนและกรดนิวคลีอิกได้เกิดขึ้นอย่างมากในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Lyras และคณะ, 1998; Markesbery และ Carney, 1999) และได้มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าสารสำคัญหลายชนิดที่แยกได้จากพืชสามารถยับยั้งได้ทั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและขณะเดียวกันสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย เช่น สารอัลคาลอยด์ สเตอรอยด์ (steroids) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่พบในดอกบัว สัตตบงกช (Mukherjee และคณะ, 2008) สารฟีนอลิกไกลโคไซด์ (phenolic glycosides) และสารฟลาโวนอลไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) ในกระชายดำ (Azuma และคณะ, 2008) อนุพันธ์ของฟลาโวน (flavones derivatives) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) กรดไตรเทอร์พีนิก (triterpenic acids) ในบัวบก (Brinkhaus และคณะ, 2000)

ดังนั้นถ้าหากสามารถค้นหาพืชสมุนไพรไทยที่มีสมบัติหลายประการร่วมกันได้ โดยเฉพาะสมบัติการต้านกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการที่จะคัดเลือกพืชสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมที่หลากหลายมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ช่วยต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะช่วยชะลอความชราและป้องกันการเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ ที่มีสาเหตุมาจากสภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันในร่างกาย (oxidative stress) และพืชสมุนไพรดังกล่าวยังช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของเครื่องดื่มอีกด้วย

**วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย**

1. เพื่อหากิจกรรมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเพื่อต้านโรคอัลไซเมอร์

2. เพื่อหากิจกรรมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการต้านอนุมูลอิสระ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

3. เพื่อหากิจกรรมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการต้านจุลินทรีย์

4. เพื่อประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอัลไซเมอร์ ต้านจุลินทรีย์และการต้านการเกิดอนุมูลอิสระในเครื่องดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 สมุนไพรที่มีสมบัติต้านโรคอัลไซเมอร์

สาเหตุของโรคสมองเสื่อม (dementia) มีมากมายรวมทั้งโรค Lewy body disease, Pick's disease, Cerebrovascular disease และโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โดยรูปแบบของโรคสมองเสื่อมที่พบบ่อยมากที่สุดก็คือ โรคอัลไซเมอร์ เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทซึ่งเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญของประชากรสูงวัย ซึ่งพบประมาณร้อยละ 50-60 ของจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคสมองเสื่อมทั้งหมดซึ่งมีอายุมากกว่า 65 ปี (Howes และคณะ, 2003)

ลักษณะอาการหลักๆของโรคอัลไซเมอร์เกี่ยวข้องกับการสูญเสียความทรงจำ หน้าที่การรับรู้ มีปัญหาเรื่องการใช้ภาษา ซึมเศร้า มีปัญหาด้านพฤติกรรม รวมถึงความกระวนกระวาย อารมณ์แปรปรวน และในระยะหลังไม่สามารถรับความเป็นจริงได้หรือประสาทหลอนในที่สุด (Howes และคณะ, 2003)

ลักษณะของโรคอัลไซเมอร์เกิดขึ้นในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) เกิดจากการสร้าง senile plaque และ neurofibrillary tangle กระบวนการ oxidative การอักเสบ และการรบกวนสารสื่อประสาท จุลกายวิภาควิทยาเกี่ยวกับระบบประสาทมีความสัมพันธ์กับการสูญเสียความทรงจำจากการขาดสารโคลีน (cholinergic) ที่สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคอัลไซเมอร์ (Howes และคณะ, 2003)

ดังนั้นจึงมีความมุ่งมั่นที่จะฟื้นฟูหน้าที่ของสารโคลีน (cholinergic function) โดยใช้ยาในการรักษาอาการของโรคอัลไซเมอร์ การเพิ่มระดับหน้าที่ของสารโคลีนจะรวมไปถึงการกระตุ้น cholinergic receptors (เช่น การกระตุ้น nicotinic receptor โดย nicotine) หรือทำโดยการให้มีสารอะซิทิลโคลีน (acetylcholine, ACh) ที่ถูกปล่อยออกให้เพียงพอในร่อง neuronal synaptic ซึ่งอาจเกิดขึ้นโดยการยับยั้งการไฮโดรลิซีสของอะซิทิลโคลีน โดยเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase, AChE) โดยการใช้ตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Howes และคณะ, 2003)

ในอดีตกว่า 10 ปีที่ผ่านมา ได้มีการจดลิขสิทธิ์ตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสำหรับใช้ทางคลินิกในการบรรเทาอาการในระยะเริ่มแรกของโรคอัลไซเมอร์ แต่เป็นเพียงการทำให้การดำเนินของโรคช้าลงเท่านั้นไม่ได้มีผลในด้านการปรับปรุงอย่างถาวร ตัวอย่างยาสังเคราะห์ที่จดลิขสิทธิ์ ได้แก่ ทาครีน (tacrine) เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสตัวแรกที่จดลิขสิทธิ์ แต่การใช้สารนี้เป็นประจำถูกจำกัดเพราะเกี่ยวข้องกับผลของการทำให้เกิดความเป็นพิษต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ตับ และยังมีตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสตัวอื่นๆ ได้แก่ โดนีพีซิล (donepezil) ไรวาสติกมีน (rivastigmine) และกาแลนทามีน (galanthamine) (Howes และคณะ, 2003)

## 2.2 สารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

### 2.2.1 อัลคาลอยด์ (alkaloids)

#### ก) ไฟโซสติกมีน (Physostigmine)

ไฟโซสติกมีนได้มาจาก *Physostigma venenosum* ที่เป็นพืชที่ใช้กันดั้งเดิมในแอฟริกา โดยใช้เป็นยาพิษในพิธีกรรมทางศาสนาสำหรับตัดสินว่าผู้ต้องหาเป็นผู้ที่กระทำความผิดหรือเป็นผู้บริสุทธิ์ในคดีอาชญากรรม การรักษาด้วยอินโดลอัลคาลอยด์ไฟโซสติกมิน (indole alkaloid physostigmine) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่แยกได้จากพืช *P. venenosum* ได้ถูกพิสูจน์แล้วว่าสามารถช่วยปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ในการศึกษาทดลองมากมายในสัตว์ทดลอง (in vivo) ตัวอย่างเช่น มีการรายงานว่าสารนี้สามารถช่วยให้หนูต่อต้านความเสียหายในการรับรู้ที่มีสาเหตุจากการขาดออกซิเจน ซึ่งสามารถปรับปรุงการเรียนรู้ในหนูและต่อต้านความเสียหายของหน้าที่การรับรู้ในหนูซึ่งเกิดจากยาระงับประสาทได้ (Howes และคณะ, 2003)

#### ข) กาแลนทามีน (Galanthamine)

กาแลนทามีนได้มาจาก *Galanthus nivalis* ที่เป็นพืชใช้กันมากแต่เดิมในบัลกาเรียและตุรกี ใช้สำหรับการรักษาโรคประสาท สารกาแลนทามีนเป็น amaryllidaceae alkaloid ที่ได้จากพืช *Galanthus nivalis* L. (และ *Narcissus* spp. และสมุนไพรจีน คือ *Lycorus radiate*) มีการรายงานว่าสารนี้เลือกที่จะจับกับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส (butylcholinesterase) ซึ่งจะให้ oral bioavailability อย่างสมบูรณ์ สารนี้จดลิขสิทธิ์แล้วในยุโรปสำหรับใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ และมีฤทธิ์ต้านได้ดี โดยช่วยปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้รักษากับผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ในหลายๆศูนย์การทดลองที่มีการควบคุมแบบสุ่ม (multicentre randomized controlled trials) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากาแลนทามีนช่วยกระตุ้น nicotinic receptors ซึ่งอาจช่วยส่งเสริมหน้าที่ของโคลีนและช่วยปรับปรุงความทรงจำ (Howes และคณะ, 2003)

#### ค) ฮิวเปอร์ซีน เอ (Huperzine A)

ฮิวเปอร์ซีน เอ ได้จาก *Huperzia serrata* เป็นพืชที่นำมาใช้เป็นยาจีน (Traditional Chinese Medicine หรือ TCM) สำหรับช่วยส่งเสริมการไหลเวียน (circulation) รักษาอาการไข้ ต่อต้านการอักเสบและช่วยบรรเทาอาการปวด และใช้ในสูตรยาตามใบสั่งยา Qian Ceng Ta (เตรียมได้จาก *H. serrata*) ซึ่งเป็นยาจีนสำหรับช่วยบรรเทาปัญหาการสูญเสียความทรงจำ สารฮิวเปอร์ซีน เอ ซึ่งแยกได้จากมอสส์ *H. serrata* เป็นไลโคโพเดียม อัลคาลอยด์ (lycopodium alkaloid) ที่สัมพันธ์กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับควิโนไลไซดิน (quinolizidines) และสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสกับการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ได้ นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่า ฮิวเปอร์ซีน เอ สามารถปรับปรุงกระบวนการรักษาความทรงจำในหนูทั้งแก่และอ่อนที่สูญเสียการรับรู้ได้ และมีรายงานว่าฮิวเปอร์ซีน เอ สามารถช่วยปรับปรุงความทรงจำและพฤติกรรมของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ได้อย่างมีนัยสำคัญ และมีการรายงานว่าสารนี้มีความจำเพาะกับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าบิวทิลโคลีนเอสเทอเรส และมีความเป็นพิษน้อยกว่า โดยตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสังเคราะห์ เช่น โดนีพีซิล และทาครีน (Howes และคณะ, 2003)

**2.2.2 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสารพฤกษเคมี (phytochemical) อื่นๆ**

มีการศึกษาถึงผลของน้ำมันหอมระเหยมากมายและสารโมโนเทอร์พีน (monoterpene) ที่เป็นสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยต่อเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสพบว่ามีกิจกรรมยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสอย่างอ่อนๆ ตัวอย่างเช่น น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (*Melissa officinalis*) และโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) ที่มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลองได้ (Howes และคณะ, 2003)

สารโมโนเทอร์พีนชนิดอื่น มีรายงานว่า ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ รวมถึงสารบอร์นิล อะซิเตต (bornyl acetate) จีรานิออล (geraniol) และลิโมนีน (limonene) สามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้าได้ สารแกมมา-เทอร์พินีน (γ-terpinene) เป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคนและของโค กระบือ และสารแอลฟา-พินีน (α-pinene) ซึ่งสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคน โดยมีฤทธิ์ยับยั้งมากกว่าสารแกมมา-เทอร์พินีน อย่างไรก็ตามสารโมโนเทอร์พีนเหล่านี้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่อ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับไฟโซสติกมีนที่เป็นสาร อัลคาลอยด์ สารซิทรัล (citral) ก็มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้าได้ และสารจีรานิออล (geraniol) ลินาโลออล (linalool) เป็นตัวยับยั้งอย่างอ่อนๆของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคน สารไดเซสควิเทอร์พีนกอสซิปอล (disesquiterpene gossypol) เป็น reversible inhibitor ของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้า (Howes และคณะ, 2003)

**2.2.3 ไฟโต - โอเอสโตรเจน (Phyto-oestrogens)**

ไฟโต-โอเอสโตรเจน (เช่น soy isoflavones) ได้มีการรายงานว่าสารนี้สามารถช่วยในการปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ (จากการศึกษาในสัตว์และมนุษย์) และยังพบว่าอาจจะสามารถป้องกันการพัฒนาของโรคอัลไซเมอร์ได้ รูปแบบการทำงาน (mode of action) ของสารไฟโต-โอเอสโตรเจนเพื่อที่จะอธิบายสิ่งที่สังเกตได้นั้นยังไม่เป็นที่กระจ่างชัด โดยสารนี้อาจจะทำงานคล้ายกับ oestrogen replacement therapy (ORT) หรือทำงานโดยผ่านทางกลไกที่หลากหลาย และอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ (Howes และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์

| พืช | สารประกอบที่แยกได้ | ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก |
|---|---|---|
| *Angelica archangelica* L. (เหง้าโกฐหัวบัว) | สารออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชชนิดนี้ได้เคยมีการใช้ในตำรับยาจีนสำหรับรักษาโรคทางสมอง<br>- สารสกัดหยาบจากแอลกอฮอล์ของพืชนี้สามารถแทนที่การจับของไนโคทิน (nicotine) กับ nicotine receptors โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหลอดทดลองได้<br>- พืชดังกล่าวมีการรายงานว่าสามารถเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในซีรีบรัมได้ |
| *Artemisia absinthium* L. (วอร์มวู๊ด) | สารประกอบที่ทำหน้าที่สำหรับแทนที่ในการจับกับ nicotine receptors ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชชนิดนี้ใช้กันมาแต่เดิมในยาของชนชาวยุโรป โดยใช้เป็นยาฟื้นฟูสุขภาพที่สูญเสียกำลังหรือหน้าที่การรับรู้เสื่อม<br>- สารสกัดหยาบจากแอลกอฮอล์ของพืชนี้สามารถแทนที่การจับของไนโคทินกับ nicotine receptors โดยขึ้นกับความเข้มข้น |
| *Bacopa monniera* Wettst. (พรมมิ) | สารประกอบที่เกี่ยวข้องกับการมีกิจกรรมที่จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม แต่กิจกรรมของสารนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากสาร bacosides A และ B (saponins) | - พืชนี้ใช้ในยา Ayurvedic เพื่อปรับปรุงความทรงจำและความคิด มีรายงานพบว่าสารสกัดพืชตัวนี้ทำให้การเรียนรู้ง่ายขึ้น และมีผลในการต้านอนุมูลอิสระใน frontal cortex ของหนู ซึ่งเป็น striatum และ hippocampus ทั้ง bacosides A และ B มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งผลกระทบของโรคความจำเสื่อมจากยาระงับประสาท(scopolamine) ในสัตว์ประเภทกัดแทะได้<br>- พืชนี้สามารถปรับปรุงความทรงจำในหนูที่ได้รับ anticonvulsant phenytoin และสามารถปรับปรุงการแสดงออกของหนูในหลายๆสถานการณ์การเรียนรู้ได้ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์ (ต่อ)

| พืช | สารประกอบที่แยกได้ | ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก |
|---|---|---|
| *Biota orientalis* Endl. (สนหางสิงห์) | สารออกฤทธิ์ในพืชชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชนี้ใช้ในตำรับยาจีนดั้งเดิม สำหรับรักษาโรคนอนไม่หลับและโรคความจำเสื่อม ใบสั่งยาสมุนไพรนี้ประกอบด้วย *Biota orientalis*, *Pahax ginseng* และ *Schisandra chinensis* ที่สามารถปรับปรุงการบันทึกความทรงจำอย่างมั่นคงในหนู<br>- สารสกัดจากเมล็ดของพืชนี้สามารถช่วยบรรเทาการสูญเสียความทรงจำที่ถูกชักนำโดย amygdale และ basal forebrain lesions ในหนู |
| *Codohopsis pilulosa* | สารออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบ | - ในตำรับยาจีน รากของพืชนี้ใช้สำหรับรักษาความผิดปกติที่หลากหลาย รวมถึงโรคความจำเสื่อม และมีความเชื่อว่าสามารถกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดและเพิ่มความมีชีวิตชีวา<br>- สารสกัดจากพืชนี้ ช่วยลดความเสียหายของความทรงจำในสัตว์ทดลอง และแสดงให้เห็นถึงผลกระทบของ nootropic |
| *Coptis chinensis* Franch. | berberine,jatrorrhizine และ palmatine (อัลคาลอยด์) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนสำหรับการรักษาอาการในหลายๆสภาวะ<br>- สารสกัดที่ทำการสกัดจากเมทานอลของพืชนี้ทั้ง jatrorrhizine และberberine เป็นตัวยับยั้งของ moncamine oxidase ซึ่งชี้ให้เห็นถึงกิจกรรมที่มีศักยภาพในการต้านอาการ depress<br>- พืชชนิดนี้รวมทั้งสาร berberine และ palmatine เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์ (ต่อ)

| พืช | สารประกอบที่แยกได้ | ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก |
|---|---|---|
| *Coptis chinensis* Franch. | berberine,jatrorrhizine และ palmatine (อัลคาลอยด์) | - พืชชนิดนี้สามารถปรับปรุงการสูญเสียความทรงจำและการเรียนรู้ในหนู มีรายงานว่ามีกิจกรรมการต้านการอักเสบและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ |
| *Crocus sativas* L. (หญ้าฝรั่น) | crocin (carotenoid) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนเพื่อรักษาความผิดปกติของระบบประสาท<br>- สารสกัดจากพืชนี้และสารcrocin สามารถปรับปรุงความเสียหายด้านพฤติกรรมการเรียนรู้ในหนูที่ถูกชักนำโดยเอทานอล<br>- พืชชนิดนี้ระงับกระบวนการ apoptosis ของ neuronally differentiated PC-12 cells ที่ถูกชักนำโดย TNF- α ในหลอดทดลองได้ |
| *Evodia rutaecarpa* Hook.f. & Thoms (หวูจูยหวีทัง) | dehydroevodiamine และ rutaecarpine (อัลคาลอยด์) และ limonin (nor-triterpenoid) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนดั้งเดิมสำหรับการรักษาผลกระทบเกี่ยวกับหัวใจและอาการปวด<br>- สาร rutaecarpine สามารถยับยั้งกิจกรรมของ cox-z ในหลอดทดลอง และสาร rutaecarpine และสาร limonin สามารถต้านการอักเสบในสัตว์ทดลองได้<br>- พืชชนิดนี้และสารdehydro-evodiamine สามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหลอดทดลองได้ และยังสามารถช่วยให้การสูญเสียความทรงจำในหนูที่ถูกชักนำโดย scopolamine กลับคืนมา<br>- สาร dehydroevodiamine เป็นสารที่ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในซีรีบรัมได้ในสัตว์ทดลอง |

**ที่มา:** Howes และคณะ (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.3 สารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการทำงาน**

สารต้านอนุมูลอิสระหาชนิดที่มีหน้าที่แตกต่างกันมีบทบาทสำคัญในเครือข่ายของการป้องกันในร่างกาย อาจทำหน้าที่เป็นตัวดักจับอนุมูลอิสระ (free radical sceavengers) ตัวจับซิงเกตออกซิเจน (singlet hydrogen quenchers) ตัวยังยังเปอร์ออกไซด์ (inactivaters of peroxides) และอนุมูลอิสระอื่นๆ คีเลเตอร์ของอิออนโลหะ ตัวจับผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและตัวยับยั้งของเอนไซม์ที่ใช้ในการออกซิเดชัน เป็นเรื่องสำคัญที่จะรู้กลไกการทำงานเหล่านี้ ได้มีความสนใจอย่างมากในกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก (phenalic antioxidants) (He และคณะ, 2012)

**2.3.1 กลไกการดักจับอนุมูลอิสระ**

ปฏิกิริยา reactive oxygen spcies (ROS) รวมถึงอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot-}$) อนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HOO^{\cdot}$) อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (peroxide radical, $ROO^{\cdot}$) อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $OH^{\cdot}$) ไฮโดจเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, $H_2O_2$) และกรดไฮโดรคอลรัส (hydrochlorous acid, HOCl) ขณะที่ปฏิกิริยาไนโตรเจน (reactive nitrogen species, RNS) รวมถึงอนุมูลอิสระ เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, $NO^{\cdot}$) และไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide, $NO_2$) และเพอร์ออกซิไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^-$) การผลิตอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นกระบวนการธรรมชาติซึ่งสามารถเกิดขึ้นในขณะที่มีเอนไซม์หรือไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง และเกี่ยวข้องกับสุขภาพเมื่อกลไกการป้องกันไม่สามารถที่จะต่อต้านได้ สารประกอบฟีนอลิกและอะโรมาติกเอมีน (aromatic amine) ส่วนใหญ่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ศักยภาพของการจับอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลลิกขึ้นอยู่กับรูปแบบ (ทั้งจำนวนและตำแหน่งที่ทำปฏิกิริยา) ของหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ (free OH groups) บนโครงสร้างฟลาโวนอยด์ การทำงานของโพลีฟีนอลโดยการดักจับอนุมูลอิสระก่อนที่สารเหล่านี้จะไปกระทำต่อโมเลกุลที่สำคัญทางชีวภาพโดยการให้อะตอมไฮโตรเจน (ปฏิกิริยาที่ 1) หรือรับอิเล็คตรอน โดยโปรตอนขนส่ง (ปฏิกิริยาที่ 2) เพื่อให้สารประกอบที่มีความเสถียรและอนุมูลของสารต้านอนุมูล-อิสระ ในปฏิกิริยาที่ 1 สารต้านอนุมูลอิสระ ArOH ได้ย้ายอะตอมไฮโดรเจนไปยังอนุมูลอิสระ $R^{\cdot}$ และได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีความ active น้อยลงคือ RH และ $ArO^{\cdot}$ และการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับพลังงานสลายพันธะ (bond dissociation enthalpy) ของพันธะ ArO-H ถ้าค่าพลังงานการสลายพันธะมีค่าต่ำเท่าใดก็จะยิ่งจะทำให้ปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ง่ายขึ้นเท่านั้น ในปฏิกิริยาที่ 2 อิเล็คตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระถูกย้ายตำแหน่งไปยัง $R^{\cdot}$ และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียร ในขั้นตอนนี้ถ้ายิ่งมีค่าไอออไนเซชัน (ionisation potential value) ที่มีค่าต่ำทำให้เกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ง่ายขึ้นเท่านั้น (He และคณะ, 2012)

$$R^{\cdot} + ArOH \longrightarrow RH + ArO^{\cdot} \qquad (1)$$

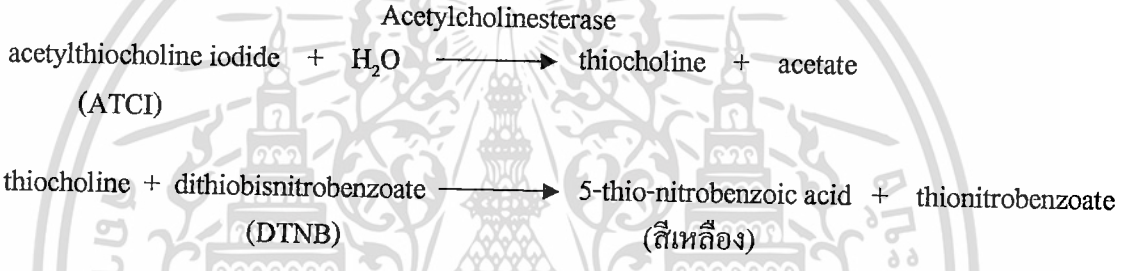
$$R^{\cdot} + ArOH \longrightarrow R^- + ArOH^{\cdot+} \qquad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.4 วิธีการวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย**

**2.4.1 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase inhibition assay)**

เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) และระบบประสาทรอบนอก (peripheral nervous system) รวมถึงตัวรับอะซิทิลโคลีน (acetylcholine receptor) ในการสื่อสารของการกระทำที่เกิดขึ้นข้ามระหว่างเส้นประสาท-เส้นประสาท และช่องว่างระหว่างเซลล์ประสาทของกล้ามเนื้อร่วมประสาท (neuromuscular synapses) การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสคือการไฮโดรลิซิสสารสื่อประสาทที่ชื่อว่าอะซิทิลโคลีน (acetylcholine) ดังปฏิกิริยา (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)




**รูปที่ 2.1** การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

**วิธีการวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometric assay)**

หลักการของวิธีนี้ คือการวัดค่าอัตราการผลิตของสารไทโอโคลีน (thiocholine) ขณะที่สารอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (acetylthiocholine iodide) ถูกไฮโดรไลซ์ ในการไฮโดรลิซิสของอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์โดยเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเกิดขึ้นไปพร้อมกันกับการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่างไทโอโคลีน (thiocholine) ที่เกิดขึ้นกับสาร dithiobisnitrobenzoate (DTNB) โดยจะให้สารละลายสีเหลืองของ 5-thio-nitrobenzoic acid (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)

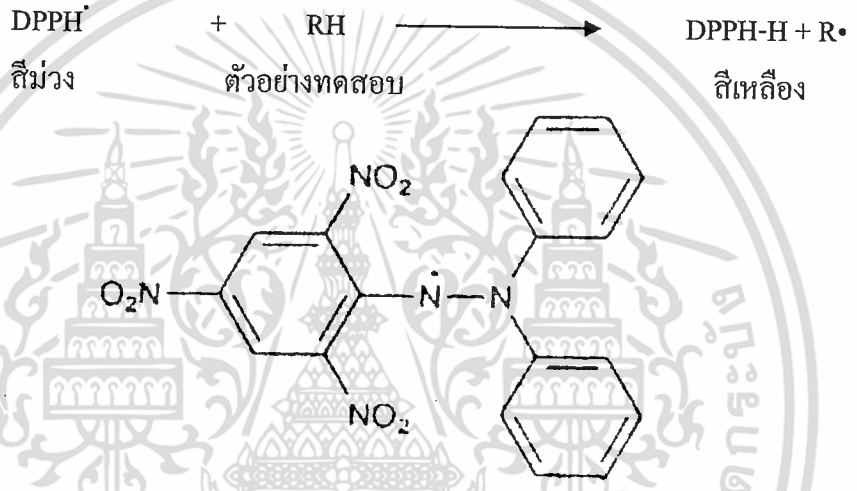
เนื่องจากบทบาทสำคัญของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในระบบประสาท จึงทำให้มีความสนใจในการที่จะออกแบบและค้นหาสารยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้กันมาก สารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสบางตัวเป็นที่ทราบกันดีว่ามีประโยชน์สำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โรคสมองเสื่อมจากการชรา (senile dementia) ภาวะกล้ามเนื้อขาดการประสานงาน (ataxia) และช่วยปรับปรุงความทรงจำในระยะยาวด้วยการเพิ่มกิจกรรมของโคลิเนอร์จิก (cholinergic) (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)

**2.4.2 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.4.2.1 วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical**

อนุมูล DPPH˙ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517นาโนเมตร และ DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH˙ มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Halliwell, 1999)




**รูปที่ 2.2** โครงสร้างทางเคมีของอนุมูล DPPH

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (Halliwell, 1999)

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH˙ มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ (Halliwell, 1999)

**2.4.2.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)**

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN^-)_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^-)_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น (Halliwell, 1999)

**2.4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดหาได้จากวิธีการวัดสี (colorimetric method) กล่าวโดยสรุปคือวิธีการนี้จะมีการเติมสารตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่มีสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมอลูมิเนียมไนเตรท ($Al(NO_3)_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้เกิดการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของฟลาโว-นอยด์กับอลูมิเนียม หลังจากนั้น 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 4.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมสารละลายสุดท้ายให้เข้ากันและทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เปรียบเทียบกับ blank สารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดคำนวณในรูปของ catechin equivalent (กรัมของคาเทชินต่อกรัมของตัวอย่าง) (He และคณะ, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 อุปกรณ์

### 3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สมุนไพรแห้งจำนวน 27 ชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ ว่านกลีบแรด โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ สมุลแว้ง อัญชัน หญ้าฝรั่น เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก ว่านร่อนทอง แปะก๊วย หัสคุณเทศ รากหญ้าคา เปราะหอม กระชายดำ พุมเรียง ลำดวน บัวสัตตบงกช บัวหลวงแดง หญ้าหนวดแมว มะขามป้อม รากระย่อม โกฐกระดูก สมอไทย สีเสียดเทศ ไพล และขิง ซื้อจากร้านยาไทยฮั่วจั่น และสมุนไพรสดจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ใบและผลพิลังกาสา บัวบก กล้วยไม้พันธุ์หวาย มะลิ ผักแพว และถั่วพูซื้อจากตลาดในกรุงเทพมหานคร โดยนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำไปสกัด (ตารางที่ 3.1)

### 3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR 102, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาเชื้อของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (Biotec Culture Collection)

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044, *Hanseniaspora uvarum* TISTR 5153, *Schizosaccharomyces pombe* TISTR 5205 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Yeast Malt Agar/Yeast Malt Broth (YMA/YMB, pH 6.8 ± 2, Difco) Glucose Yeast Extract Agar/Glucose Yeast Extract Broth (GYEA/GYEB, pH 6.8 ± 2, Difco) และ de Man Rogosa and Sharpe (MRS, pH 6.8 ± 2, Difco)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3.1** สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

| ชื่อวิทยาศาสตร์ | ชื่อสามัญ | วงศ์ | ส่วนของพืชที่ใช้ | สรรพคุณ |
|---|---|---|---|---|
| *Acorus calamus* Linn. | ว่านน้ำ | Araceae | แก่น | แก้บิด แก้ปวดท้อง |
| *Angiopteris evecta* Hoffm. | ว่านกลีบแรด | Marattlaceae | แก่น | แก้พิษไข้ แก้อาเจียน |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ผล) | Myrsinaceae | ผล | แก้ท้องเสีย |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ใบ) | Myrsinaceae | ใบ | แก้ตับพิการ |
| *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. | โกฐเขมา | Compositae | เหง้า | บำรุงโลหิต แก้สะอึก |
| *Cassia alata* (L.) Roxb. | ชุมเห็ดเทศ | Caesalpiniaceae | แก่น | แก้ท้องผูก ขับปัสสาวะ |
| *Centella asiatica* (L.) Urban. | บัวบก | Umbelliferae | ใบ | แก้ช้ำใน บำรุงหัวใจ |
| *Cinnamomum bejolghota* (Ham.) Sweet | สมุลแว้ง | Lauraceae | เปลือก | แก้ลมวิงเวียน แก้พิษหวัด |
| *Clitoria ternatea* L. | อัญชัน | Leguminosae | ดอก | บำรุงดวงตา ขับปัสสาวะ |
| *Crocus sativus* L. | หญ้าฝรั่น | Lridaceae | เกสร | บำรุงธาตุ บำรุงโลหิต |
| *Dendrobium sonia* | กล้วยไม้ | Orchidaceae | ดอก | กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย |
| *Derris scandens* Benth. | เถาวัลย์เปรียง | Papilioneae | แก่น | แก้เส้นเอ็นคอด |
| *Foeniculum vulgare* Mill. | เทียนข้าวเปลือก | Umbelliferae | เมล็ด | แก้ทางเดินปัสสาวะ แก้นิ่ว |
| *Globba malaccensis* Ridl. | ว่านร่อนทอง | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ท้องเสีย แก้พิษฝี |
| *Ginkgo biloba* L. | แปะก๊วย | Ginkgoaceae | ใบ | เป็นยาอายุวัฒนะ |
| *Holarrhena curtisii* King & Gamble. | หัสคุณเทศ | Apocynaceae | แก่น | ขับลมในลำไส้ให้กระจาย |
| *Imperata cylindrica* Beauv. | รากหญ้าคา | Poaceae | ราก | แก้ตับอักเสบ แก้ร้อนใน |
| *Jasminum sambac* (L.) Aiton. | มะลิ | Oleaceae | ดอก | แก้ร้อนใน กระหายน้ำ |
| *Kaempferia galanga* Linn. | เปราะหอม | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้หวัด |
| *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker. | กระชายดำ | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ปากเปื่อย ขับระดูขาว |
| Lepisanthes *fruticosa* (Roxb.) Leenh. | พุมเรียง | Sapindaceae | แก่น | แก้ไข้เหนือ แก้ไข้สันนิบาต |
| *Melodorum fruticosum* Lour. | ลำดวน | Annonaceae | ดอก | แก้ไข้ แก้ลม บำรุงหัวใจ |
| *Nelumbo nucifera* Gaertn. | บัวสัตตบงกช | Nelumbonaceae | ดอก | บำรุงครรภ์ แก้ไข้ |
| *Nymphaea lotus* Linn. | บัวหลวงแดง | Nymphaeaceae | ดอก | บำรุงครรภ์ แก้ไข้ |
| *Orthosiphon aristatus* (Blume) Mig. | หญ้าหนวดแมว | Lamiaceae | ต้น | ขับปัสสาวะ ขับนิ่ว |
| *Phyllanthus emblica* L. | มะขามป้อม | Euphorbiaceae | ผล | แก้ไข้เจือลม แก้เสมหะ |
| *Polygonum odoratum* Lour. | ผักแพว | Polygonaceae | ใบ | ขับลม เจริญอาหาร |
| *Psophocarpus tetragonolobus* Linn. | ถั่วพู | Zingiberaceae | ฝัก | แก้อ่อนเพลีย บำรุงหัวใจ |
| *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. | รากระย่อม | Apocynaceae | ราก | แก้ปวดศีรษะ ช่วยย่อยอาหาร |
| *Saussurea lappa* Clark | โกฐกระดูก | Compositae | ราก | แก้ลมวิงเวียน แก้โลหิตจาง |
| *Terminalia chebula* Retz. | สมอไทย | Combretaceae | ผล | แก้ลมจุกเสียด |
| *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. | สีเสียดเทศ | Rubiaceae | ลำต้น | แก้ท้องร่วง แก้บิดมูกเลือด |
| *Zingiber cassumunar* Roxb. | ไพล | Zingiberaceae | เหง้า | ขับประจำเดือน ฝนทาแก้เคล็ด |
| *Zingiber officinale* Roscoe. | ขิง | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ปวดท้อง แก้จุกเสียด |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง**

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล (Methanol, Avantor Performance Materials, Inc., USD) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, Carlo Erba, USD) แอมโฟเทอริซินบี (Amphotericin B, Biolab, ประเทศไทย) เพนนิซิลินจี (Penicillin G, General Drugs House Co., Ltd., ประเทศไทย) อะซิทิลไทโอโคลีน ไอโอไดด์ (Acetylthiocholine iodide, Fluka, Sigma-Aldrich, UK) อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสชนิดV-S จากปลาไหลไฟฟ้า (Acetylcholinesterase from Electrophorum electricus (electric eel), C2888, Sigma, Sigma-Aldrich Co, USA) 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB, Sigma, Sigma-Aldrich, USA) กาแลนทามีน (Galanthamine, Sigma, Sigma-Aldrich Co., USA) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, Sigma-Aldrich, Germany) กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, Sigma-Aldrich, Spain) อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) โพแทสเซียมอะซิเตต (Potassium acetate, Ajax Finechem, Australia) ควอซิทิน (Quercetin, Sigma-Aldrich, Germany) Tris-HCl (Vivantis, Technologies Sdn. Bhd., Malrysia) DMSO (Dimethylsulfoxide, Cario Erba, USA) โฟลิน-ซิโอคาลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu's reagent, VWR international S. A. S, France) เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride, Panreac, E. U.) กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, Carlo Erba, USA) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous, Ajax Finechem, Australia) โซเดียมฟอสเฟต (Sodium phosphate monobasic, Ajax Finechem, Australia) แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate, Merck, Germany) โซเดียมไนไตรต์ (Sodium nitrite, Ajax Finechem, Australia) 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Fluka, Sigma-Alrich, Switzerland) Bovine serum albumin (BSA, Calbiochem, EMD chemical, Inc., San Diego, USA)

**3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง**

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องบด (blender, National, MX 795N, Philippine) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Germany) ตู้อบลมร้อน (Memmert, UFE 600, Germany) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, INP 600, Germany) ตู้เย็น (SANYO, SR-F383, ประเทศไทย) ตู้เขี่ยเชื้อ (BossTech, VT 90, ประเทศไทย) หม้อนึ่งความดัน (TOMY, ES-315, Japan) เครื่องเขย่า (shaker, GALLENKAMP, Japan) เครื่องผสม (vortex mixer, VORTEX GENIE 2, G560E, USA) เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Japan) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, FALCON, 6/300, Germany) กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



**3.2 วิธีการทดลอง**

**<u>ตอนที่ 1</u> การศึกษาคัดเลือกสมุนไพรไทยโดยการศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทร**

**3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์**

**3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยเมทานอล**

การสกัดสมุนไพรไทยทำได้โดยนำสมุนไพรแห้งแต่ละชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ ว่านกลีบแรด พิลังกาสา โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ บัวบก สมุลแว้ง อัญชัน หญ้าฝรั่น กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก ว่านร่อนทอง แปะก๊วย หัสคุณเทศ รากหญ้าคา มะลิ เปราะหอม กระชายดำ พุมเรียง ลำดวน บัวสัตตบงกช บัวหลวงแดง หญ้าหนวดแมว มะขามป้อม ผักแพว ถั่วพู รากระย่อม โกฐกระดูก สมอไทย สีเสียดเทศ ไพล และขิงมาบดให้เป็นผงละเอียด เมื่อได้ผงสมุนไพรไทยแต่ละชนิดแล้ว ชั่งผงสมุนไพรแต่ละชนิดปริมาณ 20 กรัมใส่ลงในฟลาสก์และเติมเมทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมากรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 และนำของเหลวที่ได้ไประเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะได้สารสกัดหยาบเข้มข้นประมาณ 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู และตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนกระทั่งเมทานอลระเหยออกหมดจะได้สารสกัดแห้ง เก็บสารสกัดแห้งที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ เมื่อจะวิเคราะห์เตรียม stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำสารสกัดแห้งมาเจือจางด้วยสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (วิธีเตรียมดูในภาคผนวก ข)

**3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์**

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทำได้โดยเขี่ยเชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR 102, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453, *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และ *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 จากหลอด stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร agar slant ใหม่ (เฉพาะเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ถ่ายเชื้อลงในอาหาร GYEA ส่วนเชื้อแบคทีเรียอีก 3 ชนิดถ่ายเชื้อลงใน MRS agar) และนำ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกอีก 3 ชนิด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้เชื้อทุกชนิดที่ต้องการใช้ทดสอบแล้ว ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารแข็ง 1 ลูปเต็มลงในหลอดอาหารเหลว สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 ถ่ายลงในอาหารเหลว GYEB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 050, *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453 ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

137307

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการเตรียมเชื้อยีสต์จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044, *Hanseniaspora uvarum* TISTR 5153, *Schizosaccharomyces pombe* TISTR 5205 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ถ่ายเชื้อลงในอาหาร YMA slant จำนวน 2 ครั้ง เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย แต่นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เมื่อได้เชื้อยีสต์แต่ละชนิดแล้วให้ถ่ายเชื้อยีสต์แต่ละชนิดลงในหลอดอาหาร YMB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่เจริญในอาหารเหลวทุกหลอดไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์ตกตะกอน และเทส่วนใส (supernatant) ทิ้งไป เหลือเฉพาะตะกอนเซลล์ (cell pellet) ที่ก้นหลอด จากนั้นล้างเซลล์โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเหลวเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีการเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง แล้วนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับความขุ่นด้วย McFarland standard เชื้อแบคทีเรียจะปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard เบอร์ 0.5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อยีสต์จะปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร)

**3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย**

**3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)**

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Meléndez และ Capriles (2006) และ Hussain และคณะ (2008) ดังนี้ ปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดปริมาตร 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^7$ และ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ตามลำดับ) ลงบนผิวหน้าอาหาร MRS สำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก อาหาร GYEA สำหรับเชื้อ *Acetobacter aceti* และอาหาร YMA สำหรับยีสต์ แล้วเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ จากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรไปวางบนผิวหน้าของวุ้น หยดสารสกัดปริมาตร 15 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้สารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นกระดาษกรอง ส่วนชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) จะใช้เพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิกรัม สำหรับเชื้อแบคทีเรียและใช้แอมโฟเทอริซินบีที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก ยกเว้นเชื้อ *Acetobacter aceti* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และส่วนเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หาค่าได้จากการวัดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร

**3.2.2.2 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution**

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Collins และคณะ (2001) และ Kumar และคณะ (2006) ดังนี้ ทำการเจือจางสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นระดับต่างๆจาก stock solution ของสารสกัดพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นปริมาตรต่างๆลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ และปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงไปปริมาตรระดับต่างๆ โดยปริมาตรของสารสกัดรวมกับน้ำกลั่นได้เท่ากับ 250 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 4,750 ไมโครลิตรที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสลงไป สำหรับเชื้อยีสต์จะใช้อาหาร YMA แบคทีเรียกรดแลคติกจะใช้อาหาร MRS และเชื้อ *Acetobacter aceti* จะใช้อาหาร GYEA จากนั้นเขย่าให้เข้ากันดี แล้วนำมาเอียงเพื่อให้ได้หลอดอาหารที่มีผิวหน้าเอียงซึ่งจะได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดระดับต่างๆ ได้แก่ 10, 7, 5.12, 2.56, 1.28, และ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ สำหรับชุดควบคุมเชิงบวกจะใช้ยาเพนนิซิลินจีที่ระดับความเข้มข้น $10^6$, $10^5$, $10^4$, $10^3$, $10^2$ และ 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และยาแอมโฟเทอริซินบีที่ระดับความเข้มข้น 10, 5, 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อยีสต์ทั้งหมด จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดลากลงบนผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละระดับลงไป 1 loop ด้วยเทคนิค simple streak นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับเชื้อแบคทีเรีย ยกเว้นเชื้อ *Acetobacter aceti* จะบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสำหรับเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อที่แต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัด รายงานผลเป็นค่า MIC (minimum inhibitory concentration) ซึ่งก็คือระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

**3.2.3 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย**

**3.2.3.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

ในการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทยได้ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Ellman's colorimetric ของ Ellman และคณะ (1961) และ Jang และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ (2008) ที่ดัดแปลงเล็กน้อยซึ่งทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆลงในหลอดทดลอง ดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) สารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 จาก stock solution ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และสารละลายอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร และนำสารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับสารสกัดจากพืชมาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสารสกัด สำหรับชุดควบคุม (control) ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างสารสกัด ส่วน Blank จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

**3.2.3.2 การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย**

**ก) การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay**

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยนำตัวอย่างของสารสกัดแต่ละชนิดมาทำการเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 75 ไมโครลิตรมาผสมกับสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2.925 มิลลิลิตรในหลอดทดลองแต่ละหลอด และใช้เมทานอลเป็น Blank แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยทันทีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรพร้อมบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (0 นาที) จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรพร้อมทั้งบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (30 นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาทีและที่เวลา 30 นาทีไปคำนวณหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (% $DPPH^{\cdot}_{REM}$) จากปฏิกิริยาในหลอดทดลองแต่ละหลอด (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ดังกล่าวข้างต้น การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ (%$DPPH^{\cdot}_{REM}$) คำนวณได้โดยใช้สมการดังนี้

$$[\%DPPH^{\cdot}_{REM}] = ([DPPH^{\cdot}]_T / [DPPH^{\cdot}]_{T=0}) \times 100$$

โดย $[DPPH^{\cdot}]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ ที่เวลาใดๆ และ $[DPPH^{\cdot}]_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ของสารสกัดแต่ละชนิด ณ เวลา 30 นาทีกับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้นของ DPPH (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) หาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา $EC_{50}$ (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิด และค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

**ข) การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)**

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) โดยทำการเตรียมสารละลายที่ใช้สำหรับเตรียม FRAP reagent ซึ่งประกอบด้วย 1) acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ 2) สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

จากนั้นทำการเตรียม FRAP reagent โดยปิเปต ดังนี้ 1) acetate buffer ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2) สารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จะได้ FRAP reagent จากนั้นทำการทดลองโดยปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่างสารสกัดแต่ละชนิดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร โดยใช้ FRAP reagent เป็น Blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของ FRAP ทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร นำมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน นำค่าที่วัดได้ไปคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดโดยมีหน่วยเป็นมิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II)/g extract)

**3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป และนำมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วน Blank เป็นเมทานอลแทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

**3.2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทยทำตามวิธีการของ Kathirvel และ Sujatha (2012) นำสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร หลังจากนั้นทิ้งไว้อีก 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดี จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน แล้วรายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทินที่ความเข้มข้น 12.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างจนกระทั่งนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของควอซิทินแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซิทินกับค่าการดูดกลืนแสง และหาสมการเส้นตรงเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

**<u>ตอนที่ 2</u> การประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ ต้านอนุมูลอิสระและต้านอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีโดยนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และเครื่องดื่มไวน์องุ่นผสมสมุนไพรไทย**

**3.2.4 การเตรียมเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร**

การทดลองนี้ได้เตรียมเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ทั้งหมด 5 สูตร (ที่ไม่ผ่านการหมัก) โดยเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร 4 สูตร และน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ 1 สูตร (ชุดควบคุม) การเตรียมน้ำสมุนไพรสำหรับใช้เป็นเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และสำหรับใช้ผสมกับน้ำองุ่นเพื่อหมักเป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทำได้ดังนี้ สูตรที่ 1 ประกอบด้วย กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75 สูตรที่ 2 ประกอบด้วย แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17 สูตรที่ 3 ประกอบด้วย สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23 สูตรที่ 4 ประกอบด้วยกระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13 และสูตรที่ 5 (ชุดควบคุม) ประกอบด้วยองุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74 โดยแต่ละสูตรจะเตรียมน้ำสมุนไพรทั้งหมด 3 ส่วนเท่าๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่ 1 ใช้เป็นเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ ส่วนที่ 2 และ 3 นำไปหมักเป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรโดยหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร ตามลำดับ

**3.2.4.1 การเตรียมน้ำสมุนไพร**

การเตรียมน้ำสมุนไพรมีขั้นตอนดังนี้ ชั่งส่วนผสมของสมุนไพรตามสูตร นำสมุนไพรที่เป็นส่วนผสมแต่ละชนิดมาหั่นหรือตำ แล้วเทลงในภาชนะสแตนเลสปากกว้าง เติมน้ำให้ได้ตามสัดส่วน นำไปตั้งไฟต้มจนเดือดแล้วจับเวลาหลังการเดือด 15 นาที เสร็จแล้วยกลง กรองด้วยผ้าขาวบาง แบ่งน้ำสมุนไพรใส่ขวดที่ฆ่าเชื้อแล้วเพื่อใช้เป็นตัวอย่างเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่ผ่านการหมัก นำน้ำสมุนไพรที่เหลือไปผสมกับน้ำองุ่นปั่นเพื่อการหมักไวน์

**3.2.4.2 การหมักไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร**

**ก) การเตรียมยีสต์สตาร์ทเตอร์สำหรับหมักไวน์**

การเตรียมสตาร์ทเตอร์สำหรับหมักไวน์มีขั้นตอนดังนี้ นำสับปะรดมาปอกเปลือก ปาดตาทิ้ง ไม่เอาแกน หั่นสับปะรดแล้วสับให้หยาบๆ นำไปคั้นน้ำและกรองผ่านผ้าขาวบาง วัดปริมาตรน้ำสับปะรด ได้เท่าไหร่เติมน้ำไปอีก 2 ส่วน จากนั้นปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดให้ได้ 22 ถึง 24 องศาบริกซ์ บรรจุใส่ฟลาสก์ ต้มฆ่าเชื้อพอเดือดยกลงทันที ทำให้เย็น เขี่ยเชื้อจาก slant ½ หลอด บ่มที่อุณภูมิห้อง 3 ถึง 5 วัน นำไปใช้ในการผลิตไวน์

**ข) การเตรียมน้ำองุ่นสำหรับหมักไวน์**

นำองุ่นแดงมาล้างให้สะอาด สะเด็ดน้ำแล้วผ่าเอาเมล็ดออก ปั่นเนื้อองุ่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้จะได้น้ำองุ่นที่พร้อมที่จะนำไปหมักไวน์

**ค) การเตรียมน้ำหมักเพื่อหมักไวน์**

ในการผลิตไวน์แต่ละสูตรทั้งหมด 5 สูตร โดยสูตร 1 ถึง 4 เป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร ส่วนสูตรที่ 5 เป็นไวน์องุ่นที่ไม่ได้ผสมสมุนไพร (ชุดควบคุม) ในกรณีของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรได้ทดลองเปรียบเทียบการหมักไวน์องุ่นผสมน้ำสุมนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้ นำน้ำองุ่นทที่ปั่นเตรียมไว้มาผสมกับน้ำสมุนไพรแต่ละสูตรที่เตรียมไว้ข้างต้นในอัตราส่วนของน้ำสมุนไพรต่อน้ำองุ่นเท่ากับ 40 : 60 (โดยน้ำหนัก) กรณีที่หมักพร้อมกากเติมกากสมุนไพรลงไปด้วย จากนั้นเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (diammonium phosphate) ร้อยละ 0.03 ของน้ำหนักไวน์ทั้งหมด และกรดซิตริก (citric acid) ร้อยละ 0.02 ของน้ำหนักไวน์ทั้งหมด ผสมให้เข้ากันแล้วนำมาปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดให้ได้ 24 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ฟลาสก์ปิดด้วยจุกสำลีให้สนิท นำไปทำให้เย็นทันทีแล้วเติมยีสต์สตาร์ทเตอร์ร้อยละ 5 ทิ้งไว้ให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมื่อบ่มครบเวลานำไวน์มาพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ขวดปิดฝาให้สนิท ทำการบ่มไวน์เป็นเวลา 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ไวน์ใสโดยการถ่ายใส่ขวดใหม่ (racking) จากนั้นทำการบ่มไวน์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต่อไปอีกเป็นเวลา 19 สัปดาห์ นำไวน์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอชมิเตอร์ หาปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด วิเคราะห์กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์ดังนี้

**1. การวิเคราะห์หาค่าพีเอช**

นำเครื่องดื่มไปวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์

**2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด**

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์ทำตามวิธีการของ AOAC (2000) ดังนี้ ปิเปตเครื่องดื่ม 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณในรูปของกรดทาร์ทาลิก ดังสมการ

g tartaric acid /100 mL = mL NaOH x molarity x 0.075 x (100/sample volume)

**3. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) ปิเปตเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น ultra pure ปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป และนำมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg gallic acid equivalents (GAE)/100 ml beverage) ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนเครื่องดื่ม ส่วน Blank เป็นเมทานอลแทนเครื่องดื่ม เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

**4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Yang และคณะ (2009) ปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที แล้วนำมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทันที สร้างกราฟมาตรฐานของคาเทชิน ค่าที่ได้แสดงผลในรูปมิลลิกรัมของคาเทชิต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg catachin equivalents (CE)/100 ml beverage)

**5. การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมด**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดทำตามวิธีการของ Kathirvel และ Sugatha (2012) ซึ่งทำได้ดังนี้ นำเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร โดยเติมน้ำกลั่น จากนั้นเติม Folin-Denis reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารแทนนินแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg tannic acid equivalents (TAE)/100 ml beverage)

**6. การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส**

การศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของเครื่องดื่ม โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Ellman's colorimetric ของ Ellman และคณะ (1961) และ Jang และคณะ (2008) ทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆลงในหลอดทดลอง ดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) เครื่องดื่มแต่ละสูตรที่ผ่านการเจือจาง 1:10,000 เท่า ปริมาตร 120 ไมโครลิตร 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตร และสารละลายอะ-ซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร และนำสารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ที่มาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างเครื่องดื่ม สำหรับชุดควบคุม (control) ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างเครื่องดื่ม ส่วน Blank จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างเครื่องดื่ม

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องดื่มสมุนไพร และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

**7. การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**

**ก. การวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radial**

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Singh และคณะ (2008) โดยนำตัวอย่างเครื่องดื่มมาเจือจาง 1:10 นำเครื่องดื่มปริมาตร 120 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอลปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเทียบกับชุดควบคุมซึ่งใช้เมทานอลแทนเครื่องดื่มและใช้แอลฟา-โทโคเฟอรอลเป็น positive control เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความเข้มข้นจึงนำมาคำนวณหาการยับยั้ง DPPH radical (ร้อยละ) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ I} = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100$$

โดย $A_0$ คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

$A_s$ คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเครื่องดื่ม

**ข. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay**

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assey ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Martins และคณะ(2013) โดยปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม FRAP reagent ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร บ่มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตร-โฟโตมิเตอร์ คำนวณหาปริมาณ $Fe^{2+}$ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เตรียมโดยใช้เฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.094-3.0 มิลลิโมลาร์ ค่าที่ได้แสดงในรูปมิลลิโมลของ $Fe^{2+}$ ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

FRAP reagent เตรียมได้โดยผสมอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazize (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 (โดยปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลงานวิจัยและอภิปรายผล

## 4.1 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

### 4.1.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

จากผลการศึกษาสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด ด้วยเทคนิค Disc diffusion (ตารางที่ 4.1) พบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากชนิดที่สุดคือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ถึง 11 ชนิดในจำนวนทั้งหมด 12 ชนิดที่ทดสอบ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ค่อนข้างหลายชนิดรองลงมาคือ เปราะหอมและว่านน้ำ (ยับยั้งได้ 7 ชนิด) และชุมเห็ดเทศ (ยับยั้งได้ 6 ชนิด) ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรอื่นๆที่เหลือก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้บ้าง (2-3 ชนิด) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากถั่วพู ส่วนสารสกัดหยาบจากเถาวัลย์เปรียง ดอกบัวสัตตบงกช ดอกบัวหลวงแดง มะขามป้อม ดอกลำดวน ว่านกลีบแรด สมอไทย สมุลแว้งและหัสคุณเทศไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้กว้างมากที่สุดคือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 8 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปราะหอมสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 6 ชนิด และสารสกัดจากว่านน้ำสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 5 ชนิด ส่วนสมุนไพรอื่นๆที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้รองลงมา 4 ชนิดคือสารสกัดหยาบจากสมอไทยซึ่งมีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งค่อนข้างกว้าง สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ 3 ชนิด ได้แก่ โกฐกระดูก โกฐเขมา ขิง ชุมเห็ดเทศ บัวหลวงแดง พุมเรียง มะขามป้อม รากกระย่อม รากหญ้าคา ว่านกลีบแรด หัสคุณเทศและหญ้าหนวดแมว สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก บัวบก ดอกบัวสัตตบงกช ใบพิลังกาสา แปะก๊วย ผักแพว มะลิ ลำดวน ลูกพิลังกาสา ว่านร่อนทอง สมุลแว้ง สีเสียดเทศและอัญชัน และสารสกัดหยาบจากกระชายดำและไพลสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้เพียง 1 ชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากถั่วพูไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการทดสอบมากที่สุด คือ *Schizosaccharomyces pombe* และ *Rhodotorula glutinis* ซึ่งถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยได้หลายชนิดมากที่สุด โดย *S. pombe* ถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทย 31 ชนิดจากทั้งหมด 34 ชนิด ยกเว้นสารสกัดหยาบจากถั่วพู ไพลและอัญชันที่ไม่ยับยั้งเชื้อนี้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 5.67 ถึง 23.22 มิลลิเมตร) และ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทย 29 ชนิดจากทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

34 ชนิด ยกเว้นสารสกัดหยาบจากกระชายดำ ถั่วพู บัวบก ไพล และมะลิที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.93 ถึง 24.56 มิลลิเมตร) เชื้อ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศได้ดีที่สุด (โซนการยับยั้ง 24.56 มิลลิเมตร) สมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ดีรองลงมา (โซนการยับยั้ง 13.11 ถึง 14.78 มิลลิเมตร) ได้แก่ ผักแพว ดอกบัวสัตตบงกช สีเสียดเทศและกล้วยไม้ ส่วนสมุนไพรชนิดอื่นๆที่สามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้บ้าง สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญของ *S. pombe* ได้ดีที่สุด (โซนการยับยั้ง 23.22 มิลลิเมตร) รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงและมะขามป้อม (โซนการยับยั้ง 20.83 และ 20.44 มิลลิเมตรตามลำดับ) สีเสียดเทศและสมอไทย (โซนการยับยั้ง 17 มิลลิเมตร) ส่วนสมุนไพรไทยอื่นๆที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดี ได้แก่ ว่านกลีบแรด ใบพิลังกาสา ผักแพว หัสคุณเทศ สมุลแว้งและกล้วยไม้ (11.11 ถึง 13.33 มิลลิเมตร) ส่วน *Candida lipolytica* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากขิง บัวบก บัวหลวงแดง เปราะหอม ไพล มะขามป้อม มะลิ ว่านน้ำ สมอไทย หัสคุณเทศ หญ้าฝรั่น หญ้าหนวดแมวและอัญชัน (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.67 ถึง 1.67 มิลลิเมตร) และ *Debaryomyces hansenii* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเปราะหอมและหญ้าฝรั่น (โซนการยับยั้งเท่ากับ 7.78 และ 12.67 มิลลิเมตรตามลำดับ) ส่วนเชื้อ *Pichia membranaefaciens* สามารถถูกยับยั้งได้โดยว่านน้ำและหญ้าฝรั่นเท่านั้น (โซนการยับยั้ง เท่ากับ 7 และ 6.33 มิลลิเมตรตามลำดับ) เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเปราะหอม พุมเรียง ว่านน้ำและหญ้าฝรั่นได้ สารสกัดหยาบจากโกฐกระดูก โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ เปราะหอม รากหญ้าคา ว่านกลีบแรด สมอไทยและหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งเชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii* ได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากว่านกลีบแรดและโกฐเขมา (โซนการยับยั้ง 12.33 และ 11.44 มิลลิเมตรตามลำดับ)

สำหรับสมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยจำนวน 17 ชนิดจาก 34 ชนิดที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Acetobacter aceti* ได้เช่น กระชายดำ กล้วยไม้ โกฐกระดูก โกฐเขมา ขิง ถั่วพู เทียนข้าวเปลือก บัวบก แปะก๊วย เปราะหอม ผักแพว พุมเรียง มะลิ รากหญ้าคา หญ้าฝรั่น หญ้าหนวดแมวและอัญชัน (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.87 ถึง 15.56 มิลลิเมตร) โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งเชื้อ *A. aceti* ได้ดีที่สุดเพราะมีโซนการยับยั้งกว้างมากที่สุด (15.56 มิลลิเมตร) เชื้อ *Lactobacillus casei* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ ลูกพิลังกาสา ว่านน้ำ ว่านร่อนทองและหญ้าฝรั่น (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7 ถึง 16.67 มิลลิเมตร) สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ มะลิ รากระย่อม ว่านน้ำและหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.5 ถึง 19.11 มิลลิเมตร) และเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ ใบพิลังกาสา ไพล รากระย่อมและสีเสียดเทศได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.56 ถึง 15.5 มิลลิเมตร) ชุมเห็ดเทศและหญ้าฝรั่นเป็นสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้มากชนิดที่สุดคิดเป็น 3 ชนิดใน 4 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)* ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ว่านน้ำ | ว่านกลีบแรด | พิลังกาสา (ผล) | พิลังกาสา (ใบ) | โกฐเขมา | ชุมเห็ดเทศ | บัวบก | สมุลแว้ง | อัญชัน |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 8.11 ± 0.69 | - | - | - | - | - | 6.67 ± 0.33 | - | 8.45 ± 0.19 |
| *Debaryomyces hansenii* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 9.89 ± 1.07 | 8.56 ± 0.19 | 8.44 ± 0.38 | 11.22 ± 1.17 | 7.06 ± 0.25 | 24.56 ± 0.19 | - | 7.44 ± 0.19 | 9.33 ± 1.15 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 7.67 ± 0.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 8 .56 ± 0.51 | 13.33 ± 0.58 | 10.22 ± 1.07 | 11.89 ± 1.02 | 8.33 ± 1.53 | 23.22 ± 0.69 | 7.00 ± 0.00 | 11.22 ± 1.58 | - |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | - | 12.33 ± 0.33 | - | - | 11.44 ± 2.55 | 6.94 ± 0.35 | - | - | - |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | - | - | - | - | 8.00 ± 0.00 | - | 9.61 ± 0.35 | - | 7.67 ± 0.29 |
| *Lactobacillus casei* | 9.50 ± 0.17 | - | 9.50 ± 0.00 | - | - | 16.67 ± 0.29 | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | 9.78 ± 2.04 | - | - | - | - | 19.11 ± 0.19 | - | - | - |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | 7.56 ± 0.19 | - | 13.00 ± 0.00 | - | - | - |

*ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; -ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

หมายเหตุ : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | หญ้าฝรั่น | กล้วยไม้ | เถาวัลย์เปรียง | เทียนข้าวเปลือก | ว่านร่อนทอง | แปะก๊วย | ทัสคุณเทศ | รากหญ้าคา | มะลิ |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 6.99 ± 0.02 | - | - | -[b] | - | - | 6.69 ± 0.31 | - | 7.00 ± 0.00 |
| *Debaryomyces hansenii* | 12.67± 0.58 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | 14.78 ± 0.84 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | 6.33 ± 0.38 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 7.00 ± 0.00 | 13.11 ± 0.69 | 7.22 ± 0.38 | 6.93 ± 0.07 | 7.56 ± 0.51 | 9.56 ± 1.84 | 8.44 ± 0.19 | 9.11 ± 1.02 | - |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 8.89 ± 0.19 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 7.00 ± 0.00 | 11.11 ± 0.19 | 10.00 ± 0.00 | 7.11 ± 0.19 | 7.00 ± 0.00 | 10.27 ± 0.06 | 11.67 ± 0.58 | 8.11 ± 1.35 | 7.89 ± 0.84 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 7.94 ± 0.35 | - | - | - | - | - | - | 7.44 ± 0.38 | |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 15.56 ± 0.19 | 9.39 ± 0.35 | - | 9.00 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 | - | 9.11 ± 1.02 | 8.72 ± 0.25 |
| *Lactobacillus casei* | 8.56 ± 0.39 | - | - | - | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | 7.50 ± 0.17 | - | - | - | - | - | - | - | 11.17 ± 0.19 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

หมายเหตุ : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)* ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | เปราะหอม | กระชายดำ | พุมเรียง | ลำควน | บัวสัตตบงกช | บัวหลวงแดง | หญ้าหนวดแมว | มะขามป้อม | ผักแพว |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 7.78 ± 1.95 | - | - | - | - | 12.67 ± 2.03 | 6.86 ± 0.10 | 7.37 ± 0.84 | - |
| *Debaryomyces hansenii* | 7.78 ± 0.19 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hansemiaspora uvarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 7.44 ± 0.19 | - | 7.89 ± 1.02 | 10.11 ± 2.72 | 13.78 ± 2.14 | 10.89 ± 1.17 | 7.21 ± 0.39 | 7.44 ± 0.19 | 14.78 ± 0.51 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 7.89 ± 0.51 | - | 8.22 ± 0.96 | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 7.42 ± 0.63 | 8.00 ± 1.00 | 9.22 ± 0.38 | 10.47 ± 0.06 | 10.53 ± 0.06 | 20.83 ± 2.93 | 8.11 ± 0.19 | 20.44 ± 3.34 | 11.83 ± 0.76 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 7.67 ± 1.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 7.22 ± 0.19 | 9.50 ± 0.00 | 8.06 ± 0.92 | - | - | - | 9.00 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 |
| *Lactobacillus casei* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

*ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; -ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

**หมายเหตุ** : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ถั่วพู | รากระย่อม | โกฐกระดูก | สมอไทย | สีเสียดเทศ | ไพล | ขิง | Amphotericin B | Penicillin G |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | - | - | - | 9.78 ± 0.19 | - | 7.19 ± 0.41 | 6.98 ± 0.04 | 12.33 ± 0.58 | - |
| *Debaryomyces hansenii* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | - | 9.44 ± 0.84 | - | - | - | - | - | 12.33 ± 0.58 | - |
| *Pichia membranaefaciens* | - | - | - | - | - | - | - | 10.33 ± 0.58 | - |
| *Rhodotorula glutinis* | - | 7.22 ± 0.19 | 9.11 ± 2.27 | 10.44 ± 0.38 | 13.44 ± 0.51 | - | 7.00 ± 0.00 | 14.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | - | 10.18 ± 0.13 | 8.75 ± 0.58 | 17.00 ± 1.00 | 17.11 ± 0.19 | - | 7.00 ± 1.00 | 10.00 ± 0.00 | 7.00 ± 0.00 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | - | - | 7.97 ± 0.35 | 7.89 ± 0.69 | - | | - | 14.33 ± 1.15 | - |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 6.87 ± 0.38 | - | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | 9.61 ± 0.10 | 9.00 ± 0.00 | - |
| *Lactobacillus casei* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Lactobacillus plantarum* | - | 9.61 ± 0.09 | - | - | - | - | - | 9.00 ± 0.00 | 14.00 ± 0.00 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | 15.50 ± 0.17 | - | - | 10.56 ± 0.19 | 10.50 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 | 18.00 ± 0.00 |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

หมายเหตุ : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**4.1.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)**

จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 12 ชนิดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธี Agar dilution (ตารางที่ 4.2) พบว่าสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หญ้าฝรั่น บัวหลวงแดงและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้มากชนิดกว่าสารสกัดหยาบจากบัวบก อัญชัน หัสคุณเทศ เปราะหอม ลำดวน ผักแพว รากระย่อม สมอไทย สีเสียดเทศและขิง สารสกัดจากว่านน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้กว้างที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบจากดอกบัวสัตตบงกช พุมเรียง สมุลแว้ง แปะก๊วย หญ้าหนวดแมว รากหญ้าคา กระชายดำ กล้วยไม้ เทียนข้าวเปลือก ใบพิลังกาสาและลูกพิลังกาสายับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ไม่ดี (ค่า MIC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทยส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการทดสอบมากที่สุดคือ *R. glutinis* และ *S. pombe* ซึ่งสามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรได้หลายชนิดมากที่สุด (สารสกัด 5 ชนิด) โดยเชื้อ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศและมะขามป้อม (ค่า MIC เท่ากับ 1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และผักแพวสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดีเช่นกัน (ค่า MIC เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *S. pombe* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หัสคุณเทศ เปราะหอมและบัวหลวงแดงได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือมะขามป้อม (ค่า MIC เท่ากับ 1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดหยาบจากสีเสียดเทศและลำดวนสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดี (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งรองลงมาคือ *H. uvarum* และ *Z. rouxii* ซึ่งถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นและว่านน้ำได้ค่อนข้างดี ส่วน *C. lipolytica, D. hansenii, S. cerevisiae* และ *P. membranaefaciens* ค่อนข้างต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรส่วนใหญ่ (ค่า MIC เท่ากับ 10 ถึงมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับผลการตรวจสอบของยาเพนนิซิลินจีและยาแอมโฟเทอริซินบีที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกพบว่ายาแอมโฟเทอริซินบีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ดี (ค่า MIC อยู่ในช่วง 0.005 ถึง 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งเชื้อ *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora uvarum* และ *Zygosaccharomyces rouxii* ถูกยับยั้งโดยยาแอมโฟเทอริซินบีได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) และยาเพนนิซิลินจีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ค่า MIC เท่ากับ 31.25 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และเชื้อ *A. aceti* ต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยเพนนิซิลินจี (ค่า MIC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในกรณีของสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบมีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทยต่างกัน สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งเชื้อ *A. aceti* ได้มากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ชนิดที่นำมาทดสอบต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทยส่วนใหญ่ที่ทดสอบ ยกเว้นสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศและว่านน้ำ โดย *L. casei* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) *L. plantarum* ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดจากว่านน้ำ (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *Leuconostoc mesenteroides* ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สำหรับผลการตรวจสอบของยาเพนนิซิลินจีและยาแอมโฟเทอริซินบีที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกพบว่ายาเพนนิซิลินจี ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25 ถึง 250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) โดย *L. casei*, *L. plantarum* และ *Leuconostoc mesenteroides* ไวต่อการถูกยับยั้งโดยยาเพนนิซิลินจีมากกว่า *A. aceti* และยาแอมโฟเทอริซินบีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ไม่ดีนัก (ค่า MIC มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบของว่านน้ำ (*Acorus calamus*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยผลงานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่น เช่น Lee (2007) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลเดียวกับว่านน้ำ (*Acorus gramineus*) ที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora infestars* และ *Rhizoctonia solani* ได้ดี นอกจากนี้ Grosvenor และคณะ (1995) ยังได้รายงานว่าสารสกัดหยาบจากว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ การที่สารสกัดจากว่านน้ำนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี คาดว่าเป็นผลมาจากการที่มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบในว่านน้ำ ดังการรายงานของ Lee (2007) ซึ่งได้แยกและจำแนกชนิดของสารที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลเดียวกับว่านน้ำ (*Acorus calamus*, *Acorus gramineus*) พบว่าประกอบด้วยสาร α-amorpene (1.33%), α-asarone (17.70%), cis-asarone (7.29%), asaronaldehyde (5.35%), borneol (2.18%), δ-cadinene (2.56%), calarene (1.64%), camphene (0.73%), camphor (3.63%), elemicin (1.98%), euasarone (12.70%), α-gurjunene (1.21%), 1, 2, 4 methenoazulene (0.82%), methyleugenol (34.18%), methyl isoeugenol (4.90%) และ α-muurolene (0.76%) และมีรายงานว่าสาร β-asarone ที่เป็นส่วนประกอบในว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ ดังรายงานการวิจัยของ Rajput และ Karuppayil (2013) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำในส่วนที่สกัดด้วยเฮกเซน และสาร β-asarone ที่แยกได้จากส่วนที่สกัดด้วยเฮกเซนนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียได้ดี ผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Somchit และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบและลำต้นของชุมเห็ดเทศที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดจากลำต้นของชุมเห็ดเทศที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ดีโดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดสอบคือ 15 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร มีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 10.2 และ12.3 มิลลิเมตรตามลำดับ สำหรับการรายงานของ Ibrahim และ Osman (1995) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศจากประเทศมาเลเซีย พบว่าสารสกัดจากพืชชนิดนี้มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ dermatophytic fungi ได้หลายชนิดได้แก่ เชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของ *Microsporum canis* เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนอกจากนี้สารสกัดจากชุมเห็ดเทศยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Khan และคณะ (2001) โดยได้ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบ ดอก ลำต้นและรากของชุมเห็ดเทศ โดยทำการเปรียบเทียบตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าสารสกัดจากดอกชุมเห็ดเทศที่สกัดด้วย dichloromethane มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด เชื้อ *Bacillus cogulans*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella typhi* และ *Trichomonas vaginalis* ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดซึ่งมีโซนในการยับยั้งเท่ากับ 20 มิลลิเมตร และจากการรายงานของ Pesewu และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus pyogenes* UELSHB 333, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Proteus vulgaris* UELSHB 241 ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50, 50 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ การที่สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงอาจเป็นเพราะสารสำคัญที่มีอยู่ในใบชุมเห็ดเทศที่มีสมบัติช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จากการรายงานของ Rahman และคณะ (2008) พบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากใบชุมเห็ดเทศ ได้แก่ 2,5,7,4′-tetrehydroxy isoflavone และ 3,5,7,4′- tetrehydroxy isoflavone สามารถยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราที่ก่อโรคในคน สัตว์และพืช

ในการทดลองสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและยีสต์ได้ดี ซึ่งจากผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Yisa (2009) ได้พบว่าสารสกัดจากบัวหลวงแดงที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus* species โดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 16.7, 14.3 และ 15.6 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 60,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50 และ 60 ปริมาตรต่อปริมาตรตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากบัวหลวงแดงยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆได้เช่นกัน เช่น จากการรายงานของ Saadabi และ Moglad (2012) พบว่าสารสกัดจากบัวหลวงแดงทั้งต้นที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีโดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญอยู่ในช่วง 20-22 มิลลิเมตร นอกจากนี้ Akinjogunla และคณะ (2009) ยังได้พบว่าสารสกัดจากใบบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) ที่แยกได้จากตัวอย่างปัสสาวะและบาดแผล โดยสารสกัดจากใบบัวหลวงแดงที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นระหว่าง 5-80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีโซนในการยับยั้งการเจริญของ MRSA อยู่ในช่วง 8-26 มิลลิเมตร และสำหรับการยับยั้งการเจริญของ VRSA มีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 8-27 มิลลิเมตร และมีค่า MIC อยู่ในช่วง 5-15 และ 10-30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับ MRSA และ VRSA ตามลำดับ จากการที่สารสกัดจากบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีอาจเพราะมีสารสำคัญที่ช่วยส่งเสริมกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ โดยมีการรายงานของ Akinjogunla และคณะ (2010) พบว่าในสารสกัดของใบบัวหลวงแดงมีสารสำคัญ ได้แก่ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) และฟีนอลิก

จากการศึกษาผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียได้ดี ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Sengul และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่ทำการสกัดด้วยน้ำ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ATCC 1223, *Saccharomyces boulardii* 6128, *Saccharomyces cereviciae* 6541 และ *Cladosporium herbarum* ได้ โดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 2, 4, 5 และ 9 มิลลิเมตรตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากหญ้าฝรั่นยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* 6230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Escherichia coli* 1328 ได้ดีซึ่งมีโซนในการยับยั้งในการเจริญเท่ากับ 5, 6, 7 และ 10 มิลลิเมตรตามลำดับ นอกจากนี้ Raj และคณะ (2012) ได้ศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากหญ้าฝรั่นพบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่สกัดด้วย diethyl ether และ ethyl acetate โดยเฉพาะสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* และ *Shigella sonnei* จากการที่หญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงอาจเป็นเพราะสารสำคัญที่มีอยู่ในหญ้าฝรั่นที่มีสมบัติช่วยใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ มีรายงานว่าสารซาฟรานาล (safranal) และโครซิน (crocin) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด แบคทีเรียที่ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารซาฟรานาลมากที่สุดคือ *Salmonella* Typhimurium strain LT2 ซึ่งมีค่า $MIC_{90}$ (ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดค่าความขุ่น ($A_{620}$) ลงร้อยละ 90) เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนแบคทีเรียที่ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารโครซินมากที่สุด คือ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* strain LT2 (Pintado และคณะ, 2011)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้โดยเฉพาะ *Schizosaccharomyces pombe* ซึ่งไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะขามป้อมมากที่สุด นักวิจัยท่านอื่นได้รายงานถึงสมบัติการต้านการเจริญของยีสต์และเชื้อราไว้ เช่น ผลงานวิจัยของ Liu และคณะ (2009) ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบของมะขามป้อมที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ ราและแบคทีเรีย เช่น *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger* และ *Staphylococcus aureus* ได้ซึ่งมีค่า MIC อยู่ในช่วง 2.5-3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการรายงานของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ซึ่งได้ค้นพบว่าสารสกัดหยาบของมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะขามป้อมอาจเป็นผลมาจากการที่มะขามป้อมประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดได้แก่ Kaempferol 3-β-D-glucopyranoside เคมเฟอรอล (Kaempferol) ควอซิทิน (quercetin) ไอโซคอริลาจิน (isocorilagin) และเจอรานิอิน (geraniin) อีกทั้งสารประกอบระเหยได้ เช่น เบต้า-บอร์โบนีน (β-bourbonene) เทอราโคเซน (teracosane) กรดปาล์มิติก (palmitic acid) ไทมอล (thymol) เบต้า-คาร์โยฟิลลีน (β-caryophyllene) และอัลดีเคน (undecane) (Liu และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | ค่า minimum inhibitory concentration (mg/ml) | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ว่านน้ำ | ชุมเห็ดเทศ | บัวบก | หญ้าฝรั่น | บัวหลวงแดง | มะขามป้อม | ผักแพว | ราตระย่อม | สมอไทย | สีเสียดเทศ | ขิง | Amphotericin B | Penicillin G[a] |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 1.28 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.04 | > 4000 |
| *Debaryomyces hansenii* | 5.12 | 10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| *Hanseniaspora uvarum* | 7 | 10 | >10 | 2.56 | 10 | 10 | >10 | >10 | >10 | 10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| *Pichia membranaefaciens* | 0.64 | >10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.01 | > 4000 |
| *Rhodotorula glutinis* | 1.28 | 1.28 | >10 | >10 | 0.64 | 1.28 | 7 | >10 | 10 | >10 | >10 | 0.04 | > 4000 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 0.64 | >10 | >10 | >10 | 10 | 10 | 10 | 10 | >10 | >10 | >10 | 0.02 | > 4000 |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 0.64 | 0.64 | >10 | >10 | 0.64 | 1.28 | >10 | >10 | >10 | 5.12 | 10 | 0.04 | > 4000 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 5.12 | >10 | >10 | 7 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | >10 | >10 | >10 | 5.12 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 250 |
| *Lactobacillus casei* | 10 | 2.56 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |
| *Lactobacillus plantarum* | 5.12 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | >10 | 7 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |

[a]ความเข้มข้นของ Penicillin G มีหน่วยเป็นยูนิตต่อมิลลิลิตร

**4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**4.2.1 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส**

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดซึ่งมีสาร Acetylthiocholine iodide (ATCI) เป็นสารตั้งต้นซึ่งจะทำปฏิกิริยากับน้ำแล้วถูกไฮโดรไลซ์เกิดเป็นสาร thiocholine ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสาร 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) แล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ 5-thio-nitrobenzoic acid ที่มีสีเหลือง โดยเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือยากาแลนทามีน พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้สูงได้แก่ กระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก (ตารางที่ 4.3) โดยสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด (ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้สูงซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้ง (มากกว่าร้อยละ 70) เท่ากับ 89.35, 75.25, 74.50 และ 72.15 ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างสูง คือ สมุลแว้ง (ร้อยละ 61.41) และชนิดที่มีกิจกรรมการยับยั้งปานกลาง (มากกว่าร้อยละ 40) ได้แก่ พุมเรียง ชุมเห็ดเทศ ถั่วพู มะขามป้อม เปราะหอม ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดงและสีเสียดเทศซึ่งกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อยู่ในช่วงร้อยละ 53.85 ถึง 43.18 ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรไทยชนิดอื่นๆมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้เช่นกันแต่ค่อนข้างต่ำ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือกาแลนทามีนพบว่ามีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับร้อยละ 78.54 โดยสารสกัดจากกระชายดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีกว่ากาแลนทามีนที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

**4.2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**

**4.2.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical**

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรไทย โดยทำการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล ซึ่งจะแสดงในรูปของค่า $EC_{50}$ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่จำเป็นต้องใช้ในการลดความเข้มข้นของอนุมูล DPPH เริ่มต้นไปร้อยละ 50 นั่นหมายถึงถ้าค่า $EC_{50}$ ยิ่งต่ำแสดงว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นยิ่งสูง จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดีมากได้แก่ สมอไทย สมุลแว้ง สีเสียดเทศและมะขามป้อมซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 387.23 ถึง 490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 4.3) ซึ่งใกล้เคียงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (479.57) ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงได้แก่ ลำดวน ดอกบัวสัตตบงกช ผักแพว ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดง ใบพิลังกาสา ขิง เทียนข้าวเปลือก บัวบกและพุมเรียง ซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 895.29 ถึง 1,935.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ระดับปานกลางได้แก่ หญ้าหนวดแมว หัสคุณเทศ มะลิ ชุมเห็ดเทศ ว่านกลีบแรด รากระย่อม เปราะหอม เถาวัลย์เปรียงและแปะก๊วย ($EC_{50}$ เท่ากับ 2,215.89 ถึง 6,124.09 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ กระชายดำ ถั่วพู โกฐเขมา ไพล กล้วยไม้ โกฐกระดูก รากหญ้าคา อัญชัน ว่านร่อนทอง ว่านน้ำและหญ้าฝรั่น ซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 10,005.01 ถึง 62,125.45 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

**4.2.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay**

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรไทย โดยทำการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริก ($Fe^{3+}$-TPTZ) ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส ($Fe^{2+}$-TPTZ) ซึ่งมีสีน้ำเงิน ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร $Fe^{3+}$-TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็น $Fe^{2+}$-TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล นั่นหมายถึงถ้าค่าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมากเช่นกัน จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ มะขามป้อม สมุลแว้งและสมอไทย ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 774.41 ถึง 656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูงรองลงมา ได้แก่ บัวหลวงแดง (636.83 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือหญ้าหนวดแมว ขิง ผักแพว ลำดวน ใบพิลังกาสา พุมเรียงและดอกบัวสัตตบงกช ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 365.49 ถึง 189.58 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ ลูกพิลังกาสา เทียนข้าวเปลือก รากระย่อม หัสคุณเทศ กระชายดำ ว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ ว่านกลีบแรด ไพล บัวบก มะลิ แปะก๊วย โกฐกระดูก กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง โกฐเขมา รากหญ้าคา เปราะหอม ถั่วพู ว่านร่อนทอง หญ้าฝรั่นและอัญชัน ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 163.13 ถึง 8.67 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการรีดิวซ์ได้สูง โดยมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 713.77 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด แต่สารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอลมีกิจกรรมการรีดิวซ์เป็นรองสารสกัดจากสีเสียดเทศและมะขามป้อมที่มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 774.41 และ 740.28 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**4.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ (771.59 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสมุลแว้ง มะขามป้อมและบัวหลวงแดง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 501.25, 405.06 และ 312.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมา ได้แก่ สมอไทย ลำดวนและผักแพวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 163.58, 117.22 และ 108.33 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นๆพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเช่นกันแต่พบในปริมาณค่อนข้างน้อย สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 136.95 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด โดยจะพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อม บัวหลวงแดง และสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอล

**4.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ (2,292.43 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสมุลแว้ง ลำดวน ชุมเห็ดเทศ หัสคุณเทศและผักแพว ซึ่งมีปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 1,317.61, 323.48, 242.41, 225.70 และ 220.87 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างมากได้แก่ พุมเรียง เทียนข้าวเปลือก บัวบก ขิง บัวหลวงแดง มะขามป้อม ใบพิลังกาสาและดอกบัวสัตตบงกชมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 196.70, 168.98, 151.85, 147.75, 125.16, 119.00, 115.83 และ 114.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นๆพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเช่นกันแต่พบในปริมาณค่อนข้างน้อย สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 1,015.84 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด โดยจะพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศ และสมุลแว้งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่ามีผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยสารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด และรองลงมาคือสารสกัดจากสมุลแว้ง

ในการทดลองนี้กระชายดำมีสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Tappayuthpijarn และคณะ (2011) ซึ่งได้คัดเลือกสมุนไพรไทยจำนวน 25 ชนิด พบว่าสารสกัดจากเหง้าของกระชายดำที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีกิจกรรมในการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสค่อนข้างสูงเช่นกัน มีการยับยั้งร้อยละ 64.08 การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากการที่เหง้าของกระชายดำประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (Tewtrakul และคณะ, 2009) ฟีนอลิก ไกลโคไซด์ (phenolic glycosides) และฟลาโวนอล ไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) (Azuma และคณะ, 2008)

สารสกัดจากกลีบดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูง (การยับยั้งร้อยละ 75.25) อย่างไรก็ตาม Ingkaninan และคณะ (2003) ได้รายงานว่าสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกช (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีการยับยั้งเพียงร้อยละ 23.77 ซึ่งเป็นไปได้ที่สารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชอาจช่วยในการปรับปรุงความทรงจำ ดังรายงานการวิจัยของ Yang และคณะ (2008) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากเหง้าของต้นบัวสัตตบงกชที่สกัดด้วยเมทานอล มีผลในการปรับปรุงหน้าที่ความทรงจำและการสร้างเนื้อเยื่อประสาท (neurogenesis) ใน dentate gyrus ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ในการทดลองนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง รวมทั้งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดปริมาณมากถึง 114.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปริมาณสูงถึง 93.01 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งนักวิจัยหลายท่านได้รายงานว่าส่วนต่างๆของสัตตบงกช เช่น เหง้า เมล็ดและเกสรดอกมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกัน (Hu และ Skibsted, 2002; Jung และคณะ, 2003; Rai และคณะ, 2006) การที่สารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงอาจเป็นเพราะสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ซึ่งได้มีผู้ที่เคยแยกสารสำคัญได้จากหลายๆส่วนของต้นสัตตบงกช โดยสารกลุ่มที่สำคัญที่พบ ได้แก่ อัลคาลอยด์ สเตอรอยด์ (steroids) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ (glycosides) และโพลีฟีนอล (polyphenols) (Mukherjee และคณะ, 2008)

สารสกัดจากรากระย่อมมีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างสูงและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ปานกลาง เช่นเดียวกับการรายงานของ Nair และคณะ (2012) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากใบของระย่อมที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 93.1 ซึ่งสูงกว่ากิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ BHT (ร้อยละ 85) และ *Rauvolfia* ชนิดอื่นๆ และสารสกัดจากใบของระย่อม (*Rauvolfia serpentine*) ยังมีสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างสูงที่สุดในบรรดาพืชในสกุล *Rauvolfia* ทั้ง 5 ชนิดที่นำมาวิเคราะห์ โดยพบว่าใบของระย่อมมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 44.91 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัม และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 20.58 มิลลิกรัมต่อกรัมของควอซิทิน การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะสมบัติของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในระย่อม ได้มีรายงานการค้นพบสารอินโดลอัลคาลอยด์ (indole alkaloids) จากพืชในสกุล *Rauvolfia* (Batista และคณะ, 1996; Hu และคณะ, 2006) พืชสกุลนี้มีความสำคัญในทางการแพทย์ เพราะประกอบด้วย N-containing indole alkaloids ในส่วนของราก Wachsmuth และ Matusch (2002) ได้พบว่าในสารสกัดของรากระย่อมที่สกัดด้วยเมทานอลมีแอนไฮโดรเนียมเบส (anhydronium bases) 5 ชนิดเป็นส่วนประกอบสำคัญ ได้แก่ 3,4,5,6-tetradehydroyohimbine, 3,4,5,6-tetradehydro-(z)-geissoschizol, 3,4,5,6-tetradehydrogeissuschizol, 3,4,5,6-tetradehydrogeissuschizine-17-O-β-D-glucopyranoside และเซอเพนทีน (serpentine) ซึ่งเป็นแอนไฮโดรเนียมเบสที่เป็นที่รู้จักดี

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากบัวบกมีสมบัติต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูง พืชสมุนไพรชนิดนี้ได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่ามีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Vinutha และคณะ, 2007) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Sumazian และคณะ, 2010) และกิจกรรมการต้านการอักเสบ (Somchit และคณะ, 2004) การมีกิจกรรมต่างๆเหล่านี้อาจเป็นผลมาจากการที่ใบบัวบกประกอบด้วยสารสำคัญหลายกลุ่มได้แก่ น้ำมันหอมระเหย (ร้อยละ 0.1) อนุพันธ์ของฟลาโวน (flavone derivatives) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) ไตรเทอร์พีนิกสเตอรอยด์ (triterpenic steroids) กรดไตรเทอร์พีนิก (triterpenic acids เช่น asiatic acid, 6-hydroxy asiatic acid และ betulinic acid) และ triterpenic acid sugar esters เช่น asiaticoside, braminoside และอื่นๆ (Brinkhaus และคณะ, 2000) และจากการวิเคราะห์โดย Günther และ Wagner (1996) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบของยาที่ทำจากบัวบก พบว่าตัวอย่างยาส่วนใหญ่ที่นำมาวิเคราะห์มีปริมาณเอเซียติโคไซด์ (asiaticoside) เฉลี่ยประมาณร้อยละ 0.3 และมีสารมาดิคาสโซไซด์ (madecassoside) ประมาณร้อยละ 1.5-2 และมีปริมาณสารไตรเทอร์พีนทั้งหมด (total triterpene) ร้อยละ 3 บัวบกเป็นพืชที่มีการใช้แล้วในตำรับยาโบราณเพื่อช่วยในการส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทและความจำ เอเซียติโคไซด์เป็นสารเทอร์พีนอยด์หลักชนิดหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบในบัวบก ซึ่งได้มีการใช้เป็นสารช่วยส่งเสริมการรับรู้ โดยใช้ในการรักษาอาการของโรคสมองเสื่อม (De Souza และคณะ, 1992) ยิ่งไปกว่านั้น Nasir และคณะ (2012) ยังได้รายงานว่ากรดเอเซียติกมีผลช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และได้มีหลักฐานสนับสนุนว่าสารสกัดจากใบบัวบกสามารถช่วยปรับปรุงความทรงจำได้ จากการวิจัยของ Rao และคณะ (2005) ซึ่งได้ทดลองให้หนูพันธุ์ Swiss albino (Swiss albino mice) ที่มีอายุ 3 เดือนได้รับสารสกัดจากใบบัวบกที่สกัดด้วยน้ำโดยการฉีดเข้าทางปาก ผลของการที่ให้หนูรับประทานสารสกัดจากใบบัวบกพบว่ามีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ซึ่งก็คือส่วนนูนในพื้นของ interior horn ข้างสมองในส่วนของฮิปโปแคมปัสเป็นศูนย์กลางในการประสานงานที่จำเป็นซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกฎข้อบังคับของกิจกรรมการวินิจฉัยและการรวมข้อมูลเข้าด้วยกัน (Squire, 1992) ซึ่งสรุปได้ว่าสารสกัดจากใบบัวบกจะช่วยส่งเสริมการทำงานของสมองในหนูที่มีอายุน้อยได้ นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบบัวบกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างสูง และประกอบด้วยปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกค่อนข้างสูงเช่นกัน ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Maisuthisakul และคณะ (2008) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากใบบัวบกมีค่า AE (antiradical efficiency) ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antiradical activity) เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมของ DPPH ต่อไมโครกรัมของสารสกัด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 12.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 10.6 มิลลิกรัมของรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด

จากการทดลองสารสกัดจากเปราะหอมมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสค่อนข้างดี ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการมีสารประกอบที่สำคัญในเปราะหอม จากการรายงานของ Huang และคณะ (2008) พบว่าสารประกอบออกฤทธิ์ที่มีกลิ่นหอมที่พบในสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมที่วิเคราะห์ด้วย SPME-GC-MS ประกอบด้วย ethyl-trans-*p*-methoxycinnamate, ethyl cinnamate, pentadecane และ 3-carene Chanwitheesuk และคณะ (2005) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจากรากของเปราะหอมที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณวิตามินซีร้อยละ 5.37 มิลลิกรัม วิตามินอีร้อยละ 0.0035 มิลลิกรัม สารประกอบแคโรทีนทั้งหมด (total carotenes) ร้อยละ 1.91 มิลลิกรัม (mg%) สารประกอบแซนโทฟิลล์ทั้งหมด (total xanthophylls) ร้อยละ 1.59 มิลลิกรัม สารแทนนิน (tannins) ร้อยละ 4.48 มิลลิกรัม และจากการทดลองของ Surveswaran และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ (ferric reducing antioxidant power) เท่ากับ 0.87 ไมโครโมลโทรล็อกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.41 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาถึงชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเปราะหอมด้วยวิธี HPLC-DAD ทำให้ทราบถึงชนิดของสารประกอบหลักที่พบในเปราะหอมได้แก่ น้ำมันที่ระเหยได้ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic volatile oils) ฟลาโวนอล (flavonols เช่น kaempferol) และกรดฟีนอลิก (เช่น hydroxybenzoic acids) นอกจากนี้ Othman และคณะ (2006) ได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบในสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมแห้ง (*Kaempferia galangal* L.) ซึ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ด้วยวิธี GC-MS ทั้งหมด 4 fractions พบว่ามีสารประกอบหลายชนิดแต่สารประกอบที่พบในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากที่สุดก็คือ ethyl cinnamate ซึ่งพบปริมาณสูงสุดประมาณร้อยละ 59.59 ใน fraction ที่ 3 ซึ่งเป็นสารประกอบออกฤทธิ์ที่มีกิจกรรมในการทำให้ความดันในหลอดโลหิตลดลง

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากสมุลแว้งมีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chaiyana และ Okonogi (2012) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของน้ำมันหอมระเหยจากใบสมุลแว้งที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าสมุลแว้งมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสปริมาณมากกว่าร้อยละ 25 และจากการทดลองในครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสมุลแว้งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบว่ามีค่าสูงที่สุด อย่างไรก็ตามสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณองค์ประกอบในสารสกัดจากสมุลแว้งยังไม่เคยมีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ แต่มีการรายงานของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของพืชในสกุล *Cinnamomum* ชนิดอื่น ซึ่งพบว่ามีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกันได้แก่ Chua และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดหยาบจาก *Cinnamomum osmophloeum* ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 7.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 313.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัม นอกจากนี้ Prasad และคณะ (2009) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและระบุชนิดของสารฟลาโวนอยด์ที่พบด้วยวิธี HPLC-DAD พบว่าสารสกัดจากใบของ *Cinnamomum* 5 สายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 568.1-2738.4 ไมโครกรัมควอซิทินต่อกรัมและสารฟลาโวนอยด์ที่พบได้แก่ ควอซิทินและเคมเฟอรอล (kaempferol) รวมถึง Chang และคณะ (2001) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบของ *C. osmophloeum* ที่กลั่นด้วยน้ำโดยทำการวิเคราะห์ GC พบว่าองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยในพืชสายพันธุ์นี้ได้แก่ สาร 1,8-ซินีออล (1,8-cineol) เบนซัลดีไฮด์ (benzaldehyde) ลินาโลออล (linalool) และซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) เป็นต้น

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจากสมอไทยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ที่ดีที่สุดและมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Surveswaran และคณะ (2007) ที่พบว่าสารสกัดจากลูกสมอ (*Terminalia chebula*) ของประเทศอินเดียซึ่งสกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ 679.69 มิลลิโมลโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้งและมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 85.60 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ซึ่งในการทดลองนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของลูกสมอพบว่าในลูกสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 35.63 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง และได้นำสารสกัดจากลูกสมอไปวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกชนิดหลักๆที่เป็นส่วนประกอบสำคัญด้วยวิธี HPLC-DAD (diode-array detector) ผลปรากฏว่ามีสารอีลาจิแทนนิน (ellagitannins) แกลโลแทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิน (gallotannins) เช่นสารฟูนิคาลากิน (punicalagin) ชีบูลานิน (chebulanin) และกรดชีบูลาจิก (chebulagic acid) กรดอีลาจิก (ellagic acid) กรดชีบูลิก (chebulic acid) และกรดแกลลิกในระดับสูง และเช่นเดียวกัน Pfundstein และคณะ (2010) ได้จำแนกชนิดของสารโพลีฟีนอลในสารสกัดจากลูกสมอของประเทศอียิปต์ที่สกัดด้วยเมทานอลโดยใช้วิธี HPLC-ESI-MS พบว่าประกอบด้วยกรดชีบูลิกและอีลาจิแทนนิน ปริมาณทั้งหมด 61.8 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง โดยมีกรดชีบูลาจิกเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดถึง 24.2 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง สารที่มีปริมาณรองลงมาจากมากไปหาน้อย ได้แก่ เมทิลนีโอชีบูลิเนท (methyl neochebulinate) กรดชีบูลิก กรดชีบูลานิน และเมทิลนีโอชีบูลาเกท (methyl neochebulagate) ซึ่งพบสารประกอบทั้ง 3 ชนิดในปริมาณ 7.1-9.0 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากทั้ง DPPH assay และ FRAP assay นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดในจำนวนสมุนไพรไทยทั้งหมดที่นำมาทดสอบ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Kassim และคณะ (2011) ที่พบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 99.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมและมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 70.94 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัม และยังพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีสมบัติการต้านอนุมูล DPPH ที่สูงโดยมีการยับยั้งร้อยละ 85.98 ที่ความเข้มข้น 50 ppm จากการที่สีเสียดเทศมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงอาจเนื่องมาจากในสารสกัดจากสีเสียดเทศมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด Kassim และคณะ (2011) ได้จำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากสีเสียดเทศพบว่าสารประกอบดังกล่าวน่าจะเป็น (-)-gallocatechin และ (-)-epigallocatechin และอื่นๆ นอกจากนี้ Anggraini และคณะ (2011) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาเทชินในสารสกัดจากสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) 4 สายพันธุ์จากเกาะสุมาตราประเทศอินโดนีเซียโดยวิธี HPLC ปรากฏว่าสารประกอบหลักที่พบในสารสกัดจากสีเสียดเทศคือคาเทชิน (catechin) โดยปริมาณคาเทชินที่พบในสารสกัดจากสีเสียดเทศทั้ง 4 สายพันธุ์อยู่ในช่วง 99.4 - 108 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้งยังมีปริมาณอีพิคาเทชิน (epicatechin) อยู่ในช่วง 0.49 - 0.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เท่ากับ 0.98 - 0.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับความเข้มข้นของคาเทชินที่มีในสารสกัด และ Diyabalanage และคณะ (1996) ได้แยกสารประกอบอัลคาลอยด์จากเปลือกไม้ของพืชสกุลเดียวกับสีเสียดเทศคือ *Uncaria elliptica* พบว่าสารดังกล่าวคือ ajmalicine, formosamine, isomitraphylline และ mitraphylline

สารสกัดจากมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ที่สูงและมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีที่สอดคล้องกับการรายงานของ Liu และคณะ (2008a) ซึ่งได้ทำการศึกษากิจกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลของมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอลที่เก็บตัวอย่างจาก 6 จังหวัดในประเทศจีน พบว่าสารสกัดจากผลของมะขามป้อมทั้ง 6 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างสูง ($EC_{50}$ อยู่ในช่วง 11.23 - 28.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ยกเว้นสารสกัดจากมะขามป้อมจากจังหวัด Liuzhou ($EC_{50}$ เท่ากับ 45.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมีกิจกรรมต้านอนุมูล DPPH ได้ต่ำกว่ากิจกรรมของ BHA ($EC_{50}$ เท่ากับ 33.30ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 81.5-120.9 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 20.3-38.7 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมสารสกัด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงของสารสกัดจากมะขามป้อมอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในมะขามป้อม Liu และคณะ (2008b) ได้ทำการแยกและจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิก 6 ชนิดจากสารสกัดจากมะขามป้อม สารประกอบดังกล่าวได้แก่ geraniin, quercetin 3-β-D-glucopyranoside, kaempferol 3-β-D-glucopyranoside, isocorilagin ควอซิทินและเคมเฟอรอล และนอกจากนี้ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบริสุทธิ์ที่แยกได้จากมะขามป้อมดังกล่าวโดยใช้วิธี lipid peroxidation และวิธี DPPH ในการวิเคราะห์พบว่าสารประกอบบริสุทธิ์นี้มีกิจกรรมในการต้านออกซิเดชันและกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระสูง จากการทดลองของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยวิธี HPLC พบว่าในสารสกัดจากผลของมะขามป้อมประกอบด้วยกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) ประมาณร้อยละ 11.21 และยิ่งไปกว่านั้นยังมีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง (290 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงโดยมี antioxidant activity เท่ากับร้อยละ 86.4 โดยวิธี β-carotene bleaching

ในการทดลองสารสกัดจากดอกลำดวนมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงและมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี โดยสอดคล้องกันกับการรายงานของ Pripdeevech และ Chukeatirote (2010) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากดอกลำดวนที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 เท่ากับ 194.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและเมื่อวิเคราะห์ถึงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากดอกลำดวนโดยวิธีวิเคราะห์ GC-MS พบว่าประกอบด้วยสารในกลุ่มโมโนเทอร์พีน (monoterpenes) และเซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene) ในสัดส่วนที่สูงโดยพบว่ามีสารประกอบถึง 88 ชนิด สารประกอบหลักๆที่มีในปริมาณมากได้แก่ 1-phenyl butanone (ร้อยละ 20.52) linalool (ร้อยละ 9.27) benzyl alcohol (ร้อยละ 8.75) α-cadinol (ร้อยละ 5.04) เป็นต้น Chaichantipyuth และคณะ (2001) ได้แยก oxidized heptanes 3 ชนิดจากสารสกัดจากดอกลำดวน พบว่าเป็น 7-benzoyloxy-6-oxo-2,4z-heptadiene-I,4-olide, [7-benzoyloxy-4-hydroxy-I-methoxy-2*E*,4z-heptadiene-1,6-dione] และ 7-benzoyloxy-6-oxo-2,4*E*-heptadiene-1,4-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

olide ซึ่ง 2 สารแรกมีกิจกรรมการต่อต้านความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของเซลล์เนื้องอกของมนุษย์ในระดับปานกลาง ส่วนสารประกอบที่ 3 ไม่ออกฤทธิ์

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกบัวหลวงแดงมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH ที่สูงและมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ค่อนข้างดี การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่พบในบัวหลวงแดง ดังการรายงานของ Daboor และ Haroon (2013) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากรากของบัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus*) มีปริมาณสารสำคัญหลายชนิดต่างๆดังนี้ สารประกอบฟีนอลเท่ากับ 2.58 กรัมต่อ 100 กรัม สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารเรซิน (resin) ปริมาณเล็กน้อย สารแทนนินปริมาณมาก และสารสเตอรอล (sterols) ปานกลาง นอกจากนี้พบว่ายังมีการรายงานว่าในสารสกัดจากใบของบัวหลวงแดงมีสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) และแทนนินรวมไปถึงสารซาโปนิน (saponins) ซึ่งพบในปริมาณปานกลาง (Yisa, 2009) อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานเกี่ยวกับส่วนประกอบของสารสำคัญที่แยกได้จากส่วนของดอกของพืชที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกับบัวหลวงแดงนั่นก็คือ *Nymphaea caerulea* ได้แก่ 2s,3s,4s-trihydroxypentanoic acid 2 ชนิด, myricetin 3-*O*-(3"-*O*-acetyl) α-L-rhamnoside, myricetin 3-*O*- α-L-rhamnoside, myricetin 3-*O*-β-o-glucoside, quercetin 3-*O*-(3"-*O*-acetyl)-α-L-rhamnoside, quercetin 3-*O*-α-L-rhamnoside, quercetin 3-*O*-β-D-glucoside, (s)-naringenin 5-*O*-β-o-glucoside, isosalipurposide และ gallic acid ซึ่งพบว่าสารสำคัญเหล่านี้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ (Agnihotri และคณะ, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

| Thai medicinal plant extract | Common name | Acetylcholinesterase inhibition (%) ± SD | | Antioxidant activity | | | Total Phenolic content (mg GAE/ g extract) ± SD | Total Flavonoid content (mg QE/ g extract) ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 mg/ml | 0.1 mg/ml | DPPH assay | | FRAP assay (mmol Fe(II)/ g extract) ± SD | | |
| | | | | $EC_{50}$ (µg extract/mg DPPH) ± SD | AE ($\times10^{-3}$) ± SD | | | |
| *Acorus calamus* | Mytle Grass | 23.17[a] ± 0.72 | 17.55 ± 0.96 | 42,218.57 ± 0.57 | 0.02 ± 0.61 | 123.07 ± 2.42 | 20.90 ± 2.62 | 37.45 ± 0.24 |
| *Angiopteris evecta* | Giant Fern | 26.12 ± 1.47 | 18.95 ± 1.88 | 4,581.61 ± 0.59 | 0.22 ± 0.63 | 96.44 ± 2.36 | 42.03 ± 0.45 | 93.29 ± 0.36 |
| *Ardisia polycephala* | Philang kasa fruits | 46.26 ± 0.46 | 22.51 ± 2.09 | 1,501.64 ± 1.63 | 0.67 ± 1.61 | 163.13 ± 1.71 | 38.22 ± 1.77 | 72.69 ± 0.35 |
| *Ardisia polycephala* | Philang kasa leaves | 35.37 ± 1.12 | 32.54 ± 0.48 | 1,680.61 ± 1.09 | 0.60 ± 1.01 | 224.18 ± 2.69 | 82.29 ± 2.60 | 115.83 ± 0.94 |
| *Atractylodes lancea* | Atractylodes rhizome | 27.70 ± 0.16 | 22.66 ± 2.37 | 10,361.36 ± 1.01 | 0.10 ± 1.04 | 51.95 ± 2.81 | 29.83 ± 2.46 | 32.92 ± 0.25 |
| *Cassia alata* | Ringworm Bush | 49.92 ± 1.85 | 25.43 ± 0.48 | 3,934.82 ± 0.52 | 0.25 ± 0.51 | 109.27 ± 2.75 | 80.40 ± 1.79 | 242.41 ± 0.81 |
| *Centella asiatica* | Asiatic Pennywort | 72.15 ± 2.08 | 34.65 ± 0.48 | 1,926.68 ± 0.22 | 0.52 ± 0.21 | 76.04 ± 2.83 | 46.08 ± 0.85 | 151.85 ± 0.61 |
| *Cinnamomum bejolghota* | Cinnamon | 61.41 ± 2.07 | 15.50 ± 2.67 | 457.82 ± 0.63 | 2.18 ± 0.67 | 657.69 ± 1.81 | 501.25 ± 2.59 | 1,317.61 ± 0.66 |
| *Clitoria ternatea* | Blue pea | 25.55 ± 0.72 | 23.79 ± 1.85 | 29,874.11 ± 1.78 | 0.03 ± 1.67 | 8.67 ± 2.90 | 24.91 ± 2.74 | 24.80 ± 0.24 |
| *Crocus sativus* | Saffron | 29.21 ± 1.94 | 21.64 ± 0.97 | 62,125.45 ± 1.05 | 0.02 ± 1.07 | 14.06 ± 1.69 | 8.14 ± 0.25 | 74.41 ± 0.34 |
| *Dendrobium Sonia* | Dendrobium orchids | 22.32 ± 0.48 | 3.90 ± 1.89 | 18,549.01 ± 1.63 | 0.05 ± 1.62 | 55.12 ± 1.28 | 27.13 ± 1.28 | 41.55 ± 0.14 |
| *Derris scandens* | Hog Creeper | 11.11 ± 0.43 | 6.82 ± 0.73 | 5,456.02 ± 2.25 | 0.18 ± 2.21 | 52.49 ± 2.23 | 85.23 ± 1.23 | 30.97 ± 0.20 |
| *Foeniculum vulgare* | Fennel | 30.51 ± 1.44 | 25.56 ± 1.54 | 1,731.79 ± 0.96 | 0.58 ± 0.98 | 156.03 ± 2.06 | 75.28 ± 3.13 | 168.98 ± 0.51 |
| *Globba malaccensis* | Pudkon | 22.10 ± 0.18 | 3.92 ± 0.92 | 36,564.12 ± 0.46 | 0.03 ± 0.54 | 14.65 ± 2.82 | 4.64 ± 0.42 | 25.38 ± 0.31 |
| *Ginkgo biloba* | Maidenhair tree | 32.73 ± 1.35 | 17.68 ± 1.26 | 6,124.09 ± 0.91 | 0.16 ± 0.92 | 64.86 ± 2.83 | 49.63 ± 2.35 | 50.32 ± 0.17 |
| *Holarrhena curtisii* | Phut Thung | 35.98 ± 5.47 | 25.08 ± 1.50 | 2,731.75 ± 0.33 | 0.37 ± 0.31 | 128.30 ± 1.91 | 75.78 ± 2.13 | 225.70 ± 0.73 |
| *Imperata cylindrica* | Cogongrass | 25.30 ± 2.15 | 19.87 ± 0.92 | 19,913.66 ± 1.10 | 0.05 ± 1.11 | 45.10 ± 2.39 | 22.66 ± 2.54 | 5.53 ± 0.16 |
| *Jasminum sambac* | Jasmine | 29.60 ± 1.46 | 7.84 ± 2.47 | 3,736.93 ± 1.55 | 0.27 ± 1.64 | 68.51 ± 2.08 | 57.26 ± 3.40 | 75.81 ± 0.62 |

Data are mean of three replications.

**ตารางที่ 4.3** สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย (ต่อ)

| Thai medicinal plant extract | Common mane | Acetylcholinesterase inhibition (%) ± SD | | Antioxidant activity | | | Total Phenolic content (mg GAE/ g extract) ± SD | Total Flavonoid content (mg QE/ g extract) ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 mg/ml | 0.1 mg/ml | DPPH assay | | FRAP assay (mmol Fe(II)/ g extract) ± SD | | |
| | | | | $EC_{50}$ (µg extract/mg DPPH) ± SD | AE ($\times 10^{-3}$) ± SD | | | |
| *Kaempferia galanga* | Aromatic ginger | 46.77[a] ± 2.04 | 38.33 ± 2.88 | 5,245.92 ± 2.31 | 0.19 ± 2.41 | 37.14 ± 1.87 | 5.30 ± 0.90 | 9.87 ± 0.02 |
| *Kaempferia parviflora* | Black galingale | 89.35 ± 0.49 | 49.92 ± 2.85 | 10,005.01 ± 1.20 | 0.10 ± 1.21 | 126.47 ± 2.72 | 24.62 ± 2.79 | 17.20 ± 0.18 |
| *Lepisanthes fruticosa* | Luna nut | 53.85 ± 0.14 | 23.00 ± 2.89 | 1,935.39 ± 0.01 | 0.52 ± 0.04 | 214.83 ± 2.56 | 79.50 ± 3.02 | 196.70 ± 0.81 |
| *Melodorum fruticosum* | Lumduan | 28.96 ± 1.61 | 24.70 ± 1.44 | 895.29 ± 2.38 | 1.12 ± 2.31 | 244.37 ± 2.96 | 117.22 ± 1.87 | 323.48 ± 0.31 |
| *Nelumbo nucifera* | Secred Lotus | 75.25 ± 2.60 | 43.79 ± 2.41 | 1,109.99 ± 0.57 | 0.90 ± 0.60 | 189.58 ± 2.87 | 93.01 ± 3.04 | 114.41 ± 0.31 |
| *Nymphaea lotus* | White lotus | 45.58 ± 1.41 | 30.16 ± 2.33 | 1,591.40 ± 0.80 | 0.63 ± 0.81 | 636.83 ± 2.64 | 312.42 ± 3.38 | 125.16 ± 0.17 |
| *Orthosiphon aristatus* | Cat's Whisker | 21.12 ± 2.37 | 13.06 ± 1.46 | 2,215.89 ± 1.56 | 0.45 ± 1.64 | 365.49 ± 2.60 | 94.12 ± 2.97 | 90.72 ± 0.19 |
| *Phyllanthus emblica* | Indian gooseberry | 47.97 ± 0.35 | 21.47 ± 1.74 | 490.47 ± 0.42 | 2.04 ± 0.41 | 740.28 ± 2.12 | 405.06 ± 3.22 | 119.00 ± 0.15 |
| *Polygonum odoratum* | Vietnamese coriander | 22.42 ± 0.13 | 19.76 ± 1.68 | 1,223.80 ± 2.71 | 0.82 ± 2.75 | 262.00 ± 1.56 | 108.33 ± 0.95 | 220.87 ± 0.88 |
| *Psophocarpus tetragonolobus* | Winged bean | 49.51 ± 0.45 | 18.52 ± 1.05 | 10,315.36 ± 1.27 | 0.10 ± 1.21 | 20.74 ± 2.36 | 17.50 ± 3.05 | 64.79 ± 0.24 |
| *Rauvolfia serpentina* | Serpentine root | 74.50 ± 0.33 | 40.47 ± 0.79 | 4,969.19 ± 0.65 | 0.20 ± 0.69 | 149.54 ± 1.62 | 75.78 ± 1.35 | 49.90 ± 0.32 |
| *Saussurea lappa* | Costus | 23.02 ± 1.89 | 3.58 ± 1.44 | 19,522.59 ± 0.53 | 0.05 ± 0.57 | 64.00 ± 1.69 | 24.71 ± 1.61 | 61.64 ± 0.54 |
| *Terminalia chebula* | Myrabolan wood | 27.68 ± 2.01 | 22.15 ± 1.44 | 387.23 ± 0.83 | 2.58 ± 0.81 | 656.19 ± 2.11 | 163.58 ± 2.45 | 64.79 ± 0.35 |
| *Uncaria gambir* | Gambir | 43.18 ± 1.63 | 36.15 ± 0.92 | 478.71 ± 0.51 | 2.09 ± 0.61 | 774.41 ± 1.86 | 771.59 ± 2.21 | 2,292.43 ± 2.00 |
| *Zingiber cassumunar* | Cassumunar ginger | 34.48 ± 0.23 | 25.73 ± 0.92 | 11,649.64 ± 0.87 | 0.09 ± 0.82 | 87.01 ± 1.61 | 20.53 ± 1.90 | 45.97 ± 0.32 |
| *Zingiber officinale* | Ginger | 30.64 ± 0.49 | 12.84 ± 0.40 | 1,715.44 ± 1.15 | 0.58 ± 1.65 | 266.59 ± 2.82 | 74.34 ± 2.37 | 147.75 ± 0.51 |
| Galanthamine | - | 78.54 ± 1.33 | 47.71 ± 1.70 | - | - | - | - | - |
| α – Tocopherol | - | - | - | 479.57 ± 0.87 | 2.09 ± 0.81 | 713.77 ± 2.48 | 136.95 ± 1.89 | 1,015.84 ± 4.63 |

Data are mean of three replications.

## ผลการทดลองตอนที่ 2

## 4.3 สมบัติทางพฤษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการหมัก

### 4.3.1 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมทุกสูตรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากการวิเคราะห์พบว่าเครื่องดื่มน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 4 ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 22.78 และ 22.54 ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.6) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรและที่ผ่านการหมักแบบแยกกากสมุนไพรพบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 และสูตร 3 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้แตกต่างจากไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตรเดียวกันที่ผ่านการหมักแบบแยกกากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างไวน์ที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรและหมักแบบแยกกากสมุนไพรสูตร 1 และสูตร 4 แต่เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ทุกสูตรพบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตร 2 ที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุด

### 4.3.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

#### 4.3.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ส่วนประกอบของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

| รหัสของเครื่องดื่ม | ส่วนประกอบ |
|---|---|
| **เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์** | |
| B1 | กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.7 |
| B2 | แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17 |
| B3 | สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23 |
| B4 | กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13 |
| B5 (ชุดควบคุม) | องุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74 |
| **ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร** | |
| $W_1$ (พร้อมกาก) | กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75 |
| (แยกกาก) | กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75 |
| $W_2$ (พร้อกาก) | แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17 |
| (แยกกาก) | แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17 |
| $W_3$ (พร้อมกาก) | สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23 |
| (แยกกาก) | สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23 |
| $W_4$ (พร้อมกาก) | กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13 |
| (แยกกาก) | กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13 |
| $W_5$ (ชุดควบคุม) | องุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมดและค่าสีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

| ตัวอย่างเครื่องดื่ม | pH | Total acidity (g tartaric acid /100 mL ) | ค่า L ± SD | ค่า a ± SD | ค่า b ± SD | ลักษณะสีที่ปรากฏ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ | | | | | | |
| $B_1$ | $5.47^{a}$± 0.00 | $0.08^{d}$ ± 0.00 | $14.66^{d}$ ± 0.45 | $10.15^{c}$ ± 0.21 | $-4.84^{c}$ ± 0.04 | สีน้ำตาลแดง |
| $B_2$ | $4.10^{c}$± 0.00 | $0.45^{a}$ ± 0.00 | $15.60^{c}$ ± 0.04 | $11.86^{a}$ ± 0.09 | $-5.17^{d}$ ± 0.03 | สีน้ำตาลดำ |
| $B_3$ | $3.44^{e}$± 0.01 | $0.48^{a}$ ± 0.04 | $18.44^{b}$ ± 0.58 | $12.04^{c}$ ± 0.16 | $-2.45^{b}$ ± 0.12 | สีน้ำตาลเข้มออกดำ |
| $B_4$ | $4.45^{b}$± 0.00 | $0.23^{c}$ ± 0.00 | $12.34^{e}$ ± 0.17 | $11.45^{b}$ ± 0.20 | $-6.38^{e}$ ± 0.06 | สีน้ำตาลอ่อน |
| $B_5$ (ชุดควบคุม) | $3.61^{d}$± 0.00 | $0.30^{b}$ ± 0.00 | $30.61^{a}$ ± 0.03 | $5.53^{d}$ ± 0.16 | $-1.40^{a}$ ± 0.01 | สีชมพูอ่อน |
| ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร | | | | | | |
| $W_1$ (พร้อมกาก) | $3.91^{b}$± 0.00 | $0.45^{c}$ ± 0.00 | $12.64^{f}$ ± 0.01 | $13.43^{c}$ ± 0.19 | $-6.39^{f}$ ± 0.02 | สีม่วงแดง |
| (แยกกาก) | $3.73^{e}$± 0.00 | $0.43^{c}$ ± 0.04 | $11.88^{g}$ ± 0.03 | $16.58^{a}$ ± 0.64 | $-4.83^{b}$ ± 0.04 | สีม่วงแดง |
| $W_2$ (พร้อมกาก) | $3.80^{c}$± 0.00 | $0.68^{a}$ ± 0.00 | $10.48^{i}$ ± 0.05 | $15.01^{b}$ ± 0.49 | $-7.44^{i}$ ± 0.06 | สีม่วงน้ำเงิน |
| (แยกกาก) | $3.74^{e}$± 0.00 | $0.68^{a}$ ± 0.00 | $10.71^{h}$ ± 0.04 | $14.98^{b}$ ± 0.03 | $-6.89^{h}$ ± 0.02 | สีม่วงน้ำเงินอ่อน |
| $W_3$ (พร้อมกาก) | $3.61^{g}$± 0.00 | $0.68^{a}$ ± 0.00 | $14.76^{c}$ ± 0.06 | $12.13^{d}$ ± 0.52 | $-6.33^{e}$ ± 0.03 | สีม่วงน้ำตาลเข้ม |
| (แยกกาก) | $3.64^{f}$± 0.00 | $0.60^{b}$ ± 0.00 | $15.82^{b}$ ± 0.04 | $11.88^{d}$ ± 0.66 | $-6.00^{d}$ ± 0.03 | สีม่วงน้ำตาลอ่อน |
| $W_4$ (พร้อมกาก) | $3.93^{a}$± 0.00 | $0.45^{c}$ ± 0.00 | $13.71^{e}$ ± 0.02 | $12.13^{d}$ ± 0.23 | $-6.53^{g}$ ± 0.04 | สีม่วงน้ำตาลเข้ม |
| (แยกกาก) | $3.78^{d}$± 0.00 | $0.45^{c}$ ± 0.00 | $14.45^{d}$ ± 0.03 | $11.84^{d}$ ± 0.78 | $-5.08^{c}$ ± 0.03 | สีม่วงน้ำตาลอ่อน |
| $W_5$ (ชุดควบคุม) | $3.58^{h}$± 0.00 | $0.45^{c}$ ± 0.00 | $19.48^{a}$ ± 0.01 | $9.59^{e}$ ± 0.43 | $-3.76^{a}$ ± 0.01 | สีชมพูอ่อน |

แยกกากสมุนไพรซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า (ตารางที่ 4.6) ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล จากผลการทดลองพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูล DPPH สูงกว่าน้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากการวิเคราะห์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 4 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ได้สูงใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 90.40 และ 91.59 ตามลำดับ ) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรพบว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าไวน์อุ่นชุดควบคุมโดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากการวิเคราะห์พบว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตรเดียวกัน

**4.3.2.2 วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay**

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร ซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า (ตารางที่ 4.6) ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส ($Fe^{3+}$- TPTZ) ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส ($Fe^{2+}$- TPTZ) ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร $Fe^{3+}$- TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้เป็น $Fe^{2+}$- TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าสูงกว่าน้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากการวิเคราะห์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (4.22 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าไวน์องุ่นชุดควบคุมโดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์พบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตรเดียวกัน

**4.3.2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร (ตารางที่ 4.6) สำหรับเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุม(น้ำองุ่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (494.44 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (327.78 และ 262.76 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์ รวมทั้งน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (เครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุม) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างต่ำ

เครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร และพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าไวน์ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (239.71 และ 203.91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

| ตัวอย่างเครื่องดื่ม | AChE[a] inhibition (%) x$10^{-5}$ ± SD | Total Phenolic (mg GAE/g extract) ± SD | Total Flavonoid content (mg QE/g extract) ± SD | Tannin (mg TAE/g extract) | DPPH assay (%Inhibition)x$10^{-1}$ ± SD | FRAP assay (mmol Fe(II)/100ml beverages) ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ | | | | | | |
| $B_1$ | $19.33^{b}$ ± 1.08 | $50.82^{d}$ ± 0.71 | $237.11^{d}$ ± 1.92 | $56.12^{e}$ ± 3.55 | $19.93^{c}$ ± 0.61 | $0.33^{d}$ ± 0.02 |
| $B_2$ | $14.71^{d}$ ± 1.09 | $262.76^{c}$ ± 2.57 | $314.33^{c}$ ± 2.89 | $257.67^{b}$ ± 2.33 | $89.71^{b}$ ± 0.41 | $2.51^{c}$ ± 0.01 |
| $B_3$ | $22.78^{a}$ ± 0.94 | $494.44^{a}$ ± 2.47 | $383.22^{a}$ ± 2.55 | $338.30^{a}$ ± 3.55 | $90.40^{b}$ ± 0.21 | $4.22^{a}$ ± 0.00 |
| $B_4$ | $22.54^{a}$ ± 0.74 | $330.25^{b}$ ± 2.47 | $375.44^{b}$ ± 3.85 | $261.55^{b}$ ± 3.55 | $91.59^{a}$ ± 0.15 | $3.39^{b}$ ± 0.01 |
| $B_5$(ชุดควบคุม) | $17.44^{c}$ ± 0.62 | $31.89^{e}$ ± 2.47 | $207.67^{e}$ ± 1.67 | $45.27^{d}$ ± 3.55 | $20.36^{c}$ ± 0.50 | $0.28^{e}$ ± 0.01 |
| ไวน์องุ่นผสมสมุนไพร | | | | | | |
| $W_1$ พร้อมกาก | $18.15^{e}$ ± 0.71 | $61.11^{g}$ ± 1.23 | $285.44^{e}$ ± 0.96 | $52.25^{g}$ ±3.55 | $26.25^{f}$ ± 0.11 | $0.44^{d}$ ± 0.01 |
| แยกกาก | $19.57^{bcd}$ ± 0.94 | $37.65^{h}$ ± 1.23 | $238.22^{g}$ ± 0.96 | $42.17^{h}$ ± 3.55 | $23.70^{g}$ ± 0.11 | $0.37^{d}$ ± 0.01 |
| $W_2$ พร้อมกาก | $21.35^{a}$ ± 0.36 | $104.73^{e}$ ± 1.89 | $382.67^{a}$ ± 1.67 | $71.63^{e}$ ± 2.33 | $66.77^{d}$ ± 0.15 | $1.28^{e}$ ± 0.02 |
| แยกกาก | $20.28^{ab}$ ± 0.72 | $74.69^{f}$ ± 1.23 | $257.66^{f}$ ± 2.89 | $64.65^{f}$ ± 2.35 | $47.80^{e}$ ± 0.21 | $0.97^{e}$ ± 0.01 |
| $W_3$ พร้อมกาก | $19.10^{cde}$ ± 0.21 | $239.71^{a}$ ± 2.57 | $372.67^{b}$ ± 1.67 | $157.67^{a}$ ± 2.33 | $94.11^{a}$ ± 0.06 | $3.57^{a}$ ± 0.05 |
| แยกกาก | $16.84^{f}$ ± 0.54 | $203.91^{c}$ ± 1.89 | $317.67^{d}$ ± 3.34 | $132.87^{b}$ ± 3.55 | $93.91^{a}$ ± 0.06 | $3.19^{a}$ ± 0.03 |
| $W_4$ พร้อมกาก | $19.93^{bc}$ ± 0.36 | $209.26^{b}$ ± 1.23 | $372.11^{b}$ ± 1.92 | $84.81^{e}$ ± 3.55 | $86.73^{b}$ ± 0.21 | $2.14^{b}$ ± 0.05 |
| แยกกาก | $18.51^{de}$ ± 0.72 | $129.84^{d}$ ± 1.89 | $338.22^{c}$ ± 2.55 | $77.05^{d}$ ± 1.34 | $73.95^{c}$ ± 0.11 | $1.21^{c}$ ± 1.01 |
| $W_5$ ชุดควบคุม | $2.85^{g}$ ± 0.71 | $27.78^{i}$ ± 1.23 | $196.00^{h}$ ± 1.67 | $34.42^{i}$ ± 2.33 | $20.52^{h}$ ± 0.41 | $0.35^{d}$ ± 0.13 |

[a] Acetylcholinesterase inhibition assay

มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) รองลงมาคือไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (209.26 และ 126.84 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 (104.73 และ 74.73 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนไวน์กระชายดำทั้งที่หมักพร้อมกากและหมักแยกกาก รวมทั้งไวน์ชุดควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างต่ำ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

**4.3.2.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (382.67 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ที่ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูงรองลงมาคือ น้ำสมุนไพรผสมผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (375.44 และ 314.33 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์และน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณปานกลาง

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นน้ำผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร จากผลการทดลองพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (382.67 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) ซึ่งแตกต่างจากสมบัติทางพฤษเคมีชนิดอื่น สำหรับไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูงรองลงมาคือ ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (372.67 และ 372.11 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไวน์กระชายดำที่หมักพร้อมกาก (285.44 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ในกรณีของการหมักแยกกากสมุนไพรผลปรากฏว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยทั้งหมดต่ำกว่าการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุดคือไวน์องุ่นน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (338.22 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 ไวน์องุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 และไวน์กระชายดำที่หมักแยกกาก (317.67, 257.67 และ 238.22 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์ชุดควบคุม พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำที่สุดคือ 207.67 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.6)

**4.3.2.5 ปริมาณแทนนินทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาสารแทนนินทั้งหมดพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (338.24 มิลลิกรัมของกรดแทนนินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (261.55 และ 257.67 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์และน้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดค่อนข้างต่ำ และเช่นเดียวกันไวน์อุ่นที่ผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์ชุดควบคุม และพบว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงที่สุด (157.67 และ132.87 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) รองลงมาคือไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (84.81และ 77.05 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 (71.62 และ 64.65 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์กระชายดำทั้งที่หมักพร้อมกากและหมักแยกกาก รวมทั้งไวน์ชุดควบคุม พบว่าปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่ได้ค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 4.5)

การที่พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 2, 3 และ 4 ทั้งที่ไม่ผ่านการหมักและที่ผ่านการหมักมีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าน้ำกระชายดำที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ไวน์กระชายดำที่ผ่านการหมักพร้อมกากและที่ผ่านการหมักแยกกาก รวมไปถึงเครื่องดื่มชุดควบคุม (น้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์ และไวน์อุ่น) คาดว่าน่าจะเป็นเพราะกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่มีอยู่ปริมาณมากในสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำสมุนไพร เช่น กระชายดำ บัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก จากผลการวิจัยตอนที่ 1 พบว่าสารสกัดจากกระชายดำ บัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างมากคือร้อยละ 89.35 75.25 74.50 และ 72.15 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทบาทหลักของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสคือจะทำให้มีการสิ้นสุดการส่งผ่านกระแสประสาทบริเวณช่องว่างโคลีนเนอร์จิก (cholinergic synapse) โดยการไฮโดรไลซิสของอะซิติลโคลีนอย่างรวดเร็ว การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นกลยุทธ์อย่างหนึ่งสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โรค Senile dementia (สมองเหี่ยว) โรค Ataxia (โรคกล้ามเนื้อเสียการประสานงาน) โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง และโรคพาร์กินสัน (Pakinson's disease) (Mukherjee และคณะ, 2007)

จากผลการศึกษานี้ที่พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 3 และสูตร 4 ทั้งที่เป็นเครื่องดื่ม พาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากและที่ผ่านการหมักแยกกากมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง การที่เป็นเช่นนี้คาดว่าเป็นผลมาจากการมีสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีผสมกัน เช่น สมอไทย มะขามป้อม ลูกพิลังกาสา บัวสัตตบงกช ขิง บัวหลวงแดง และสีเสียดเทศ เพราะจากผลการวิจัยตอนที่ 1 พบว่า สมอไทย มะขามป้อม และสีเสียดเทศ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีโดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 387.23 490.47 และ 478.71 ตามลำดับ ส่วนบัวสัตตบงกช ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดง และขิง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างดี โดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 1,109.99 1,501.64 1,591.40 และ 1,715.44 ตามลำดับ และจากผลการทดลองพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ AQIL และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาสมุนไพร 12 ชนิดซึ่งสกัดด้วยเมทานอล พบว่าสมอไทยมีร้อยละของการยับยั้งอนุมูล DPPH ได้สูงถึง 85.36 Charoenteeraboon และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาสมุนไพรไทยเพื่อใช้สำหรับการรักษาโรคต่างๆ พบว่ามะขามป้อมมีสมบัติการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีโดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 51.3 ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการดื่มเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตรดังกล่าวจะช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายซึ่งอนุมูลอิสระของออกซิเจน (reactive oxygen species หรือ ROS) และอนุมูลอิสระของไนโตรเจน (reactive nitrogen species หรือ RNS) ถูกสร้างขึ้นโดยระบบภายในร่างกาย เมื่อมีการสัมผัสกับสภาวะทางเคมีกายภาพ หรือสภาวะที่ก่อให้เกิดโรค อนุมูลอิสระสามารถเปลี่ยนแปลงไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ และเกี่ยวข้องกับการแก่ชรารวมไปถึงการเกิดโรคของมนุษย์ (Devasagayam และคณะ, 2004)

การที่น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 (ประกอบด้วย สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24) รวมทั้งน้ำสมุนไพราสเจอร์ไรส์สูตร 4 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (ประกอบด้วย กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง คาดว่าอาจจะเป็นเพราะสมุนไพรทุกชนิดที่ใช้เตรียมน้ำสมุนไพรผสมมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะมะขามป้อมในน้ำสมุนไพรผสมสูตร 3 และสีเสียดเทศในน้ำสมุนไพรผสมสูตร 4 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูง โดยธนวรรณและคณะ (2555) ได้รายงานว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากสีเสียดเทศและสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 771.59 และ 405.06 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

เช่นเดียวกันกับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของเครื่องดื่ม การที่เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่สูงอาจเป็นเพราะสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้ในการเตรียมน้ำสมุนไพรทั้ง 2 สูตร มีสารแทนนินที่สูงเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง เช่น มะขามป้อม สมอไทย เนื่องจากแทนนินเป็นหนึ่งในสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบได้ทั่วไปในพืช (Shahidi และ Naczk, 2004) ดังเช่นรายงานของ Ramakrishna และคณะ (2012) ที่พบว่าในผลของมะขามป้อมอุดมไปด้วยสารแทนนินที่มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 28 ของปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่พบในต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ DV และคณะ (2012) ซึ่งรายงานว่าในสมอไทยมีองค์ปรกอบของแทนนินสูงถึงร้อยละ 30

สำหรับเหตุผลที่ว่าในไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สูง ซึ่งแตกต่างจากไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และสูตร 4 ปริมาณมากกว่าในสูตร 2 นั้นคาดว่าอาจเป็นผลมาจากการรวมตัวกันของปริมาณฟลาโวนอยด์ในสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้เตรียมน้ำสมุนไพรสูตร 2 (ประกอบด้วย แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 และอัญชันร้อยละ 0.36) โดยสมุนไพรเหล่านี้โดยเฉพาะลำดวน ใบบัวบก บัวหลวงแดง และใบพิลังกาสา มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองของธนวรรณและคณะ (2555) ที่ได้รายงานว่าในสารสกัดพืชสมุนไพรเหล่านี้ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูง คือมีปริมาณ 323.48, 151.85, 125.16 และ 115.83 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

ในการทดลองครั้งนี้การที่พบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพร คาดว่าอาจเป็นเพราะในระหว่างกระบวนการหมักไวน์ด้วยยีสต์ *S. cerevesiae* มีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักหลายชนิด โดยเฉพาะเอทานอล ซึ่งเอทานอลที่มีอยู่ในปริมาณมากนี้จะไปช่วยสกัดสารประกอบต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของสมุนไพรออกมาตลอดระยะเวลาการหมัก ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sirikhansaeng และคณะ (2008) ซึ่งได้รายงานว่าการหมักไวน์มะขามผสมกระชายดำ มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (24.41 มิลลิกรัมต่อไวน์ 100 มิลลิลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักสภาวะอื่นๆ โดยมีการเติมผิวกระชายดำลงในไวน์มะขามระหว่างกระบวนการหมักไวน์เป็นเวลา 4 เดือน นอกจากนี้ Shahidi และ Naczk (2003) ได้กล่าวไว้ในทำนองเดียวกันว่ากระบวนการหมักไวน์ที่ยาวนานทำให้สารที่เป็นองค์ประกอบขององุ่นถูกสกัดลงในไวน์โดยเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย จำนวน 34 ชนิดด้วยเทคนิค Disc diffusion method และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยเทคนิค Agar dilution ผลปรากฏว่าสารสกัดจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หญ้าฝรั่น บัวหลวงแดงและมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิดมากที่สุด ส่วนใหญ่ค่า MIC น้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อยีสต์ที่ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดคือ *Shizosaccharomyces pombe* ด้วยสารสกัดจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ บัวหลวงแดงและมะขามป้อม (ค่า MIC อยู่ในช่วง 0.64-1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดคือ *Lactobacillus casei* โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วน *Acetobacter aceti* ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากหญ้าฝรั่นได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สำหรับการศึกษาด้านพฤกษเคมี ได้แก่ สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ผลปรากฏว่าสารสกัดจากกระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบกมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดี (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่าร้อยละ 70) และสารสกัดจากสมุลแว้ง พุมเรียง ชุมเห็ดเทศ ถั่วพู มะขามป้อม เปราะหอม ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดงและสีเสียดเทศมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ปานกลาง (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วงร้อยละ 43.18-61.41) ส่วนสมุนไพรไทยที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้ดี ได้แก่ สารสกัดจากสมอไทย สมุลแว้ง สีเสียดเทศและมะขามป้อม ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH (มีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 387.23-490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และเป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี Ferric reducing antioxidation power (FRAP) assay (มีค่าอยู่ในช่วง 774.41-656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้สมุนไพรเหล่านี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง ได้แก่ สารสกัดจากสีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อมและบัวหลวงแดงซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 771.59, 501.25, 405.06 และ 312.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสำหรับสารสกัดที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูงได้แก่ สีเสียดเทศ สมุลแว้ง ลำดวนและชุมเห็ดเทศมีค่าเท่ากับ 2,292.43, 1,317.61, 323.48 และ 242.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อม ลำดวน กระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม สมอไทยและบัวบกไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเภทเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ เช่น น้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์สมุนไพร เพื่อป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์และโรคร้ายแรงอื่นๆที่มีสาเหตุมาจากการเกิดของอนุมูลอิสระ เช่น โรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง นอกจากนี้สมุนไพรเหล่านี้ยังมีสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำผลไม้และไวน์เน่าเสียได้

สำหรับการศึกษาสมบัติด้านพฤกษเคมี ได้แก่ สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร ผลปรากฏว่า น้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และน้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 ที่ระดับความเจือจาง 1: 10000 เท่า มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีที่สุด (ร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 22.78 และ 22.54 ตามลำดับ) ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนได้ค่อนข้างสูงใกล้เคียงกัน (ร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 21.35 และ 20.28 ตามลำดับ)

สำหรับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH เครื่องดื่มที่มีสมบัติต้านอนุมูล DPPH ได้ดี ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 91.59 และ 90.40 ตามลำดับ สำหรับไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ดีที่สุด มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 94.11 และ 93.91 ตามลำดับ ส่วนการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ผลปรากฏว่า เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดคือ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 (4.22 และ 3.39 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 พบว่ามีฤทธิ์ในการรีดิวซ์ดีที่สุด (3.57 และ 3.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

นอกจากนั้นเครื่องดื่มเหล่านี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูง ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 494.44, 330.25, 262.76, 239.71 และ 209.91 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร เครื่องดื่มที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูง ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 (383.22 และ 375.44 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (382.67, 372.67 และ 372.11 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และเครื่องดื่มที่มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดในปริมาณที่สูง ได้แก่ ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 ซึ่งมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 338.29, 261.55, 257.67, 157.67 และ 132.87 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรมีกิจกรรมการเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและการต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่น เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 ไปปรับปรุงพัฒนาสูตรให้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น เพื่อให้สามารถนำไปบริโภคเป็นเครื่องดื่มทางเลือกที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์และโรคร้ายแรงอื่นๆ ที่มีสาเหตุมาจากการเกิดของอนุมูลอิสระ เช่น โรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


Agnihotri, V. K., ElSohly, H. N., Khan, S. I., Smillie, T. J., Khan, I. A., & Walker, L. A. (2008). Antioxidant constituents of *Nymphaea caerulea* flowers. *Phytochemistry*, *69*, 2061-2066.

Akinjogunla, O. J., Adegoke, A. A., Udokang, I. P., & Adebayo-Tayo, B. C. (2009). Antibacterial potential of *Nymphace lotus* (Nymphaeaceae) against wound pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, *3*, 138-141.

Akinjogunla, O. J., Yah, C. S., Eghafona, N. O., & Ogbemodia, F. O. (2010). Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphace lotus* (Nymphaeaceae) on Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from clinical samples. *Annals of Biological Research*, *1*, 174-184.

Anekonda, T. S., & Reddy, P. H. (2005). Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease ?. *Brain Research Review*, *50*, 361-376.

Anggraini, T., Tai, A., Yoshino, T., & Itani, T. (2011). Antioxidative activity and catechin content of four kinds of *Uncaria gambir* extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of Biochemistry Research*, *5*, 33-38.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. (17th ed.). Gaithersburg, MD:Association of Official Analytical Chemists.

Atta-ur-Rahman., & Choudhary, M. I. (2001). Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure and Applied Chemistry*, *73*, 555–560.

Azuma, T., Tanaka, Y., & Kikuzaki, H. (2008). Phenolic glycosides from *Kaempferia parviflora*. *Phytochemistry*, *69*, 2743-2748.

Batista, C. V. F., Schripsema, J., Verpoorte, R., Rech, S. B., & Henriques, A. T. (1996). Indole alkaloids from *Rauvolfia sellowii*. *Phytochemistry*, *41*, 969-973.

Bartowsky, E. J., & Henschke, P. A. (2008). Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine. *International Journal of Food Microbiology*, *125*, 60-70.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenschaft and Technologie*, *28*, 25-30.

Brinkhaus, B., Lindner, M., Schuppan, D., & Hahn, E. G. (2000). Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medicinal plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine*, *7*, 427-448.

Chaichantipyuth, C., Tiyaworanan, S., Mekaroonreung, S., Ngamrojnavanich, N., Roengsumran, S., Puthong, S., Petsom, A., & Ishikawa, T. (2001). Oxidized heptanes from flowers of *Melodorum fruticosum*. *Phytochemistry*, *58*, 1311-1315.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chaiyana, W., & Okonogi, S. (2012). Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine, 19*, 836-839.

Chang, S. T., Chen, P. F., & Chang, S. C. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology, 77*, 123-127.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry, 92*, 491-497.

Charoenteeraboon1, J., Ngamkitidechakul, C., Soonthornchareonnon, N., Kanjana, J., & Seewaboon Sireeratawong. 2010. Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of Phyllanthus emblica Linn. *Songklanakarin J. Sci. Technol, 32(6),* 599-604.

Chua, M. T., Tung, Y. T., & Chang, S. T. (2008). Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. *Bioresource Technology, 99*, 1918-1925.

Collins, C. H., Lyne, P. M., & Grange, J. M. (2001). *Collins and Lyne's microbiological method*., 7th ed. New York: Oxford University Press, Inc.

Costello, P. J., & Henschke, P. A. (2002). Mousy off-flavor of wine: precursors and biosynthesis of the causative N-heterocycle 2-ethytetrchydropyridine, 2-acetylterahdropyridine, and 2-acetyl-1-pyrroline by *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*, 7079-7087.

De Souza, N. D., Shah, V., Desai, P. D., Inamdar, P. K., D'Sa, A., Ammonaman-chi, R., Dohadwalla, A. N., Lakdawala, A. D., Mandrekar, S. S., & Blum-bach, J. (1992). 2, 3, 23-Trihydroxy-urs-12-ene and its derivatives, processes for their preparation and their use. *European Patent, 3*, 83–171.

Desgranges, B., Baron, J-C., Sayette, V., Petit-Taboue´, M-C., Benali, K., Landeau, B., Lechevalier, B., & Fustache, F. (1998). The neural substrates of memory systems impairment in Alzheimer's disease A PET study of resting brain glucose utilization. *Brain: A Journal of Neurology, 121*, 611-631.

Devasagayam, TPA., Tilak, JC., Boloor, KK., Ketaki, S.S., Ghaskadbi, S.S., & Lele, RD. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *JAPI, 52,* 794-804.

Diyabalanage, T. K. K., Kumarihamy, B. M. M., Wannigama, G. P., Jayasinghe, L., Merlini, L., & Scaglioni, L. (1996). Alkaloids of *Uncaria elliptica*. *Phytochemistry, 45*, 1731-1732.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DV, S.P., N, S.S., Avanigadda, S., & Vangalapati, M. (2012). Pharmacological review on *Terminalia Chebula*. *International Journal of reseach in Pharmaceutical and Biomedical Science*, *3(2)*, 679-683.

Grosvenor, P. W., Supriono, A., & Gray, D. O. (1995). Medicinal plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: antibacterial and antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, *45*, 97-111.

Günther, B., & Wagner, H. (1996). Quantitative determination of triterpenes in extracts and phytopreparations of *Centella asiatica* (L.) Urban. *Phytomedicine*, *3*, 59-65.

Hu, M., & Skibsted, L. H. (2002). Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*). *Food Chemistry*, *76*, 327-333.

Hu, X. J., He, H. P., Zhou, H., Di, Y. T., Yang, X. W., Hao, X. J., & Kong, L. Y. (2006). New Indole alkaloids from *Rauvolfia yunnanensis*. *Helvetica Chimica Acta*, *89*, 1344-1350.

Huang, L., Yagura, T., & Chen, S. (2008). Sedative activity of hexane extract of *Kaempferia galangal* L. and its active compound. *Journal of Ethnopharmacology*, *120*, 123-125.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimeter determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, *7*, 88-95.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanism: from the beginning to the end. *Society for Free Radical Biology and Medicine*, *31*, 261-272.

He, C., Pan, Y., Ji, X., & wang, H. (2012). Antioxidants: introduction. In cirillo, G., & Iemma, F. (Eds), *Antioxidant polymers* (pp. 1-14). USA: Scrivener Publishing LLC.

Hollander, E., Mohs, R. C., & Davis, K. L. (2005). Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease?. *Brain Research Reviews*, *50*, 361-376.

Howes, M-J. R., & Houghton, P. J. (2003). Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *75*, 513–527.

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, R., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, Antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, *108*, 986-995.

Ibrahim, D., & Osman, H. (1995). Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *Journal of Ethnopharmacology*, *45*, 151-156.

Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., & Chuenchom, K. (2003). Screening for acetylcholinesterase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, *89*, 261-264.

Jang, E. E., Mcdougall, D. E., Pollon, D., Herbert, M., & Russell, P. (2008). Integrative mixed methods data analytic strategies in research on school success in challenging circumstances. *Mixed Methods Research*, *2*, 221-276.

Jung, H. A., Kim, J. E., Chung, H. Y., & Chol, J. S. (2003). Antioxidant Principles of *Nelumbo nucifera* stamen. *Archives of Pharmacal Research*, *26*, 279-285.

Kassim, M. J., Hussin, M. H., Achmad, A., Dahon, N. H., Suan, T. K., & Hamdan, H. S. (2011). Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambir* extracts. *Majalah Farmasi Indonesia*, *22*, 50-59.

Khan, M. R., Kihara, M., & Omoloso, A. D. (2001). Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, *72*, 561-564.

Kalaria, R. N., Maestre, G. E., Arizaga, R., Friedland, R. P., Galasko, D., Hall, K., Luchsinger, J. A., Ogunniyi, A., Perry, E. K., Potocnik, F., Prince, M., Stewart, R., Wimo, A., Zhang, Z. X., & Antuono. P. (2008). Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *The Lancet Neurology*, *7*, 812-826.

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). *In vitro* assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*, 788-795.

Kumar, S., Stohlgren, T. J., & Chong, G. W. (2006). Spatial heterogeneity influences native and nonnative plant species richness. *Ecology*, *87*, 3186-3199.

Lado, C., Then, M., Varga, I., Szóke, E., & Szentmihályi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *Biosciences*, *59*, 354-358.

Lawlor, K. A., Schuman, J. D., Simpson, P. G., & Taormina, P. J. (2009). Microbiological spoilage of beverages. In W. H. Srer, & M. P. Doyle (Eds.), *Compendium of microbiological spoilage of food and beverages* (pp. 245-284). New York: Springer Science Business media, LLC.

Lee, H. S. (2007). Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource Technology*, *98*, 1324-1328.

Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., & Jiang, Y. (2008a). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, *21*, 219-228.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liu, X., Cui, C., Zhao, M., Wang, J., Luo, W., Yang, B., & Jiang, Y. (2008b). Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, *109*, 909-915.

Liu, X., Zhao, M., Wang, J., & Luo, W. (2009). Antimicrobial and antioxidant activity of *Emblica* extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction and methanol extraction. *Food Biochemistry*, *33*, 307-330.

Loureiro, V., & Querol, A. (1999). The prevalence and control of spoilage yeast in food and beverages. *Trend in Food Science & Technology*, *10*, 356-365.

Lyras, L., Perry, R. H., Perry, P. G., Ince, P. G., Jenner, P., & Halliwell, B. (1998). Oxidative damage to proteins, lipids and antioxidant enzyme regions from patients with dementia with Lewy bodies. *Journal of Neurochemistry*, *71*, 302-312.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, *21*, 229-240.

Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*, *41*, 1153-1159.

Markesbery, W. R., & Carney, J. M. (1999). Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathology*, *9*, 133-146.

Martins, A.C., Bukman, L., Vargas, A.M.M., Barizão, É.O., Moraes, J.C.G., Visentainer, J.V. & Almeida, V.C. (2013). The antioxidant activity of teas measured by the FRAP method adepted to the FIA system: optimizing the conditions using the response surface methodology. *Foog Chemitry, 138,* 574-580.

Meléndez, P. A., & Capriles, V. A. (2006). Antibacterial properties of tropical plants from Ruerto Rico. *Phytomedine*, *13*, 272-276.

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine, 14*, 289-300.

Mukherjee, P. K., Mukherjee, D., Maji, A. K., Rai, S., & Heinrich, M. (2008). The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) - phytochemical and therapeutic profile. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *61*, 407-422.

Nair, V. D., Panneerselvam, R., & Gopi, R. (2012). Studies on methanolic extract of *Rauvolfia* species from Southern Western Ghats of India-*In vitro* antioxidant properties, characterization of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, *39*, 17-25.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Othman, R., Ibrahim, H., Mohd, M. A., Mustafa, M. R., & Awang, K. (2006). Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galangal* L. *Phytomedicine*, *13*, 61-66.

Pesewu, G. A., Cutter, R. R., & Humber, D. P. (2008). Antimicrobial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of Ethnopharmacology*, *116*, 102-111.

Pfundstein, B., Desouky, S. K., Hull, W. E., Haubner, R., Erben, G., & Owen, R. W. (2010). Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytomedicine*, *71*, 1132-1148.

Pintado, C., de Miguel, A., Acevedo, O., Nozal, L., & Novella, J. L. (2011). Bactericidal effect of Saffron (*Crocus sativus* L.) on *Salmonella enterica* during storage. Food Control, *22*, 638-642.

Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., & Jiang, Y. (2009). Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *10*, 627-632.

Pripdeevech, P., & Chukeatirote, E. (2010). Chemical compositions, antifungal and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Melodorum fruticosum* L. flowers. *Food and Chemical Toxicology*, *48*, 2754-2758.

Rahman, M. S., Ali, M. Y., & Ali, M. U. (2008). In vitro screening of two flavonoid compounds isolated from *Cassia alata* L. leaves for fungicidal activities. *African Journal of Bioteclinology*, *16*, 139-142.

Ramakrishna, V., Gopi, S., & Setty, O.H. (2012). Indain gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.) :phaytochemistry pharmacology and thereutics. Medicinal Plants: Ohytochemistry Pharmacology and Therepeutics, *2*, 19-33.

Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2006). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *Journal of Ethnopharmacology*, *104*, 322-327.

Raj, M. S., Devi, K. S., & Thomas, A. (2012). Antibacterial property of *Crocus sativas* L. *Journal of Herbal Science*, *2*, 10-16.

Rajput, S. B., & Karuppayil, S. M. (2013). β-asarone, an active principle of *Acorus calamus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rhizome, inhibits morphogenesis, biofilm formation and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. *Phytomedicine*, *20*, 139-142.

Rao, S. B., Chetana, M., & Devi, P. U. (2005). *Centella asiatica* treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiology & Behavior*, *86*, 449-457.

Saadabi, A. M. A., & Moglad, E. H. (2012). Experimental evaluation of certain Sudanese plants used in Folkloric medicine for their antibacterial activity (In-Vitro Tests). *Journal of Applied Science Research*, *7*, 253-256.

Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pak. Journal of Pharm. Science, 2*, 102-106.

Shahdi, F., & Naczk, M. (2003). *Phenolic in food and nutraceuticals*. NewYork:CRC Press LLC, (chapter 1).

Squire, L. R. (1992). Memory and hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychological Review*, *99*, 195-231.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventor, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocateu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152-178.

Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., Heluani, C., & Lampasona, M.P. (2008). Chemistry antioxidant antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of zingiber officinale. *Food and Chemical Technology, 46,* 3295-3302.

Sirikhansaeng, P., Vichitphan, K., & Vichitphan, S. (2008). The flavonoid content and antibacterial activity from *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker in Krachai-Dum herbal wine. *Journal of Biotechnology, 136,* S746–S747.

Somchit, M. N., Reezal, I., Nur, I. E., & Mutalib, A. R. (2003). In vitro antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology*, *84*, 1-4.

Somchit, M. N., Sulaiman, M. R., Zuraini, A., Samsuddin, L., Somchit, N., Israf, D. A., & Moin, S. (2004). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Centella asiatica*. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, *36*, 377-380.

Stewart, C. M., Goh, E. L. C., Hocking, A. D., Buckle, K. A., & Fleet, G. H. (2007). Baroprotective effect of increased solute concentrations on yeast and moulds during high pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *8*, 535–542.

Sumazian, Y., Syahida, A., Hakiman, M., & Maziah, M. (2010). Antioxidant activities,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flavonoids, ascorbic acid and phenolic contents of Malaysian vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*, 881-890.

Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, *102*, 938-953.

Swerdlow, R. H. (2011). Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1812*, 1630-1639.

Tappayuthpijarn, P., Itharat, A., & Makchuchit, S. (2011). Acetylcholinesterase inhibitory activity of Thai traditional Nootropic remedy and its herbal ingredients. *Journal of the Medical Association of Thailand*, *94*, 183-189.

Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., & Cheenpracha, S. (2009). Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*. *Food Chemistry*, *115*, 534-538.

Vinutha, B., Prashanth, D., Salma, K., Sreeja, S. L., Pratili, D., Padmaja, R., Radhika, S., Amit, A., Venkateshwarlu, K., & Deepak, M. (2007). Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, *109*, 359-363.

Wachsmuth, O., & Matusch, R. (2002). Anhydronium bases from *Rauvolfia serpentina*. *Phytochemistry*, *61*, 705-709.

White, P., Goodhardt, M. J., Keet, J. P., Hiley, C. R., Carrasco, L. H., Williams, I. E. I., & Bowen, D. M. (1977). Neocortical cholinergic neurons in elderly people. *The Lancet*, *309*, 668-671.

Whitehouse, P. J. (1998). The cholinergic deficit in Alzheimer's disease. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *59*, 19-22.

Yang, W. M., Shim, K. J., Choi, M. J., & Park, S. Y. (2008). Novel effects of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on memory and neurogenesis in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, *443*, 104-107.

Yang, J., Martinson, T.E. & Liu, R.H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activity of grape. *Food Chemistry, 116*, 332-339.

Yisa, J. (2009). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea lotus*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *3*, 3975-3979.

Zhu, X., Raina, A. K., Lee, H. G., Casadesus, G., Smith, M. A., & Perry, G. (2004). Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Brain Research, 1000*, 32-39.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ประวัตินักวิจัย**

1. รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ
2. หน่วยงานที่สังกัดและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถ. ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์: (02) 3298000 ต่อ 6264, 6225, 6226 โทรสาร: (02) 3298427
E-mail: knsuree@kmitl.ac.th
3. ประวัติการศึกษา
- สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วุฒิ วท.บ.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)
- สำเร็จการศึกษาปริญญาโท จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วุฒิ วท.ม.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)
- สำเร็จการศึกษาปริญญาเอก จาก University of Georgia ประเทศสหรัฐอเมริกา
วุฒิ Ph.D. (Food Science)
4. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
จุลชีววิทยาทางอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้