กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทย

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Thai Local Fruit Extracts

นางสาวกนิษฐา ขันฮะ

นางสาวจิราพร พันธ์อิ่ม

นางสาวจุฑาทิพย์ จิตรเอียด

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Thai Local Fruit Extracts

Miss Kanittha Khanha

Miss Jiraphorn Phan-im

Miss Jutatip Jitaied

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Thai Local Fruit Extracts

ชื่อนักศึกษา นางสาวกนิษฐา ขันธะ
นางสาวจิราพร พันธ์อิ่ม
นางสาวจุฑาทิพย์ จิตรเอียด

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์	
กรรมการ รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
กรรมการ ดร. จิดาภา ทิน้อย	

.....

(ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชื่อนักศึกษา นางสาวกนิษฐา ขันธะ
นางสาวจิราพร พันธ์อิ่ม
นางสาวจุฑาทิพย์ จิตรเอียด

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2551

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสกัดผลไม้พื้นบ้านไทยทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา (*Ardisia polycephala* Wall.) มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) มะขวิด (*Limonia acidissima* Linn.) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) มะดัน (*Garcinia schomburgkiana* Pierrec.) และมะเฟือง (*Averrhoa carambola* Linn.) ด้วยเมทานอล นำสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยเหล่านี้มาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 6 ชนิด เชื้อยีสต์ทั้งหมด 4 ชนิด และเชื้อราทั้งหมด 5 ชนิด โดยใช้เทคนิค disc diffusion ในบรรดาสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านที่ใช้ทดสอบทั้งหมดมีเพียงสารสกัดจากมะกอกน้ำ มะขามป้อม และมะดันเท่านั้นที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสอยู่ระหว่าง 8-21 มิลลิเมตร เมื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยเทคนิค agar dilution สารสกัดจากมะดันมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้กว้างที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากมะขามป้อมและมะกอกน้ำ แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะดันได้ดีที่สุดคือ *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella* Typhimurium ส่วนแบคทีเรียที่ไวต่อสารสกัดจากมะขามป้อมมากที่สุดคือ *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* (MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนยีสต์ชนิดเดียวที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะดันคือ *Rhodotorula glutinis* (MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในการศึกษาถึงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย 6 ชนิด ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) และวิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power) พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟือง และมะขวิด ค่า EC_{50} ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยทั้ง 6 ชนิด อยู่ในช่วง 501.71-27,773.43 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH สำหรับค่าความสามารถในการรีดิวซ์ อยู่ในช่วง 0.50-4.86 มิลลิโมลต่อลิตร ในขณะที่การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยจำนวน 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะขวิด และมะเฟือง ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย 6 ชนิด อยู่ในช่วง 116.67-4,220 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antioxidant and Antimicrobial Activities of Thai Local Fruit Extracts	
Students	Miss Kanittha	Khanha
	Miss Jiraphorn	Phan-im
	Miss Jutatip	Jitaied
Degree	Bachelor of Science	
Major	Industrial Microbiology	
Academic Year	2008	
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suree Nanasombat	

ABSTRACT

In this study, six species of Thai local fruits, including *Ardisia polycephala* Wall., *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz., *Limonia acidissima* Linn., *Phyllanthus emblica* Linn., *Garcinia schomburgkiana* Pierre. and *Averrhoa carambola* Linn. were extracted using methanol as a solvent. Crude methanolic extracts of these Thai local fruits were tested for their antimicrobial activity against 6 species of bacteria, 4 species of yeasts and 5 species of mold. Inhibition of microbial growth was primarily tested by the paper disc diffusion method. Among all fruit extracts tested, only extracts of *E. hygrophilus* Kurz., *P. emblica* Linn. and *G. schomburgkiana* Pierre. exhibited good antimicrobial activity with inhibition zones ranging from 8 to 21 mm. Minimal inhibitory concentration (MIC) were determined by agar dilution method. Extract of *G. schomburgkiana* Pierre. showed the highest antimicrobial action, followed by *P. emblica* Linn. and *E. hygrophilus* Kurz. extracts. The most susceptible bacteria to *G. schomburgkiana* Pierre. were *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium, while the most sensitive bacteria to *P. emblica* Linn. were *Pseudomonas fluorescens* and *Staphylococcus aureus* (the MIC of 2.56 mg/ml). The only yeast species inhibited by *G. schomburgkiana* Pierre. extract was *Rhodotorula glutinis* (the MIC of 5.12 mg/ml).

Antioxidant activity of six Thai local fruits extracts was studied by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) and FRAP (Ferric reducing antioxidant power) method. The results showed that the *P. emblica* had the highest antioxidant activities, followed by *A. polycephala* Wall., *E. hygrophilus* Kurz., *G. schomburgkiana* Pierre., *A. carambola* Linn. and *L. acidissima* Linn. The

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EC_{50} values of six Thai local fruits extracts were in the range of 501.71-27,773.43 µg extract/mg DPPH and the reducing capacities were in the range of 0.50-4.86 mmol/L. Total phenolic contents of those extracts were also analyzed. *P. emblica* Linn. had the highest phenolic content, followed by *A. polycephala* Wall., *E. hygrophilus* Kurz., *G. schomburgkiana* Pierre., *L. acidissima* Linn. and *A. carambola* Linn. The total phenolic contents of crude methanolic extracts were in the range of 116.67–4,220 µg gallic acid/mg extract.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ดร. จิดาภา ทิน้อย อาจารย์ผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางรวมทั้งการแก้ปัญหาต่างๆ และเอาใจใส่ดูแลคณะผู้จัดทำมาโดยตลอดการดำเนินงานโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณคณะอาจารย์ภาควิชาวิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ให้ความกรุณาช่วยถ่ายทอดความรู้ประสบการณ์ต่างๆ ทั้งในและนอกวิชาเรียนแก่ลูกศิษย์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการตลอดจนถึงการใช้เครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่และน้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจ และมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ทั้งกำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์มาโดยตลอด จนทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวกนิษฐา ขันธะ
นางสาวจิราพร พันธ์อิ่ม
นางสาวจุฑาทิพย์ จิตรเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	2
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	3
1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 ผลไม้	4
2.2 สารสกัดจากพืช	13
2.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้พื้นบ้าน	24
2.4 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	32
2.5 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากผลไม้พื้นบ้าน	34
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	36
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	39
3.1 อุปกรณ์	39
3.2 วิธีการทดลอง	40
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	44
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก ก	69
ภาคผนวก ข	70

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางโภชนาการของมะกอกน้ำ	8
2	คุณค่าทางโภชนาการของมะขามป้อม	10
3	คุณค่าทางโภชนาการของมะดัน	11
4	คุณค่าทางโภชนาการของมะเฟือง	13
5	การจำแนกสารแทนนินในพืช	23
6	อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง	25
7	วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจวัดขีดความสามารถของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ	29
8	คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion	46
9	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	50
10	คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้พื้นบ้านไทย	54
11	ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดหยาบของผลไม้พื้นบ้านไทย	54
12	การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ	62
13	การทำความเจือจางของยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
14	การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
15	คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่ 1	66
16	คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่ 2	67
17	คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่3	68
18	ผลของค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
19	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ	72
20	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	74
21	ค่า EC_{50} ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	88
22	ค่า AE ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	88
23	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตร ของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ	92
24	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทย	94
25	ปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย	96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	พิลังกาสา	7
2	มะกอกน้ำ	8
3	มะขวิด	9
4	มะขามป้อม	10
5	มะดัน	11
6	มะเฟือง	12
7	ขั้นตอนทั่วๆ ไปสำหรับใช้ในการสกัดเนื้อเยื่อของพืชสดและการแยกส่วนให้ได้เป็น class ต่างๆ กันตามความมีขั้วของสารประกอบ	16
8	โครงสร้างของฟีนิลโพรพานอยด์	19
9	โครงสร้างของแอนโทไซยานินและเบต้าไซยานิน	21
10	โครงสร้างของฟลาแวน (flavan)	27
11	หลักการหาขีดความสามารถของสารแอนตี้ออกวิแดนท์ในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ	28
12	กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน	31
13	เหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) ถูกรีดิวซ์ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+}-TPTZ	32
14	โครงสร้างของอนุมูล DPPH*	33
15	การเตรียม Stock solution ของ Penicillin G	62
16	การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
17	การทำความเจือจางของยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ	64
18	การเตรียม Stock solution ของสารสกัด	64
19	การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
20	การเตรียมสารสกัดหยาบของผลไม้	70
21	การเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ	71
22	การเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ	91
23	การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ	95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

เมื่อเร็วนี้ๆ ได้มีผู้บริโภคจากทั่วโลกให้ความสนใจเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติกันมาก โดยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้น (Peschel และคณะ, 2006) ซึ่งจะพบสารต้านอนุมูลอิสระมากในผักและผลไม้ โดยมีความจำเป็นและมีประโยชน์ต่อร่างกายอย่างยิ่งจึงควรบริโภคผักและผลไม้เป็นประจำ (Steinmetz และ Potter, 1996) จากข้อมูลทางการแพทย์แนะนำว่าอาหารควรจะประกอบด้วยสารประกอบทางเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งช่วยป้องกันการเสี่ยงต่อการเกิดโรครวมถึงโรคมะเร็ง โรคระบบหลอดเลือดและโรคหัวใจ (Steinberg, 1991; Block และคณะ, 1992) การที่มีสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะวิตามิน ซึ่งได้แก่ กรดแอสคอบิก แอลฟา-โตโคเฟอรอล และเบต้า-แคโรทีน รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกที่มีผลดีต่อสุขภาพ ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ อันเนื่องมาจากการมีอนุมูลอิสระในร่างกาย ในปัจจุบันมีการสนใจสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกสารประกอบฟีนอลิกกันมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ช่วยรีดิวซ์ตัวให้ไฮโดรเจน ตัวจับอนุมูลออกซิเจน และคีเลทโลหะ (Rice-Evans และคณะ, 1997)

การเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหารส่งผลให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่ดีในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา ทำให้คุณภาพของอาหารด้านโภชนาการและความปลอดภัยของอาหารลดลง โดยทำให้เกิดการสร้างสารประกอบทุติยภูมิที่เป็นพิษ (Zainol และคณะ, 2003) นอกจากนี้ในร่างกายของมนุษย์การเกิดออกซิเดชันของไขมันจะเป็นตัวที่ชักนำให้เกิดการขัดขวางการทำงานทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการแก่ตัวลงของเซลล์และเกิดโรคมะเร็ง (Lampart-Szczapa และคณะ, 2003) จากการศึกษาส่วนมากได้ชี้ให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันของไขมันซึ่งเรียกว่าอนุมูลอิสระสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ ทำให้เกิดโมเลกุลที่เป็นอันตรายและไปส่งเสริมกระบวนการเสื่อมสลายที่เกี่ยวข้องกับการแก่ตัวและการเกิดโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจและการเสื่อมสลายของประสาท เช่น โรคความจำเสื่อม (Shon และคณะ, 2003) เป็นที่รู้กันว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระ สำหรับ "อนุมูลอิสระ" หมายถึงสารที่สามารถลดหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหรือยับยั้งการเริ่มต้นของปฏิกิริยา oxidation chain reaction (Velioglu และคณะ, 1998) ซึ่งสามารถป้องกันหรือซ่อมแซมเซลล์ร่างกายที่เสียหายซึ่งถูกกระทำโดยออกซิเจน นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังเป็นตัว reducing agent เป็นตัวที่ไปจับกับอนุมูลอิสระ เป็นตัวที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน การรวมตัวของ pro-oxidant metal และตัวจับอนุมูลของออกซิเจน (singlet oxygen) (Hudson, 1990)

ผลไม้ของไทยหลายชนิดมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้ดี มีรายงานว่าเปลือกกล้วยและเปลือกมะเขือเทศเป็นแหล่งของสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่ดี (Subaigo และคณะ, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นใยอาหารที่ได้จากเปลือกผลไม้เช่นเปลือกมะม่วงมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูง โดยพบว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่า D,L-a-tocopherol ที่ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันทางการค้า (Larrauri และคณะ, 1997) Okonogi และคณะ (2007) ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกของผลไม้ไทย 8 ชนิด คือ มะพร้าว มังคุด แก้วมังกร ลองกอง กล้วย เงาะ เสาวรส และทับทิม พบว่าเงาะมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือกล้วยและมังคุด Banerjee (2005) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในเปลือกผลหว้า ซึ่งพบว่าหว้ามีความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าชา และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มากอีกด้วย สำหรับมะขามป้อมพบว่าเป็นผลไม้ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยพบสารประกอบฟีนอลและวิตามินซีในปริมาณสูงในสารสกัดจากมะขามป้อม (Suntornsuk และคณะ, 2001; Pinsuwan และคณะ, 2004)) นอกจากนี้ยังพบสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากมะเฟือง ซึ่งได้แก่เบต้าแคโรทีน และวิตามินอี (Charoensiri และคณะ, 2008)

นอกจากผลไม้จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว ผลไม้บางชนิดยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์อีกด้วย มีรายงานว่ากล้วยมีสารสำคัญในการออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสีย โดยจะพบสารแทนนิน (tannin) ซึ่งมีฤทธิ์ฝาดสมาน ใช้แก้อาการท้องเสียได้ มีฤทธิ์ในการรักษาอาการอุจจาระร่วง สามารถลดอาการท้องร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Clostridium difficile* ได้ (Emery และคณะ, 1997) Ko (1917) พบว่า กล้วยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli, Bacillus subtilis* และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ เป็นต้น ส่วนสารสกัดจากเปลือกมังคุดพบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่เป็นสาเหตุของแผลฝี หนอง ในร่างกายของมนุษย์ ทั้งสายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ดื้อยาเพนนิซิลิน (Sutabhaha และคณะ, 1997) สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอาการท้องร่วง แผลในกระเพาะอาหาร เช่น *Escherichia coli, Shigella* Spp. (จริยา และสมเกียรติ, 2532) นอกจากนี้ Mayachiew และ Devahastin (2008) ยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์จากสารสกัดที่ได้จากผลไม้พื้นบ้านไทยชนิดต่างๆ เพื่อทำการคัดเลือกผลไม้พื้นบ้านไทยที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้ดีไปใช้ประโยชน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์จากผลไม้พื้นบ้านของไทย
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้พื้นบ้านของไทย

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทยหลายๆ ชนิด เพื่อนำไปเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรีย ยีสต์ และรา จำนวน 15 ชนิด

1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินการวิจัยมีขั้นตอนดังนี้

การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งจุลินทรีย์จากผลไม้พื้นบ้านของไทย

1.4.1 การเตรียมสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านด้วยเมทานอล

นำตัวอย่างผลไม้พื้นบ้านแต่ละชนิดมาทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze dry นำมาบดให้ละเอียด แล้วนำมาสกัดด้วยเมทานอล ระเหยเอาตัวทำละลายออก จะได้สารสกัดหยาบของผลไม้ออกมา

1.4.2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์

นำสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านที่ได้มาศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion โดยนำมาทดสอบกับจุลินทรีย์ 15 ชนิด แล้วทำการคัดเลือกสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี นำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

1.4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

นำสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี FRAP และนำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic content)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทยหลายๆ ชนิดที่อาจมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ผลไม้

ผลไม้ (fruit) หมายถึง ผลที่เกิดจากการขยายพันธุ์โดยอาศัยเพศของพืชบางชนิด ซึ่งมนุษย์สามารถรับประทานได้ และส่วนมากจะไม่ทำเป็นอาหารคาว ตัวอย่างผลไม้ เช่น ส้ม แอปเปิ้ล กล้วย มะม่วง ทุเรียน รวมถึง มะเขือเทศ ที่สามารถจัดได้ว่าเป็นทั้งผักและผลไม้

ผลไม้ มาจากคำว่า "ผล" รวมกับคำว่า "ไม้" คำนี้จึงสามารถอธิบายได้ว่า สิ่งที่เป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากสิ่งมีชีวิตจำพวกพืช โดยลักษณะรวมๆ จะมีรูปทรงคล้ายทรงกลมหรือทรงรี ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันบ้างตามสายพันธุ์ โดยปกติผลไม้จะต้องมีเปลือกหรือมีสิ่งที่ห่อหุ้มเนื้อที่อยู่ข้างในซึ่งมักจะถูกนำไปรับประทานโดยมนุษย์หรือสัตว์ ผลไม้ในความหมายทั่วไปหมายถึงผลไม้ที่สามารถรับประทานโดยไม่ต้องนำไปปรุงในครัวก่อนแต่มีรสชาติที่ดีซึ่งอาจจะต้องปอกเปลือกก่อนรับประทาน ดังนั้นอาหารหลายชนิดจึงเป็นผลไม้ในเชิงพฤกษศาสตร์แต่กลับถูกจัดว่าเป็นผักในเชิงการทำครัว อันได้แก่ผลของพืชจำพวกฟัก (เช่น ฟักทอง แฟง และ แตงกวา) มะเขือเทศ ถั่วลันเตา ถั่วฝักยาว ข้าวโพด พริกหยวก เครื่องเทศ (ปรียา, 2550)

ในส่วนของการเจริญเติบโต สามารถขยายพันธุ์ได้โดยดอก เมล็ด หรืออื่นๆ ซึ่งผลไม้ที่ออกมานี้ตอนแรกจะมีขนาดเล็กและมักจะไม่ค่อยถูกนำมารับประทานโดยมนุษย์ แต่เมื่อเติบโตจนสุกงอมจะมีลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิมคือเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง มีกลิ่นหอมและรสหวานเป็นต้น จนสามารถนำมารับประทานหรือประกอบอาหารส่วนมากมักจะเป็นอาหารหวาน ถ้าผลไม้สุกงอมเต็มที่จะมีลักษณะที่ก่อให้เกิดประโยชน์ได้น้อยลง เช่น เน่าเสีย บูด ขึ้นรา เป็นต้น และจะหลุดร่วงจากต้นลงสู่พื้นดินหรือพื้นน้ำกลายเป็นอาหารให้แก่ห่วงโซ่อาหารลำดับถัดไป เช่น แบคทีเรีย จุลินทรีย์ จนกลายเป็นอินทรียธาตุหรืออนินทรียธาตุ หมุนเวียนเป็นวัฏจักรต่อไป การที่จะบอกได้ว่าเป็นผลไม้อะไรนั้น จำเป็นต้องมีสิ่งบ่งชี้อื่นๆ ประกอบหลายอย่าง เช่น เปลือกมีลักษณะเป็นหนามและแข็ง เนื้อข้างในสีเหลืองหมายถึงทุเรียน เป็นต้น ผลไม้ทุกชนิดยังอุดมไปด้วยเส้นใยอาหารและสารพฤกษเคมีสำคัญหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระหรือแอนตี้ออกซิแดนท์ (Antioxidant) ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายให้แข็งแรงอยู่เสมออีกทั้งยังช่วยชะลอความชราได้อีกด้วย (ปรียา, 2550)

2.1.1 ผลไม้พื้นบ้านของไทย

ผลไม้พื้นบ้านหรือผลไม้พื้นเมืองของไทยนั้นมีอยู่หลายร้อยชนิด แต่คนในเมืองพบเห็นตามตลาดตามซูเปอร์มาเก็ตทุกวันนี้ก็แต่ ชมพู่ มะม่วง ทุเรียน มะละกอ ฝรั่ง องุ่น แอปเปิ้ล สาลี่ ซึ่งถ้าไม่ใช่ผลไม้พันธุ์ก็เป็นพืชไร่หรือผลไม้นำเข้าจากต่างประเทศทั้งนั้นจะหาผลไม้พื้นบ้านแท้ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างสมอไทย มะขามเทศ มะเฟือง ลูกหว้า มะยม มะไฟ ละไม ตะขบ มะกอกน้ำ อาจหาไม่ได้เลย ด้วยว่าไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคหรืออีกแง่หนึ่งระบบธุรกิจการตลาดของผลไม้พันธุ์ได้กำหนด "ทางเลือก" ในการบริโภคไว้แล้วอย่างเห็นได้ชัดสิ่งนี้อาจเป็นดัชนีบ่งชี้ความเปลี่ยนแปลงของวิถีชีวิตไทยอีกข้อหนึ่งว่าเราทั้งหลายห่างไกลจากวิถีดำรงชีพแบบพึ่งตนเองผสานสัมพันธ์กับธรรมชาติวิถีแห่งการเรียนรู้ที่จะอยู่อย่างกลมกลืนกับทุ่งนาป่าเขาไปมากทีเดียว (วิวัฒน์, 2541)

ผลไม้พื้นเมืองอาจเข้าใจว่าเป็น "ผลไม้ที่หาได้ในท้องถิ่นนั้นๆ ตามฤดูกาล ซึ่งชาวพื้นถิ่นนำมาบริโภค" โดยอาจเป็นผลไม้ป่า ผลไม้บ้าน หรือผลไม้ต่างแดนที่นำเข้ามาปลูกและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมบ้านเมืองเรานานแล้วก็ตาม ซึ่งผลไม้พื้นเมืองนั้นจะหาเก็บหากินง่ายไม่ว่าจะจากสวนหลังบ้าน หรือแหล่งธรรมชาติทั่วไป เช่น ริมทาง ริมห้วย ชายคลอง ตลอดจนในป่า ในเขาทุกสภาพป่า สภาพแวดล้อม และส่วนหนึ่งของผลไม้เหล่านี้ก็ถูกนำมาขายตามตลาดในท้องถิ่นด้วย ความจริงผลไม้พันธุ์ส่วนหนึ่งก็เป็นผลไม้พื้นเมืองทว่าเป็นไม้ผลที่คัดสรรแล้วว่า รสชาติดี เนื้อเยอะ เมล็ดน้อย คนนิยม รวมถึงขายได้ราคาและน้ำหนักดีด้วย จึงมีการบำรุงพันธุ์ผสมข้ามพันธุ์จนได้ผลลัพธ์ตามความต้องการ (วิวัฒน์, 2541)

ผลไม้พื้นบ้าน พื้นเมือง เมื่อเทียบกับผลไม้พันธุ์พืชไร่ตลอดจนผลไม้นำเข้าจากต่างประเทศจะเห็นข้อแตกต่างได้อย่างชัดเจนว่าผลไม้พื้นเมืองนั้นเราแน่ใจได้ว่าปราศจากสารพิษจากยาฆ่าแมลงและเคมีอื่นๆ ให้ประโยชน์แก่ร่างกาย หาง่าย ราคาไม่แพง แม้รสชาติบางครั้งจะสุดขั้ว ชนิดเปรี้ยวก็เปรี้ยวจี๊ด หวานก็หวานแหลม และบางครั้งก็ฝาดเฝื่อนอย่างมากก็ตาม ขนบ "การกิน" ผลไม้พื้นเมืองนั้นมีอยู่แต่ก็ไม่ได้เคร่งครัดตายตัวสามารถกินได้ทุกโอกาสทั้งเด็กและผู้ใหญ่ กินเล่น กินเป็นยา หรือกินเป็นอาหาร ยกตัวอย่างเช่น จากขนุนที่เรากินยวงของมันตอนสุก คนใต้จะนำผลอ่อนขนาดเท่าข้อมือนำมาผ่าทั้งเปลือกจิ้มแกงไตปลาและน้ำพริก ผลโตขึ้นมาอีกหน่อยแต่ยังไม่สุกเต็มที่ใช้ทำแกงบวด และสุดท้ายคือขนุนที่บริโภคทั้งในรูปของ ผลไม้และผัก นอกจากนี้ยังมีผลไม้พื้นเมืองอีกหลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยาซึ่งคนโบราณนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย เช่น

- ผลสมอไทย ผลอ่อนช่วยขับถ่าย ผลแก่ช่วยฝาดสมาน รักษาอาการท้องเดิน ลมจุกเสียด
- มะเฟืองขับเสมหะ แก้คออักเสบ แก้โรคนิ่วในไตหรือในกระเพาะปัสสาวะ
- มะดัน บำรุงโลหิต ขับเสมหะ ระบายอ่อน ๆ สรรพคุณใกล้เคียงกับมะเฟือง
- ตะลิงปลิงช่วยเจริญอาหาร บำรุงกระเพาะอาหาร ลดไข้
- มะกอกป่า แก้โรคธาตุพิการเพราะน้ำดีไม่ปกติ แก้บิด ผลสุกแก้เลือดออกตามไรฟัน

สำหรับฤดูกาลที่จะหาผลไม้พื้นเมืองสามารถกำหนดคร่าวๆ ได้ดังนี้

ฤดูร้อน เดือนมีนาคม – พฤษภาคม : มะม่วง ลูกหว้า ระกำ มะปริง มะม่วงหิมพานต์ มะมุด

ฤดูฝน เดือนมิถุนายน – ตุลาคม : สมอไทย กระท้อน มังคุด ลางสาด ระกำ มะไฟ ตะขบ

ฤดูหนาว เดือนพฤศจิกายน – กุมภาพันธ์ : มะขาม มะขามเทศ มะขวิด มะตาด จาก มะม่วง

ผลไม้ที่ให้ผลตลอดทั้งปี คือ ฝรั่งบ้าน มะยม มะขามป้อม มะดัน กล้วยต่างๆ (วิวัฒน์, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระทรวงสาธารณสุข พบว่าผลไม้ของไทยที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งก็ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอีและเบต้าแคโรทีน จากผลวิจัยนั้นพบว่าผลไม้ 5 อันดับแรกที่มีเบต้าแคโรทีนสูง คือ มะม่วงน้ำดอกไม้สุก มะเขือเทศราชินี มะละกอสุก กล้วยไข่และมะม่วงยายกล่ำ ซึ่งผลไม้เหล่านี้มีเนื้อสีเหลืองและสีเหลืองเข้ม ส่วนผลไม้ที่ไม่มีเบต้าแคโรทีนเลยคือแก้วมังกร มะขามเทศ มังคุด ลิ้นจี่และสาลี่ ส่วน 5 อันดับแรกของผลไม้ที่มีวิตามินซีสูงคือ ฝรั่งกลมสาลี่ ฝรั่งไร้เมล็ด มะขามป้อม มะขามเทศ และเงาะโรงเรียน และผลไม้ที่มีวิตามินอีสูง 5 อันดับแรกคือ ขนุนหนัง มะขามเทศ มะม่วงเขียวเสวยดิบ มะเขือเทศราชินี มะม่วงเขียวเสวยสุก ผลวิจัยกล่าวว่าผลไม้ที่มีเบต้าแคโรทีน วิตามินซี และวิตามินอีน้อยทั้ง 3 ตัว คือ สาลี่ องุ่น และแอปเปิ้ล ส่วนผลไม้ที่มีสารทั้ง 3 ตัว ค่อนข้างสูงคือ มะเขือเทศราชินี ทั้งนี้เบต้าแคโรทีน วิตามินซีและอี เป็นกลุ่มของสารอาหารที่ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่ก่อให้ร่างกายเกิดการอักเสบ ทำลายเนื้อเยื่อ โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีนจะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกาย ช่วยยับยั้งการกลายพันธุ์ในเซลล์ ป้องกันเนื้องอก ลดความเสี่ยงการเป็นต้อกระจกและโรคหัวใจได้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2550)

นอกจากนี้ในปี 2551 กระทรวงสาธารณสุขเผยว่าขณะนี้คนไทยกำลังเผชิญกับปัญหาสุขภาพที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับสารอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดการอักเสบ การทำลายเนื้อเยื่อ เกิดต้อกระจกในผู้สูงอายุ โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด ทั้งนี้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้แก่ วิตามินซี วิตามินอีและเบต้าแคโรทีน ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยวิตามินซีซึ่งละลายน้ำได้ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระในเซลล์ที่เป็นของเหลว ป้องกันการถูกอนุมูลอิสระทำลาย ส่วนวิตามินอีเป็นวิตามินที่ละลายในไขมันจะช่วยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ และวิตามินเอเป็นวิตามินที่ละลายในไขมันที่อยู่ในรูปของเบต้าแคโรทีนหรือแคโรทีนอยด์ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ ป้องกันเนื้องอก และมีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพด้านอื่นๆ ได้แก่ ลดความเสี่ยงเกี่ยวกับการเสื่อมของตา เนื่องจากสูงอายุและต้อกระจก รวมทั้งลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งบางชนิดและโรคหัวใจและหลอดเลือดได้อย่างดี ทั้งนี้กรมอนามัยได้ศึกษาแหล่งอาหารไทยที่มีสารต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 ชนิด พบว่าผลไม้ที่พบสารเบต้าแคโรทีนมากที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ มะม่วงน้ำดอกไม้สุก (873 ไมโครกรัม) มะเขือเทศราชินี (639 ไมโครกรัม) มะละกอสุก (532 ไมโครกรัม) แคนตาลูป (217 ไมโครกรัม) มะปรางหวาน (230 ไมโครกรัม) มะยงชิด (207 ไมโครกรัม) สับปะรดภูเก็ต (150 ไมโครกรัม) แตงโม (122 ไมโครกรัม) ส้มสายน้ำผึ้ง (101 ไมโครกรัม) และลูกพลับ (93 ไมโครกรัม) ส่วนผลไม้ที่มีวิตามินอีสูงสุด 10 อันดับแรก ได้แก่ ขนุนหนัง (2.38 มิลลิกรัม) มะขามเทศ (2.29 มิลลิกรัม) มะม่วงเขียวเสวยดิบ (1.52 มิลลิกรัม) มะเขือเทศราชินี (1.34 มิลลิกรัม) มะม่วงเขียวเสวยสุก (1.23 มิลลิกรัม) มะม่วงน้ำดอกไม้สุก (1.1 มิลลิกรัม) มะม่วงยายกล่ำสุก (0.97 มิลลิกรัม) กล้วยไข่ (0.47 มิลลิกรัม) แก้วมังกรเนื้อสีชมพู (0.59 มิลลิกรัม) และสตรอเบอรี่ (0.54 มิลลิกรัม) สำหรับผลไม้ที่พบวิตามินซีมากที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ ฝรั่งกลมสาลี่ (187 มิลลิกรัม) ฝรั่งไร้เมล็ด (151 มิลลิกรัม) มะขามป้อม (111 มิลลิกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะขามเทศ (97 มิลลิกรัม) เงาะโรงเรียน (76 มิลลิกรัม) ลูกพลับ (73 มิลลิกรัม) สตรอเบอรี่ (66 มิลลิกรัม) มะละกอแขกดำสุก (55 มิลลิกรัม) พุทธาแอปเปิ้ล (47 มิลลิกรัม) และส้มโอขาวแตงกวา (48 มิลลิกรัม) (กระทรวงสาธารณสุข, 2551)

2.1.2 ผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง

2.1.2.1 พิลังกาสา

พิลังกาสามีชื่อท้องถิ่นว่าทุรังกาสา จิงจำ จ้ำก้อง ตาปลาราม มาตาอาแย และตีนจำ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ardisia polycephala* Wall. อยู่ในวงศ์ MYRISINACEAE พิลังกาสาเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ใบเดี่ยวสีเขียว หนา แข็ง ค่อนข้างมัน ดอกเล็กเป็นช่อ เป็นกระจุกสีชมพู มีลูกสีดำกลมโต มีขึ้นตามป่าราบทั่วไปส่วนที่ใช้ใบ คือ ดอก เมล็ด ราก ผล และต้น สรรพคุณของพิลังกาสาได้แก่ ใบอ่อนรับประทานเป็นผักได้ ใบมีรสร้อน แก้โรคตับพิการ แก้ท้องเสีย แก้ไอ แก้ลม ดอกฆ่าเชื้อโรค แก้พยาธิ เมล็ดแก้ลมพิษ รากแก้กามโรคและหนองใน พอกปิดแผล ถอนพิษงูกัด ใช้กากพอกแผล เอาน้ำดื่ม ผลแก้ไข้ ท้องเสีย แก้โรคเรื้อน ต้นแก้โรคผิวหนัง โรคเรื้อน กุดถัง ส่วนการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์เหมือนฮีสตามีนทำให้กล้ามเนื้อหดตัว รักษามาลาเรีย แก้ท้องเสีย รักษาโรคเรื้อน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus* ต้านการจับตัวของเกล็ดเลือด สารเคมีที่สำคัญคือ ilexol, rapanone และ syringic acid (การพัฒนาเวปไซต์มัลติมีเดียเพื่อส่งเสริมการเรียนรู้สมุนไพรไทย)

รูปที่ 1 พิลังกาสา

ที่มา : การพัฒนาเวปไซต์มัลติมีเดียเพื่อส่งเสริมการเรียนรู้สมุนไพรไทย

http://202.44.14.219/thaiherbkmutt/info.php?id=173

2.1.2.2 มะกอกน้ำ (Spanish plum)

มะกอกน้ำเป็นพืชพื้นเมืองของไทยที่เป็นผลไม้และเป็นพืชสมุนไพร มะกอกน้ำเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวอมฝาด มักนิยมนำมาทำเป็นผลไม้ดอง แช่อิ่ม จิ้มพริกเกลือ ถ้าในด้านสมุนไพรก็จะใช้ส่วนเปลือกแก้ร้อนใน เมล็ดนำมาสุมไฟให้เป็นถ่านและแช่น้ำนำน้ำมับประทานจะแก้ร้อนในแก้สะอึกได้ดี มะกอกน้ำมีชื่ออื่นว่า สมอพิพ่าย สารภีน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Elaeocarpus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

hydrophilus Kurz. อยู่ในวงศ์ ELEAEOCARPACEAE มะกอกน้ำเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลาง แตกกิ่งก้านสาขาเป็นพุ่ม ใบเป็นใบเดี่ยวมีขนาดเล็กคล้ายรูปไข่ ใบอ่อนมีสีเขียวมีเส้นใบสีขาว เมื่อแก่จัดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม ดอกออกช่อสั้นๆ มีสีขาวขนาดเล็กผล มีรูปร่างกลมหัวแหลม ท้ายแหลม ผิวผลเรียบ ไม่ขรุขระมีสีเขียวอมเทา ในหนึ่งผลมีเมล็ดอยู่ 1 เมล็ด เมล็ดแข็ง มีสีน้ำตาลอมแดง รูปร่างรี หัวแหลม ท้ายแหลม เช่นเดียวกับรูปร่างของผลภายนอก เนื้อผลมีรสเปรี้ยวอมฝาด คุณค่าทางยาสมุนไพร ใบนำมาเคี้ยวรับประทานเป็นยาแก้ท้องเสีย ปวดท้องเนื้อในผล มีรสเปรี้ยวอมฝาด รับประทานทำให้ชุ่มคอ แก้ร้อนใน กระหายน้ำ เปลือกต้นมีรสเฝื่อน นำมาชงน้ำรับประทานเป็นยา ช่วยฟอกโลหิตหลัง คลอด บำรุงธาตุ แก้กระหาย (ปรียา, 2550)

รูปที่ 2 มะกอกน้ำ

ที่มา : นิรนาม (http://student.nu.ac.th/46313433/Thaiherb/makoknum.htm)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของมะกอกน้ำ

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ (ในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม)	
พลังงาน	46	แคลอรี่
เส้นใย	16.7	กรัม
แคลเซียม	49	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	80	มิลลิกรัม
เหล็ก	9.9	มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	2,017	ไมโครกรัม
วิตามินเอ	337	หน่วย
วิตามินบี 1	0.96	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.22	มิลลิกรัม
ไนอะซีน	1.9	มิลลิกรัม
วิตามินซี	53	มิลลิกรัม

ที่มา : ปรียา (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.3 มะขวิด (Wood apple)

มะขวิดมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย มีชื่ออื่นว่า Wood apple และ Elephant's Apple มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Feronialimonia swing* อยู่ในวงศ์ RUTACEAE มะขวิดเป็นไม้ยืนต้น สูง 6-10 เมตร ใบเรียงเวียนสลับ ใบประกอบแบบขนนก ใบย่อย 5-7 ใบ รูปขอบขนานแกมไข่กลับ เนื้อใบมีต่อมน้ำมันกระจายที่ขอบใบ ดอกช่อออกที่ปลายกิ่งหรือที่ซอกใบ กลีบดอกมีสีเหลืองแกมเขียวเจือด้วยแดง ผลรูปทรงกลม เมื่อสุกจะมีสีเทาแกมน้ำตาล เนื้อในกินได้ สุกช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม ใบใช้แก้ท้องเสีย แก้ตกเลือด พอกหรือทาแก้ฟกบวม รักษาฝีและโรคผิวหนังบางชนิด (นันทวัน, 2540)

รูปที่ 3 มะขวิด

ที่มา : นิรนาม (http://www.noknoi.com/board_pics/PB_373_44737.jpg)

2.1.2.4 มะขามป้อม (Malacca tree)

มะขามป้อมเป็นผลไม้เก่าแก่ ว่ากันว่าชนชาติที่รู้จักมะขามป้อมมาช้านานและแพร่หลายมากที่สุดคืออินเดีย มะขามป้อมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllanthus emblica* Linn. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE มะข้ามป้อมเป็นพรรณไม้ยืนต้น สูง 7-15 เมตร ลำต้นมีเปลือกเรียบเกลี้ยง ใบเดี่ยว เรียงชิดติดกันคล้ายขนนก ปลายใบยาวรีมีสีเขียวแก่ ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่อสีเหลืองอมเขียว ผลมีรูปร่างกลม ผิวเกลี้ยง รสฝาด ภายในมีเมล็ดสีน้ำตาลอยู่ 6 เมล็ด คุณค่าทางยาสมุนไพรรากแห้งของมะข้ามป้อม ใช้ต้มดื่มแก้ร้อนใน แก้ท้องเสีย แก้โรคเรื้อน ลดความดันโลหิต รากสดมะข้ามป้อม นำมาพอกแผลเมื่อโดนตะขาบกัดสามารถแก้พิษได้ เปลือกลำต้นมะข้ามป้อม ใช้เปลือกแห้งบดเป็นผงโรยบาดแผลหรือต้มน้ำแก้โรคบิดและฟกช้ำ ปมก้านใช้เป็นน้ำยาบ้วนแก้ปวดฟัน ผลมะข้ามป้อมสดใช้รับประทานเป็นผลไม้ แก้กระหายน้ำได้ดี นอกจากนี้ยังเป็นยาบำรุง แก้หวัด แก้ไอ ละลายเสมหะ ขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย รักษาคอตีบ รักษาเลือดออกตามไรฟัน ผลมะข้ามป้อมแห้งนำมาบดชงน้ำร้อนแบบชาแก้ท้องเสีย โรคหนองในบำรุงธาตุ รักษาโรคบิด ใช้ล้างตา แก้ตาแดง เยื่อบุอักเสบ แก้ตกเลือด ใช้เป็นยาล้างตา หรือจะผสมกับน้ำสนิมเหล็กแก้โรคดีซ่าน โลหิตจาง เมล็ดนำมาเผาไฟจนกลายเป็นเถ้าผสมกับน้ำมันพืชทาแก้ตุ่มคัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะข้ามป้อมมีรสชาติถึง 5 รส คือ เปรี้ยว หวาน เผ็ดร้อน ขมฝาด ในมะขามป้อม 1 ผล มีวิตามินซีสูงถึง 700-100 มิลลิกรัม (ปรียา, 2550)

รูปที่ 4 มะขามป้อม

ที่มา : นิรนาม (http://www.stou.ac.th/Schools/Shs/thaimedical/herb/new/makampom1.jpg)

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของมะขามป้อม

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ (ในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม)
พลังงาน	62 แคลอรี่
โปรตีน	0.3 กรัม
ไขมัน	0.1 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	14.9 กรัม
แคลเซียม	18 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	4 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.5 มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	21 ไมโครกรัม
วิตามินบี 1	0.02 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	20 มิลลิกรัม
ไนอะซีน	0.8 มิลลิกรัม
วิตามินซี	19 มิลลิกรัม

ที่มา : ปรียา (2550)

2.1.2.5 มะดัน (Garcinia)

มะดันมีชื่อสามัญว่า *Garcinia* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia schomburgkiana* Pierre. อยู่ในวงศ์ GUTTIFERAE มะดันเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แผ่กิ่งก้านเต็มต้น เปลือกมีสีน้ำตาล ใบออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน ใบเรียวยาว มีสีเขียว แข็ง ดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกตามกิ่งบริเวณซอกใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลีบดอกหนาและแข็ง มีสีส้มอมม่วง กลีบมี 5 กลีบ ผล เมื่อเล็กจะกลม พอโตขึ้นจะยาวรี สีเขียวอมเหลือง ผิวมัน มีรสเปรี้ยว สำหรับคุณค่าทางยาสมุนไพร ใบเป็นยาดอง ยาต้ม เป็นยาแก้กระษัย ขับระดู เป็นยาระบาย ขับเสมหะ ฟอกเลือด ผลรับประทานเป็นผัก มีรสเปรี้ยว หรือนำมาดองทานเป็นขนม (ปรียา, 2550)

รูปที่ 5 มะดัน

ที่มา : นิรนาม (http://chachoengsao.doae.go.th/knowledge/samunprai/s_madan.htm)

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของมะดัน

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ (ในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม)
พลังงาน	31 แคลอรี่
เส้นใย	0.6 กรัม
แคลเซียม	10.3 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	8 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.4 มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	0.87 ไมโครกรัม
วิตามินเอ	225 IU
วิตามินบี 1	0.01 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.04 มิลลิกรัม
วิตามินซี	16 มิลลิกรัม

ที่มา : ปรียา (2550)

2.1.2.6 มะเฟือง (Carambola หรือ Star fruit)

มะเฟือง เป็นผักและผลไม้รสเปรี้ยวของไทย เป็นไม้ช่วยบังร่ม เจริญเติบโตในดินทุกชนิด ไม่ว่าจะชื้นแฉะหรือแห้งแล้งก็ตาม โดยเฉพาะภาคอีสานจะมีมากเพราะนิยมนำมะเฟืองมาทำเป็นผักแกล้มหรือเป็นเครื่องเคียงแหนมเนือง อีกทั้งมะเฟืองสามารถกินสดๆ เป็นผลไม้หรือคั้นน้ำดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้นแล้วยังนำมาเป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคได้อีกทางด้วย มะเฟืองมีชื่ออื่นว่า เอี่ยท้อ (จีน-แต้จิ๋ว) สะปือ (เขมร) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Averrhoa carambola* Linn. อยู่ในวงศ์ AVERRHOACEAE มะเฟืองเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กจนถึงขนาดกลางมีความสูงได้ถึง 8 เมตร มีใบคล้ายกับรูปขนนก ออกเรียงกันเป็นคู่ๆ ยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลมฐานใบเบี้ยวเล็กน้อย ริมขอบใบเรียบและเกลี้ยงมีก้านใบย่อยสั้น ลักษณะของดอกเล็กออกจากง่ามใบ ดอกมีสีขาวถึงสีม่วงอ่อน ผลรูปร่างกลมหรือกลมยาว มี 3-5 กลีบ ผลอ่อนมีสีเขียวออกเหลือง หากสุกหรือแก่งอมเต็มที่ก็จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส่วนที่นำมาใช้ได้แก่ ราก ผล ใบ และดอก สำหรับคุณค่าทางยาสมุนไพร ใบสดๆ นำมาตำทาเป็นยารักษาโรคอีสุกอีใสและกลากเกลื้น นำมาต้มรับประทานเป็นยาถอนพิษไข้ ผลมะเฟืองนำมาต้มรับประทานเป็นยา แก้บิด อาเจียนเป็นเลือด ขับปัสสาวะ ปวดฟันและแก้เลือดออกตามไรฟัน เปลือกลำต้นมะเฟืองใช้ทาภายนอกแก้ผดผื่นคันตามเนื้อตามตัว น้ำมะเฟืองนำมาดื่มแก้อาการเมาเหล้า เมารถ แก้ไข้ ท้องร่วง และแก้พิษยาเสพติดที่ร้ายกาจอย่างเฮโรอีนได้ (ปรียา, 2550)

รูปที่ 6 มะเฟือง

ที่มา : นิรนาม (http://www.ku.ac.th/e-magazine/december43/agri/fruit.html)

มะเฟืองมีวิตามินซีซึ่งช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน วิตามินในมะเฟืองสดทำให้เนื้อเยื่อแข็งแรง จับสารก่อมะเร็ง ช่วยทำให้เหงือกแข็งแรง เพิ่มกำลังให้สเปิร์มของผู้ชายและทำให้รู้สึกสดชื่นและปลอดโปร่งในอารมณ์ ส่วนวิตามินบี 1 จะช่วยป้องกันโรคเหน็บชา มะเฟืองนั้นถือว่าเป็นพืชสมุนไพรอย่างหนึ่งในการรักษาโรค สามารถต้มน้ำดื่มแก้ไขหวัดใหญ่ ส่วนรากต้มกินแก้ท้องร่วง และผลสามารถนำมาสระผมบำรุงเส้นผมให้เป็นเงางามและขจัดรังแค (ปรียา, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 คุณค่าทางโภชนาการของมะเฟือง

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ (ในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม)
พลังงาน	34 แคลอรี่
โปรตีน	40 กรัม
ไขมัน	0.1 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	7.8 กรัม
แคลเซียม	9 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	15 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.4 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	123 หน่วย
วิตามินบี 1	0.02 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.17 มิลลิกรัม
ไนอะซีน	0.8 มิลลิกรัม
วิตามินซี	28 มิลลิกรัม

ที่มา : ปรียา (2550)

2.2 สารสกัดจากพืช

2.2.1 วิธีการสกัดและการแยกสารสำคัญจากพืช

2.2.1.1 การเตรียมพืช

ตามทฤษฎี เนื้อเยื่อของพืชสดสามารถนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพืช บางครั้งพืชที่นำมาศึกษาไม่สามารถหามาได้เองและอาจต้องให้ผู้เก็บรวบรวมพืชที่อยู่ในทวีปอื่นๆ จัดหามาให้ โดยเนื้อเยื่อสดที่เลือกมาและเก็บให้แห้งในถุงพลาสติก จะต้องให้อยู่ในสภาพดีสำหรับการวิเคราะห์ตลอดระยะเวลาหลายวันระหว่างการขนส่งมาทางไปรษณีย์อากาศ (Harborne, 1998)

อีกอย่างหนึ่ง พืชอาจถูกทำให้แห้งก่อนการสกัด การทำแห้งควรทำใต้การควบคุมสภาวะต่างๆ เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่อาจเกิดขึ้น การทำให้แห้งอย่างรวดเร็วเท่าที่จะทำได้โดยปราศจากการใช้อุณหภูมิสูง เมื่อพืชแห้งสนิทแล้วสามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานานก่อนการวิเคราะห์ หลายปีที่ผ่านมาได้เคยมีผู้วิเคราะห์หา flavonoid, alkaloid,quinines, และ terpenoids ได้สำเร็จในเนื้อเยื่อพืช (Harborne, 1998)

ตัวอย่างหนึ่งของการใช้ herbarium พืช การวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยประสบความสำเร็จในตัวอย่างของใบ Mentha วัตถุดิบได้มาจากการรวบรวมดั้งเดิมของ Linneaus ที่ทำมาก่อนปี ค.ศ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1800 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่มีอยู่อาจเกิดขึ้นทั้งในเนื้อเยื่อใบและผล โดยต้องคำนึงถึงเวลาและความเป็นไปได้ของการเปลี่ยนแปลงนี้ ตัวอย่างเช่น Sandford และ Heinz (1971) พบว่า ปริมาณ myristicin ที่มีอยู่ในผลของลูกจันทร์เทศ (*Myristica fragrans*) เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในการเก็บรักษา ขณะที่ปริมาณของ β-pinene ที่ระเหยได้ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ในทางกลับกัน flavonoids และ alkaloids ในตัวอย่างพืชที่แห้งจะคงตัวเมื่อเวลาผ่านไป ด้วยเหตุนี้ตัวอย่างใบ *Strychonos nuxvomica* ที่เก็บรวบรวมไว้แต่เดิมในปี 1675 ยังคงมีอยู่ 1-2% โดยน้ำหนักของ alkaloid (Harborne, 1998)

สาร polyphenol บาง subclasses ถูกสกัดได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะที่ควบคุมมากกว่าที่บ่งชี้จากข้างบน ตัวอย่างเช่น ผลผลิตของ tannin ที่กลั่นตัวซึ่งได้จากใบของต้นหลิวมากที่สุด เมื่อสกัดจากใบสดที่ผ่านการทำให้แห้งภายใต้สูญญากาศก่อนที่จะทำให้แห้งในอากาศ ในทางตรงกันข้าม phenolic glycosides อย่างง่ายในตัวอย่างพืชชนิดเดียวกัน จะถูกสกัดได้ดีที่สุดหลังจากการทำให้แห้งในอากาศ (Harborne, 1998)

การแช่แข็งเนื้อเยื่อพืชที่ศึกษาเพื่อป้องกันการปนเปื้อนกับพืชชนิดอื่นเป็นจุดที่เห็นได้ชัดในขั้นนี้ ตัวอย่างเช่น มีความจำเป็นที่จะใช้พืชที่ไม่เป็นโรค นั่นคือพืชที่ไม่ติดเชื้อจากไวรัส แบคทีเรีย และรา ถ้าหากตัวอย่างพืชเกิดการติดเชื้อไม่เพียงแต่จะพบผลิตภัณฑ์ของการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์เท่านั้น แต่การติดเชื้ออาจทำให้เมแทบอลิซึมของพืชเปลี่ยนแปลงและอาจเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้คาดคิดว่าจะเกิดขึ้นได้ในจำนวนมาก การปนเปื้อนสามารถเกิดขึ้นเมื่อเก็บรักษาพืชไว้ เมื่อเชื้อราเจริญบนพืชที่เก็บมาจำเป็นต้องทิ้งตัวอย่างพืชนั้นไป ก่อนหน้านี้ได้มีการรายงานว่าพบกรดคลอโรจินิก (chlorogenic) จากตัวอย่างพืชชั้นสูงซึ่งกรดนี้มาจากเชื้อรา 2 ชนิดและไม่ถูกต้องอย่างแน่นอนเพราะว่าเกิดการปนเปื้อน จากการวิเคราะห์ซ้ำโดยทำกับพืชที่สะอาด พบว่าไม่มีสารชนิดนี้ อนึ่งมอส (moss) มักจะเจริญใหล้กับพืชชั้นสูงบ่อยๆและบางครั้งยากที่จะได้ตัวอย่างมอสเดี่ยวๆซึ่งปราศจากพืชชนิดอื่นปะปน ประการสุดท้ายในรายของพืชชั้นสูง พืชหลายชนิดอาจจะปะปนกันทำให้เกิดความผิดพลาด และหญ้า 2 ชนิดที่เจริญใกล้ๆกันในทุ่งนา อาจทำให้เข้าใจว่าเป็นพืชชนิดเดียวกัน ซึ่งทำให้เกิดความผิดพลาด (Harborne, 1998)

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพืช หลักฐานทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ใช้ศึกษาต้องได้รับการรับรองว่าเป็นพืชชนิดนั้นโดยผู้รู้ที่ได้รับการยอมรับความผิดพลาดเกี่ยวกับชนิดของพืชมากมายเคยเกิดขึ้นมาแล้วในอดีต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องพิสูจน์ว่าเป็นพืชชนิดนั้นจริง เมื่อใดก็ตามที่มีการรายงานการพบสารชนิดใหม่จากพืชหรือแม้แต่สารที่เคยมีผู้พบมาก่อนแล้วจากแหล่งใหม่ เป็นไปได้ที่ผู้เชี่ยวชาญด้านการจัดหมวดหมู่จะเป็นผู้บ่งชี้ชนิดของพืช ด้วยเหตุนี้ในการวิจัยสารสำคัญจากพืชมักจะนำตัวอย่างพืชที่ศึกษาไปไว้ใน recognized herbarium เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิงในอนาคตสำหรับพืชชนิดนี้ถ้าจำเป็น (Harborne, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 การสกัด

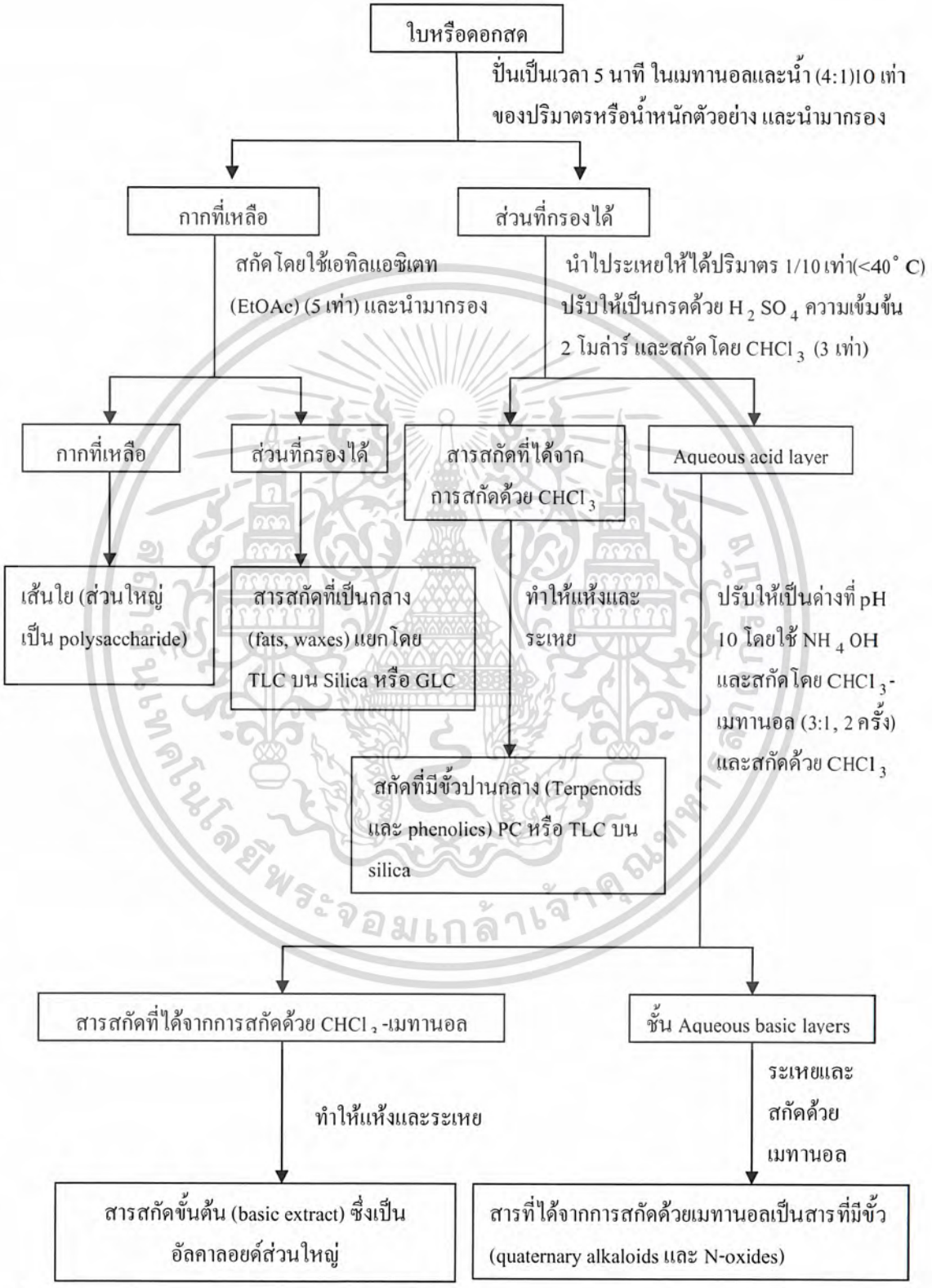
วิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับเนื้อสัมผัสและปริมาณของน้ำที่มีอยู่ตามธรรมชาติของพืชชที่จะนำมาสกัด และขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่จะแยกออกมา โดยทั่วไปควรจะทำลายเนื้อเยื่อของพืชเสียก่อน เช่น เพื่อป้องกันปฏิกิริยา enzymatic oxidation หรือ hydrolysis ที่เกิดขึ้นควรนำใบสดหรือเนื้อเยื่อของดอกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ อย่างเหมาะสม แช่ลงไปในเอทานอลที่เดือด แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับทุกกรณีของการสกัดในขั้นต้น ต่อมาวัสดุพืชควรถูกนำมาปั่นและกรอง เมื่อทำการสกัดสารจากพืชสีเขียว ความสำเร็จของการสกัดด้วยแอลกอฮอล์เกี่ยวข้องโดยตรงกับการที่ chlorophyll จะถูกสกัดออกมาในตัวทำละลาย และมีเนื้อเยื่อเหลืออยู่ ทำการสกัดซ้ำจนกระทั่งปราศจากสีเขียวในกาก ซึ่งสามารถสันนิษฐานได้ว่าสารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำทั้งหมดได้ถูกสกัดออกมาแล้ว (Harborne, 1998)

วิธีการทางเคมี เพื่อให้ได้สารประกอบอินทรีย์จากเนื้อเยื่อที่แห้ง (แก่นไม้ เมล็ดแห้ง ราก ใบ) คือการสกัดอย่างต่อเนื่องใน soxhlet apparatus กับตัวทำละลายหลายชนิด เริ่มต้นจาก ether, petroleum และ chloroform (เพื่อแยกไขมันและเทอร์พรีนอยด์ (terpenoids)) และจากนั้นจึงสกัดต่อด้วยแอลกอฮอล์และเอทิลเอซิเตท (ethyl acetate) (สำหรับสารที่มีขั้วมากขึ้น) วิธีการนี้มีประโยชน์เมื่อใช้กับพืชที่ซึ่งปริมาณเป็นกรัม อย่างไรก็ตามไม่บ่อยหนักที่จะประสบความสำเร็จในการแยกของสารประกอบ และสารได้ที่เหมือนกันออกมา (ในสัดส่วนต่างกัน) ในหลายๆ fraction สารสกัดที่ได้จะนำมากรองผ่าน celite โดยใช้ปั๊มน้ำช่วยในการกรองและต่อจากนั้นนำมาทำให้เข้มข้นใน vacuo ที่ใช้กันบ่อยในตอนนี้คือเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดที่เข้มข้นรวมกันในปริมาตรน้อยๆ ที่อุณหภูมิระหว่าง 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส การสกัดสารประกอบที่ระเหยได้จากพืชต้องระวังเป็นพิเศษ (Harborne, 1998)

ในขั้นตอนการสกัดสามารถทำได้โดยวิธีลัด ซึ่งเรียนรู้ได้จากการปฏิบัติ ตัวอย่างเช่น เมื่อแยกสารที่ละลายได้จากเนื้อเยื่อของใบไม้ควรขจัดไขมันในขั้นต้นก่อนทำให้เข้มข้น โดยล้างสารสกัดซ้ำด้วย petroleum จริงๆ แล้วเมื่อสารที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลโดยตรงถูกทำให้เข้มข้นโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ คลอโรฟิลล์และไขมันเกือบทั้งหมดจะติดด้านข้างของฟลาสก์และโดยอาศัยความชำนาญ สารสกัดที่เข้มข้น (aqueous concentrate) สามารถถูกปิเปตออกมาได้โดยเกือบจะปราศจากไขมันที่ปนเปื้อน สารสกัดที่เข้มข้นอาจตกผลึกเมื่อวางทิ้งไว้ ดังนั้นถ้าสิ่งนี้เกิดขึ้นควรกรองและทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟฟีด้วยตัวทำละลายหลายๆ ชนิด ถ้ามีสารเดี่ยวๆ ผลึกสามารถทำให้บริสุทธิ์โดยนำมาตกผลึกใหม่อีกครั้งและต่อจากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์ต่อไป โดยส่วนใหญ่จะมีสารหลายชนิดผสมกันอยู่ในผลึกและจำเป็นต้องนำมาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมและแยกสารต่างๆในของผสมนั้นออกจากกันโดยเทคนิคโครมาโตกราฟี สารหลายอย่างคงเหลืออยู่ในของเหลวต้นกำเนิด และจะถูกปล่อยโดยการแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกเป็นส่วนๆโดยโครมาโตกราฟี เพื่อระวังการสูญเสียควรจะเก็บสารสกัดที่เข้มข้นไว้ในตู้เย็นและเติม toluene ลงไปเล็กน้อยเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา (Harborne, 1998)



รูปที่ 7 ขั้นตอนทั่วๆไปสำหรับใช้ในการสกัดเนื้อเยื่อของพืชสดและการแยกส่วนให้ได้เป็น class ต่างๆ กัน ตามความมีขั้วของสารประกอบ

ที่มา : Harborne (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อจะทำการตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีอย่างสมบูรณ์ของพืชมีความจำเป็นต้องแยกส่วน (fractionation) ของสารสกัดหยาบ (crude extract) เพื่อแยกองค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบออกจากสารประกอบอื่นๆ ก่อนการวิเคราะห์ทางโครมาโตกราฟี วิธีการอาศัยหลักของการที่สารประกอบมีขั้วที่แตกต่างกันซึ่งอาจนำมาใช้กับพืชที่ประกอบด้วยอัลคาลอยด์ แสดงไว้ในรูปที่ 7

2.2.1.3 วิธีการแยกทั่วไป

การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของสารประกอบของพืช โดยส่วนใหญ่จะใช้วิธีหนึ่งหรืออีกวิธีหนึ่งหรือรวมกันของเทคนิคทาง Chromatography 4 อย่าง คือ Paper Chromatography (PC), Thin layer Chromatography (TLC), Gas liquid Chromatography (GLC) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทางเลือกของเทคนิคต่างๆ โดยมาขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการละลายและการระเหยของสารประกอบที่นำมาแยก PC เหมาะสมอย่างยิ่งกับสารประกอบของพืชที่ละลายน้ำได้นั่นคือ carbohydrates, amino acid, nucleic acid bases, organic acid และ phenolic compounds TLC เป็นวิธีที่เลือกใช้สำหรับการแยกส่วนของไขมันที่ละลายน้ำได้เช่น lipids, steroids, carotenoids, simple quinines และ chlorophylls ในทางตรงข้าม วิธี GLC พบว่าสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น fatty acid, mono- และ sesquiterpenes สารประกอบ hydrocarbons และ sulfur อย่างไรก็ตามการระเหยของสารประกอบของพืชที่มีจุดเดือดสูงกว่าสามารถเพิ่มขึ้นโดยเปลี่ยนมาเป็น ester และ/หรือ trimethysilyl ethers ดังนั้นมีบางกลุ่มเท่านั้นที่จะไม่มีความเหมาะสมอย่างสมบูรณ์สำหรับการแยกโดย GLC อีกวิธีหนึ่งสารที่ระเหยได้น้อยสามารถถูกแยกโดยวิธี HPLC ซึ่งรวมถึงประสิทธิภาพของ column กับความเร็วของการวิเคราะห์ นอกจากนี้อาจชี้ให้เห็นว่ามีการทับซ้อนกันมากในการใช้ประโยชน์ของเทคนิคข้างต้น และมักใช้เทคนิคเหล่านี้ร่วมกัน คือ PC และ TLC, TLC และ HPLC หรือ TLC และ GLC จะดีที่สุด สำหรับการแยกกลุ่มที่มีลักษณะเฉพาะของสารประกอบในพืช เทคนิคข้างต้นทั้งหมดสามารถใช้ได้ทั้งหน่วยเล็กและใหญ่ สำหรับการเตรียม TLC ทำบนชั้นหนาของ adsorbent และ PC ทำบนกระดาษกรอง สำหรับการแยกในกรณีที่เป็นหน่วยใหญ่กว่าในที่นี้จะใช้ column chromatography คู่กับ automatic fraction collecting วิธีการนี้ทำให้ได้สารประกอบบริสุทธิ์ในหน่วยกรัม (Harborne, 1998)

นอกจากนี้เทคนิคที่ซึ่งมีการประยุกต์ใช้ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพืช คือการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า (electrophoresis) วิธีนี้ใช้ประโยชน์กับสารประกอบที่มีประจุ เช่น กรดอะมิโน อัลคาลอยด์ เอมีน กรดอินทรีย์ และโปรตีนบางชนิด อย่างไรก็ตามสารประกอบที่เป็นกลางบางกลุ่ม เช่น น้ำตาลและฟีนอล สามารถนำมาใช้เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า โดยเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ (เช่น ใช้ sodium borate) (Harborne, 1998)

Capillary electrophoresis ซึ่งนิยมใช้ในปัจจุบันทำโดยใส่ใน bore fused silica tubes ที่เล็กมากๆ ยาวประมาณ 1 เมตร ไฟฟ้า voltage สูง (30 kv) ประยุกต์ใช้ UV detection ที่ปลาย cathode ตัวอย่างใช้ที่ปลาย anode สามารถใช้กับ 1 นาโนกรัม แต่ความเข้มข้นควรจะค่อนข้างสูง เทคนิคนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีคุณค่ามากสำหรับแยกสารทุติยภูมิส่วนใหญ่แต่ใช้เฉพาะ polyphenols จากพืช นอกจากเทคนิคดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีเทคนิคอื่นอีกที่จะนำมาใช้บางครั้งในการวิจัยองค์ประกอบทางเคมีของพืช การแยกโดย simple liquid – liquid extraction ยังคงเป็นเทคนิคที่มีคุณค่าในการวิจัยทางด้านแคโรทีนอยด์ (Harborne, 1998)

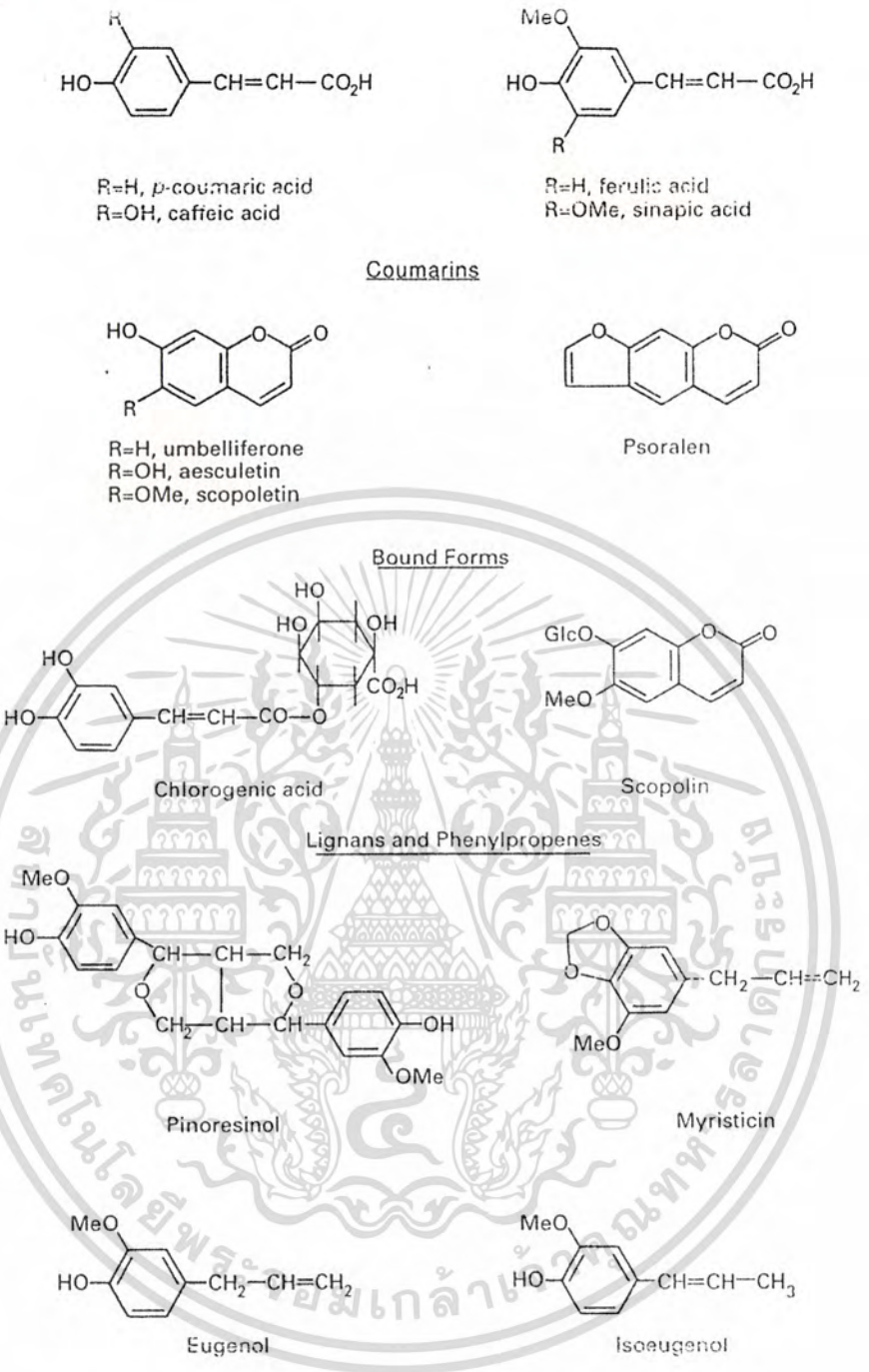
2.2.2 สารสำคัญจากพืช

2.2.2.1 ฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoid)

ฟีนิลโพรพานอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิคที่พบตามธรรมชาติ ซึ่งโครงสร้างประกอบด้วยวงอะโรมาติกที่มีโซ่ข้าง (side-chain) 3 คาร์บอน สารนี้สังเคราะห์จากกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นวงและอาจมี C_6-C_3 หนึ่งหรือมากกว่าโดยจะมีกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) แพร่กระจายกว้างขวางและไม่เพียงแค่เป็นสารสำคัญที่ไว้ใช้ในการเตรียมการสร้างหน่วยย่อย (building block) ของลิกนิน แต่ยังเกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญและการต้านทานโรคอีกด้วย ในสารพวกฟีนิลโพรพานอยด์จะรวมถึงไฮดรอกซีคูมาริน (hydroxycoumarin) ฟีนิลโพรพีน (phenylpropene) และลิกแนน (lignan) โครงสร้างชนิดของฟีนิลโพรพานอยด์ในพืช แสดงในรูปที่ 8

กรดไฮดรอกซีซินนามิก 4 ชนิดที่พบทั่วไป ซึ่งในความเป็นจริงแล้วเกือบจะพบอยู่ทุกส่วนของพืช เช่น กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) กรดไซนาพิก (sinapic acid) และกรดพีคูมาริก (*p*-coumaric acid) สามารถแยกหาตัวอย่างสารเหล่านี้ได้อย่างง่ายบนกระดาษโครมาโตแกรม เนื่องจากสารเรืองแสง (มีความแตกต่างของความมืดของสีน้ำเงินและสีเขียว) ในแสงยูวี ซึ่งมีกรดซินนามิก 6 ชนิดที่เป็นที่รู้จักแล้ว แต่กรดซินนามิกนี้ค่อนข้างจะหายาก ตัวอย่างเช่น กรดไอโซเฟอรูริก (3-hydroxy-4-methoxycinnamic) กรดออร์โธ-คูมาริก (*o*-coumaric acid) และกรดพาราเมทอกซีซินนามิก (*p*-methoxycinnamic acid) กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) โดยปกติจะพบอยู่ในพืชที่รวมกันด้วยพันธะเอสเทอร์ โดยสารเหล่านี้จะให้ผลผลิตที่มากที่สุดโดยทำปฏิกิริยากับสารเคมีในน้ำที่เป็นด่าง (alkaline hydrolysis) ที่ไม่รุนแรง ตั้งแต่การใช้การสลายวัสดุด้วยกรดร้อนโดยตรงโดยผ่านขบวนการดีคาร์บอกซีเลชัน (decarboxylation) จนได้ไฮดรอกซีสไตรีน (hydroxystyrene) ที่คล้ายกัน กรดคาเฟอิก (caffeic acid) จะพบได้เป็นบ่อยหมือนกับกรดควินิก (quinic acid) และกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) แต่ไอโซเมอร์ที่รู้จัก เช่น กรดไอโซคลอโรจินิก (isochlorogenic acid) และอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น คาฟีออยกลูโคส (caffeoylglucose) และมีกรดอินทรีย์ เช่น กรดโรสมารินิค (rosmarinic acid) กรดคาฟีออยทาทาร์ทาริก (caffeoyltartaric acid) ที่จะต้องอธิบาย ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกันของกรดคาเฟอิกนี้จึงน่าสนใจเป็นพิเศษจากจุดบนของโครงสร้างทางเคมี (Harborne, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 โครงสร้างของฟีนิลโพรพานอยด์

ที่มา : Harborne (1998)

ในพืชจะมีสารคูมาริน (coumarin) แพร่กระจายอยู่ทั่วไปมากที่สุด ซึ่งสารคูมารินเป็นสารประกอบด้วยตัวของมันเองโดยจะพบในวงศ์ของพืชมากกว่า 27 วงศ์ โดยทั่วไปจะพบในหญ้าและหญ้าแห้งหลายๆ ชนิด และเป็นวัสดุที่ยังมีกลิ่นหอมอยู่ตลอด ซึ่งปล่อยจากหญ้าที่ตัดใหม่ๆ สารไฮดรอกซีคูมาริน (hydroxycoumarin) จะพบในวงศ์ของพืชที่แตกต่างกันโดยจะมีสิ่งหนึ่งเหมือนกันคือสารอัมเบลลิเฟอโรน (umbelliferone) เอสคูเลติน (aesculetin) หรือแคฟนิติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(daphnetin) จาก Daphne และฟราซีติน (fraxetin) จากต้นแอชหรือไม้ในพวกแฟรกซินัส (fraxinus) สารเหล่านี้เป็นสารเชิงซ้อนของสารคูมารินที่พบในพืช ตัวอย่างเช่น สารฟูราโนคูมาริน (furanocoumarin) เป็นตัวอย่างของสารโซราเลน (soralen) (รูปที่ 8) แต่สารนี้โดยทั่วไปจะมีจำกัดใน 2-3 วงศ์ เช่น วงศ์ไม้ส้มและพืชในวงศ์ Umbelliferae ลิกแนน เป็นสารประกอบในกลุ่มไดเมอริก C_6-C_3 compound เช่น ไพโน เรซินอล (pinoresinol) แสดงในรูปที่ 8 ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะสร้างในแก่นไม้ ส่วนโครงสร้างจำนวน 200 โครงสร้างที่ได้มีการศึกษาไว้แล้ว

สารฟีนิลโพรพานอยด์อีกกลุ่มหนึ่งที่จะต้องกล่าวถึงคือฟีนิลโพรพีนเพราะมีความสำคัญต่อการช่วยให้กลิ่นระเหยและกลิ่นหอมของพืช โดยทั่วไปสารฟีนิลโพรพีนจะคัดแยกได้จากน้ำมันหอมระเหยในส่วนของเนื้อเยื่อพืชซึ่งร่วมกับสารกลุ่มเทอปีนที่ระเหยได้ทั้ง 2 ชนิด เป็นของเหลวที่ละลายน้ำได้เป็นข้อแนะนำจากสารประกอบฟีนอริกอื่นๆ โครงสร้างที่พบได้ ทั่วไป เช่นสารยูจีนอล (eugenol) เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันในการพลู ส่วนในวงศ์พืชอื่น 2-3 วงศ์ อะนีโทล (anethole) จะพบในพืชจำพวกผักชีและพืชจำพวกยี่หร่า (อยู่ในวงศ์ Umbelliferae ทั้งคู่) และสารไมริสติซิน (myristicin) จะพบในลูกจันทร์เทศ วงศ์ Myristicaceae เป็นส่วนใหญ่ โดยจะพบในพืช umbellifer ไอโซเมอร์อัลลิล และโพรพีนิล (propenyl) สามารถทำให้สำเร็จได้ในห้องปฏิบัติการแต่ต้องอยู่ภายใต้สภาวะที่รุนแรงมาก (เช่น มีหมู่อัลคาไลที่แข็งแรง) กระบวนการไอโซเมอไรเซชันนี้ไม่น่าจะเกิดขึ้นในสภาวะทั่วไปของการคัดแยก (เช่น การสกัดด้วยอีเทอร์ เป็นต้น) (Harborne, 1998)

2.2.2.2 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

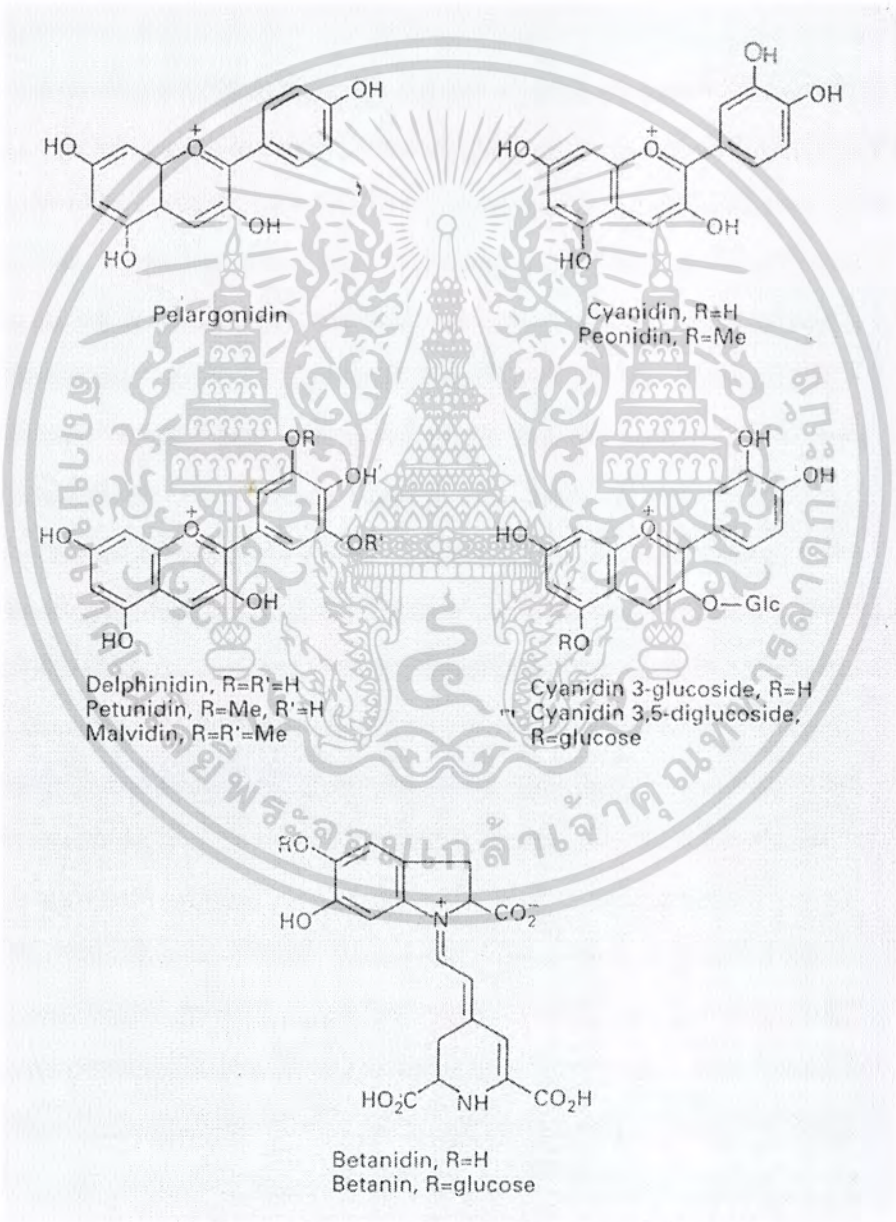
สารแอนโทไซยานินเป็นสารที่สำคัญที่สุดและเป็นกลุ่มที่พบได้แพร่หลายของวัตถุที่มีสีในพืชสีส่วนมากจะจะละลายในน้ำได้ เรียก "รงควัตถุ" ซึ่งมีตั้งแต่เกือบชมพู สีแดงสด สีแดง สีม่วงชืด สีม่วง และสีน้ำเงินในกลีบดอกไม้ ใบ และผลไม้ในพืชชั้นสูง สารแอนโทไซยานินมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยโครงสร้างเป็นวงเดียว เรียกว่า "cyaniding" ซึ่งสีทั้งหมดมาจากรงควัตถุที่เติมเข้าไปหรือการหักออกของหมู่ไฮดรอกซิลหรือกระบวนการเมทิลลาชัน (methylation) หรือกระบวนการไกโคซิลลาชัน (glycosylation) (รูป ที่ 9)

สารแอนโทไซยานินมี 6 ชนิด (โครงสร้างแอนโทไซยานินอะไกโคนเมื่อสลายแอนโทไซยานินด้วยกรด) สีม่วงแดงของไซอะนิดิน (cyaniding) เป็นสีทีพบมากที่สุด สีส้มแดงจะพบพีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) มีหมู่ไฮดรอกซิลน้อยกว่าไซอะนิดินในขณะที่สีม่วงชืด สีม่วง และสีน้ำเงิน จะพบเดลฟินิดิน (delphinidin) ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่าไซอะนิดินมี 3 แอนโทไซยานิดิน เมทิลอีเทอร์ (anthocyanidin methylethers) ที่พบได้ทั่วไป พีโอนิดิน (peonidin) เกิดจากไซอะนิดิน และพีตูนิดิน (petunidin) และมาลิดิน (malvidin) จะตั้งอยู่บนเดลฟินิดินแต่ละชนิดของ 6 แอนโทไซยานินจะมีชนิดของน้ำตาลจะเชื่อมกับไกโคซิเดส (เช่น เหมือนแอนโทไซยานิน) ความแตกต่างส่วนใหญ่ในธรรมชาติของน้ำตาล (ส่วนใหญ่จะพบกลูโคสแต่บางครั้งพบกาแลคโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แรมโนส ไซโรส หรืออะราบิโนส) จำนวนของน้ำตาล (เดี่ยว คู่ หรือสามไกลโคซิเดส) และตำแหน่งที่เชื่อมกับน้ำตาล (โดยปกติตรงตำแหน่ง 3- hydroxyl หรือที่ 3- หรือ 5-hydroxyls รูปที่ 9) (Harborne, 1998)

จำนวนของแอนโทไซยานินที่สำคัญจะมีการใส่หมู่เอซิลเข้าไป (acylate) ร่วมกับพันธะอีเทอร์และกรดอินทรีย์ เช่น กรดมาโลนิกหรือกรดอะโรมาติก เช่น กรดพารา-คูมาริก กระบวนการใส่หมู่เอซิลเป็นการนำน้ำตาลของตำแหน่งที่ 3 และทั้งสองชนิด ซึ่งอาจจะแสดงออกในโมเลกุลเดียวกัน



รูปที่ 9 โครงสร้างของแอนโทไซยานินและเบต้าไซยานิน

ที่มา : Harborne (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดลฟินิดิน ไซอะนิดิน พีลาร์โกนิดิน อาจจะมีโครงสร้างในการสลายเนื้อเยื่อพืชด้วยกรดจากไม่มีสีของโพลิเมอร์ของแทนนินจากสารประกอบเริ่มแรกที่รู้จักนั้นคือ ลิวโคแอนโทไซอะนิดิน (leucoanthocyanidin) และปัจจุบันนั้นคือ โปรแอนโทไซอะนิดิน (proanthocyanidin) หรือฟลาโรแลน (flarolan) การสร้างแอนโทไซอะนิดินจะประกอบขึ้นด้วยวิธีหลักเพื่อหาสารที่ไม่มีสีในพืช โดยสารเหล่านี้จะพบในไม้และกลีบดอกของพืชที่มีไม้ประกอบอยู่มาก แต่บ่อยครั้งจะปรากฏในดอกไม้ของพืช เช่น ในกรณีถ้าเนื้อเยื่อของพืชมีสี มันจะไม่ชัดเจนในการวิเคราะห์ขั้นแรก ไม่ว่าจะเป็นการตรวจหารงควัตถุของแอนโทไซอะนิดินที่เกิดจากแอนโทไซอะนิดินหรือจากแอนโทไซยานิน (Harborne, 1998)

ในกรณีที่แอนโทไซยานินเกือบจะทั้งหมดที่อยู่ในถุงเล็กๆ (vescular) ของพืช (จะต้องหาในมอส 2-3 ชนิด ในเฟิร์นที่ยังอ่อน รวมทั้งในพืชที่มีเมล็ดที่เผยออกมาและพืชเมล็ดอยู่ภายในผล) โดยสิ่งเหล่านี้จะเข้าไปแทนที่ด้วยกลุ่มรงควัตถุที่คล้ายๆ กันเบต้าไซยานิน (betacyanin) จะพบในพืชชั้นสูง เช่น พืชในตระกูล *Controspermae* จะมี เบต้าไซยานิน ซึ่งก็คือเบต้านิน (betanin) ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักที่พบในบีทรูท เบต้าไซยานินมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างจากแอนโทไซยานินชัดเจน (ดูรูป ที่ 9)

2.2.2.3 แทนนิน (Tannin)

แทนนินพบได้ทั่วไปในถุงหุ้มเล็กๆ ของพืช โดยจะเกิดในแองจิโอสเปิร์มโดยเฉพาะในเนื้อเยื่อของไม้ โดยสารนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับโปรตีนมีโครงสร้างโค-พอลิเมอร์ ที่เสถียรเมื่อไม่ละลายน้ำ ในระดับอุตสาหกรรมสารแทนนินจะเป็นสารเริ่มต้นของพืชเนื่องจากมีความสามารถในการเชื่อมขวาง (cross-link) ด้วยโปรตีนที่สามารถเปลี่ยนผิวของสัตว์กลายเป็นผิวหนัง ในเซลล์ของพืชสารแทนนินจะถูกสร้างขึ้นจากโปรตีนและเอนไซม์ของไซโตพลาสซึม แต่เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น เมื่อให้อาหารสัตว์จะเกิดปฏิกิริยาแทนนิงรีแอคชันเกิดขึ้น แล้วจะสร้างโปรตีนที่ใช้ได้ง่ายน้อยลงเพื่อย่อยน้ำผลไม้ของสัตว์ สารแทนนินในเนื้อเยื่อของพืชชั้นสูง ในความเป็นจริงแล้วไม่ได้ผลจำนวนมาก เพราะเป็นการทดสอบที่รุนแรง หนึ่งในกลุ่มของแทนนินในพืชเป็นอุปสรรคต่อสัตว์ที่กินพืชเป็นอาหาร (Harborne, 1998)

โครงสร้างทางเคมีของแทนนินจะประกอบด้วย 2 ส่วนหลักๆ (ตารางที่ 5) ที่กระจายไม่สม่ำเสมอในอาณาจักรพืช และมีปริมาณลดลงหรือแทบจะไม่มีในเฟิร์นและจิมโนสเปิร์ม และพบได้ทั่วไปในแองจิโอสเปิร์มโดยเฉพาะในสกุลของไม้ จะมีความแตกต่างของการไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolysable tannin) จะถูกกำจัดพืชใบเลี้ยงคู่และพบเพียงแค่ใน 2-3 วงศ์เท่านั้น สารแทนนินทั้ง 2 ชนิดสามารถพบอยู่ในพืชชนิดเดียวกันได้ โดยจะพบในเปลือกและใบของต้นโอ๊ค โครงสร้างทางเคมีของแทนนินชี้ให้เห็นว่ามีความยากที่จะทำให้สำเร็จ และสารนี้พบเพียงแค่ 10 ปีมานี้ที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนแต่เต็มไปด้วยคุณค่า ตัวอย่างเช่น ลักษณะสำคัญของโครงสร้างทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(stereochemical) ที่แตกต่างกันระหว่างโปรแอนโทไซอะนิดินของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ (Harborne,1998)

ตารางที่ 5 การจำแนกสารแทนนินในพืช

Nomenclature	โครงสร้าง	น้ำหนักโมเลกุล	Protein precipitation
Condensed tannins			
Proanthocyanidins (or flavolans)	Oligomers of catechins and flavan-3,4-diols	1000-3000	++++
Hydrolysable tannins			
Gallotannins	Esters of gallic acid and glucose	1000-1500	+++++
Ellagitannins	Esters of hexahydroxydiphenic acid and glucose	1000-3000	+++++
Prototannins	Catechins (and gallocatechins)	200-600	±
Tannin precursors	flavan-3,4-diols		

ที่มา : Harborne (1998)

2.2.2.4 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติทางชีววิทยา (biologically) ที่หลากหลายมากมาย ซึ่งประกอบด้วยอะโรมาติกหนึ่งวงหรือมากกว่านี้ พบได้ตามธรรมชาติเป็นสารที่ให้กลิ่น สี และเนื้อสัมผัส จัดเป็นสารฟีนอลิกอย่างง่าย ซึ่งรวมถึง 1) โมโนฟีนอลที่มีวงเบนซินอันเดียว เช่น 3-ethylphenol และ 3,4-dimethylphenol พบในผลไม้และเมล็ด 2) กรดไฮดรอก์ซินนามิคที่ประกอบด้วยกรดคาเฟอิกและกรดเฟอรูลิก 3) ฟลาโวนอยด์ และไกลโคซิเดสอื่นๆ ที่รวมถึงคาเทซิน โปรแอนโทไซยานิน แอนโทไซยานิดินและฟลาโวนอยด์ และ 4) แทนนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและเป็นกลุ่มที่กำหนดการละลายน้ำของฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ปริมาณการบริโภคสารฟีนอลิกในแต่ละวันอาจจะสูงถึง 1 กรัมต่อวัน แต่ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ควบคุมจำนวนปริมาณไม่มากกว่า 20-30 มิลลิกรัมต่อวัน ฟลาโวนอยด์มีประสิทธิภาพต่อการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยการลดโลโพโปรตีนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่ดูดซึมจากอาหารได้ยากและมีผลกระทบต่อสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นของพลาสมา ตอนนี้สารยูบิควิตัส ฟลาโวนอล และเคอซีทิน (ubiquitous flavonol และ quercetin) มีความเป็นไปได้ที่จะป้องกันการเกิดโรคมะเร็งจากสารที่อาจก่อมะเร็ง (Harborne, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้พื้นบ้าน

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คืออะตอมโมเลกุลหรือสารปะกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทอลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้หมายรวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและอิออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกลุของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละวงโคจรหรือออร์บิทอล ทั้งนี้การสปินหรือการหมุนรอบตัวของอิเล็กตรอนทั้งสองจะสปินแบบคู่ขนานในทิศทางเดียวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลหรืออนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A• อนุมูล A^-• และอนุมูล A^+• โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุล เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่ไวในปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (O_2^{-}•) อนุมูลไฮดรอกซี (•OH) อนุมูลอัลคอกซี (RO•) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO_2•) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา (โอภา, 2550)

อนุมูลอิสระ หรือ อนุมูล เป็นศัพท์ที่นิยมใช้ทั้งคู่ เหตุที่มีการตัดคำว่า "อิสระ" ออกเนื่องจากคุณสมบัติที่ไวต่อปฏิกิริยาทำให้อนุมูลไม่คงตัวอยู่ในสภาวะอิสระได้ ซึ่งเป็นผลมาจากสภาวะความเป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวเป็นอิสระไม่มีคู่ นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารหลายชนิดที่ไม่อยู่ในสภาวะอนุมูล แต่มีความเกี่ยวข้องหรือเป็นผลผลิตของอนุมูลและมีความไวต่อปฏิกิริยาสูงดังแสดงในตารางที่ 6 สารเหล่านี้มีทั้งที่เป็นสารที่ให้กำเนิดอนุมูลเนื่องจากมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่าย เช่น โอโซน หรือ สารที่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นเกิดเป็นอนุมูล เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รวมถึงสารที่เป็นผลผลิตของอนุมูลที่มีอันตรายสูง ได้แก่ เปอร์ออกซีไนไตรท ซึ่งเรียกโดยรวมว่าสารไวต่อปฏิกิริยา (reactive species, RS) อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลที่มีบทบาทในทางชีววิทยา แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (โอภา, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
<u>ชนิดของออกซิเจนที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา (Reactive oxygen species (ROS, RS))</u>	
Superoxide,Superoxide anion, $O_2^{-}\bullet$	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, •OH	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2\bullet$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2\bullet$	Singlet oxygen (O_2)
Alkoxyl, RO•	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_3^{-}\bullet$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{-}\bullet$	Peroxynitrous acid, ONO
	OH
<u>ชนิดของไนโตรเจนที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา (Reactive nitrogen species (RNS))</u>	
Nitric oxide, NO•	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2\bullet$ $NO_2\bullet^-$	Nitrosyl cation, NO+Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide,
	N_2O_3 Peroxynitrite, $ONOO^-$ Peroxynitrous
	acid, ONOOH Nitronium (nitryl) cation, NO_2+
	Alkyl peroxynitrites, ROONO
<u>ชนิดของคลอรีนที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา (Reactive chlorine species (RCS))</u>	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acid, HOCl
	Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl
	Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
สารอื่นๆ	
Thioyl radical (RS•)	

ที่มา : โอภาและคณะ (2550)

ชนิดของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย
2. อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย
   - 2.1 การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส
   - 2.2 การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune diseases) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคเก๊าท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 รังสี

2.4 สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่

2.5 การออกกำลังกายอย่างหักโหม

การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (O_2-•) และอนุมูลไฮดรอกซี (•OH) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่าอนุมูลอื่นๆ ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และเปอร์ออกซีไนเตรท ($ONOO^-$) แม้ว่าโครงสร้างไม่อยู่ในอนุมูลอิสระแต่เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาต่อเนื่องที่มีอนุมูลอิสระเป็นต้นเหตุ สารที่ได้ได้อยู่ในรูปอนุมูลเหล่านี้มีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมาก และมีความเป็นพิษสูง จึงมาการบัญญัติศัพท์ใหม่ให้ครอบคลุมทั้งอนุมูลอิสระและสารที่ว่านี้ว่าสารความไวสูง (โอภา, 2550)

2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า antiradical ปัจจุบันคำศัพท์นี้ได้ถูกบัญญัติใหม่เป็นสารขจัดหรือกำจัดอนุมูล (radical scavenger) เพื่อให้ถูกต้องตรงกับการทำงาน และอาจใช้คำว่าสารแอนตี้ออกซิแดนท์แทน อย่างไรก็ตามในภาษาไทยยังคงใช้คำว่าสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไปหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ สารขจัดอนุมูลที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดยูริค บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูล ส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบตาแคโรทีน และยูบิควิโนน จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูล สารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมามีโครงสร้างและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินอีมีโครงสร้างเคมีที่ละลายไขมันได้ดีดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมเบรนได้ วิตามินอีจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซีและได้เป็นอนุมูลวิตามินอี (T-O•) อนุมูล (T-O•) เป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำ ทำให้ไม่สามารถเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันต่อไปได้ วิตามินซีละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยนอนุมูล (T-O•) ทำให้ได้วิตามินอีกลับคืนโดยการรับอิเล็กตรอนจากอนุมูล (T-O•) อนุมูลวิตามินซีจะถูกขับออกทางปัสสาวะ (พรทิพย์, 2549)

การทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุการเกิดของอนุมูลอิสระนับเป็นกลไกการทำงานของระบบแอนตี้ออกซิแดนท์ที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้ สารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR) และ glutathione s-transferase (GST) ส่วนสารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione, lipoic acid, ceruloplasmin, albumin, transferrin, haptoglobin, hemopexin, uric acid, bilirubin และ cysteine ส่วนสารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปเผยแพร่ต่อ ทั้งในรูปแบบสื่ออิเล็กทรอนิกส์และสื่อสิ่งพิมพ์ ก่อนได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

tocopherols, carotenoids, ascorbic acid, steroids, ubiquinones, thiols, inosine, taurine, pyruvate gallic acid, flavonoids, trolox, BHT และ BHA (พรทิพย์, 2549)

2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

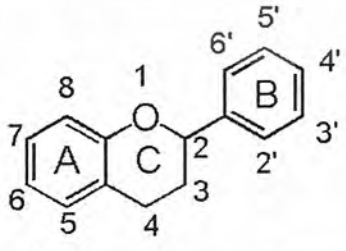
สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติได้มาจากการบริโภคผักผลไม้ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รวมถึงสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น โดยปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

2.3.2.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ ถือเป็น secondary metabolites ของพืชผัก ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ นับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้าง โพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือดรวมไปถึงการเป็นสารต้านมะเร็ง เป็นต้น (โอภา, 2550)

2.3.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

สารฟลาโวนอยด์พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียวและพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นใน ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ด ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาแวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม (โอภา, 2550)



รูปที่ 10 โครงสร้างของฟลาแวน (flavan)

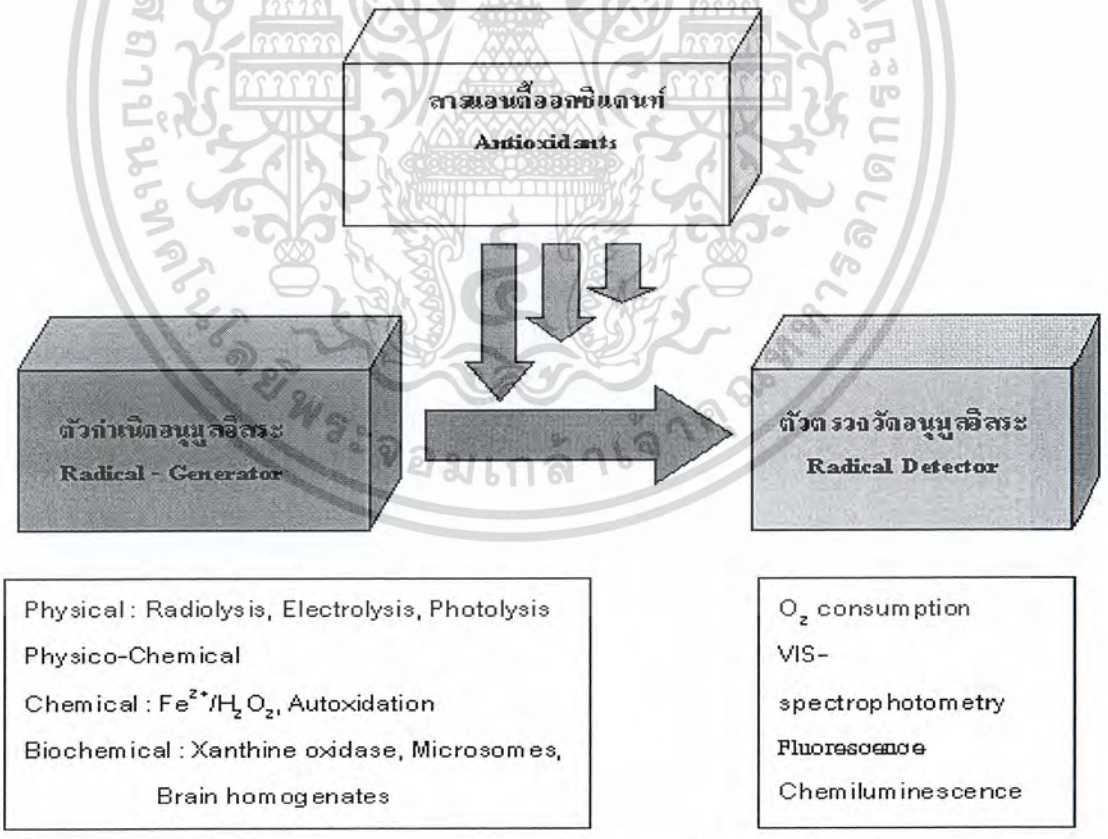
ที่มา : นิรนาม (http://www.metabolome.jp/software/FlavonoidViewer/image/core.gif)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 กรดฟีนอลิก (Phenolic acid)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลิสระของสารในกลุ่มของกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิกจะขึ้นกับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิกจะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของ hydroxybenzoate น้อยลง ดังนั้นจะพบว่าสารกลุ่ม hydroxycinnamic acid จะมีฤทธิ์ที่ดีกว่า (โอภา, 2550)

สารแอนตี้ออกซิแดนท์เหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ การหาขีดความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ส่วนใหญ่ โดยอาศัยหลักการดังรูปที่ 11 นั่นคือ ขั้นแรกจะเป็นสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อน แล้วจึงเติมสารแอนตี้ออกซิแดนท์ลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งหลักการนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างหลากหลายขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ และชนิดของตัว ตรวจวัดอนุมูลอิสระ ดังแสดงในตารางที่ 7 เป็นวิธีการตรวจวัดขีดความสามารถของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้อย่างแพร่หลายและรายงานไว้โดยนักวิจัยกลุ่มต่างๆ (พรทิพย์, 2549)



รูปที่ 11 หลักการหาขีดความสามารถของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : พรทิพย์ (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 วิธีการต่างๆที่ใช้ในการตรวจวัดขีดความสามารถของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

Radical generator (ตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ)	Radical detector (วิธีตรวจวัดอนุมูลอิสระ)	Measuring time (เวลาที่ใช้)
Methyl oleate + O_2	Peroxide	12 - 16 h
Brain homogenate + O_2	O_2 consumption	1 h
Oil + O_2	Electr. Conductivity	1 - 3 h
ABAP	O_2 consumption	30 - 60 min
Luimnol + UV-A	Chemiluminescence	1 - 3 min
ABAP	O_2 consumption	30 - 60 min
Egg yolk + Fe^{2+}	Chemiluminescence	10 - 20 min
ABTS + Peroxidase + H_2O_2	VIS spectrophotometry	5 min
AAPH	Fluorencence, R/ -phycoerythrin	70 min/sample (12 parallel)
Meth-Hb	Luminescence, O_2	20 - 40 min
ABAP	Fluorencence, R/β -phycoerythrin	20 - 40 min
Luminol + H_2O_2	Chemiluminescence	10 -20 min

ABAP : 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane)

ABTS : 2,2'- azinobis(3-ethylbenzothaizoline-6- sulfonic acid)

AAPH : 2,2'- azinobis(2- amidinopropane) dihydrocholide

ABAP และ AAPH เป็น substance

ที่มา : พรทิพย์ (2549)

2.3.3 บทบาทอนุมูลอิสระกับโรคและการป้องกัน

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรค ทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้เกิดโรคที่มีพัฒนาการอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาทในสมอง และภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต คือ หัวใจและสมอง นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไร้คู่ ดังนั้นจึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค คือ ชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์ และสารสื่อประสาท และดีเอ็นเอ (โอภา, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ไขมันถูกออกซิไดส์

ไขมัน (lipid) เป็นคำศัพท์ที่มีความหมายกว้างขวาง ครอบคลุมสารประกอบที่ไม่ชอบน้ำหรือไม่ละลายน้ำหลายชนิดที่มีโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกันมาก ได้แก่ กรดไขมัน ฟอสโฟลิพิด สเตียรอยด์ แวกซ์ กรดไขมันไม่เพียงพอแต่จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในร่างกายเท่านั้น แต่ยังรวมอยู่เป็นองค์ประกอบในเมมเบรน เช่น ฟอสโฟลิปิด และหน้าที่ควบคุมของเหลวในเมมเบรน ในสิ่งมีชีวิตองค์ประกอบในเมมเบรน เช่น ฟอสโฟลิปิด และทำหน้าที่ควบคุมของเหลวในเมมเบรน ในสิ่งมีชีวิต การที่ลิพิดออกซิไดส์โดยอนุมูล เรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และ ฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในเซลล์เมมเบรน หรือลิพิดในเลือดและในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูล สามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ ได้เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุล ก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยาเนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรนอันมีลิพิด 2 ชั้น เป็นส่วนประกอบทำให้เกิดสารประกอบผลผลิตที่หลากหลาย (โอภา, 2550)

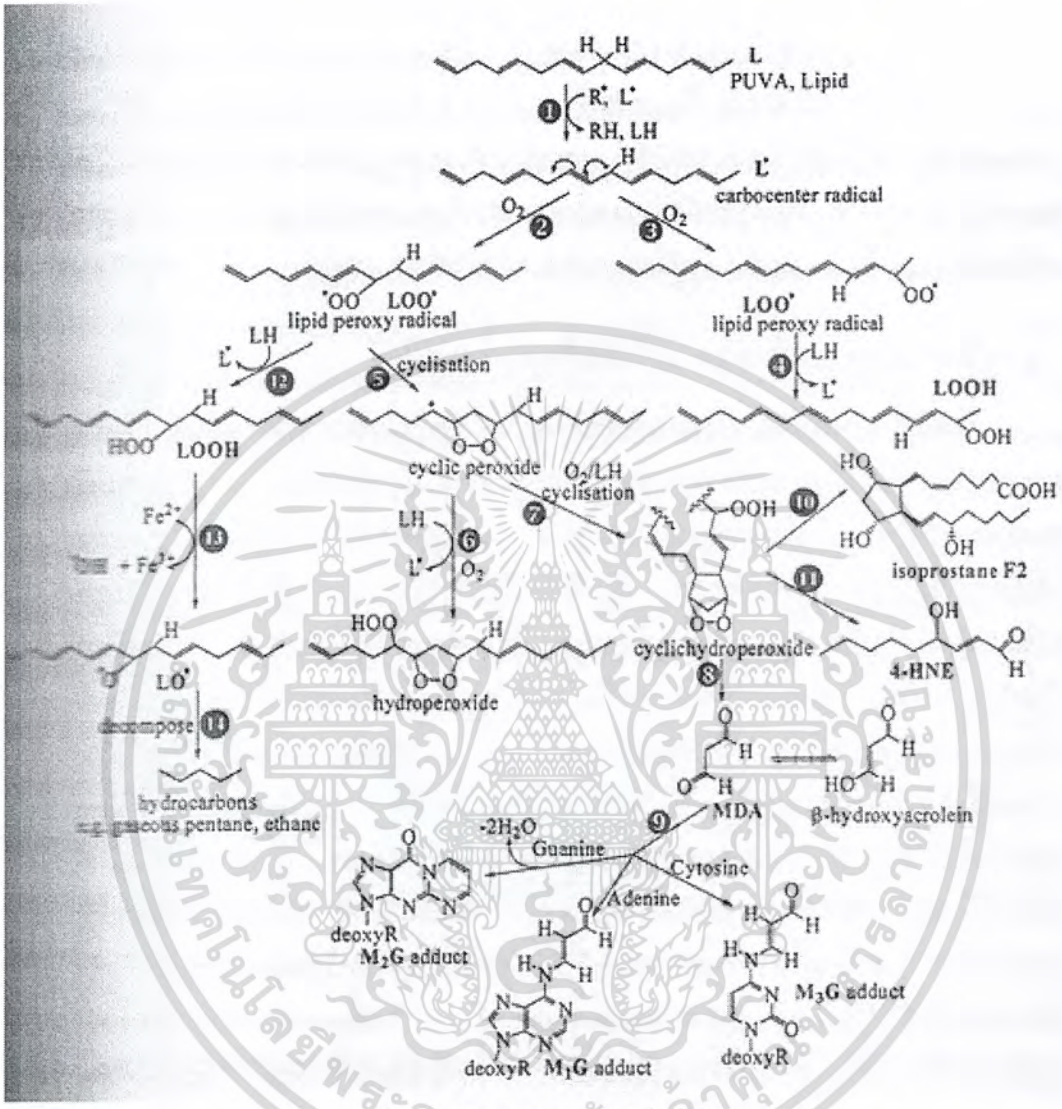
ดังนั้นความเสียหายจะไม่ได้เกิดขึ้นกับเซลล์เมมเบรนเท่านั้น แต่จะขยายวงกว้างไปยังองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้อาจทำให้เกิดการตายของเซลล์ การเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะทำให้เกิดการเสื่อมสลาย ได้สารประกอบจำนวนมาก ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนต่างๆ เช่น อีเทน อีทีน และเพนเทน เป็นต้น รวมถึงคีโตนและฮัลดีไฮด์ อัลดีไฮด์ที่เป็นผลิตผลจากการเสื่อมสลายที่เกิดขึ้นที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดิไฮด์ (malondialdehyde, MDA) ปริมาณ MDA ที่เกิดขึ้นนำมาใช้เป็นดัชนีวัดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน MDA สามารถเกิดปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกายได้ ซึ่งจะนำไปสู่การเกิดสารประกอบที่เชื่อมต่อกันภายในเซลล์เมมเบรน เช่น ลิพิด-ลิพิด และลิพิด-โปรตีน เป็นต้น (โอภา, 2550)

ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดลูกโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิพิดและทำให้เกิดอนุมูลลิพิด ($L^{\bullet}$ หรือ $R^{\bullet}$) อัตราเร็วของปฏิกิริยาและบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับชนิดหรือประเภทของอนุมูลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา และประเภทของลิพิด (โอภา, 2550)

อนุมูล $^{\bullet}OH$ จะทำให้เกิดปฏิกิริยากับลิพิดค่อนข้างเร็วและไม่เฉพาะเจาะจงตำแหน่งที่แน่นอนในการเข้าชนปฏิกิริยา ขณะที่อนุมูลเปอร์ออกซีจะมีความเฉพาะเจาะจงโดยไปดึงอะตอมไฮโดรเจนที่เข้าจับกับคาร์บอนแบบ alliylic ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นกับลิพิดหลายประเภทด้วยกัน เช่น กรดไขมัน ฟอสโฟลิพิด ไตรกลีเซอร์ไรด์ และโคเลสเตอร์ ดังนั้นปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ คือการเกิดอนุมูลลิพิด ($L^{\bullet}$) เมื่อได้อนุมูล $L^{\bullet}$ แล้ว จะสู่ขั้นตอนที่ 2 คือ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น โดยอนุมูลลิพิดจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(LOO$^{\bullet}$) อนุมูล LOO$^{\bullet}$ นี้สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปกับลิพิดโมเลกุลอื่นๆ เกิดเป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (LOOH) และเกิดอนุมูลลิพิดใหม่เพิ่มขึ้นเข้าสู่วงจรเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ดังแสดงในรูปที่ 12



รูปที่ 12 กลไกการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน
ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Volko และคณะ (2004)

วงจรการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มจากปฏิกิริยาที่ 1 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (L) ถูกอนุมูลอิสระดึงไฮโดรเจนทำให้เกิดอนุมูลอิสระบนอะตอมคาร์บอน (L$^{\bullet}$) ปฏิกิริยาที่ 2 และ 3 L$^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลเปอร์รีอกซี (LOO$^{\bullet}$) ที่ตำแหน่งท้ายสุดหรือที่ตำแหน่งตรงกลาง ปฏิกิริยาที่ 4 LOO$^{\bullet}$ ที่ตำแหน่งท้ายสุดถูกรีดิวซ์เป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (LOOH) ซึ่งจะคงตัวไม่เกิดปฏิกิริยา 13 หากปราศจากโลหะ ส่วน LOO$^{\bullet}$ ที่มีอนุมูลอิสระตรงกลางจะเกิดปฏิกิริยาเป็นไซคลิกเปอร์ออกไซด์ที่มีโครงสร้างเป็นวงห้าเหลี่ยมติดกับอนุมูลของอะตอมคาร์บอนในปฏิกิริยาที่ 2 ซึ่งถูกรีดิวซ์คือได้เป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (6) หรือเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้เป็นไบไซคลิกเปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

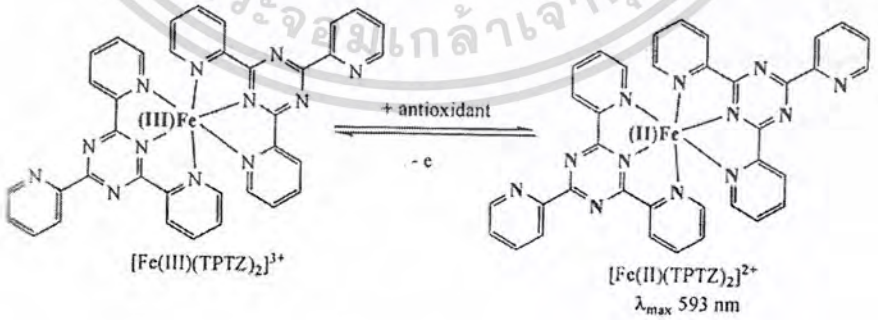
ออกไซด์มีโครงสร้างเป็นเอนโดเปอร์ออกไซด์ (7) ซึ่งสลายตัวต่อไปได้เป็นมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ในปฏิกิริยาที่ 8 ซึ่งเกิดปฏิกิริยากับเบส G, A และ C ของดีเอ็นเอ ได้เป็นสารแอดดักซ์ (9) สารไฮโซพลอสเทน (10) และไฮดร็อกซีโนนีนอล (11) $LOO^{\bullet}$ นอกจากเกิดปฏิกิริยาเป็นวงแล้วยังเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่โดยไปดึงไฮโดรเจนออกจากกรดไขมันข้างเคียงเกิดเป็น LOOH (12) ซึ่งทำปฏิกิริยากับโลหะในสภาพรีดิวซ์ เช่น Fe^{+2} เกิดเป็นอนุมูล $^{\bullet}OH$ (13) ซึ่งสลายกลายเป็นก๊าซเพนเทน และอีเทน (14) เป็นต้น (โอภา, 2550)

จากการเกิดปฏิกริยาลูกโซ่ทำให้อนุมูลเพียง 1 อนุมูล สามารถเข้าทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโมเลกุลอีกมากมาย การทวีเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาลูกโซ่หรือขั้นตอนที่ขยายออกไปมากขึ้นของปฏิกิริยาลูกโซ่จะสิ้นสุดลงเมื่ออนุมูลลิพิดหรืออนุมูลลิพิดเปอร์ออกซิลถูกขจัดออกไปจากวงโคจรโดยทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูล เช่น วิตามินอีหรือวิตามินซี หรือสิ้นสุดลงเมื่ออนุมูล 2 อนุมูลทำปฏิกิริยากันเอง ทำให้อิเล็กตรอนเดี่ยวของแต่ละอนุมูลจับคู่กันได้ผลผลิตที่ไม่เป็นอนุมูล (โอภา, 2550)

2.4 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 วิธี FRAP (ferric reducing/antioxidant power assay)

วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์หาค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันโดยตรง มีหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันในร่างกายทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ในการต้านออกซิเดชันเป็นความสามารถรวมในการรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร



รูปที่ 13 เหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) ถูกรีดิวซ์ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+}-TPTZ

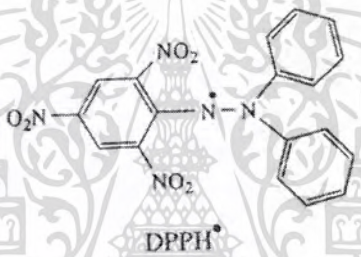
ที่มา : โอภา (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธี FRAP เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเกิดอย่างรวดเร็วภายใน 4-6 นาที แต่ในการวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันจากพืชจำพวกโพลีฟีนอล จะพบว่าค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร จะเพิ่มขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ ดังนั้นการวัดครั้งเดียวตามเวลาที่กำหนด จึงอาจไม่ใช่ค่าที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ วิธี FRAP มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อเสียคือกลไกของปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย (โอภา, 2550)

2.4.2 วิธี DPPH

อนุมูล DPPH* เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยา การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องมือสเปคโตโฟโตมิเตอร์วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไปโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร



รูปที่ 14 โครงสร้างของอนุมูล DPPH*
ที่มา : โอภา (2550)

ต่อมาได้มีการพัฒนาใช้ DPPH* ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูล เรียกว่า Antiradical Effciency (AE) โดยคำนวณจากสมการ

$$AE = 1/EC_{50}T_{EC50}$$

EC_{50} = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถลดปริมาณ DPPH เริ่มต้นลงได้ 50 %

T_{EC50} = เวลาที่ใช้ในการลดปริมาณอนุมูลให้ได้ EC_{50}

ข้อดีของวิธีนี้คือง่ายต่อการใช้เครื่องมือที่มีทั่วไป จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงย่านเดียวกัน ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถใช้จัดอันดับอนุมูลที่ความไวสูงได้ นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH• จางลงได้อีกด้วย (โอภา, 2550)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากผลไม้พื้นบ้าน

2.5.1 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ (มาลิน, 2540)

สารต้านแบคทีเรียมีคุณสมบัติ ขอบข่าย และการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งกลไกออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรีย โดยการขัดขวางการสร้างส่วนต่างๆ ของเซลล์ คือ ออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ ระดับเยื่อหุ้มเซลล์และสุดท้ายออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม

2.5.1.2 การออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์

โดยไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ทั้งนี้แบคทีเรียและราต่างมีผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของเซลล์ เป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของกลุ่มเชื้อทั้งสองต่างกัน สำหรับแบคทีเรียผนังเซลล์เป็นโครงสร้างสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามลักษณะการติดสีแกรม (gram stain) และการติดสีแบบแอซิดฟาส์ท (acid fast) การย้อมแบคทีเรียด้วยวิธีแบบแรก ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียเป็นสองพวกคือ พวกแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียทั้งสองพวกนี้มีโครงสร้างพื้นฐานของผนังเซลล์เป็นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) แบคทีเรียแกรมบวก มีส่วนนี้หนามากกว่าพวกแกรมลบ แต่พวกแกรมลบมีส่วนของ ไลโพโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) หุ้มรอบอีกชั้นหนึ่ง สารต้านจุลินทรีย์ชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์เปปติโดไกลแคน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง แบคทีเรียแบ่งตัวไม่ได้ ได้แต่ยืดออก และเกิดรูที่ผนังเซลล์ ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ไหลออกมาภายนอกและแตกในที่สุด

2.5.1.3 การออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์

สารต้านแบคทีเรียจะไปรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามา หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไปคือเป็น osmotic barrier ที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ electron transport และ oxidative phosphorylation ทำให้ตัวเซลล์แบคทีเรียถูกปล่อยออกมาน้อยลง นอกจากนี้ จะเข้าไปแทรกระหว่างโปรตีนและไลปิดของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาด เป็นผลให้สารไซโตพลาสซึมไหลออกมาทำให้เซลล์ตาย

2.5.1.4 การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม

การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึมเกิดขึ้นโดยสารต้านจุลินทรีย์ไปยับยั้งการนำไทมีน (thymine) เข้าจับกับนิวคลิโอไทด์ตัวอื่นๆ ทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบูรณ์ และไปยับยั้งการสร้างโปรตีนโดยไปทำให้กรดอะมิโนไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์ จึงไม่สามารถสร้างโปรตีนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ (Sensitivity test)

วิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ วิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบ คือ การให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้น (agar diffusion method) การแปรผลเบื้องต้นดูจากบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่าสารตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ต้านเชื้อ และถ้าไม่เกิดแสดงว่าไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นของสารที่สงสัยมักใช้วิธีดิสส์ ดิฟฟิวชัน (disc diffusion method) เพราะไม่ต้องพะวงถึงตัวทำละลายที่จะใช้ในการละลายสารว่ามีผลกระทบต่อผลการทดสอบหรือไม่ ในการละลายควรละลายให้ได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่าที่ทำได้ บางที่อาจแนะนำให้เตรียมร้อยละ 20 จากนั้นหยดสารละลายนี้บนแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร แล้วตั้งทิ้งไว้หรือเป่าให้ตัวทำละลายระเหยออกก่อนนำไปวางบนอาหารวุ้นที่เพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ ภายหลังการบ่มเพาะตรวจสอบว่ามีบริเวณใสเกิดขึ้นหรือไม่ ถ้ามีให้เจือจางสารและดำเนินการทดสอบต่อโดยวิธีเดิมหรือใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลว เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (minimal bactericidal concentration, MBC) ถ้าไม่มีบริเวณใสเกิดขึ้นก็อาจหยุดการทดสอบเพียงเท่านั้น แต่ถ้ายังสงสัยว่าสารที่ไม่ก่อให้เกิดบริเวณใสนี้น่าจะมีฤทธิ์ก็อาจเปลี่ยนใช้วิธีเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวแทน เพราะสารออกฤทธิ์บางชนิดอาจไม่สามารถแพร่ในอาหารวุ้นได้ การทดสอบทุกครั้งต้องมีตัวทำละลาย (solvent control) และตัวยาที่รู้ประสิทธิผล (positive control) ทำควบคู่เสมอ (มาลิน, 2540)

การทดสอบสารสกัดจากพืชซึ่งมักมีสีเข้มถ้าใช้วิธีการให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้นไม่ค่อยมีปัญหาจากเรื่องของตัวทำละลายที่อาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อและการอ่านผล แต่ถ้าใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลวอาจเกิดปัญหาทั้งสองอย่างได้โดยสีของสารสกัดอาจมีผลต่อการอ่านผลและตัวทำละลายอาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อ เนื่องจากไม่สามารถระเหยตัวทำละลายออกไปได้อย่างเช่นการใช้วิธีการให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้นโดยผ่านกระดาษซับกลม การแก้ปัญหาของตัวทำละลายที่อาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อ คือ หลังจากเจือจางด้วยตัวทำละลายนี้แล้วให้เจือจางต่อด้วยน้ำ ซึ่งตัวทำละลายที่ต้องทำควบคู่ก็ให้เจือจางในลักษณะเดียวกัน ส่วนการอ่านผลอาจต้องใช้วิธีหาค่า MBC แทน MIC เพราะสารสกัดที่มีสีเข้มหรือขุ่นจะทำให้อ่านผลยากแม้ใช้เครื่องมือช่วยก็อาจผิดพลาดได้ แต่ถ้ายังต้องการหาค่า MIC ให้เลือกวิธีเจือจางในอาหารวุ้นการใช้วิธีนี้ปริมาณสารสกัดต้องมากพอเพราะอัตราการเจือจางจะสูงกว่าวิธีเจือจางในอาหารเหลว (มาลิน, 2540)

Cowan (1999) ได้ศึกษาผลของสารประกอบโพลีฟีนอลที่สกัดได้จากพืชชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค พบว่า สารประกอบโพลีฟีนอลในพืช ได้แก่ กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) เฟลโวนอยด์ (flavonoids) โปรเอนโทรไซยานิดิน (proanthocyanidins) เอนโทรไซยานิน (anthocyanins) เฟลโวน (flavons) เฟลโวนอล (flavonols) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียก่อโรคโดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบโพลีฟีนอลต่อจากแบคทีเรียก่อโรคเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของ ไฮดรอไลติก เอนไซม์ (hydrolytic enzymes) ได้แก่ โปรติเอส (proteases) และคาร์โบไฮโดรเลส (carbohydrolases) จึงมีผลต่อการทำงานของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งส่งผลต่อการเกาะติดของแบคทีเรียก่อโรคทำให้สภาวะการเกาะติดเสียสภาพไป และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด

Karou และคณะ (2005) ได้ทดสอบผลของพืชสมุนไพร 3 ชนิดได้แก่ *Combretum micranthum*, *Khaya senegalensis* และ *Sida acuta* ต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) และการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค (antimicrobial) พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ในรูปของไลโอฟีไลซ์ (lyophilized extract) ซึ่งมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดร้อยละ 10–37 มีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลาย *Staphylococcus aureus* ของ *Sida acuta* คือ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร *Khaya senegalensis* คือ 240 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ *Combretum micranthum* คือ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Lin และคณะ (2005) ศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอลิกจากโอริกาโน่ (oregano) และแคนเบอร์รี่ (cranberry) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Vibrio parahaemolyticus* ทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดโอริกาโน่และแคนเบอร์รี่ในรูปผงจากบริษัท Barrington Chemicals (NY) และจาก Decas Cranberry Products (Wareham, MA) ตามลำดับ ผสมกันในอัตราส่วนต่างๆให้ได้ 10 กรัม ต่อน้ำ 90 มิลลิลิตร นำไปกรองให้ปลอดเชื้อก่อนนำไปใช้ทดสอบด้วยวิธีการให้สารทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar diffusion method) ผลการทดสอบพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคจากการสกัดทั้ง 2 ชนิดที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อแผ่นกระดาษซับกลม คือปริมาณที่เหมาะสมต่อการยับยั้ง *Vibrio parahaemolyticus* โดยอัตราส่วนของสารสกัดโอริกาโน่ต่อแคนเบอร์รี่ที่ร้อยละ 50 : ร้อยละ 50 ให้วงใสที่กว้างที่สุดคือ 20 มิลลิลิตร โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 14.1 มิลลิกรัมต่อสารสกัดแห้ง (ที่อัตราส่วนของสารสกัดโอริกาโน่ต่อแคนเบอร์รี่ ที่ 1:1)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลการวิจัยที่สำคัญของมะดัน พบสารเคมีชื่อ diphenyl compound; garcinone B,3-O-methyl: และ กลุ่ม xanthone ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (นันทวัน และอรนุช, 2540) เนื่องจากมะดันเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ GUTTIFERAE เช่นเดียวกับใบชะมวง (*Garcinia cowa*) และมีรสเปรี้ยว ซึ่งเกิดจากกรดอินทรีย์ชื่อ (-)-hydroxycitric acid (HCA) (Bhabani และคณะ, 2002) และกรดอินทรีย์ชนิดนี้ยังพบในผลส้มแขก (*Garcinia cambogia*) (Lewis และ Neelakanta, 1965)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mayachiew และ Devahastin (2008)ได้ทำการทดลองหากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) และข่า (*Alpinia galangal*) ด้วยการใช้ 2 วิธี ที่แตกต่างกันคือ วิธี disc diffusion และวิธี agar dilution เป็นวิธีที่ใช้หาค่ากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชที่ต่อต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งพบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะขามป้อมและสารสกัดข่าที่สามารถยับยั้งการเจริญ (minimum inhibitory concentration : MIC) ที่ความเข้มข้น 13.97 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือที่ความเข้มข้น 13.97 และ 2.34 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กิจกรรมการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อมและสารสกัดข่า หาค่าฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี ß-carotene bleaching มีค่าร้อยละ 86.4 และร้อยละ 70.3 ตามลำดับ สารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดมะขามป้อมและสารสกัดข่าใช้วิธีการหาค่าด้วย Folin-Cioculteu มีค่า 290.4 ± 0.7 และ 40.9 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดพืช โดยรายงานการมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับปริมาณกรดแกลลิก การวิเคราะห์ GC-MS แสดงให้เห็นถึงสารประกอบหลักของสารสกัดข่าที่มี 1,8 - ซินีออล (1,8-cineole) ร้อยละ 20.95 เบต้า - ไบซาโบลี (ß - bisabolene) ร้อยละ 13.16 เบต้า - แคริโอฟิลลีน (ß - caryophyllene) ร้อยละ 17.95 และเบต้า - ซีลินีน (ß - selinene) ร้อยละ 10.56 ถ้าพิจารณาในอีกแง่หนึ่งจะใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography : HPLC) โดยการตรวจหาสารประกอบที่มีอยู่ภายในสารสกัดมะขามป้อมด้วยแสงยูวี

ผลไม้ 9 ชนิด ที่นำมาวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลทั้งหมด กรดแอสคอบิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ การวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสามารถวัดค่า 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) การรีดิวซ์เหล็ก Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} จากผลของสารสกัดผลไม้ที่ได้ถูกเปรียบเทียบกับส้ม ในฝรั่ง มะละกอ มะเฟือง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิสูงโดยวัดจาก DPPH และการรีดิวซ์เหล็ก (III) ในกล้วย มะเฟือง น้ำแอปเปิ้ล ลางสาด และมะละกอ จะมีสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิโดยวัดจากการทดสอบสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{2+} (Lim และคณะ, 2007)

สารต้านอนุมูลอิสระในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ ที่รู้จักมีบทบาทในการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งรวมถึงการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ สีของผลไม้ชนิดนั้นๆจะมีความสัมพันธ์กับคุณค่าทางอาหารและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จุดประสงค์ของการศึกษานี้จะทดสอบการต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้และน้ำหนักแห้งและเปลือกของส้มโอแดงและความสามารถในการเกิดอนุมูลอิสระและเปรียบเทียบน้ำของส้มโอแดงกับส้มโอขาว สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดน้ำส้มโอแดงโดยใช้เมทานอล (8.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่ามีค่าสูงกว่าน้ำส้มโอขาว (5.6 มิลกรัมต่อมิลลิลิตร) สารประกอบแคโรทีนอยด์ของน้ำส้มโอแดงมีค่าสูงกว่าในน้ำส้มโอขาว ส่วนวิตามินซีและสารโทโคฟีรอลในน้ำส้มโอแดงมีค่าเท่ากับ 472 และ 0.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มโอแดงจากการสกัดด้วยเมทานอลคล้ายกับของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BHA และวิตามินซีในแบบจำลองไดเนติก ความสามารถของสารสกัดเมทานอลของเปลือกและเนื้อจากส้มโอแดงจะมีปริมาณสารอนุมูลร้อยละ 20-40 ของ BHA และวิตามินซี น้ำส้มโอแดง เป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีประสิทธิภาพดีในการเกิดสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึง DPPH จะมีซูปเปอร์ไดออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Tsai และคณะ, 2007)

ผลไม้ 17 ชนิดจากเอกาดอร์ถูกนำมาวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี (DPPH, FRAP และ ABTS·+) ในสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะใช้วิธี Folin-ciocalton ค่าที่ได้จากทั้ง 3 วิธีคือ น้อยกว่า 100, 200-500 และมากกว่า 1,000 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ จะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่า Andean blackberry เปลือก capuli cherry และ banana passion fruit ค่าที่แยกได้ทั้ง 3 วิธี มีความเข้มข้นเป็น 2,167, 1,494 และ 1,010 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ100กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระผลของ FRAP และ ABTS·+ พอจะเปรียบเทียบกันได้และมีความสัมพันธ์กันมาก ($y = 0.691 + 6.78$; $r^2 = 0.908$) การวัดด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์พบว่า Andean blackberry และเปลือก capuli cherry มี แอนโทไซยานินสูงแต่ banana passion fruit พบว่าไม่มีแอนโทไซยานิน (Vasco และคณะ, 2008)

Chen และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระจากพืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในประเทศไต้หวัน จำนวน 18 สปีชีส์ 5 จีนัส โดยทำการวิเคราะห์ถึงคุณสมบัติของสารสกัดเมทานอลจากพืช ในการหาสารประกอบฟีนอล การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธี DPPH และ reducing power พบว่าสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของ genus *Alpinia* เฉลี่ยเท่ากับ 17 มิลลิกรัมต่อกรัม *Curcumas* เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อกรัม และสูงสุดใน *Vanoverberghig* เท่ากับ 36.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนการต้านอนุมูลอิสระพบว่าทั้ง *Vanoverberghig* และ *Hedychium* เท่ากับ 89% ส่วน *Zingiber oligophyllum* พบว่า มีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่ต่ำ ทั้ง 2 วิธี และสารสกัดจากพืชทุกชนิด สามารถต้านจุลินทรีย์ในอาหารได้หมด แต่ *Hedychium* และ *Vanoverberghig* ไม่สามารถต้าน *E. coli* และ *Vibrio paraheamolyticus* ได้

Hu และคณะ (2003)ได้ศึกษาถึงความเข้มข้นของโพลีแซคคาร์ไรด์และฟลาโวนอยด์ของว่านหางจระเข้ที่มีอายุ 2, 3 และ 4 ปี และศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับ BHT และ α -tocopherol โดยใช้วิธี DPPH method และ linoleic acid system ที่ 100 ไมโครกรัมของของแข็ง ต่อมิลลิลิตรของเอทานอล พบว่าว่านหางจระเข้ที่มีอายุ 3 ปี จะมีโพลีแซคคาร์ไรด์และฟาโวนอยด์สูงกว่าอายุ 2 และ 4 ปี และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของฟลาโวนอยด์ในว่านหางจระเข้ที่มีอายุ 3 และ 4 ปี ส่วนการต้านอนุมูลอิสระพบว่า ว่านหางจระเข้อายุ 3 ปี > BHT > ว่านหางจระเข้อายุ 4 ปี > α -tocopherol > ว่านหางจระเข้อายุ 2 ปี และว่านหางจระเข้อายุ 3 ปี พบว่า สามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงถึงร้อยละ 72.19 และสูงกว่า BHT ซึ่งเท่ากับร้อยละ 70.52 และ α -tocopherol เท่ากับร้อยละ 65.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผลไม้พื้นบ้านทั้งหมด 7 ชนิด เช่น พิลังกาสา (*Ardisia polycephala* Wall.) มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz) มะขวิด (*Limonia acidissima* Linn.) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) มะดัน (*Garcinia schomburgkiana* Pierre) และมะเฟือง (*Averrhoa carambola* Linn.) จากตลาดในกรุงเทพมหานคร

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Escherichia coli* DMST 4212, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 และ *Salmonella* Typhimurium DMST 0562 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Aspergillus flavus* TISTR 3041, *Aspergillus parasiticus* TISTR 3276, *Aspergillus ochraceus* TISTR 3557, *Fusarium moniliforme* TISTR 3175 และ *Rhizopus stolonifer* TISTR 3199 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Nutrient Agar/Nutrient Broth (NA/ NB, pH 6.8 ± 2, Difco laboratories), Potato Dextose Agar/ Potato Dextose Broth (PDA/PDB, pH 5.6 ± 0.2, Difco), Mueller Hinton Agar/Mueller Hinton (MHA/MHB, pH 7.3 ± 0.2, Difco) และ Saboraud Dextose Agar/ Saboraud Dextose Broth (SDA/SAB, pH 5.6 ± 0.2, Difco)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) DMSO (Dimethyl sulfoxide) ทวีน 80 (Tween 80) ฟูโคนาโซล (Fluconazole, Siam Bheasach) เพนนิซิลินจี (Penicillin G, M&H Manufacturing) DPPH (2, 2–diphenyl–1–picryl–hydrazyl) โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate) วิตามินอี (α -tocopherol) เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) กรดอะซิติก (Acetic acid) TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) กรดไฮโดรคลอลิก (HCl) เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka) Folin-Ciocalteu (Folin-ciocalteu's phenol แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) และ phosphate buffer (pH 7.0)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่อง freeze dry (Labcono, 190633) เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Laborota) ตู้อบลมร้อน (Memmert, UFE 600) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, INP 600) ตู้เย็น (SANYO, SR-F383) ตู้เขี่ยเชื้อ (BossTech, VT 90) หม้อนึ่งความดัน (TOMY, ES-315) เครื่องเขย่า (shaker, GALLENKAMP) เครื่องผสม (vortex mixer, VORTEX GENIE 2, G560E) เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, UNICO, 2800A UV/VIS) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, FALCON, 6/300) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, WNB 14) เดซิเคเตอร์ กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเมทานอล

นำผลไม้พื้นบ้านทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะเฟือง และมะดัน มาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และบางๆ แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dry โดยนำตัวอย่างผลไม้สดไปแช่แข็งเป็นเวลา 1 วัน แล้วนำไปใส่ในเครื่อง Freeze dry เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง และนำไปบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทำการทดลอง ในการเตรียมสารสกัดหยาบทำได้โดยชั่งตัวอย่างผงของผลไม้แห้งมา 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเมทานอลลงไปปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายของสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเมทานอลออกโดยเครื่อง Rotary evaporator จนได้สารสกัดเข้มข้น ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อจะนำมาทดสอบ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ทำการเจือจางด้วย

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้ stock solution ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 200,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Escherichia coli* DMST 4212, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 และ *Salmonella* Typhimurium DMST 0562 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จากหลอดอาหารที่เก็บไว้ลงในหลอดอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้ออีกครั้งหนึ่ง บ่มที่อุณหภูมิเช่นเดียวกัน สำหรับเชื้อยีสต์ที่ทำการทดสอบทั้งหมด 4 ชนิดได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 เช่นเดียวกันแต่ถ่ายเชื้อลงในอาหาร SDB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อได้เชื้อทุกชนิดที่เจริญบนอาหารแล้ว ในกรณีที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย เขี่ยเชื้อแต่ละชนิด 1 ลูปลงในหลอดอาหาร NB แต่ละหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อยีสต์ทำเช่นเดียวกันแต่ถ่ายลงในอาหาร SDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลวทุกหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งไป เติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันกับเซลล์นำไปปั่นเหวี่ยงและเท ส่วนใสทิ้งไป เป็นการล้างเซลล์ 1 ครั้ง จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีกครั้งหนึ่ง ทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยของเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับความขุ่นของเซลล์ให้เท่ากันทุกด้วยหลอด McFarland Standard เบอร์ 5 จะได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร

3.2.1.3 การเตรียมเชื้อรา

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราในหลอดอาหาร PDA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติมสารละลายทวีน 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ที่ปราศจากเชื้อลงไป 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ loop เขี่ยเชื้อราลงไป และทำการปรับปริมาณของสปอร์ในสารแขวนลอยให้ได้ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์เพื่อนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้าน

3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Meléndez และ Caprilesa (2006) และ Hussain และคณะ (2008) ดังนี้ ปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรีย 10^7 CFUต่อมิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหาร MHA สำหรับแบคทีเรีย SDA สำหรับยีสต์ และ PDA สำหรับเชื้อรา แล้วเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ จากนั้นคีบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ไปวางบนผิวหน้าของวุ้น หยดสารสกัดปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง สำหรับ Negative control ใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระดาษกรอง ส่วน Positive control ใช้เพนนิซิลินจีและฟลูโคนาโซล แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์และเชื้อรา กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หาค่าได้จากการวัดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร

3.2.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผลไม้พื้นบ้านที่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Collins และคณะ (2001) ดังนี้ ทำการเตรียมความเจือจางของสารสกัดจากผลไม้ชนิดต่างๆ ให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 200, 140, 102.4, 51.2 และ 25.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และอาหาร MHA ปริมาตร 19 มิลลิลิตร ลงไปในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดสุดท้ายเป็น 10, 7, 5.12, 2.56 และ 1.28 มิลลกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้ง แล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อแตะสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อชนิดต่างๆ มา 1 ลูปเต็มแตะลงบนผิวหน้าอาหาร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อราและยีสต์ทำเช่นเดียวกัน แต่เชื้อราจะใช้อาหาร PDA และยีสต์ใช้อาหาร SDA และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำมาตรวจดูการเจริญของเชื้อ และหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) โดย MIC พิจารณาได้จากความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 24 ชั่วโมง

3.2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทย

3.2.3.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านด้วยวิธี DPPH method

ทำการทดลองตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยนำตัวอย่างของสารสกัดแต่ละชนิด มาทำความเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 75 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2.925 มิลลิลิตรในคิวเวตแต่ละอัน และใช้เมทานอลแทนสารสกัดเพื่อใช้เป็นแบลงค์ (Blank) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยทันทีด้วยเครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งหนึ่ง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าที่วัดได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (เปอร์เซ็นต์ DPPH $^{\bullet}_{REM}$) จากปฏิกิริยาในคิวเวตแต่ละอันของสารสกัดแต่ละความเข้มข้นจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ การหาความเข้มข้น (ร้อยละ) ของ DPPH ที่เหลือ (DPPH $^{\bullet}_{REM}$) คำนวณได้โดยใช้สมการดังนี้

$$[\%DPPH^{\bullet}{}_{REM}] = \frac{[DPPH^{\bullet}]_T}{[DPPH^{\bullet}]_{T=0}} x100$$

โดย $[DPPH^{\bullet}]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH $^{\bullet}$ ที่เวลาใดๆ และ $[DPPH^{\bullet}]_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH $^{\bullet}$ ที่เวลา 0 นาที จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือของสารสกัดแต่ละชนิด ณ เวลาที่เสถียร มาพล็อตกราฟกับอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้นของ DPPH (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของ DPPH) หาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา EC_{50} (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิดและค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

3.2.3.2 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านด้วยวิธี FRAP method

ทำการทดลองโดยใช้วิธีการทดลองของ Lado และคณะ (2004) โดยทำการเตรียม FRAP reagent ดังนี้ 1) acetate buffer pH 3.6 ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ 2) สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (วิธีการเตรียมสารเหล่านี้ ดูในภาคผนวก ข)

วิธีการทดสอบทำได้ดังนี้ ทำการเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยปิเปต acetate buffer ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัดแต่ละชนิด (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร โดยใช้ FRAP reagent เป็นแบลงค์ และใช้สารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน ซึ่งทำการเจือจางสารละลายนี้ให้ได้ทั้งหมด 8 ระดับ ได้แก่ 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฟอรัสซัลเฟต จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารตัวอย่าง

3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้าน

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดตามวิธีการของ Gulluce และคณะ (2006) ดังนี้ เตรียมสารสกัดหยาบของผลไม้พื้นบ้านแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อไมโครลิตร ปิเปตสารสกัดความเข้มข้นนี้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร เติมน้ำกลั่น 46 มิลลิลิตร และเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง เขย่าเป็นระยะๆ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก การทำกราฟมาตรฐานของกรด แกลลิกทำได้ดังนี้

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 500, 100, 50, 25, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากผลไม้ เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟกับความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของตัวอย่างที่วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

4.1.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิคการแพร่บนอาหารวุ้น

จากการทดลองศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทย 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะดัน และมะเฟือง พบว่าสารสกัดจากมะกอกน้ำและมะดันมีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เกือบทุกชนิดที่ทดสอบ (5 ชนิด) รองลงมาคือมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เพียง 3 ชนิด (ตารางที่ 8) ซึ่งชนิดของแบคทีเรียที่สารสกัดจากมะกอกน้ำยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือ *B. cereus* และ *P. fluorescens* (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 11.7 และ 11.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ) มะดันมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* และ *S.* Typhimurium ได้ดีที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 11 และ 11.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ) สารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ดีที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 10.25 มิลลิเมตร) ส่วนสารสกัดจากพิลังกาสา มะขวิด และมะเฟืองไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย สารสกัดจากมะกอกน้ำและมะดันสามารถยับยั้งยีสต์ได้เพียงชนิดเดียว คือ *R. glutinis* (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส 14.7 มิลลิเมตร และ 21.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ) โดยมะดันมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ชนิดนี้ได้ดีกว่ามะกอกน้ำ ซึ่งสารสกัดจากพิลังกาสา มะขวิด มะขามป้อม และมะเฟืองไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 5 ชนิดที่นำมาทดสอบ ดังนั้นจากผลการทดลองนี้จะนำสารสกัดทั้ง 6 ชนิดมาทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่อไป สำหรับผลการทดสอบของ Negative control โดยใช้ DMSO ร้อยละ 10 พบว่าไม่มีการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ส่วนเพนนิซิลินจีและฟลูโคนาโซล ซึ่งใช้เป็น Positive control พบว่ามีผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)[a]					
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง
แบคทีเรีย						
Bacillus cereus	-[b]	11.7±0.3	-	9.4±0.5	11±0.5	-
Escherichia coli	-	-	-	-	8.5±0.5	-
Listeria monocytogenes	-	9.4±0.1	-	-	-	-
Pseudomonos fluorescens	-	11.5±1.2	-	9.8±0.6	10.0±0.3	-
Salmonella Typhimurium	-	9±0.0	-	-	11.25±0.2	-
Staphylococcus aureus	-	8.7±0.3	-	10.25±0.6	10.8±0.3	-
ยีสต์						
Candida lipolytica	-	-	-	-	-	-
Pichia membranaefaciens	-	-	-	-	-	-
Rhodotorula glutinis	-	14.7±1.1	-	-	21.7±1.1	-
Zygosaccharomyces rouxii	-	-	-	-	-	-
เชื้อรา						
Aspergillus flavus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus ochraceus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus parasiticus	-	-	-	-	-	-
Fusarium moniliforme	-	-	-	-	-	-
Rhizopus stolonifer	-	-	-	-	-	-

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

[b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง

จากผลหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จำนวน 15 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทย ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะดันนและมะเฟือง ด้วยวิธี Agar dilution (ตารางที่ 9) พบว่าสารสกัดจากมะกอกน้ำ มะขามป้อม และมะดันสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (MIC ส่วนใหญ่น้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กว่าสารสกัดจากพิลังกาสา มะขวิด และมะเฟือง (MIC ส่วนใหญ่มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ของมะกอกน้ำ มะดันและมะขามป้อม พบว่ามะดันมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือมะขามป้อมและมะกอกน้ำ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากมะดันมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต่ำกว่าของมะกอกน้ำและมะขามป้อม โดยในบรรดากลุ่มจุลินทรีย์ที่ทดสอบพบว่า *L. monocytogenes* และ *S.* Typhimurium จะถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดมะดันได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *P. fluorescens* และ *S. aureus* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะขามป้อม (ค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับเชื้อ *S.* Typhimurium ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะกอกน้ำได้ดี (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับเชื้อยีสต์ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดมะดันมากที่สุด คือ *R. glutinis* (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดจากผลไม้ชนิดอื่น พบว่าไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทุกชนิดที่ทดสอบ (ค่า MIC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเช่นเดียวกัน สารสกัดจากผลไม้ทุกชนิดที่ทดสอบไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ (ค่า MIC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับผลการตรวจสอบของ Positive control โดยใช้เพนนิซิลินจีและฟลูโคนาโซล เป็น Positive control พบว่าเพนนิซิลินจีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25-250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) *S. aureus* ถูกยับยั้งโดยเพนนิซิลินจีได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 31.25 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และฟลูโคนาโซลให้ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ไม่ดีนัก (ค่า MIC มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ดีโดยยับยั้ง *Z. rouxii* ได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาเป็น *C. lipolytica* และ *P. membranaefaciens*

จากการทดลองที่ได้พบว่าสารสกัดจากมะดันให้ผลยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบได้เกือบทุกชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร (*L. monocytogenes* และ *S.* Typhimurium) ส่วนยีสต์ยับยั้งการเจริญได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้น โดยยังไม่เคยมีผู้รายงานถึงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะดัน แต่มีการรายงานถึงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดจากพืชวงศ์เดียวกันกับมะดัน (GUTTIFERAE) คือ เปลือกของผลชะม่วง (*Garcinia cowa*) และผล amlavetasa (*Garcinia pedunculata*) ทำการสกัดด้วยเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม โดยทดสอบกับแบคทีเรียที่ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้อาหารเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *B. cereus, B. coagulans, Bacillus subtilis, S. aureus* และ *E. coli* พบว่าสารสกัดจาก *G. cowa* และ *G. pedunculata* มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรค มีค่า MIC อยู่ในช่วง 15-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 300-1,250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสารสกัดจาก *G. cowa* มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดจาก *G. pedunculata* จากผลการทดลองที่ได้คาดว่าอาจเป็นเพราะผลมะดันประกอบด้วยสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ Suntornsuk และคณะ (2002) รายงานว่าน้ำมะดันประกอบด้วยวิตามินซี 4.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

สำหรับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะกอกน้ำยังไม่เคยมีผู้รายงานไว้เช่นกันถึงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะกอกน้ำ จันทนาและคณะ (2548) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดจากพืชวงศ์เดียวกันกับมะกอกน้ำ (Elaeocarpaceae) คือ *Muntingia calabura* Linn. พบว่าสารสกัดจากเปลือกของต้นตะขบโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ตะขบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S.* Typhimurium เช่นเดียวกับรายงานของ Yasunaka และคณะ (2005) ซึ่งได้รายงานว่าสารสกัดจากตะขบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. Aureus* ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดจากมะขามป้อมซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น *B. cereus, S. aureus* และ *P. fluorescens* เช่นเดียวกับการรายงานของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ซึ่งพบว่ามะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* มีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 21.8±0.6 มิลลิเมตร มีค่า MIC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่ามะขามป้อมมีสารที่เกี่ยวข้องกับการมีคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยวิตามินซี (ร้อยละ 11.21) สารแทนนินและกรดแกลลิก นอกจากนี้ Suntornsuk และคณะ (2002) รายงานว่าน้ำมะขามป้อมมีปริมาณวิตามินซีสูง 226 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

สำหรับสารสกัดจากพิลังกาสามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้น้อย โดยมีค่า MIC ของจุลินทรีย์ที่ทดสอบมีค่ามากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ก็มีรายงานว่าพิลังกาสามีคุณสมบัติในการลดไข้และใช้รักษาโรคท้องเสีย หนองใน กาฬโรค Moongkarndi และคณะ (2004) ได้รายงานว่าสารสกัดหยาบของผลพิลังกาสามีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (SKBR3 human breast adenocarcinoma cell line) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 103.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Voravuthikunchai และคณะ (2004) ได้นำตัวอย่างสมุนไพรไทย 38 ชนิด ที่คาดว่ามีฤทธิ์ในการรักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ตัวอย่างสมุนไพรไทยที่ใช้ทดสอบ เช่น ไม้ต้นสีเสียด (*Acacia catechu* (L.F.) Willd.) ใบเสนียด (*Adhatoda vasica* Nees.) ไม้ต้นสัตตบรรณ (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br) ใบฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.E.) Nees.) ผลพิลังกาสา (*Ardisia colorata* Roxb.) เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างนำมาสกัดด้วยเอทานอลโดยสารสกัดที่ได้จะนำมาทดสอบกับแบคทีเรีย *Escherichia coli* 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ คือ *E. coli* O157:H7, *E. coli* O26:H11, *E. coli* O111:NM, *E. coli* O22 และ *E. coli* ATCC 25922 ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากไม้ต้นสีเสียด (*Acacia catechu*) สารสกัดจากเปลือกไม้โมกใหญ่ (*Holarrhena antidysenterica*) สารสกัดจากเปลือกไม้กระถินป่า (*Peltophorum pterocarpum*) สารสกัดจากใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) สารสกัดจากเปลือกผลทับทิม (*Punica granatum*) สารสกัดจากผลเบญกานี (*Quercus infectoria*) สารสกัดจากก้านใบต้นสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) และสารสกัดจากไม้ต้นขี้อ้าย (*Walsura robusta*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสอยู่ระหว่าง 7-17 มิลลิเมตร โดยสารสกัดผลเบญกานียับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* O157:H7 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.09 และ 0.78 ตามลำดับ

ในการทดลองนี้สารสกัดจากมะเฟืองพบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เลยซึ่งไม่สอดคล้องกับ Hsu และคณะ (2006) ที่ทำการศึกษาโดยนำกากของมะเฟืองมาบดเพื่อศึกษาขนาดของกากมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis* และ *S. aureus* ที่เวลา 0, 5, 10, 15 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเวลาในการบดกากเพิ่มขึ้นขนาดของกากมีขนาดเล็กลงจาก 129 ไมโครเมตร ลดลงเหลือ 14.3 ไมโครเมตร เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นด้วย โดยในชั่วโมงที่ 0 ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสระหว่าง 7.5-9 มิลลิเมตร ค่า MIC และค่า MBC มีค่าอยู่ในช่วง 8-16 และ 24-32 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โซนใสมีค่าเพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 9.5-12 มิลลิเมตร ส่วนค่า MIC และค่า MBC มีค่าลดลงเท่ากับ 1-8 และ 8-20 กรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

สำหรับสารสกัดจากผลมะขวิดจากการทดสอบพบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เลย โดยยังไม่เคยมีผู้รายงานถึงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะขวิด Rahman และ Gray (2001) ได้นำเปลือกไม้ของต้นมะขวิดมาสกัดด้วยอีเทอร์และคลอโรมีเทนและได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดจากเปลือกไม้ของต้นมะขวิด ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้แก่ *S. aureus, E. coli, Enterobacter eloacae, Klebsiella aerogenes, Candida albicans* และ *Aspergillus niger* ด้วยวิธี Broth dilution ผลปรากฏว่าสารสกัดจากเปลือกไม้ของมะขวิดมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เนื่องจากเปลือกไม้ของมะขวิดประกอบไปด้วยสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ อัลคาลอยด์ สารคูมะริน ฟลาวาโนน ลิกนิน สารพวกสเตอรอยด์ และไตรเทอร์พีน จากผลการทดลองพบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของจุลินทรีย์	ความเข้มข้นต่ำสุด (mg/ml)							
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง	Penicillin G[a]	Fluconazole
แบคทีเรีย								
Bacillus cereus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	5.12	> 10.00	250.00	> 0.10
Escherichia coli	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	> 10.00	125.00	> 0.10
Listeria monocytogenes	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	2.56	> 10.00	62.50	> 0.10
Pseudomonas fluorescens	> 10.00	7.00	> 10.00	2.56	5.12	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Salmonella Typhimurium	> 10.00	5.12	> 10.00	> 10.00	2.56	> 10.00	250.00	> 0.10
Staphylococcus aureus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	2.56	5.12	> 10.00	31.25	> 0.10
ยีสต์								
Candida lipolytica	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.02
Pichia membranaefaciens	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.08
Rhodotorula glutinis	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Zygosaccharomyces rouxii	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.01
เชื้อรา								
Aspergillus flavus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Aspergillus ochraceus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Aspergillus parasiticus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Fusarium moniliforme	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Rhizopus stolonifer	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10

[a] หน่วยความเข้มข้นเป็น Unit/ml

4.2 คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

4.2.1 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ในการทดลองนี้ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะดัน และมะเฟือง โดยทำการทดลอง 2 วิธี คือ วิธี DPPH method และ วิธี FRAP method ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 10 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้พื้นบ้านไทยโดยวิธี DPPH method ได้แสดงในรูปของ EC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่จำเป็นต้องใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลงร้อยละ 50 (Sanchez และคณะ, 1998) ค่า EC_{50} เป็นค่าที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าถ้าหากกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารนั้นยิ่งต่ำมากเท่าใด แสดงว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารนั้นจะยิ่งมาก (Brand-Williams และคณะ, 1995) จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาค่า EC_{50} จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ค่า EC_{50} เท่ากับ 501.71 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดันมะเฟือง และมะขวิด ตามลำดับ สำหรับ Positive control ที่ใช้ คือ วิตามินอี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลสูงกว่ามะขามป้อม คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 467.55 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

สำหรับการทดลองด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์โดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริค Fe^{3+}-TPTZ เป็นสารทดสอบ อะตอมของเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยสารต้านออกซิเดชัน ได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงิน (Benzie และ Strain, 1999) พบว่าถ้าหากค่าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูงเท่าใด แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารนั้นก็จะยิ่งมาก จะเห็นได้ว่าจากการใช้วิธี FRAP ให้ผลสอดคล้องกับการใช้วิธี DPPH คือสารสกัดจากผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือมะขามป้อม (ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ เท่ากับ 4.86 มิลลิโมลต่อลิตร) รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟือง และมะขวิด ตามลำดับ เมื่อเปรียบกับ Positive control คือ วิตามินอี พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลสูงกว่ามะขามป้อม คือมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ เท่ากับ 4.89 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตร

4.2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 11 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยที่มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ มะขามป้อม (4,220 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด) รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะขวิดด และมะเฟือง

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุด การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในมะขามป้อมประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลปริมาณสูง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Pinsuwan และคณะ (2004) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งมีค่า EC_{50} 1.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 454.7 มิลลิกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ Lou และคณะ (2009) ได้วิเคราะห์หาสารสำคัญในสารสกัดจากมะขามป้อมด้วย TLC พบว่าสารสำคัญที่พบได้แก่ gallic acid, qeucertin, cinnamic acid, 5-hydroxymethyurfural, ellagic acid และ ß-daucosterol โดยสารที่พบมากที่สุด คือ gallic acid (19.12 มิลลิกรัมต่อกรัม)

Kobayashi และ Mejia (2004) ซึ่งพบว่าใบพิลังกาสามีคุณสมบัติทางยาและเป็นแหล่งอาหารที่ค่อนข้างมีจำกัด อีกทั้งพบสารจำพวก phytochemical ชนิด bauerenol และ a- และ ß-amyrin ด้วย และพบปริมาณสาร bergenin ที่สูงที่สุดในพืชวงศ์เดียวกัน จากผลการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากพิลังกาสามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 739.38 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 1270 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ซึ่งยังไม่เคยมีผู้ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพิลังกาสามาก่อน

สำหรับสารสกัดจากมะกอกน้ำพบว่ามีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ามะดัน มะเฟือง และมะขวิด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Ruangchakpet และ Sajjaanantakul (2007) ซึ่งได้ศึกษามะกอกน้ำที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 5, 6, 7 และ 8 เดือน หลังติดดอก พบว่าที่อายุ 6 เดือน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (345.8 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด) และมีปริมาณฟลาโนยด์มากที่สุด (49.0 มิลลิกรัมเคทเทคินต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด) และค่า AE จาก วิธี DPPH ที่อายุ 6 เดือนมีค่าสูงสุดเช่นกัน คือมีค่า 0.014 Conde และคณะ (2008) ได้รายงานว่าต้นมะกอกมีสารประกอบฟีนอลสูงที่สุดเมื่อต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส พบสารประกอบฟีนอล 2.29 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง Dourtoglon และคณะ (2006) ได้รายงานว่าในมะกอกที่ยังไม่สุกจะพบสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารที่มีผลต่อคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับสารสกัดจากมะดันพบว่ามีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับผลการทดลองของ Suntornsuk และคณะ (2002) ซึ่งรายงานว่าพบสารประกอบฟีนอลในมะดัน 4.6 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง

สำหรับมะเฟืองมีรายงานว่าพบสารเบต้าแคโรทีน 20.8 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมของส่วนที่รับประทานได้ มีวิตามินอี 0.12 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของส่วนที่รับประทานได้ (Charoensiri และคณะ, 2008) และมีรายงานถึงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในมะเฟืองว่าพบกากของมะเฟืองมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำมะเฟือง กากมะเฟืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่อง freeze dry มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลทั้งหมด 33.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง (Shui และ Leong, 2006) Lim และคณะ (2007) ได้วิเคราะห์หาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะเฟืองพบว่ามะเฟืองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง คือสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 131 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของผลมะเฟืองสด และค่า IC_{50} เท่ากับ 3.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Samee และคณะ (2006) ได้วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้ในประเทศไทย 28 ชนิด พบว่ามะเฟืองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกกับผลไม้ชนิดอื่น โดยสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 181.3 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ที่พบว่าสารสกัดจากมะเฟืองมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างต่ำ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 17,308 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 116.67 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด

สำหรับสารสกัดจากมะขวิดจากผลการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากมะขวิดมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างต่ำ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 27,773.43 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 166 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ซึ่งยังไม่เคยมีผู้ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากมะขวิดมาก่อน Rahuman และคณะ (2000) ได้ทดลองผลของใบมะขวิดที่มีผลกระทบต่อยุง พบว่าสารสกัดของใบมะขวิดในชั้นสารละลายอะซิโตน ด้วยการแยกชั้นของวิธีโครมาโตกราฟฟีมีผลกระทบต่อกิจกรรมของยุง

โดยส่วนใหญ่ในผักและผลไม้จะพบสารประกอบในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารประกอบฟีนอลกลุ่มหนึ่ง ซึ่งสารนี้เป็นสารที่ให้กลิ่นและสี สารประกอบนี้มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยจะไปแตกสลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical chain reaction) สารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะต้องสามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของสารตั้งต้นเมื่อมีสารนี้ในความเข้มข้นต่ำ และอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นจะต้องมีความเสถียรเพื่อที่จะป้องกันตัวมันเองไม่ให้กระทำตัวเป็นอนุมูลอิสระที่จะไปก่อให้เกิดปฏิกิริยาเกิดอนุมูลอิสระต่อไป (Croft, 1999) จากผลการทดลองนี้โดยรวมพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม พิลังกาสา มะกอกน้ำและมะดัน มีค่า EC_{50} ค่อนข้างต่ำ และความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูง ซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สูง จึงทำให้สารสกัดเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงกว่ามะเฟืองและมะขวิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้พื้นบ้านไทย	วิธี DPPH	วิธี FRAP
	EC_{50} (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) [a] ± SD	ความสามารถในการรีดิวซ์ (mmol/L) [a] ± SD
พิลังกาสา	739.38 ± 15.61	4.72 ± 0.123
มะกอกน้ำ	2,082.49 ± 1046.91	2.79 ± 0.083
มะขวิด	27,773.43 ± 2846.18	0.50 ± 0.014
มะขามป้อม	501.71 ± 16.61	4.86 ± 0.142
มะดัน	6,952.48 ± 638.97	2.60 ± 0.050
มะเฟือง	17,308.33 ± 339.25	1.27 ± 0.106
วิตามินอี	467.55 ± 16.79	4.89 ± 0.085

[a] ข้อมูลเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดหยาบของผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้พื้นบ้านไทย	ปริมาณสารประกอบฟีนอล [a] (ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด) ± SD
พิลังกาสา	1,270 ± 208.71
มะกอกน้ำ	263.33 ± 108.74
มะขวิด	166.67 ± 39.80
มะขามป้อม	4,220 ± 121.62
มะดัน	210 ± 80.32
มะเฟือง	116.67 ± 48.21

[a] ข้อมูลเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 15 ชนิด ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค Agar diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบด้วยเทคนิค Agar dilution ผลปรากฏว่า สารสกัดจากมะดันมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์สูง รองลงมาเป็นมะกอกน้ำ และมะขามป้อม โดยมะดันมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด และยีสต์ 1 ชนิด คือ *R. glutinis* (ค่า MIC อยู่ในช่วง 2.56-5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมะกอกน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้เกือบทุกชนิด ยกเว้น *E.coli* (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus*, *P. fluorescens* และ *S. aureus* สำหรับพิลังกาสา มะขวิด มะเฟือง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำ

เมื่อศึกษาถึงกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย 6 ชนิด ด้วยวิธี DPPH ผลปรากฏว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ค่า EC_{50} เท่ากับ 501.71 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) รองลงมาเป็นพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟือง และมะขวิด สำหรับการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย 6 ชนิดด้วยวิธี FRAP ผลปรากฏว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 4.86 มิลลิโมลต่อลิตร) รองลงมาเป็นพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟือง และมะขวิด สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (4,220 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด) รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะขวิด และมะเฟือง

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยมีค่าสูง 2 ชนิด ได้แก่ มะขามป้อม และพิลังกาสา (ค่า EC_{50} เท่ากับ 501.71-739.38 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 4.72-4.86 มิลลิโมลต่อลิตร) ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวที่มีปริมาณสูงเช่นเดียวกัน (สารประกอบฟีนอลเท่ากับ 1,270-4,220 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. (2551). เผยผลไม้ไทย 30 ชนิด มีฤทธิ์ทำลายตัวก่อโรคมะเร็ง.

กระทรวงสาธารณสุข กรมอนามัย กองโภชนาการ. (2550). องค์ความรู้เรื่องปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้เพื่อส่งเสริมสุขภาพ (วิตามินซี วิตามินอี และ เบต้าแคโรทีน). การพัฒนาเวปไซต์มัลติมีเดียเพื่อส่งเสริมการเรียนรู้สมุนไพรไทย. http://202.44.14.219/thaiherbkmutt/info.php?id=173

จริยา สินเดิมสุข และ สมเกียรติ ดีกิจเสริมพงศ์. (2532). ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและกลุ่มแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้. *วารสารกรมการแพทย์*, 14(6), 421-426.

จันทนา กาญจน์กมล รินรดา พรมศิริ และ รัชนก เชื้อเตชะ. (2548). การตรวจหาและการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของพืชสมุนไพรจากเกาะเกร็ด นนทบุรี. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

นิรนาม. โครงสร้างของฟลาแวน(flavan). http://www.metabolome.jp/software/FlavonoidViewer/image/core.gif.

นิรนาม. สมุนไพรไทย – มะกอกน้ำ. http://student.nu.ac.th/46313433/Thaiherb/makoknum.htm

นิรนาม. มะขามป้อม (Emblic Myrobalan, Malacca Tree) http://www.stou.ac.th/Schools/Shs/thaimedical/herb/new/makampom1.jpg

นิรนาม. มะดัน. http://chachoengsao.doae.go.th/knowledge/samunprai/s_madan.htm

นิรนาม. http://www.noknoi.com/board_pics/PB_373_44737.jpg

นิรนาม. http://www.metabolome.jp/software/FlavonoidViewer/image/core.gif

นิรนาม. มะเฟือง. http://www.ku.ac.th/e-magazine/december43/agri/fruit.html

นันทวัน บุญยะประภัศ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2540). *สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน*. กรุงเทพมหานคร : บริษัทประชาชน จำกัด.

ปรียา ไตรรัตน์ณรงค์. (2550). *คัมภีร์แพทย์สมุนไพร ผลไม้ สมุนไพรและพืชผักสมุนไพร*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ One World. พิมพ์ครั้งที่ 6.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. (2549). อนุมูลอิสระ (Free Radicials)/สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant). http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html.

มาลิน จุลศิริ. *ยาต้านจุลชีพ*. กรุงเทพมหานคร: สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.

วิวัฒน์ พันธวุฒิยานนท์. (2541). *ผลไม้พื้นเมือง ความสุขที่คุณเด็ดได้*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์สารคดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent.* กรุงเทพมหานคร: นิวไทยมิตรการพิมพ์, หน้า 1-183.

Banerjee, A., Dasgupts, N., & De, B. (2005). In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food chemistry*, *90*, 727-733.

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ''Antioxidant Power'': the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*, 70–76.

Bhabani, S.T., Jayaprakasha, G. K., & Saharian, K. K. (2002). Organic acid from leaves fruits and rinds of *Garcina cowa. Agricultural Food Chemistry*, *50*, 3431-3434.

Block, G., Patterson, B., & Subar, A. (1992). Fruits vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, *18*, 1-29.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenschaft and Technologie*. *28*(1), 25-30.

Charoensiri, R., Kongkachuichai, R., Suknicom, S., & Sungpuag, P. (2008). Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. *Food Chemistry*, *113*, 202–207.

Chen, I. N., Chang, C. C., Ng, C. C., Wang, C. Y., Shyu, Y. T., & Chang, T. L. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of Zingiberaceae plants in Taiwan. *Plant Foods Human Nutrient*, *63*, 15–20.

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

Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., & Domínguez, H. (2008). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, *114*, 806–812.

Cowan, M. M. (1999). Plants products as antimicrobial agent. *Chinical Microbiology Review*, *12*, 564-582.

Croft, K. M. (1999). Antioxidant effects of plant phenolic compounds. In T. K. Basu, N. J. Temple, & L. M. Garg. *Antioxidant in human health and disease* (pp. 100-121). United Kingdom: CABI Publishing.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dourtoglou, V. G., Mamalos, A., & Makris, D. P. (2006). Storage of olives (*Olea europaea*) under CO_2 atmosphere: Effect on anthocyanins, phenolics, sensory attributes and in vitro antioxidant properties. *Food Chemistry*, *99*, 342-349.

Emery, E. A., Ahmad, S., Koethe, J. D., Skipper, A., Perlmutter, S., & Paskin, D. L. (1997). Banana flakes control diarrhea in enterally fed patients. *Nutrition in Clinical Practice*, *12*(2), 72-75.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., & Ozkan, H. (2006). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. longifolia. *Food chemistry*, *103*, 1449-1456.

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Method. A guide to modern technuiques of plant analysis.*, 3 rd ed. New York: Chapman & Hall.

Hsu, P. K., Chien, P. J., & Chau, C. F. (2006). An exploitation of the antimicrobial potential of a fruit insoluble fibre by micronization. *European Food Research and Technology*, *225*, 199–204.

Hudson, B. J. F. (1990). *Food antioxidants*. London: Elsevier Applied Science.

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, *10*, 986-995.

Hu, Y., Xu, J., & Hu, Q. (2003). Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller.) extracts. *Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 7788-7791.

Karou, D., Dicko, M. H., Simpore, J. & Traore, A. S. (2005). Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenols from ethanomedicinal plant of *Burkina faso*. *Biotechnology*, *4*, 823-828.

Kobayashi, H., & Mejía, E. D. (2004). The genus Ardisia: a novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals. *Ethnopharmacology*, *96*(3), 347-354.

Ko, R. (1917). Action of fruit juices upon the typhoid bacillus. *Taiwan Lgakukai Zasshi*, *179*, 569-580.

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.

Lampart-Szczapa, E., Korczak, J., Nogala-Kalucka, M., & Zawirska-Wojitasiak, R. (2003). Antioxidant properties of lipin seed products. *Food Chemistry*, *83*(2), 119-127.

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไฟล์นี้ไปเผยแพร่ต่อ ไม่ว่าจะเป็นการเผยแพร่ในรูปแบบใดๆ ที่มีการนำไปใช้

Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. 1997. Mango peel fibers with antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, *205*, 39-42.

Lewis, Y. S., & Neelakanta, S. (1965). (-)Hydroxycitric acid: the principle acid in the fruits of *Garcinia cambogia* Desr. *Phytochemistry*, *4*(4), 619-625.

Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits : a comparative study. *Food Chemistry*, *103*, 1003-1008.

Lin, Y. T., Labbe, R. G., & Shetty, K. (2005). Inhibition of *Vibrio paraheamolyticus* in seafood systems using oregano and cranberry phytochemical synerdies and lactic acid. *Innovative Science and Emerging Technologies*, *6*, 453-458.

Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Shen, G., & Rao, G. (2009). Identification of bioactive compounds in *Phyllenthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry*, *114*, 499-504.

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

Meléndez, P. A., & Caprilesa V. A. (2006). Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomedicine*, *13*, 272-276.

Moongkarndi, P., Kosem, N., Luanratana, O., Jongsomboonkusol, S., & Pongpan, N. (2004). Antiproliferative activity of Thai medicinal plant extracts on human breast adenocarcinoma cell line. *Fitoterapia*, *75*, 375-377.

Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, *103*, 839–846.

Peschel, W., Sanchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzıa, I., & Jimenez, D. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, *97*, 137–150.

Pinsuwan, S., Ingkatawornwong, S., Kaewoan, P., Sakdisate, P., & Sukaphat, N. (2004). Development of liposomes containing *Phyllanthus emblica* extract.

Rahman, M. M., & Gray, A. I. (2002). Antimicrobial constituents from the stem bark of *Feronia limonia*. *Phytochemistry*, *59*, 73–77.

Rahumana, A. A., Gopalakrishnanb, G., Ghousea, B. S., Arumugama, S., & Himalayana, B. (2000). Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae. *Fitoterapia*, *71*, 553-555.

เอกสารนี้เป็นเ... ชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Raungchakpet, A., & Sajjaanantakul, T. (2007). Effect of Spanish Plum (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) Maturity on Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Activity. *Agricultural Science*. *35*(5), 127-130.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, *4*, 304-309.

Samee, W., Engkalohakul, M., Nebbua, N., & Direkrojanavuti, P. (2006). Correlation analysis between total acid, total phenolic and ascorbic acid contents in fruit extracts and their antioxidant activities. *Thai Pharmaceutical and Health Science*, *1*(3), 196-203.

Sanchez, M. C., Larrauri, J, A., & Saura, C. F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *The Science of Food and Agriculture*, *76*, 270-276.

Sandford, K.J., & Heinz, D.E. (1971). Effects of storage on the volatile constituents of nutmeg. *Phytochemical*, *10*, 1245-1250.

Shon, M. Y., Kim, T.H., & Sung, N. J. (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity *Phellinus baumii* (*Phellinus* of Hymenochaetaceae) excracts. *Food Chemistry*, *82*(4), 593-597.

Shui, G., & Leong, L. P. (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, *97*, 277-284.

Steinberg, D. (1991). Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation*, *84*, 362-3367.

Steinmetz, K. A., & Potter, J. D. (1996). Vegetable, fruit and cancer prevention – a review. *American Dietetic Association*, *2*, 325-351.

Subaigo, A., Morita, N., & Sawada, S. (1996). Carotenoids and their fatty acid esters in banana peel. *Nutritional Science and Vitaminology*, *42*, 553–566.

Suntornsuk, L., Gritsanapun, W., Nilkamhank, S., & Paochom, A. (2002). Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *28*(5), 849–855.

Sutabhaha, B., Darntrakoon, U., Furuya, T., & Nagumo T. (1997). The inhibitory activities of mangosteen's pericarb extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bull Chiang Mai Associated Medical Sciences*, *30*(1), 40-46.

Tsai, H. L., Chang, S. K. C., & Chang, S. J. (2007). Antioxidant content and free radical scavenging ability of fresh red pummelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) juice and freeze-dried products. *Food Chemistry*, *55*, 2867-2872.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำเอกสารนี้ไปเผยแพร่ต่อ โดยไม่อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *266*, 37-56.

Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, *111*, 816-823.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Agricultural and Food Chemistry*, *46*(9), 4113-4117.

Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S., & Supawita, T. (2004). Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Ethnopharmacology*, *94*, 49–54.

Yasunaka, K., Abe., F., Nagayama, A., Okabeb, H., Pérez, L.L., Villafranco, E. L., Muñiz, E. E., Aguilar, A. & Chilpa, R. R. (2005). Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthones. *Ethnopharmacology*, *97*, 293–299.

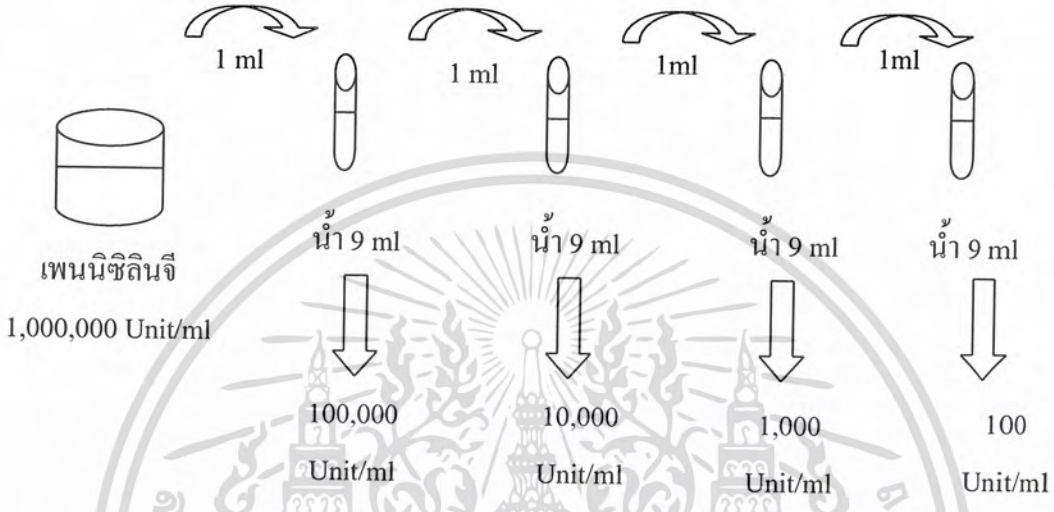
Zainol, M. K., Abd-Hamid, A., Yusof, S., & Muse, R. (2003). Antioxidant activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban. *Food Chemistry*, *81*(4), 575-591.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. วิธีเตรียม agar dilution

1.1 การเตรียม Stock solution ของยาที่ใช้เป็น Positive control และ Negative control

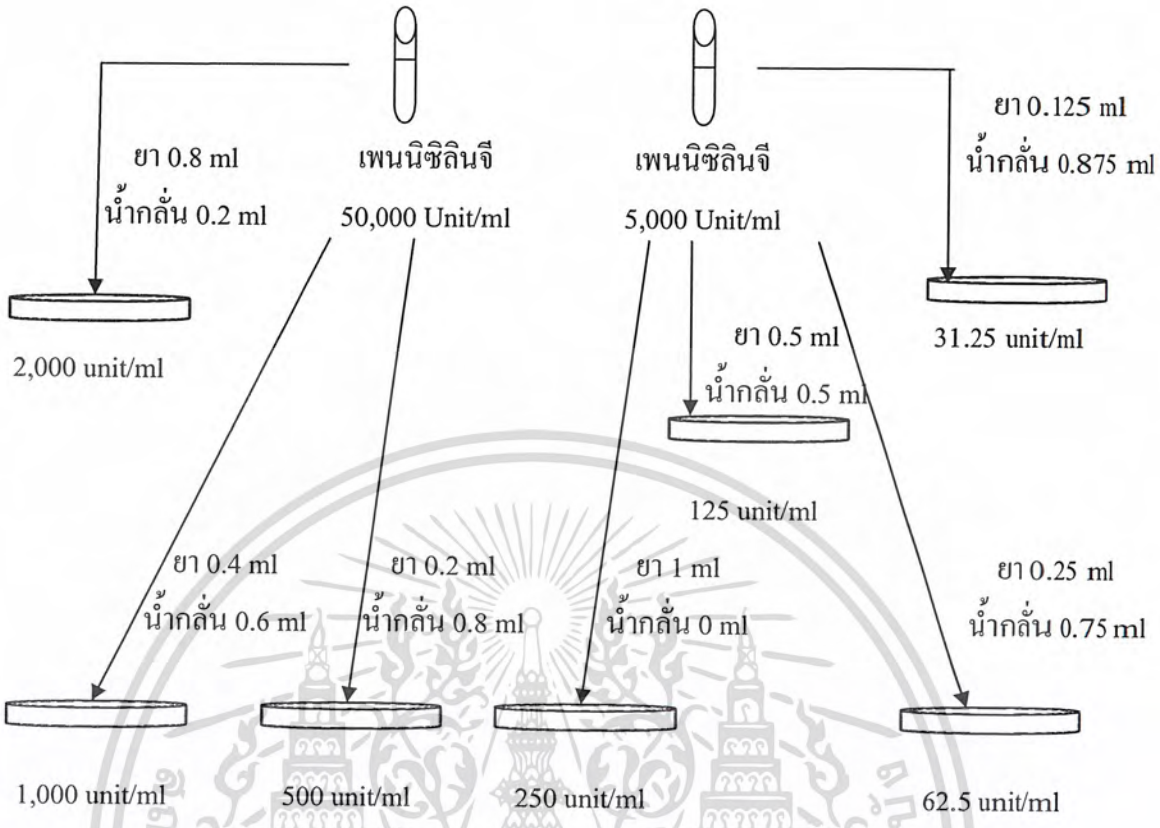


รูปที่ 15 การเตรียม Stock solution ของเพนนิซิลินจี

ตารางที่ 12 การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของยา (unit/ml)	ปริมาตรของยา (ml)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ml)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ (unit/ml)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในอาหาร (unit/ml)
50,000	0.8	0.2	40,000	2,000
50,000	0.4	0.6	20,000	1,000
50,000	0.2	0.8	10,000	500
5,000	1	0	5,000	250
5,000	0.5	0.5	2,500	125
5,000	0.25	0.75	1,250	62.5
5,000	0.125	0.875	625	31.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

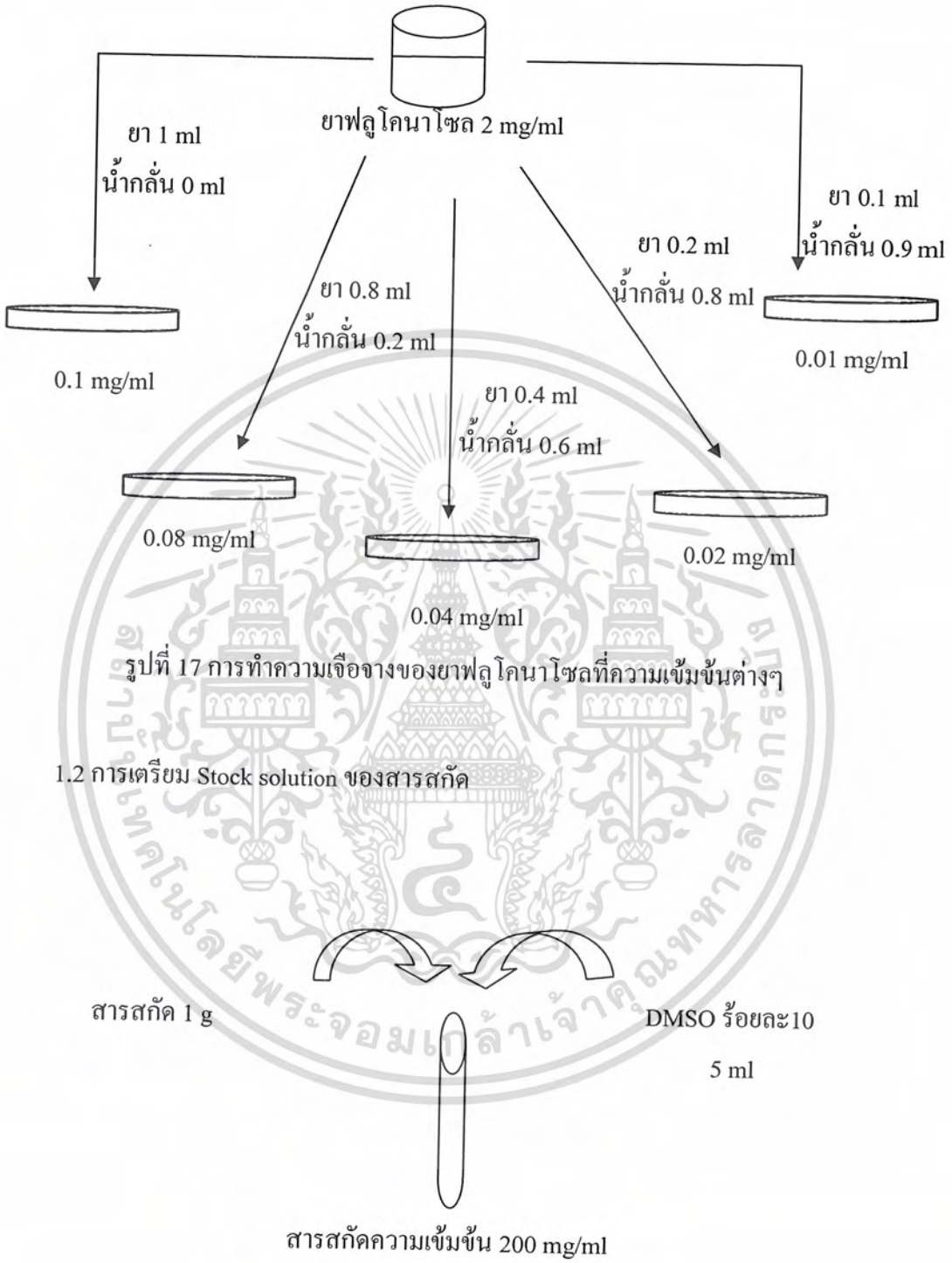


รูปที่ 16 การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 13 การทำความเจือจางของยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของยา (mg/ml)	ปริมาตรของยา (ml)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ml)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ (mg/ml)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในอาหาร (mg/ml)
2	1	0	2	0.1
2	0.8	0.2	1.6	0.08
2	0.4	0.6	0.8	0.04
2	0.2	0.8	0.4	0.02
2	0.1	0.9	0.2	0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 17 การทำความเจือจางของยาฟลูโคนาโซลที่ความเข้มข้นต่างๆ

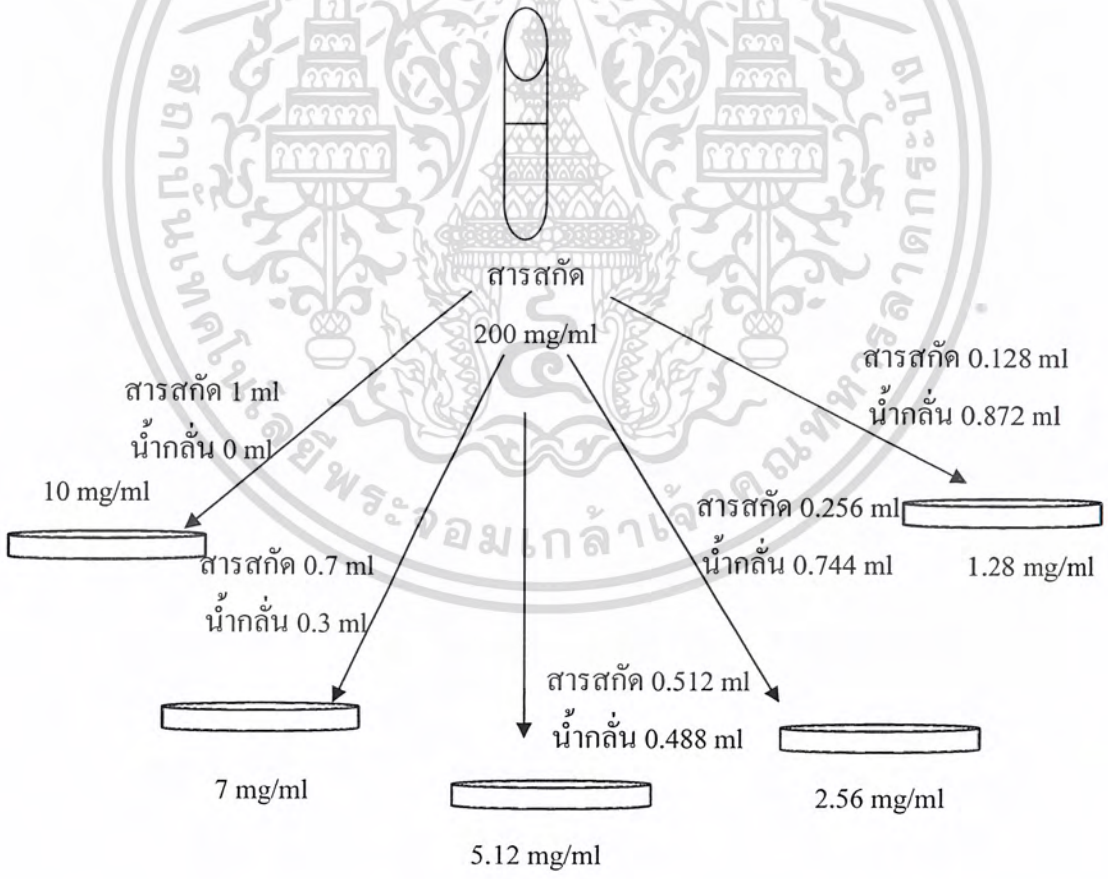
1.2 การเตรียม Stock solution ของสารสกัด

รูปที่ 18 การเตรียม Stock solution ของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ปริมาตรสารสกัด (ml)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ml)	ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ (mg/ml)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในอาหาร (mg/ml)
200	1	0	200	10
200	0.7	0.3	140	7
200	0.512	0.488	102.4	5.12
200	0.256	0.744	51.2	2.56
200	0.128	0.872	25.6	1.28



รูปที่ 19 การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิคการแพร่บนอาหารวุ้น

ตารางที่ 15 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่ 1

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)[a]					
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง
แบคทีเรีย						
Bacillus cereus	-[b]	11.5	-	9	11.5	-
Escherichia coli	-	-	-	-	8	-
Listeria monocytogenes	-	9.5	-	-	-	-
Pseudomonos fluorescens	-	13	-	10.5	10.5	-
Salmonella Typhimurium	-	9	-	-	11.5	-
Staphylococcus aureus	-	9	-	11	11	-
ยีสต์						
Candida lipolytica	-	-	-	-	-	-
Pichia membranaefaciens	-	-	-	-	-	-
Rhodotorula glutinis	-	14	-	-	21	-
Zygosaccharomyces rouxii	-	-	-	-	-	-
เชื้อรา						
Aspergillus flavus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus ochraceus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus parasiticus	-	-	-	-	-	-
Fusarium moniliforme	-	-	-	-	-	-
Rhizopus stolonifer	-	-	-	-	-	-

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

[b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่ 2

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)[a]					
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง
แบคทีเรีย						
Bacillus cereus	-[b]	12	-	10	11	-
Escherichia coli	-	-	-	-	9	-
Listeria monocytogenes	-	9.5	-	-	-	-
Pseudomonos fluorescens	-	11	-	9.5	9.75	-
Salmonella Typhimurium	-	9	-	-	10.75	-
Staphylococcus aureus	-	8.5	-	10	10.5	-
ยีสต์						
Candida lipolytica	-	-	-	-	-	-
Pichia membranaefaciens	-	-	-	-	-	-
Rhodotorula glutinis	-	16	-	-	23	-
Zygosaccharomyces rouxii	-	-	-	-	-	-
เชื้อรา						
Aspergillus flavus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus ochraceus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus parasiticus	-	-	-	-	-	-
Fusarium moniliforme	-	-	-	-	-	-
Rhizopus stolonifer	-	-	-	-	-	-

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

[b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลไม้พื้นบ้านไทยด้วยเทคนิค agar diffusion ครั้งที่ 3

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)[a]					
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง
แบคทีเรีย						
Bacillus cereus	-[b]	11.5	-	9.25	11.25	-
Escherichia coli	-	-	-	-	8.75	-
Listeria monocytogenes	-	9.25	-	-	-	-
Pseudomonos fluorescens	-	10.75	-	9.5	10	-
Salmonella Typhimurium	-	9	-	-	11	-
Staphylococcus aureus	-	9	-	9.75	11	-
ยีสต์						
Candida lipolytica	-	-	-	-	-	-
Pichia membranaefaciens	-	-	-	-	-	-
Rhodotorula glutinis	-	14	-	-	21	-
Zygosaccharomyces rouxii	-	-	-	-	-	-
เชื้อรา						
Aspergillus flavus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus ochraceus	-	-	-	-	-	-
Aspergillus parasiticus	-	-	-	-	-	-
Fusarium moniliforme	-	-	-	-	-	-
Rhizopus stolonifer	-	-	-	-	-	-

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

[b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution

ตารางที่ 18 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

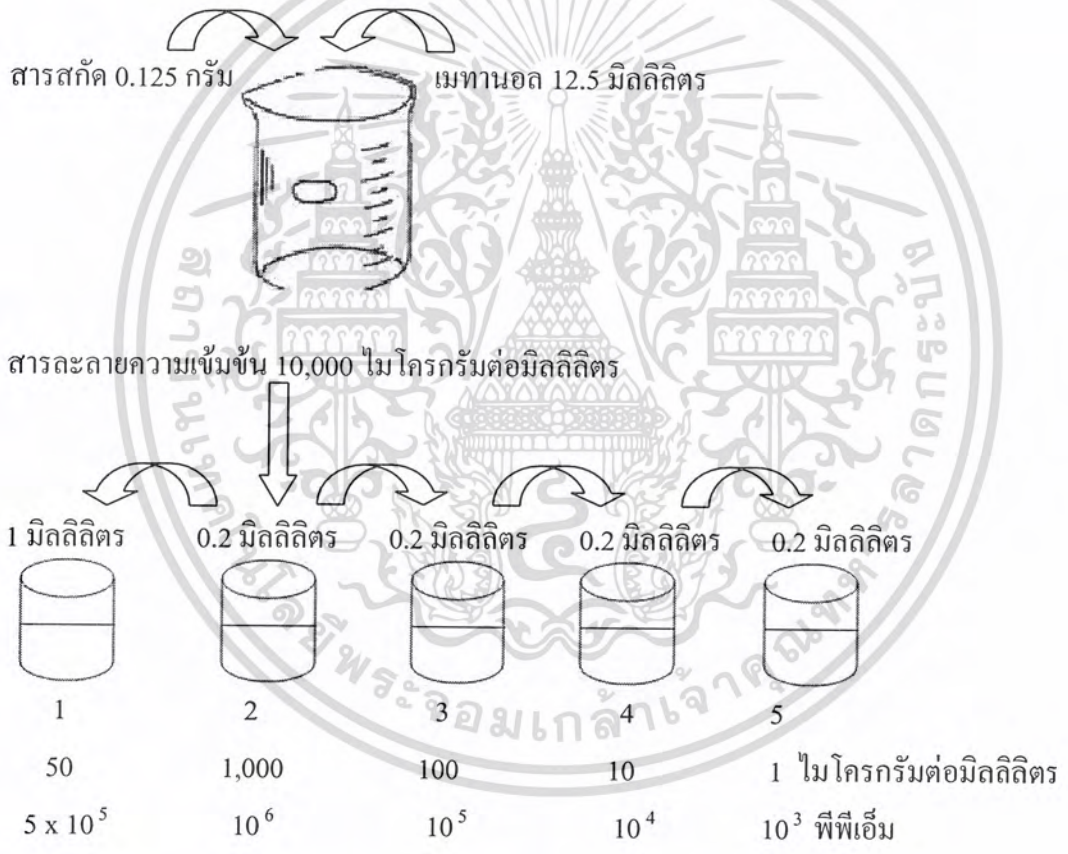
ชนิดของจุลินทรีย์	ความเข้มข้นต่ำสุด (mg/ml)							
	พิลังกาสา	มะกอกน้ำ	มะขวิด	มะขามป้อม	มะดัน	มะเฟือง	Penicillin G[a]	Fluconazole
แบคทีเรีย								
Bacillus cereus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	5.12	> 10.00	250.00	> 0.10
Escherichia coli	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	> 10.00	125.00	> 0.10
Listeria monocytogenes	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	2.56	> 10.00	62.50	> 0.10
Pseudomonas fluorescens	> 10.00	7.00	> 10.00	2.56	5.12	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Salmonella Typhimurium	> 10.00	5.12	> 10.00	> 10.00	2.56	> 10.00	250.00	> 0.10
Staphylococcus aureus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	2.56	5.12	> 10.00	31.25	> 0.10
ยีสต์								
Candida lipolytica	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.02
Pichia membranaefaciens	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.08
Rhodotorula glutinis	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	5.12	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Zygosaccharomyces rouxii	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	0.01
เชื้อรา								
Aspergillus flavus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Aspergillus ochraceus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Aspergillus parasiticus	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Fusarium moniliforme	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10
Rhizopus stolonifer	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00	> 2,000.00	> 0.10

[a] หน่วยความเข้มข้นเป็น Unit/ml

ภาคผนวก ข

1. การเตรียมสารละลายต่างๆ สำหรับวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบของผลไม้และสารละลายวิตามินอี ที่ความเข้มข้นต่างๆ ชั่งสารสกัด 0.125 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอลปริมาตร 12.5 มิลลิลิตรจะได้ความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นเท่ากับ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางต่อไปเรื่อยๆ ด้วยเมทานอลจนได้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



บีกเกอร์ 1 เติมเมทานอล 1 มิลลิลิตร

บีกเกอร์ 2-5 เติม 1.8 มิลลิลิตร

รูปที่ 20 การเตรียมสารสกัดหยาบของผลไม้

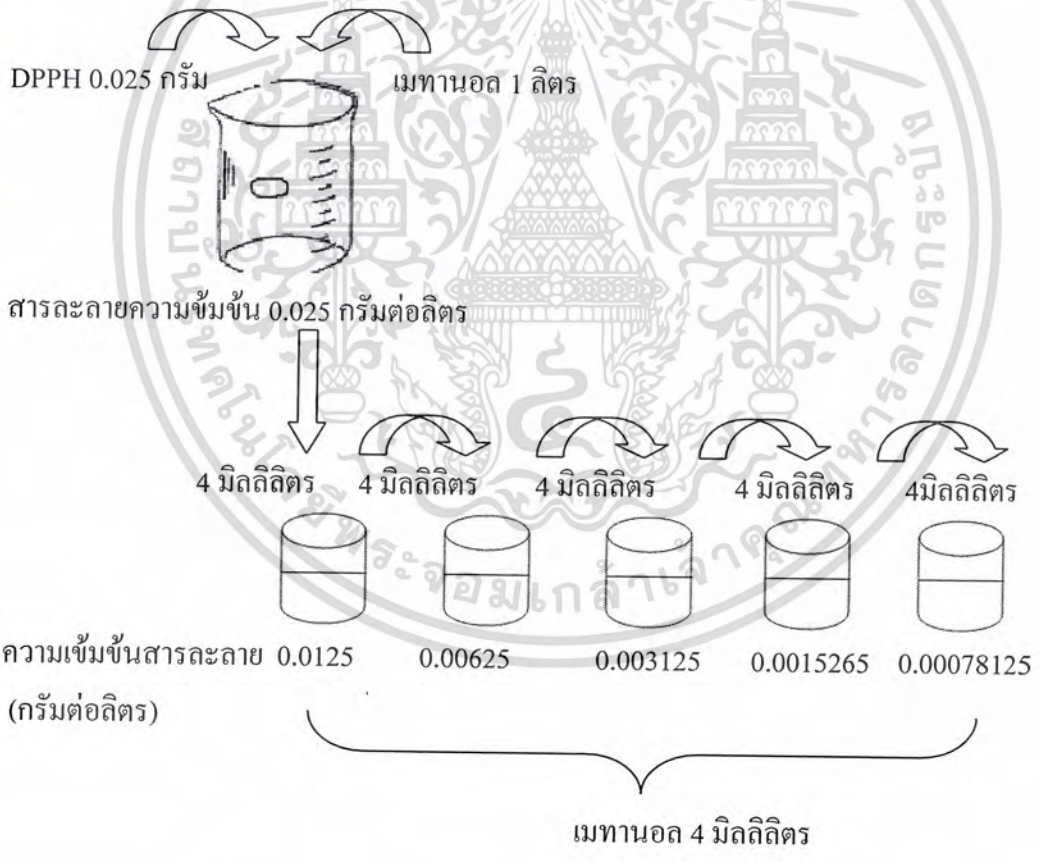
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเตรียมสารละลายวิตามินอีที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการชั่งวิตามินอี 0.125 กรัมลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอลปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของวิตามินอีเริ่มต้นเท่ากับ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางต่อไปเช่นเดียวกับการเจือจางสารสกัดทุกประการ จนได้ความเข้มข้นของวิตามินอีเป็น 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การทำกราฟมาตรฐานของ DPPH

2.1 การเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่ง DPPH 0.025 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอล 1 ลิตร จะได้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้นเท่ากับ 0.025 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาทำการเจือจาง 2 เท่าไปเรื่อยๆ ด้วยเมทานอล จนได้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เป็น 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 21 การเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ

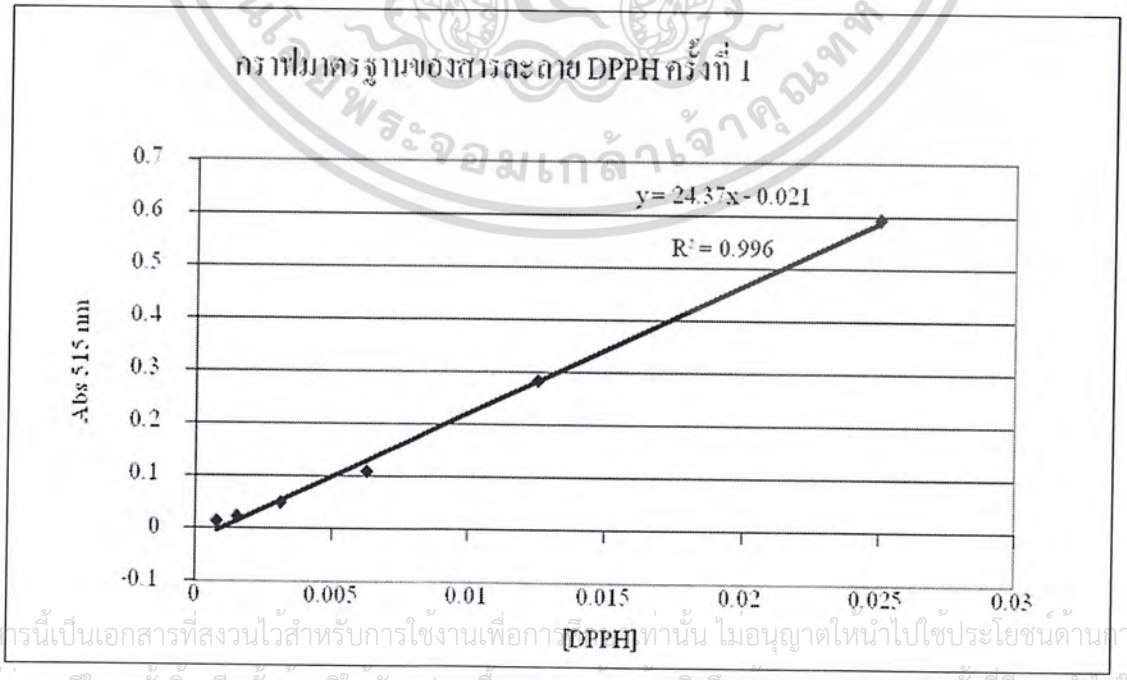
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

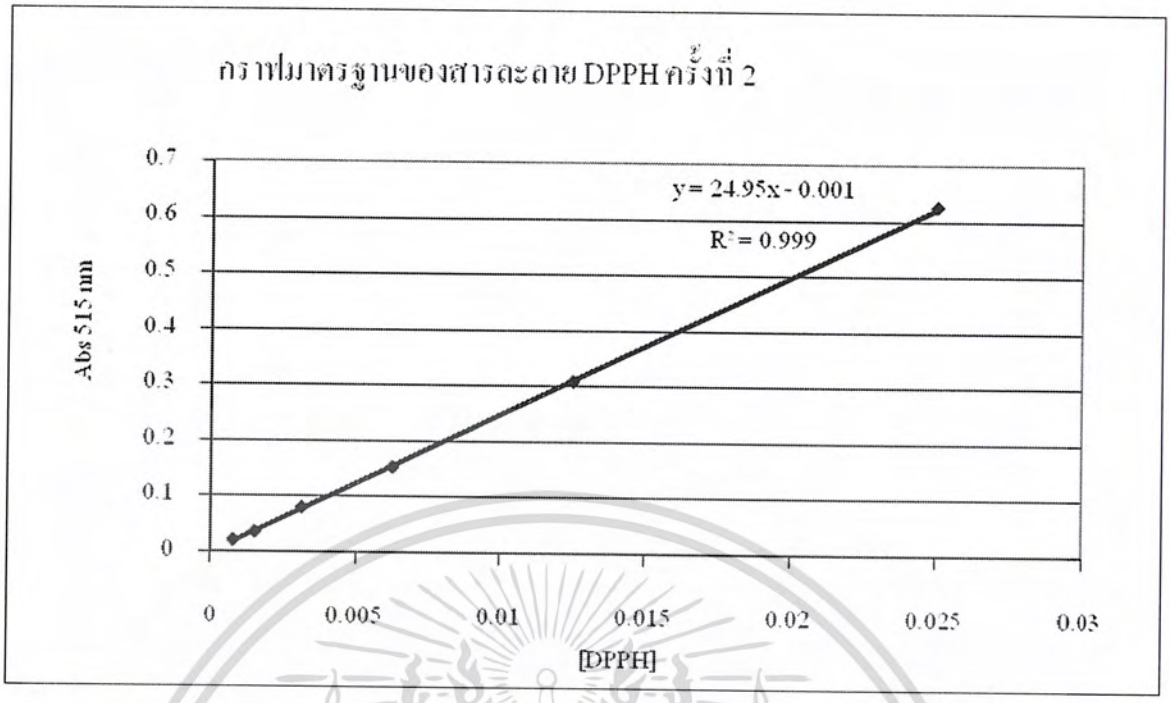
ปิเปตสารลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร ลงในคิวเวตแต่ละอันปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของ DPPH พร้อมหาสมการเส้นตรงของกราฟ ซึ่งได้กราฟมาตรฐานดังนี้

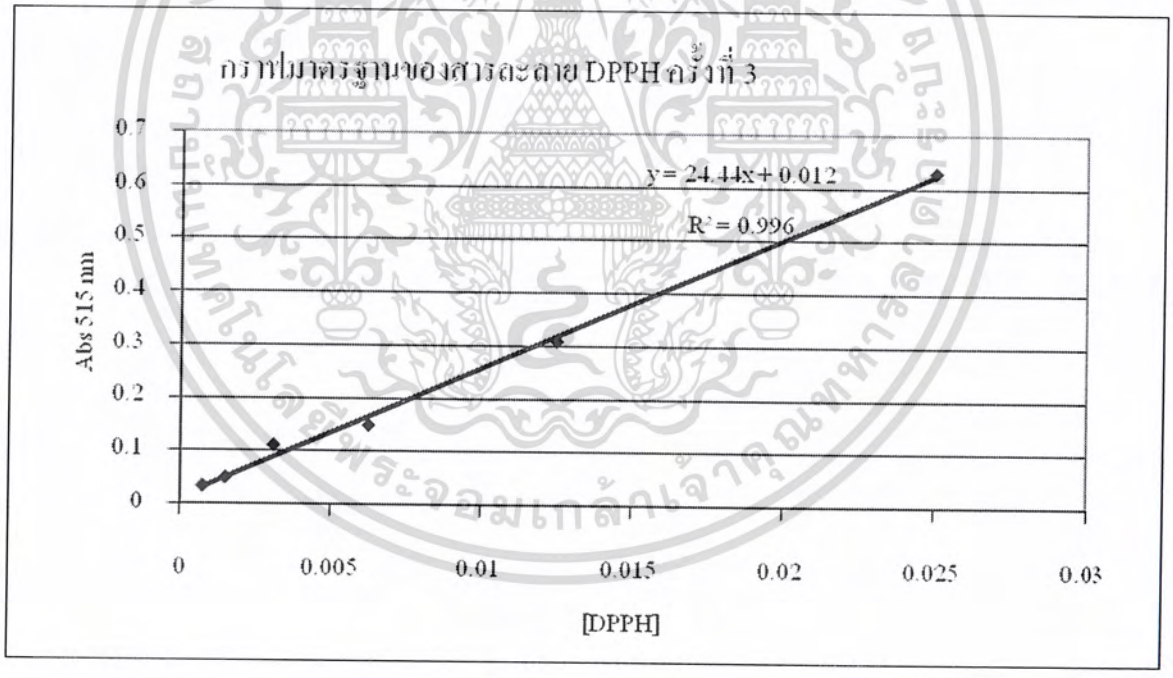
ตารางที่ 19 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร		
	กราฟมาตรฐาน 1	กราฟมาตรฐาน 2	กราฟมาตรฐาน 3
0.025	0.593	0.624	0.63
0.0125	0.283	0.307	0.308
0.00625	0.109	0.152	0.148
0.003125	0.049	0.079	0.11
0.0015265	0.022	0.035	0.048
0.00078125	0.013	0.02	0.032



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการทดลองหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้/ค่าความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร					
	0 นาที			30 นาที		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
พิลังกาสา						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.48	0.558	0.26	0.145	0.163	0.06
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.495	0.566	0.502	0.266	0.349	0.397
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.498	0.62	0.634	0.574	0.611	0.657
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.568	0.674	0.618	0.697	0.673	0.637
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.68	0.673	0.638	0.611	0.673	0.66
มะกอกน้ำ						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.603	0.621	0.629	0.514	0.345	0.35
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.626	0.598	0.615	0.572	0.534	0.565
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.632	0.714	0.663	0.62	0.715	0.678
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.622	0.616	0.68	0.648	0.64	0.702
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.643	0.677	0.638	0.637	0.705	0.666
มะขวิด						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.577	0.634	0.634	0.609	0.641	0.641
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.576	0.603	0.603	0.589	0.617	0.617
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.557	0.6	0.6	0.6	0.609	0.609
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.593	0.607	0.607	0.61	0.63	0.63
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.574	0.61	0.61	0.634	0.629	0.629

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย (ต่อ)

ชนิดของผลไม้/ค่าความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร					
	0 นาที			30 นาที		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
มะขามป้อม						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.385	0.294	0.153	0.033	0.047	0.03
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.378	0.301	0.152	0.07	0.056	0.038
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.491	0.476	0.506	0.427	0.373	0.474
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.633	0.593	0.619	0.647	0.618	0.591
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.618	0.616	0.668	0.615	0.642	0.666
มะดัน						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.563	0.557	0.684	0.504	0.521	0.633
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.58	0.578	0.621	0.565	0.57	0.593
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.613	0.603	0.631	0.604	0.602	0.607
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.64	0.571	0.665	0.636	0.589	0.656
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.689	0.589	0.674	0.65	0.605	0.671
มะเฟือง						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.586	0.599	0.602	0.587	0.602	0.599
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.672	0.605	0.636	0.68	0.636	0.605
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.646	0.608	0.634	0.666	0.634	0.608
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.639	0.613	0.645	0.66	0.645	0.613
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.642	0.612	0.633	0.661	0.633	0.612

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย (ต่อ)

ชนิดของผลไม้/ค่าความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร					
	0 นาที			30 นาที		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
วิตามินอี						
1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.271	0.118	0.222	0.037	0.082	0.044
500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.306	0.324	0.415	0.047	0.075	0.135
100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.424	0.365	0.559	0.331	0.153	0.515
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.529	0.625	0.608	0.512	0.65	0.621
1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.546	0.645	0.662	0.525	0.661	0.651

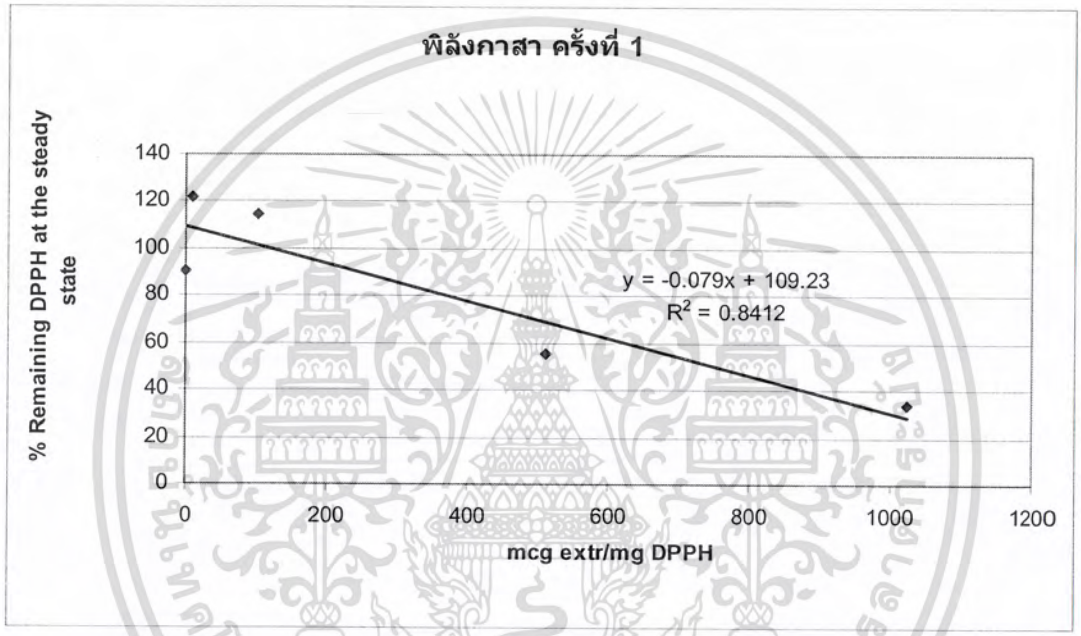
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

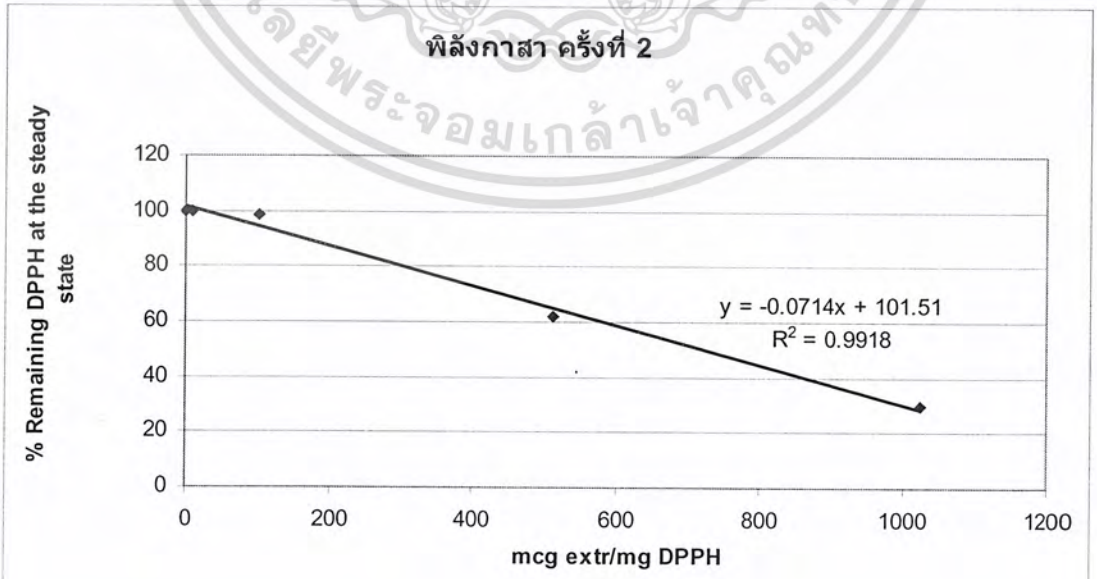
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ภาพแสดง Kinetic curve ของ scavenged DPPH

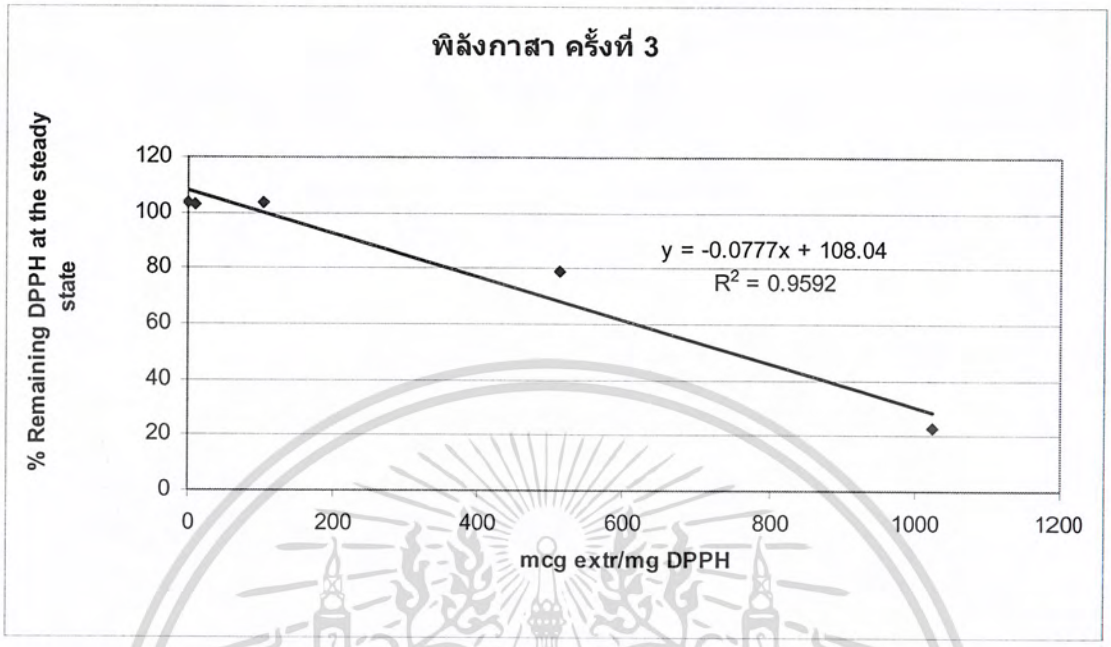
โดยสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทยทั้ง 6 ชนิดจากการทดลอง 3 ซ้ำ เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ DPPH ที่เหลือ (%) ณ เวลาเสถียรคือที่ 30 นาทีกับอัตราส่วนระหว่างปริมาณสารสกัดต่อปริมาณ DPPH (ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) โดยจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาค่า EC_{50} ได้โดยแทนค่า y เป็น 50 ในสมการเส้นตรงที่ได้ แล้วคำนวณหาค่า x ค่า x ที่ได้คือ ค่า EC_{50}

พิลังกาสา

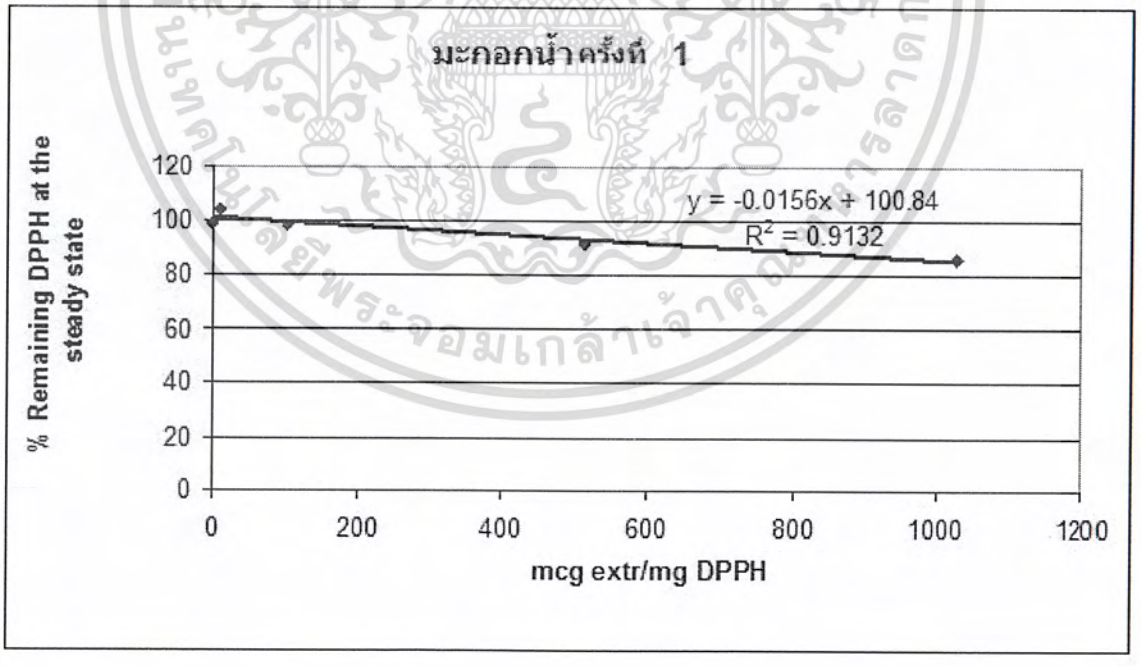




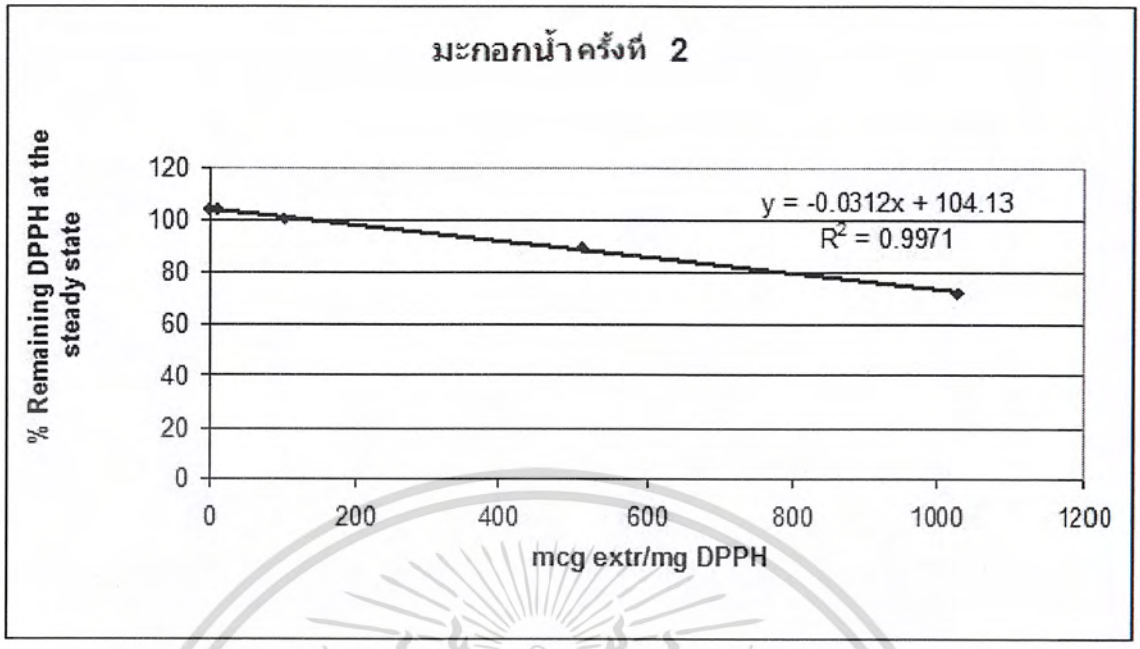
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

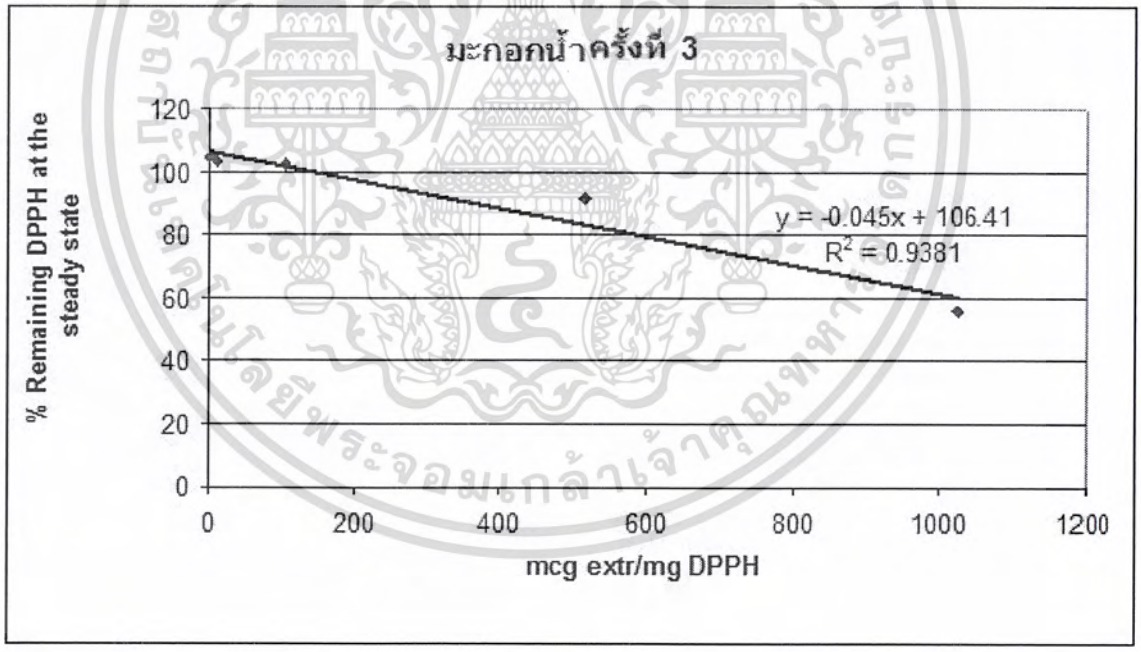


มะกอกน้ำ



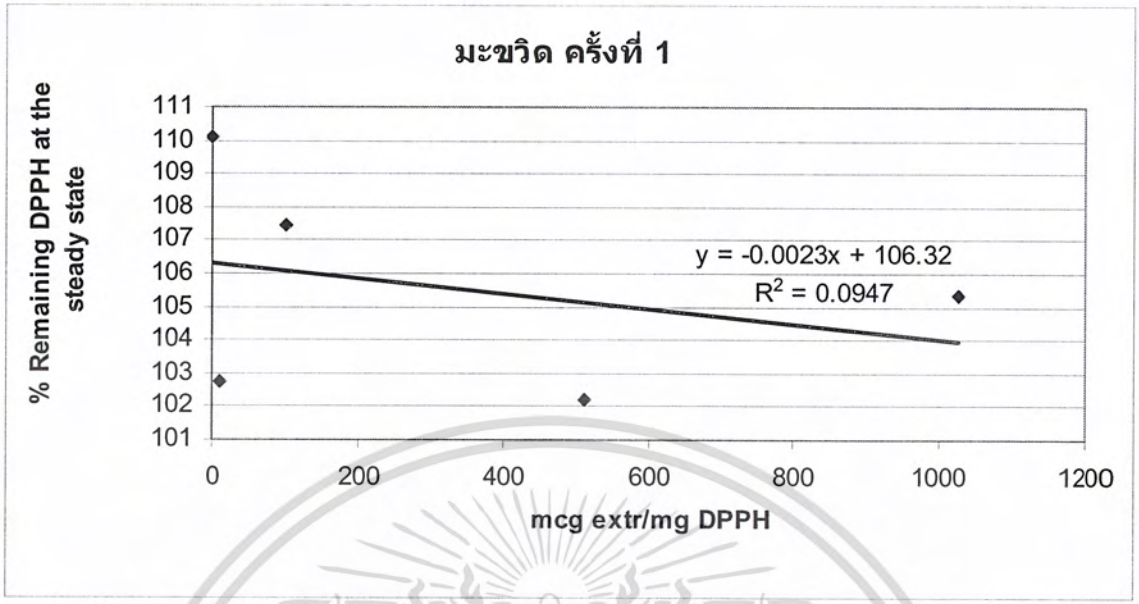
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

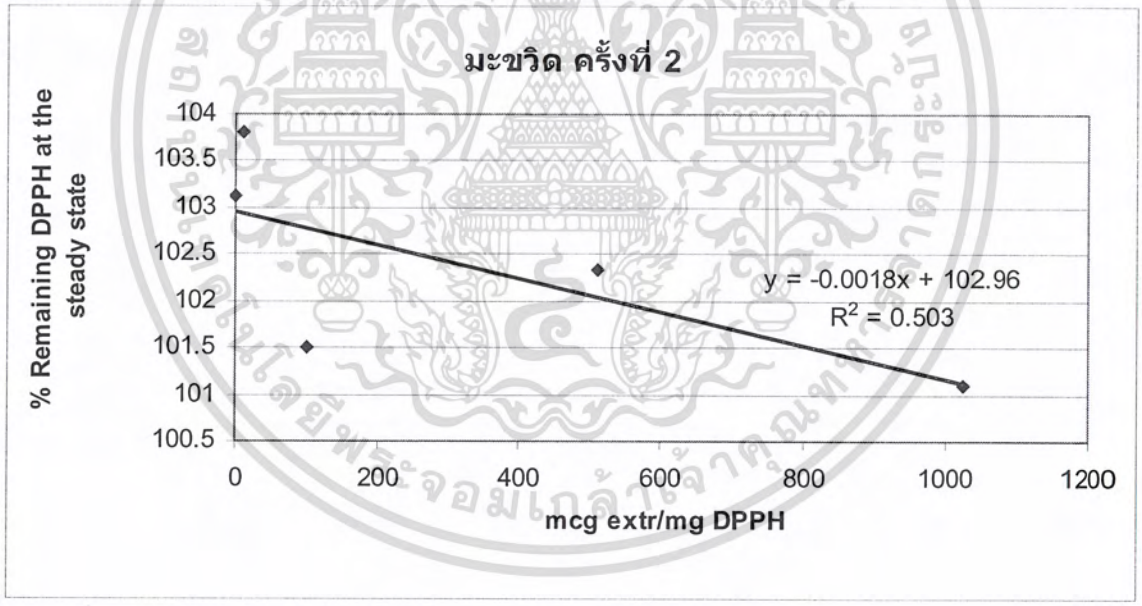




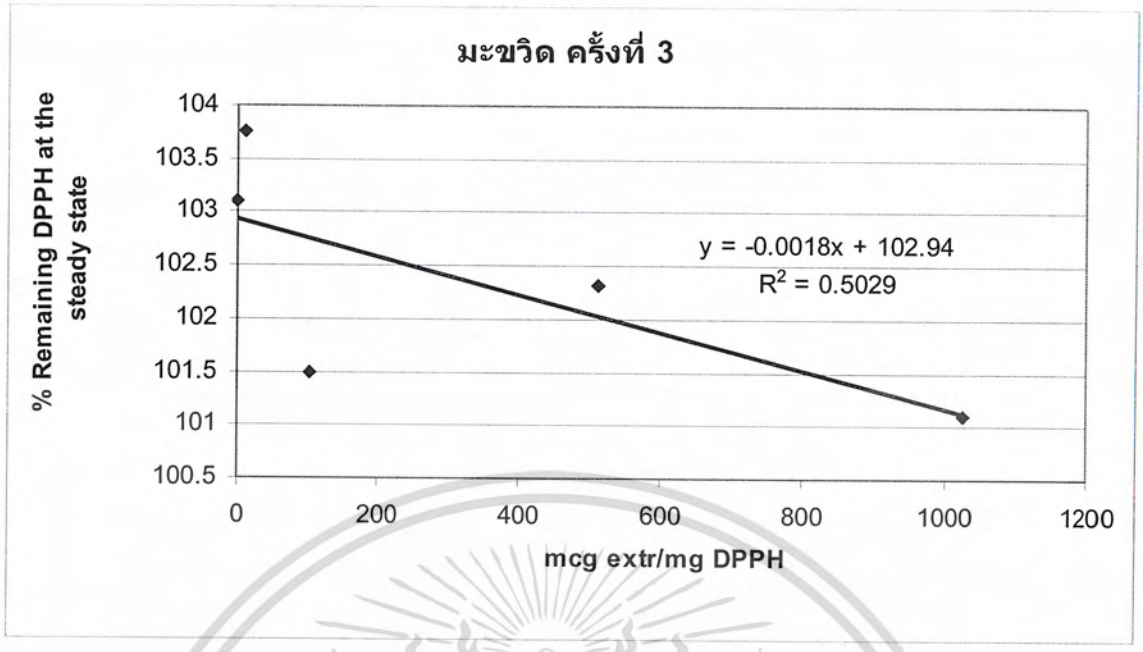
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะขวิด

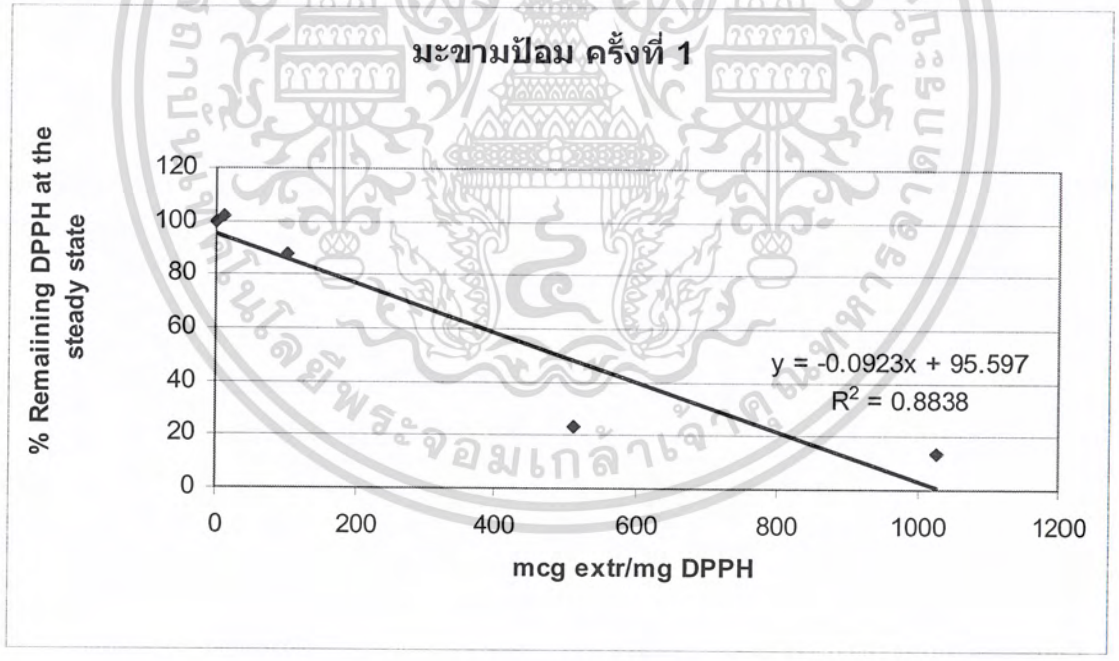




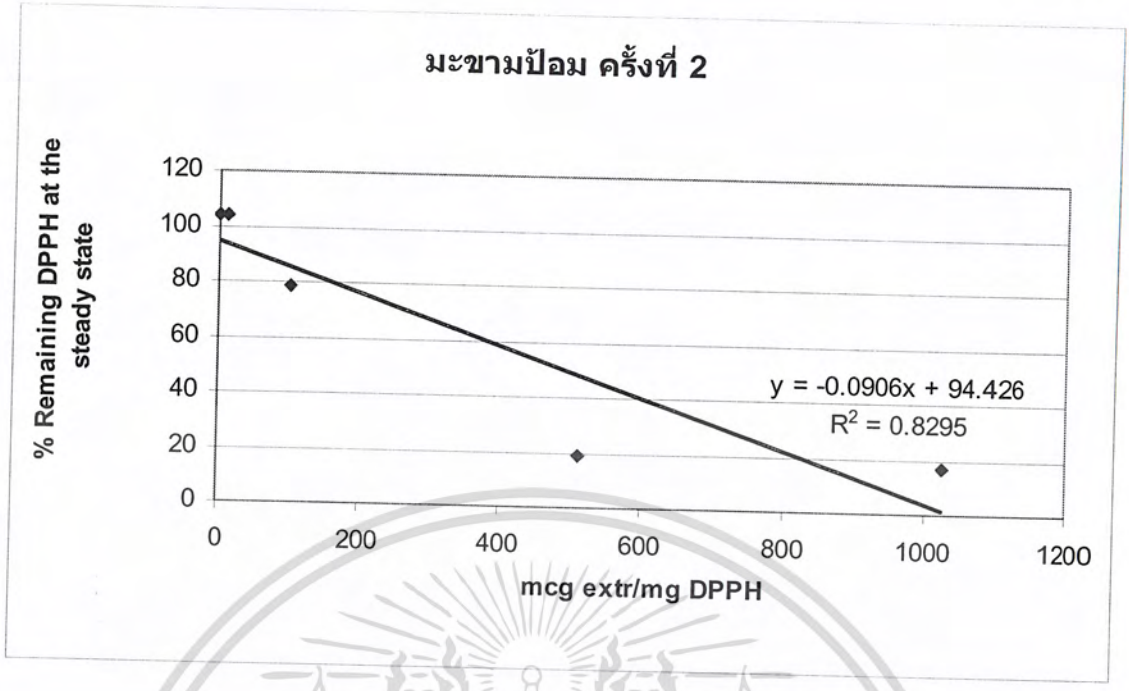
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

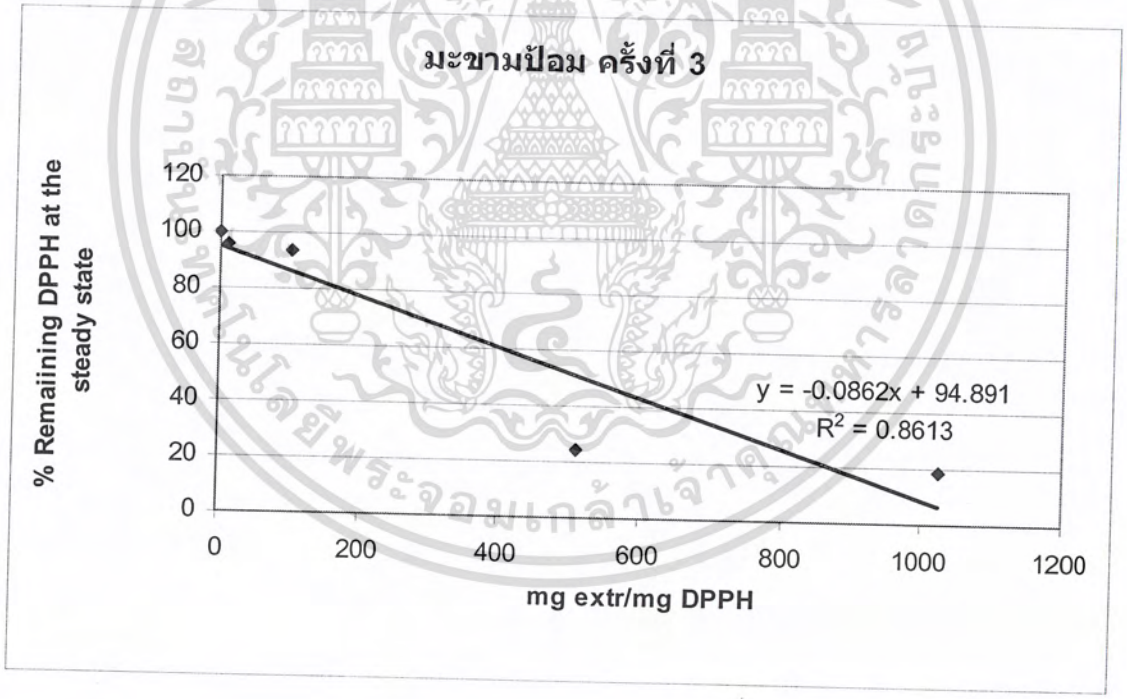


มะขามป้อม



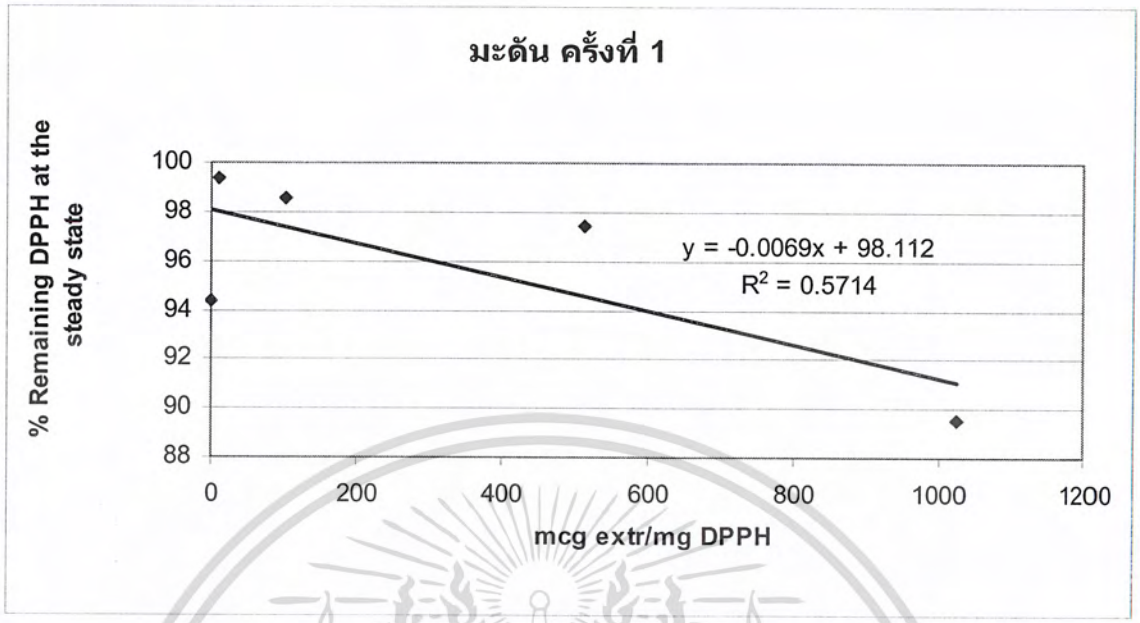
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

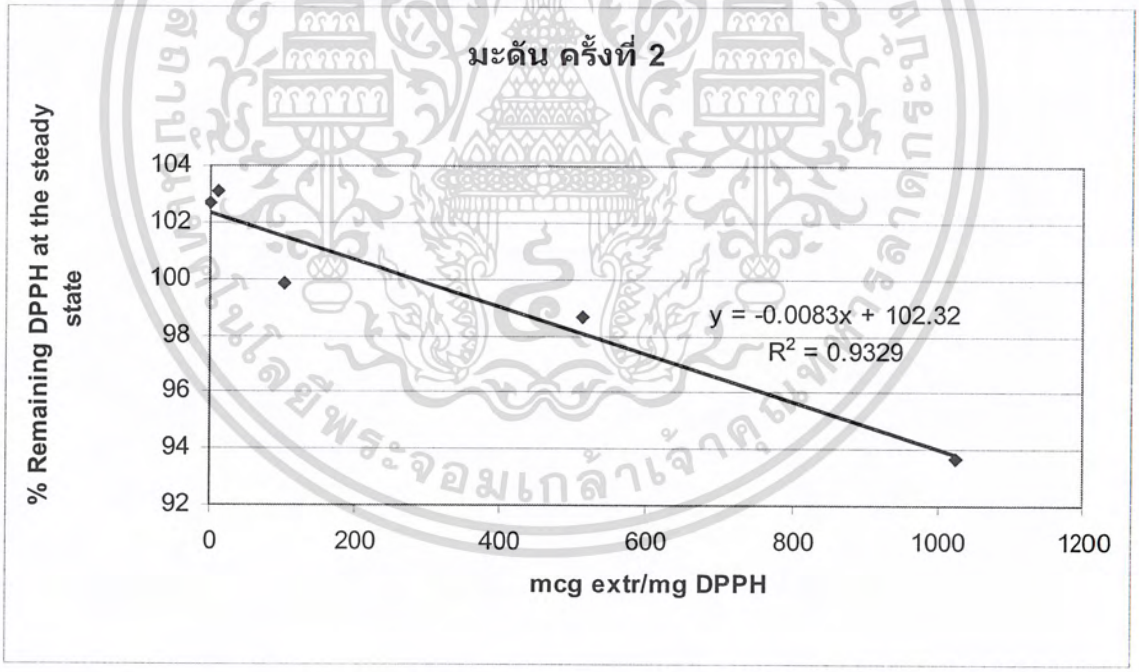




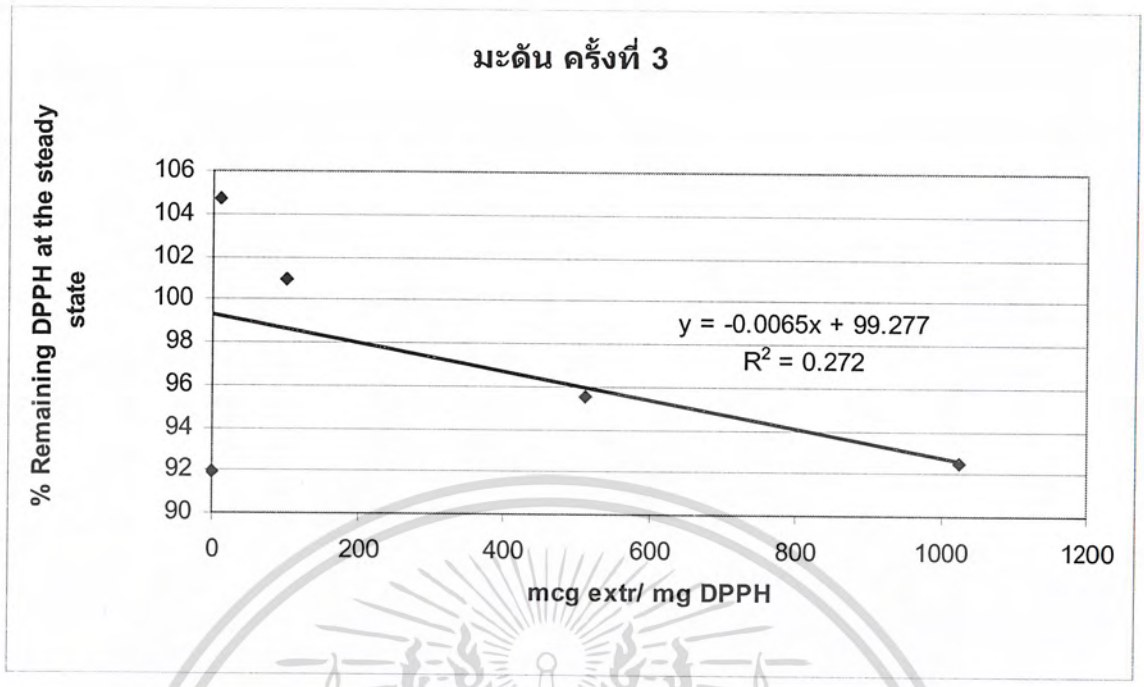
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะดัน

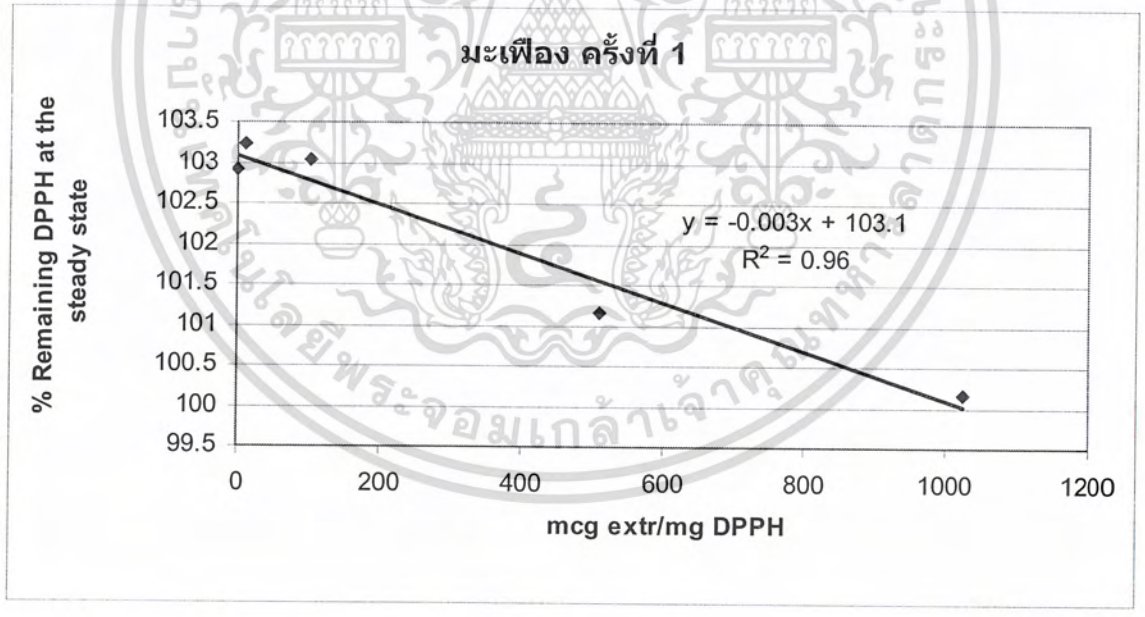




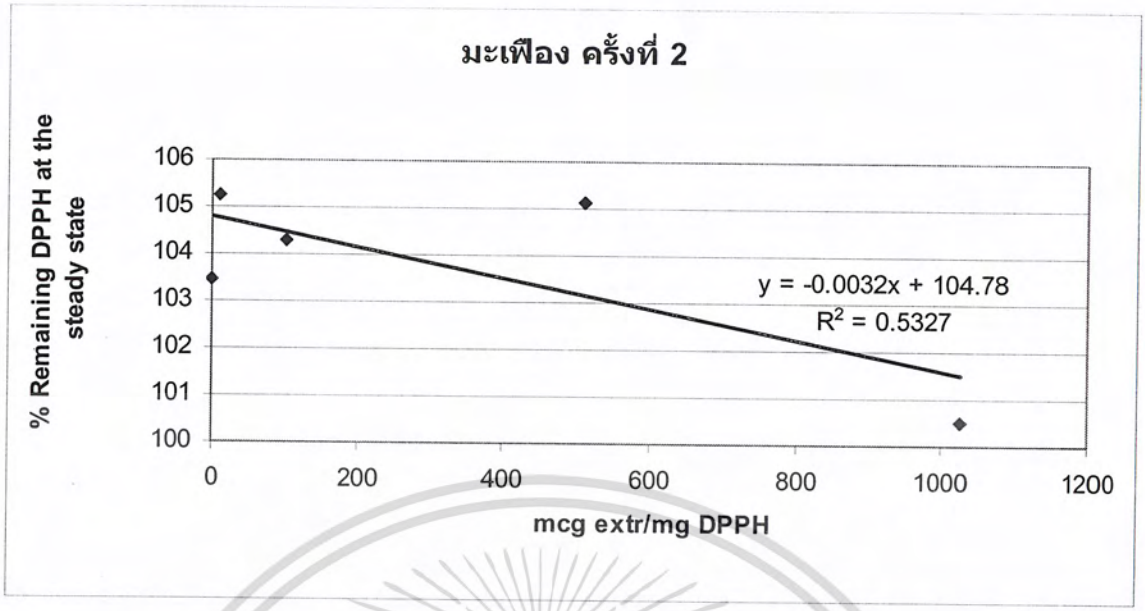
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

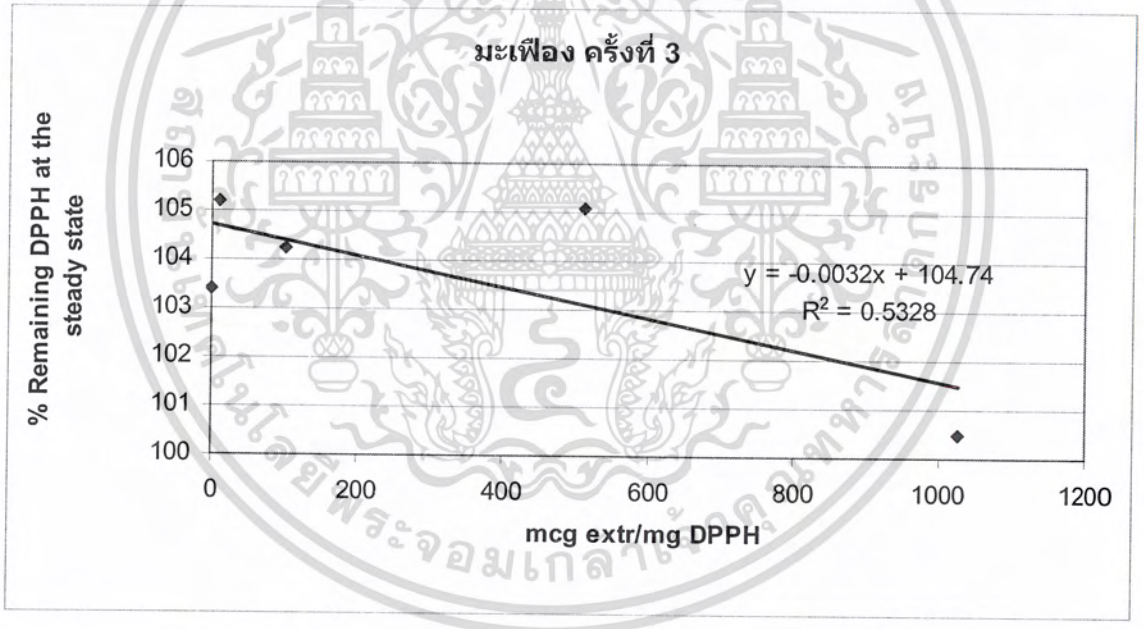


มะเฟือง



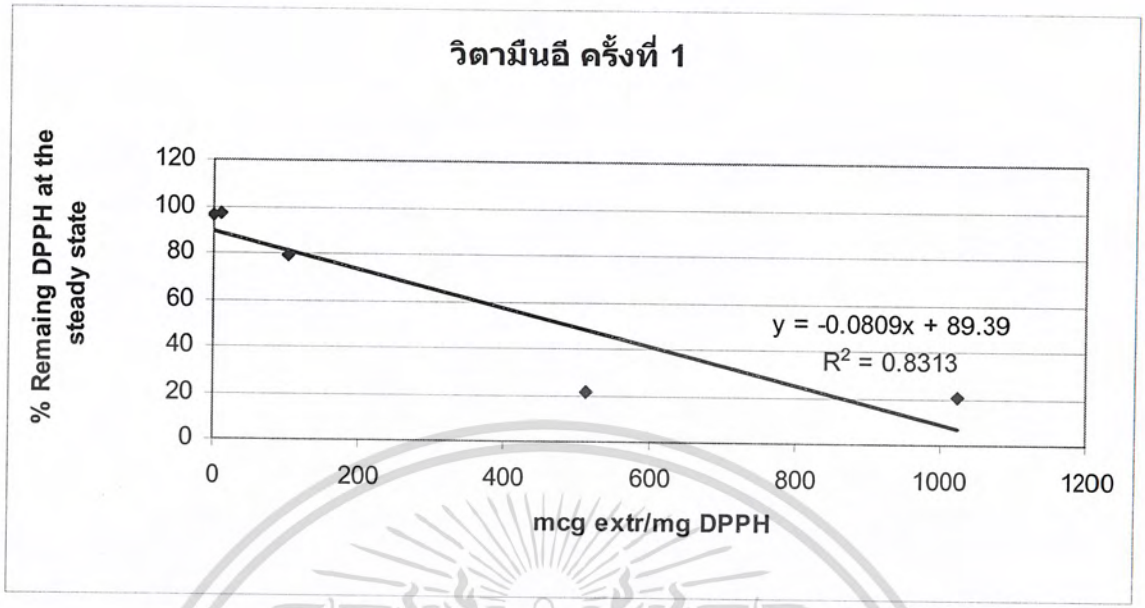
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

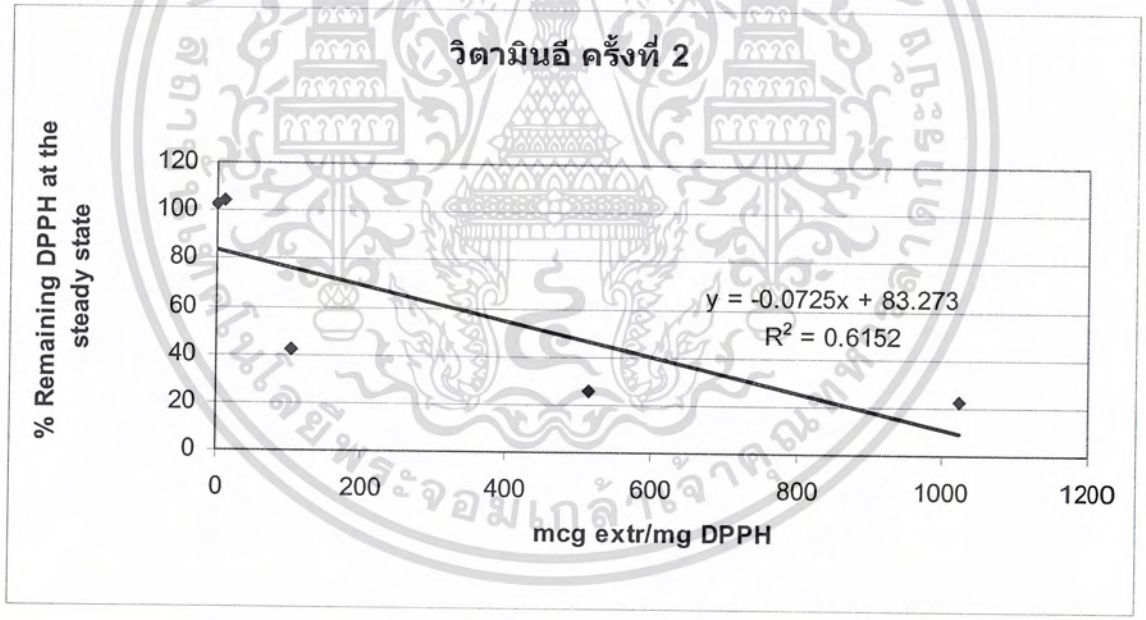




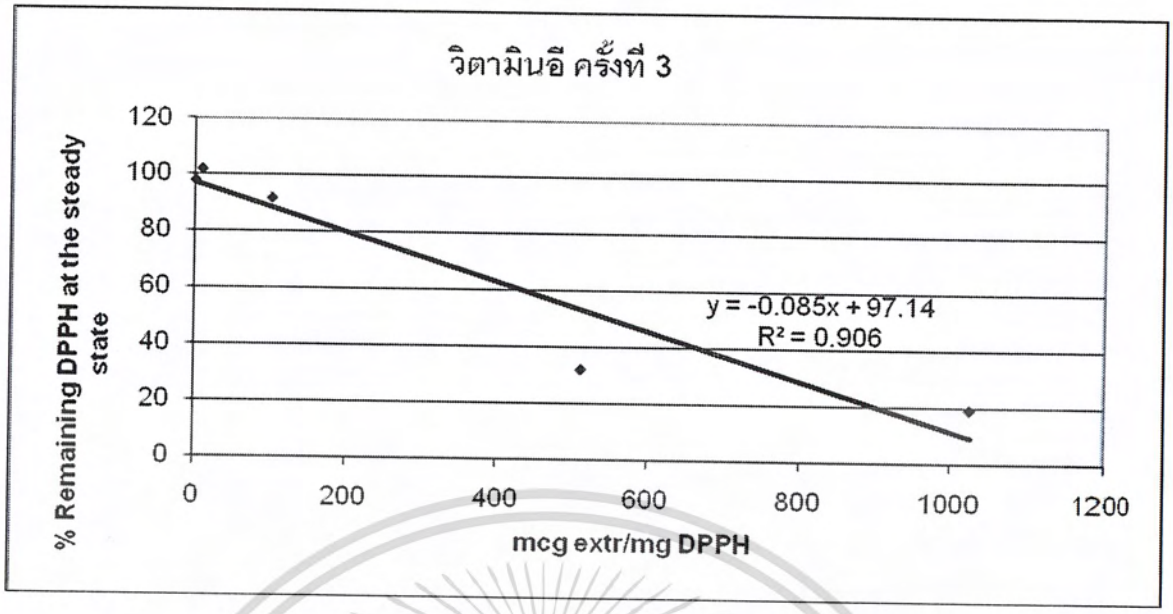
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินอี





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผลของการคำนวณหาค่า EC_{50} และ AE

ผลของการคำนวณหาค่า EC_{50} และ AE จากสมการเส้นตรงของกราฟแสดงระหว่างปริมาณ DPPH ที่เหลือ (%) ณ เวลาเสถียรคือที่ 30 นาทีกับอัตราส่วนระหว่างปริมาณสารสกัดต่อปริมาณ DPPH (ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH)

ตารางที่ 21 ค่า EC_{50} ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้พื้นบ้านไทย	ค่า EC_{50} (ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
พิลังกาสา	749.747	721.429	746.976
มะกอกน้ำ	3,258.974	1,734.936	1,253.556
มะขวิด	24,486.957	29,422.222	29,411.111
มะขามป้อม	494.009	490.353	520.777
มะดัน	6,972.754	6,303.614	7,581.077
มะเฟือง	17,700.000	17,118.750	17,106.250
วิตามินอี	486.897	458.938	456.814

ตารางที่ 22 ค่า AE ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้พื้นบ้านไทย	ค่า EC_{50} (ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
พิลังกาสา	0.0013	0.0014	0.0013
มะกอกน้ำ	0.0003	0.0006	0.0008
มะขวิด	0.0000	0.0000	0.0000
มะขามป้อม	0.0020	0.0020	0.0019
มะดัน	0.0001	0.0002	0.0001
มะเฟือง	0.0001	0.0001	0.0001
วิตามินอี	0.0021	0.0022	0.0022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การเตรียมสารละลาย FRAP reagent

6.1 สารละลาย acetate buffer ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลต่อลิตร

ชั่ง sodium acetate ($C_2H_3NaO_2.3H_2O$) 3.1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปิเปตกรดอะซิติก ($C_2H_4O_2$) ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ลงไปเพื่อละลาย sodium acetate แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

6.2 สารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตรใน กรดไฮโดรคลอลิก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร

6.2.1 เตรียมกรดไฮโดรคลอลิก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมจาก Conc. HCl โดยดูจากข้างขวด ดังนี้

ปริมาณเนื้อกรด	37%	น้ำหนักต่อปริมาตร
ความหนาแน่น	1.19	กรัมต่อลิตร
น้ำหนกโมเลกุล	36.5	กรัมต่อ โมล

หาความเข้มเข้มของกรด HCl ในขวด จากสูตร

$$C = 10 \times \frac{dx}{MW}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น หน่วยเป็น Normal (N)

d = ความหนาแน่น

x = ปริมาณเนื้อกรด (เปอร์เซ็นต์)

จะได้ $C = 10 \times \frac{1.19 \times 37}{36.5} = 12.06 =$

เนื่องจาก 1 Molarity HCl = 1 Normality HCl

N ที่ได้จึง = 12.06 M.

เตรียมสาร โดยการเจือจางความเข้มข้น จากสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

ต้องการเตรียม HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตรหรือ 0.04 M. จาก HCl ความเข้มข้น 12.06 M.

จะได้ $V_1 = \frac{0.04 \times 1000}{12.06} = 3.32$ มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมได้โดยปิเปตกรด HCl มา 3.32 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว แล้วค่อยปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

6.2.2 การเตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตรในกรดไฮโดรคลอลิกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร

น้ำหนักโมเลกุลของ TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

ใน 1,000 มิลลิโมล มีสาร TPTZ = 312.33 กรัม

ถ้า 10 มิลลิโมล จะมีสาร TPTZ = $\frac{312.33 \times 10}{1,000}$ = 3.2133 กรัม

ชั่ง TPTZ 3.2133 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอลิกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร (ข้อ 6.2.1) แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

6.3 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลต่อลิตร

น้ำหนักโมเลกุลของ $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล

ใน 1,000 มิลลิโมล มีสาร $FeCl_3.6H_2O$ = 270.30 กรัม

ถ้า 10 มิลลิโมล จะมีสาร $FeCl_3.6H_2O$ = $\frac{270.30 \times 20}{1000}$ = 5.4060 กรัม

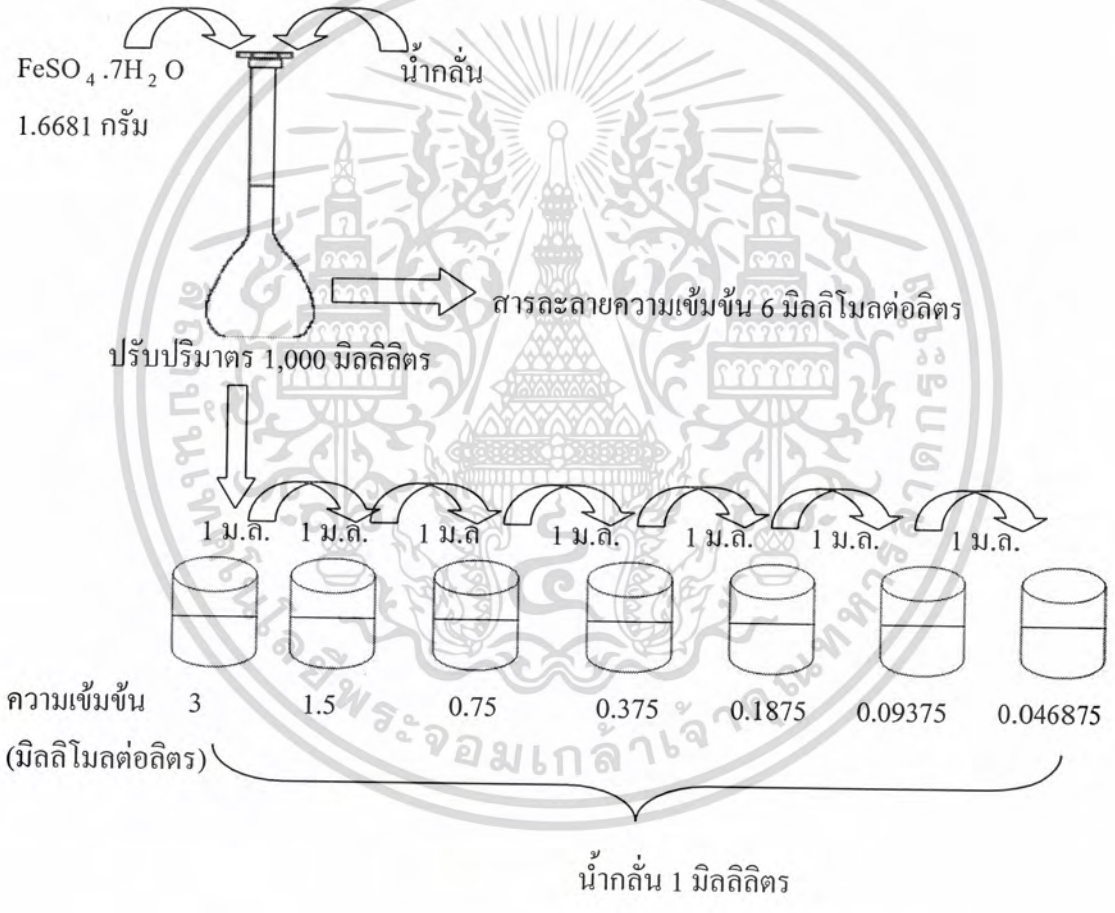
ชั่ง $FeCl_3.6H_2O$ 5.406 กรัม ละลายน้ำเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

7.1 การเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่งเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) 1.6681 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย เพื่อทำการละลายเฟอรัสซัลเฟต แล้วทำการปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 6 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นนำมาทำการเจือจาง 2 เท่าไปเรื่อยๆ ด้วยน้ำกลั่น จนได้ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต เป็น 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร



รูปที่ 22 การเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

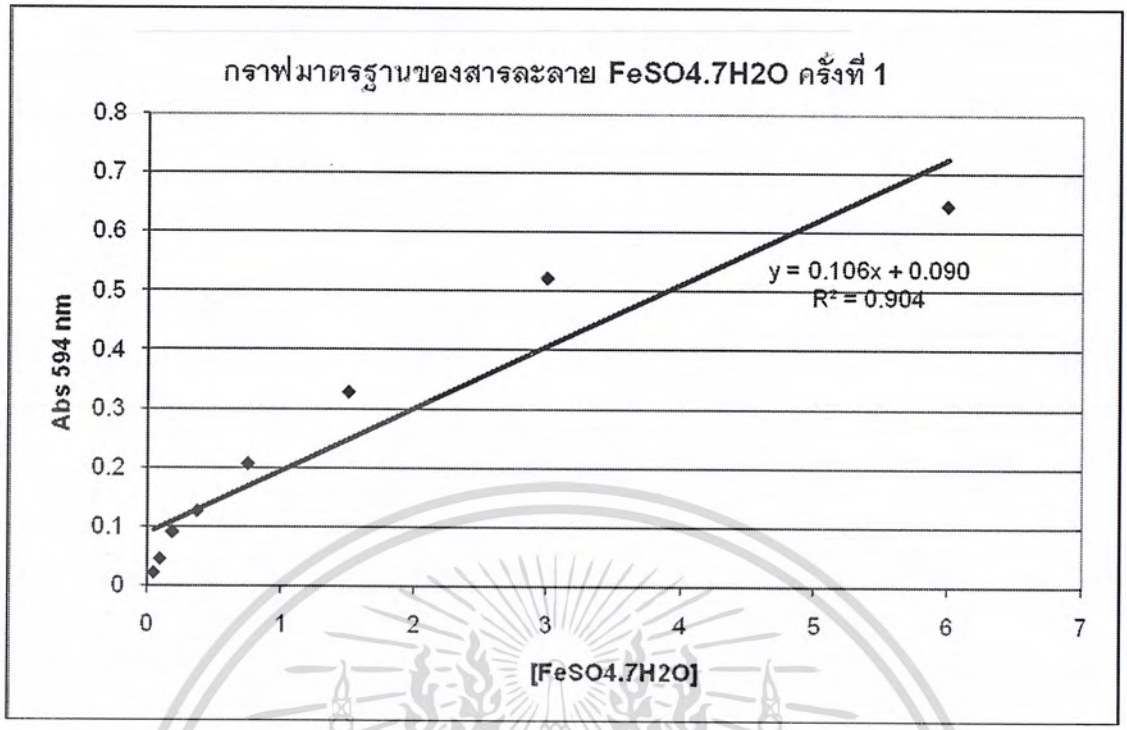
7.2 การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

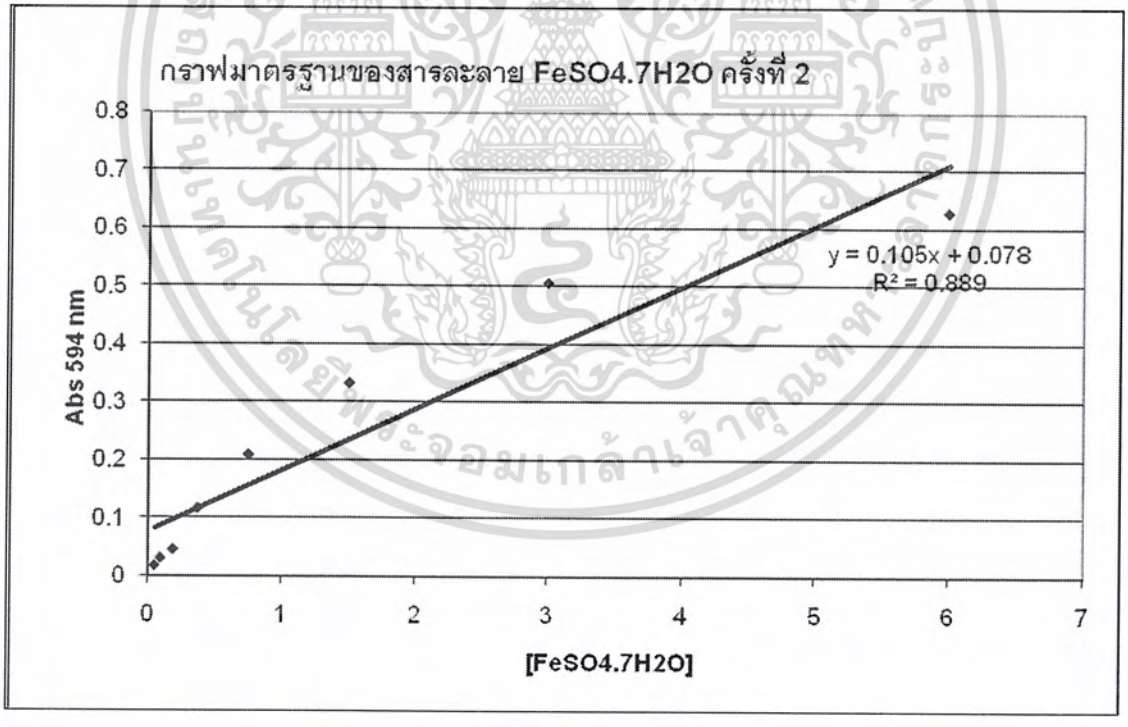
การทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต จะทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แต่ใช้สารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แทนสารสกัด นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต จะได้กราฟมาตรฐานดังนี้

ตารางที่ 23 ค่าการดูดกกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตรของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

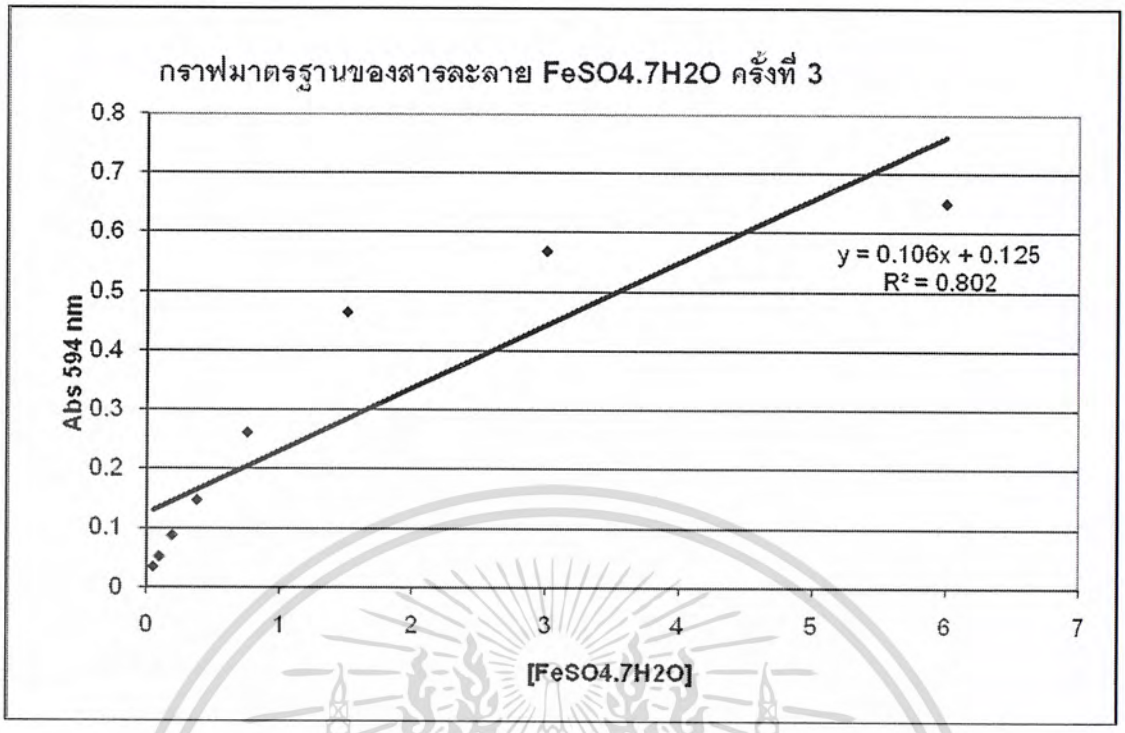
ความเข้มข้นของสารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ (mmol/L)	ค่าการดูดกลืนแสง 594 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
6	0.647	0.628	0.651
3	0.523	0.506	0.569
1.5	0.329	0.333	0.465
0.75	0.207	0.209	0.262
0.375	0.127	0.117	0.148
0.1875	0.091	0.046	0.088
0.09375	0.045	0.031	0.052
0.046875	0.022	0.018	0.035

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



8. ผลการทดลองหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP method

ตารางที่ 24 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 549 นาโนเมตรของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

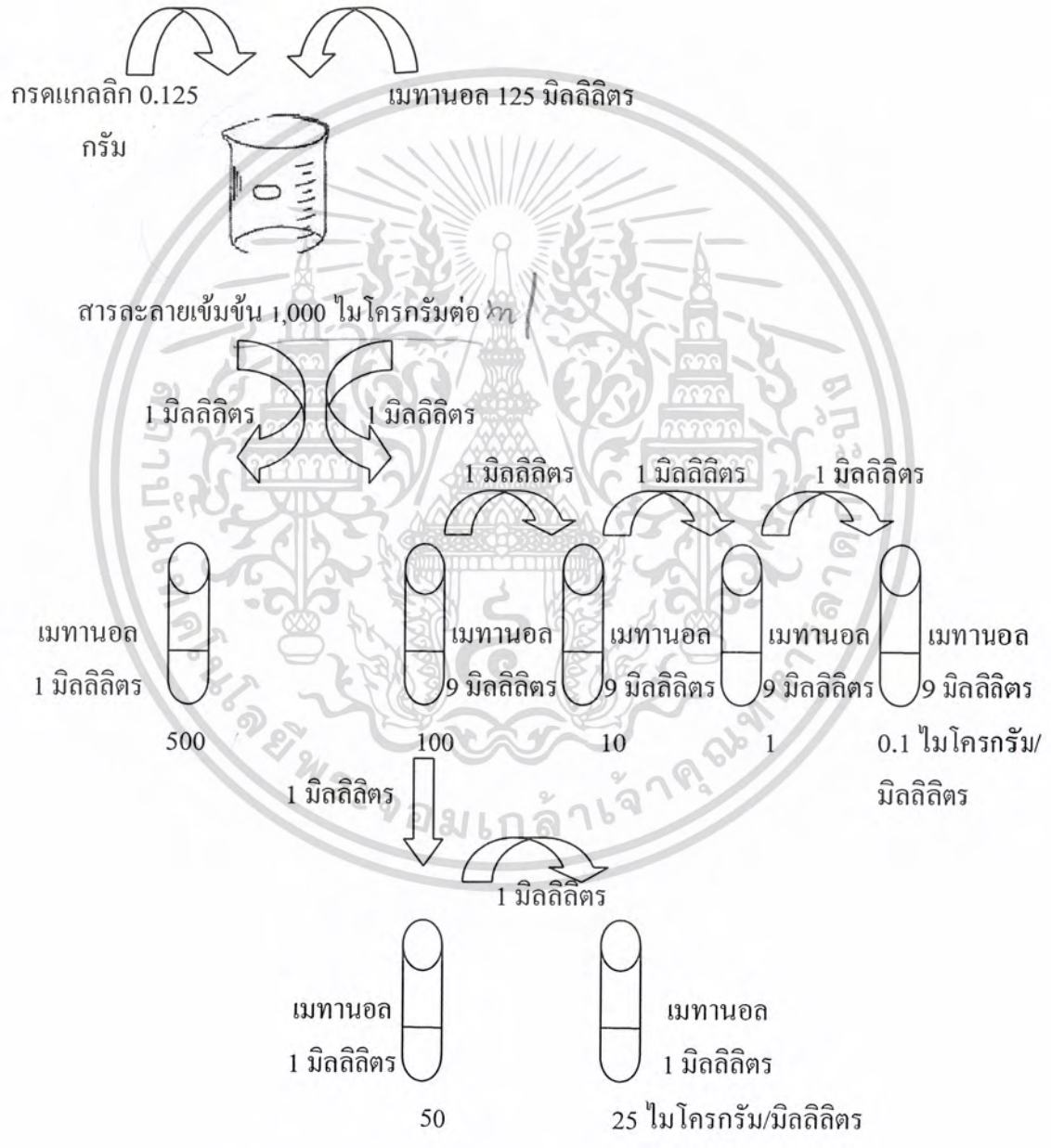
ชนิดผลไม้	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 594 nm		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
พิลังกาสา	0.607	0.575	0.612
มะกอกน้ำ	0.386	0.381	0.412
มะขวิด	0.154	0.132	0.167
มะขามป้อม	0.618	0.592	0.627
มะดัน	0.364	0.359	0.398
มะเฟือง	0.224	0.201	0.271
วิตามินอี	0.619	0.588	0.639

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.การทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

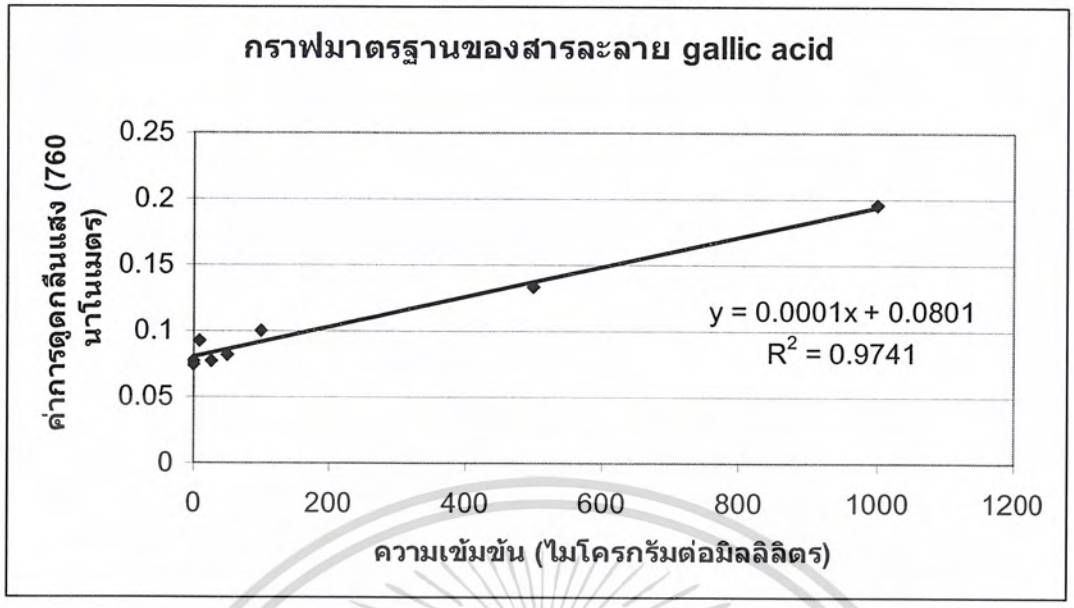
9.1 การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่งกรดแกลลิก 0.125 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเมทานอลปริมาตร 125 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นเท่ากับ 1,000 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางไปเรื่อยๆ ด้วยเมทานอลจนได้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 500, 100, 50, 25, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 23 การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ตารางที่ 25 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย

ชนิดของผลไม้พื้นบ้านไทย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
พิลังกาสา	1,371	1,409	1,030
มะกอกน้ำ	141	349	300
มะขวิด	161	209	130
มะขามป้อม	4,331	4,239	4,090
มะดัน	271	119	240
มะเฟือง	171	79	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้