ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านทางภาคใต้

BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOUTHERN THAI HERB EXTRACTS

นางสาวกิตติมา จันทร์เพ็ง รหัสนักศึกษา 60552001

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาพื้นฐานทั่วไป
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT © 2020 BIOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่.....
งานทะเบียนประมวลผล
ฉบับที่.....

ใบรับรองโครงงานพิเศษ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านทางภาคใต้
Project Title	Biological Activities of Southern Thai Herb Extracts
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกิตติมา จันทร์เพ็ง
รหัสนักศึกษา	60552001
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ.ดร.สิริฉัตร ขาวอิ่น

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พัชราภรณ์ นาคเทวัญ	
อ.ดร.วลัยพร มัฆพาน	
อ.ดร.กมลวรรณ ชูชีพ	
อ.ดร.สิริฉัตร ขาวอิ่น	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 30 มิถุนายน 2564

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ รับรองแล้ว

(ผศ.ดร.พัชราภรณ์ นาคเทวัญ)
ประธานหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านทางภาคใต้

นักศึกษา นางสาวกิตติมา จันทร์เพ็ง **รหัสนักศึกษา** 60552001

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา อ.ดร.สิริฉัตร ขาวอิ่น

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรทางภาคใต้บางชนิดที่มีสรรพคุณทางยา โดยทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยนำพืชทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ใบเหลียง ใบชะมวง และใบชุมเห็ด มาทำการสกัดด้วยเอทานอล 95% และนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน จนได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้ทั้งสามชนิดมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเขียวเข้ม โดยที่สารสกัดจากใบชะมวงมีสีเข้มที่สุด รองลงมาคือใบชุมเห็ดและใบเหลียงตามลำดับ เนื่องจากสถานการณ์ COVID-19 ที่มีการแพร่ระบาดจึงทำให้ไม่สามารถเข้าไปทำการทดลองในส่วนการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ข้อมูลในส่วนที่เหลือจึงได้รวบรวมมาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเติมเต็มให้รายงานฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ใบเหลียง, ใบชะมวง, ใบชุมเห็ด, ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, สารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title Biological Activities of Southern Thai Herb Extracts

Student Miss Kittima Junphang **Code** 60552001

Degree Bachelor of Science

Major Program Biotechnology

Academic Year 2020

Advisor Dr. Sirichat Kaowinn

ABSTRACT

This research studied the biological activities of some medicinal plants in southern Thailand by testing total phenolic content, total flavonoids content, antioxidant capacity and tyrosinase inhibitory potential. Three herbs, namely *Gnetum gnemon* var. tenerum Markgr., *Garcinia cowa* Roxb. ex Choisy and *Senna tora* (L.) Roxb. were extracted by 95% ethanol and reduced the volume of solvent by the rotary evaporation. Crude extracts of these herbs were sticky and showed dark green color. *Garcinia cowa* Roxb. ex Choisy showed the darkest color, followed by Choisy and *Senna tora* (L.) Roxb. and *Gnetum gnemon* var. tenerum Markgr., respectively. Unfortunately, due to the Coronavirus outbreak (COVID-19) epidemic, the author could not perform the biological activities of these herbs. So the author tried to collect the related works to make this work complete.

keywords: Baegu, Cowa , Foetid cassia, Phenolic, Flavonoids, Antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงโดยเฉพาะความกรุณาจากอาจารย์ ดร. สิริฉัตร ขาวอิ่น ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยนี้ที่กรุณารับเป็นที่ปรึกษาให้แก่ผู้วิจัยสละเวลาช่วยเหลือให้คำปรึกษาและคำแนะนำแนวทางในการดำเนินโครงงานวิจัยนี้ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่งจนกระทั่งโครงงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ลุลวงไปได้ด้วยดีและขอขอบพระคุณอาจารย์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาพื้นฐานทั่วไป สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ทุกท่าน ที่ให้ความรู้และคำแนะที่เป็นประโยชน์ในการเรียนตลอดระยะเวลา 4 ปี ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอบคุณนางสาวสิริพร สมณะ นางสาวมัลลิกา ประโพธิ์ นางสาวทุติยาภรณ์ ชนะแดง และนางสาวชลธิชา ศรีภิรมย์ ที่คอยช่วยเหลือในทุกๆด้านมาตลอดและคอยอยู่เพื่อนตลอดเวลาที่ทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลางของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ที่คอยอำนวยความสะดวกและแนะนำการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการต่างๆ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ ที่คอยอบรมสั่งสอน ให้ความรักความใส่ใจ ให้การสนับสนุนช่วยเหลือในทุกๆด้าน และคอยเป็นกำลังใจให้ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

กิตติมา จันทร์เพ็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญรูป	VI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร	2
2.1 สารประกอบฟีนอล	2
2.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์	4
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	6
2.4 เอนไซม์ไทโรซิเนส	9
2.5 ชุมเห็ด	11
2.6 ผักเหลียง	13
2.7 ชะมวง	16
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	19
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	19
3.2 วิธีการทดลอง	20
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง	22
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้าที่
2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล	3
4.1 แสดงปริมาณและลักษณะของสารสกัด	22
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส	23
4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	24
4.4 แสดงปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	25
4.5 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	26
4.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	26
4.7 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	27
4.8 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่วัดได้จากวิธี DPPH	30
ก.1 แสดงน้ำหนักพืชพื้นบ้าน น้ำหนักสารสกัดหยาบและร้อยละผลผลิต	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้าที่
2.1 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก	3
2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	4
2.3 สูตรโครงสร้าง DPPH	7
2.3 ปฏิกิริยาจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH	8
2.3 กราฟแสดงความเข้มข้นของสารละลาย	8
2.3 ปฏิกิริยาจากการทดสอบด้วยวิธี ABTS	9
2.3 ปฏิกิริยาของ FRAP assay	9
2.4 ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิยา	10
2.5 ต้นชุมเห็ด	11
2.5 ใบชุมเห็ด	12
2.5 ดอกชุมเห็ด	12
2.5 ผลชุมเห็ด	13
2.6 ใบเหลียง	14
2.6 ดอกผักเหลียง	14
2.6 ผลผักเหลียง	15
2.7 ต้นชะมวง	16
2.7 ใบชะมวง	17
2.7 ดอกชะมวง	17
2.7 ผลชะมวง	18
4.1 ลักษณะทางกายภาะของสาร	22
4.2 กราฟระหว่างกับค่า % scavenging ความเข้มข้นของสารสกัดกระถินจากยอดอ่อน	23
4.3 กราฟแสดงปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด	28
4.4 กราฟแสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด	39
4.6 ปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดโดยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	30
4.7 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดโดยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

พืชพื้นบ้านของทางภาคใต้เป็นพืชที่เก็บหาได้ง่ายในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิดเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารและมีสรรพคุณทางยาได้เลือกพืชที่หาได้ง่ายในพื้นที่เขตอำเภอปะทิวและอำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพรมา 3 ชนิด ได้แก่ ผักเหลียง ชะมวงและชุมเห็ด โดยนำส่วนใบมาใช้ในการศึกษาผักเหลียงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีตลาดรองรับในการซื้อขาย แล้วนำมาประยุกต์ใช้เป็นยาสมุนไพรช่วยบำรุงเส้นเอ็น บำรุงกระดูกและบำรุงสายตารวมทั้งแก้ท้องว่างและช่วยบำรุงร่างกาย ชะมวงเป็นพืชพื้นบ้านที่มีรสชาติเปรี้ยวคล้ายมะดัน นิยมนำมาใช้ปรุงอาหาร มีสรรพคุณทางยาช่วยแก้อาการร้อนในกระหายน้ำ ช่วยแก้เสมหะ ช่วยในการย่อยอาหารและใช้เป็นยาระบายประโยชน์ของชุมเห็ดมีสรรพคุณทางยาโดยใบใช้เป็นยาระบาย ใช้รักษากลากเกลื้อนและแมลงสัตว์กัดต่อย

สารประกอบฟีนอล มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันไม่ให้ไปกระตุ้นหรือทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุและทำให้เกิดความเสี่ยงต่อโรคมะเร็ง โรคหัวใจ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลบางกลุ่มมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่พบในสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำให้เกิดสีน้ำตาลของเห็ด ผัก ผลไม้ สีผิว ผม และตาของสัตว์ เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการสังเคราะห์เมลานิน จากข้อมูลข้างต้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสมุนไพรทั้งสามชนิดเพื่อนำมาพัฒนาและเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรพื้นบ้านของภาคใต้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาการสกัดสารจากใบเหลียง ใบชะมวง และใบชุมเห็ด

1.2.2 เพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

2.1 สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds)

เป็นกลุ่มของสารที่พบในพืชมากที่สุด สารประกอบฟีนอลมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลต และป้องกันการสร้างสารก่อมะเร็ง สารประกอบฟีนอลมีสูตรทางเคมีที่แตกต่างกันที่พบในธรรมชาติ มีหลายประเภท เช่น กรดฟีนอลิก เช่ หรือหมู่ที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มที่ใหญ่ที่สุดที่พบคือสารประกอบฟลาโวนอยด์ สารฟลาโวนอยด์ สารประฟีนอลในพืชมักพบในรูปของ ไกลโคไซด์ โดยรวมอยู่ในโมเลกุลน้ำตาล โดยสามารถพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด ได้แก่ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าว และงา ผล ได้แก่ องุ่น ส้ม และพริกไทยดา ใบ ได้แก่ ชาและเครื่องเทศต่างๆ ดอก ได้แก่กล้วยไม้ และส่วนอื่น ๆ ได้แก่ มันเทศและหัวหอม (วรพร ศีลศร, 2554)

สารประกอบฟีนอลเมื่อให้อะตอมของไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลค่อนข้างเสถียร ดังนั้นจึงไม่มีปฏิกิริยาใดๆเกิดขึ้นอีกนอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังสามารถรวมกับอนุมูลอิสระอื่นๆได้อีกซึ่งจะช่วยลดจำนวนอนุมูลอิสระได้ถึง 2 เท่าในสารประกอบฟีนอลเหล่านี้

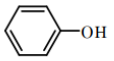
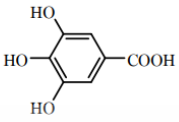
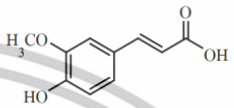
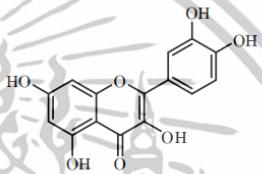
$$ROO^{\cdot} + PP^{\cdot} \longrightarrow ROOPP$$

$$RO^{\cdot} + PP^{\cdot} \longrightarrow ROPP$$

เมื่อ $ROO^{\cdot}$, $RO^{\cdot}$ คือ อนุมูลอิสระ และ PPH คือ สารประกอบฟีนอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

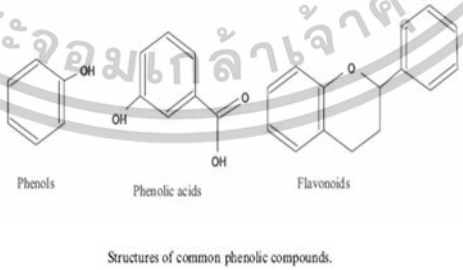
ตารางที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลกลุ่มต่าง ๆ

Class	Basic skeleton	Sample
Simple phenols	C_6	 Phenol
Phenolic acid	C_6-C_1	 Gallic acid
Phenylpropenes	C_6-C_3	 Ferulic acid
Flavonoids	C_6-C_3-C_6	 Quercetin

ที่มา: นงลักษณ์,2559

2.1.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลมีสูตรโครงสร้างทางเคมี โมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิล 1 วงและหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่



Structures of common phenolic compounds.

รูปที่ 2.1 โครงสร้างสารประกอบฟินอล

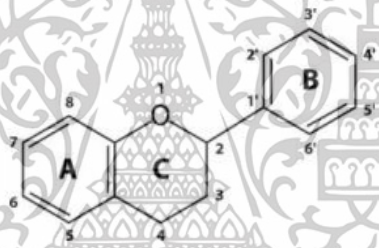
ที่มา: http://www.foodneworksolution.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบของฟีนอลิก (phenolic compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (poly phenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไปสามารถละลายน้ำได้ฟลาโวนอยด์แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม คือ ฟลาวาน-3-ออล (Flavan-3-ols) ฟลาวานอล (Flavanols) แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ฟลาโวน (Flavones) ฟลาวาโนน (Flavanones) และไอโซฟลาโวน (Isoflavones) แต่ละชนิดอยู่ในอาหารคนละชนิด ส่วนใหญ่มักจะพบในผักผลไม้ที่มีสีสัน เช่น สีส้ม สีม่วงหรือสีแดง ฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับฮอร์โมนเอสโตรเจนหรือฮอร์โมนเพศหญิง จึงมีความสามารถในการช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น ความเต่งตึงให้แก่ผิวพรรณและยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดระดับคลอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ช่วยให้เลือดไม่จับตัวเป็นก้อน ป้องกันการเกิดมะเร็งและเป็นสารต้านจุลินทรีย์ได้

2.2.1 โครงสร้างของโมเลกุลฟลาโวนอยด์



รูปที่ 2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

ที่มา: วิภพ, 2556

2.2.2 ประโยชน์ของฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโตเคมิคอลที่พบในเม็ดสีที่ละลายน้ำได้ของผัก ผลไม้ ธัญพืช ใบไม้ และเปลือกไม้ ฟลาโวนอยด์มีหลายประเภท และพืชแต่ละชนิดก็มีความเข้มข้นของสารฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันออกไป จากการศึกษาพบว่า ฟลาโวนอยด์บางชนิดมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินอีหรือวิตามินซีถึง 50 เท่า มีงานวิจัยพบว่าฟลาโวนอยด์ในองุ่นแดงมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันชนิด LDL ซึ่งช่วยป้องกันการเกิดลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดแดงและกล้ามเนื้อหัวใจตายได้มากกว่าวิตามินอีถึงพันเท่า (สุนันทาและลักษมี,2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างฟลาโวนอยด์ที่พบ

2.2.2.1 แคเทคิน (Catechin) เป็นสมาชิกของตระกูลโพลีฟีนอล - ฟลาโวนอยด์ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสเต็พฟิโลค็อกคัส (Staphylococcus) ซึ่งดื้อยาหลายชนิด แคทิชินยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือด อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันฟันผุและโรคเหงือกและยังมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ว่าแคทิคิน อาจช่วยลดอุบัติการณ์ของมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปอด และช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระต่อดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังช่วยชะลอการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว แคทิคิน พบได้ในชาเขียว องุ่น

2.2.2.2 เรสเวอราทรอล (Resveratrol) ซึ่งเป็นสารสำคัญอีกตัวหนึ่งของตระกูลโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยไปยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันเลวแอลดีแอลซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลตัวร้าย สามารถช่วยยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เรสเวอราทรอลจะพบในผิวหนังและเมล็ดองุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

2.2.2.3 โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins & Anthocyanidins, PCOs) ฟลาโวนอยด์ช่วยในการยึดเกาะและเสริมสร้างเส้นใยโปรตีนโดยเฉพาะคอลลาเจน บริเวณเนื้อเยื่ออ่อน เส้นเอ็น และกระดูก ด้วยเหตุนี้โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ จึงช่วยให้หลอดเลือดมีความแข็งแรงทั้งยังส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันและรักษาโรค ช่วยในการรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะบาง เช่น รอยฟกช้ำ เส้นเลือดขอดที่ขาป้องกันโรคกระดูกพรุนโอลิโกเมอริกโปรแอนโทไซยานิดินส์ สามารถละลายน้ำได้สูง ส่งผลให้เกิดการต่อต้านอนุมูลอิสระที่ก่อตัวในของเหลวโดยรอบ เนื้อเยื่อต่างๆ ได้เป็นอย่างดี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถผ่านระบบระหว่างหลอดเลือดกับสมองได้ จึงสามารถช่วยปกป้องเนื้อเยื่อสมองและเส้นประสาทจากการทำลายของอนุมูลอิสระ พบฟลาโวนอยด์ชนิดนี้ได้ในสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและเปลือกสน

2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์สามารถทำได้โดยเทคนิค ไฮท์เพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิชโครมาโตกราฟี (High-Performance Liquid Chromatography) ยูวีวิซิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) และการตรวจวัดด้วยรังสีอุลตราไวโอเลต โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (Photo-diode array) หรือ แมสสเปกโตรเมทรี(Mass spectrometer) เนื่องจากสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชมักอยู่ในรูปออร์โทไกลโคซิดิค (Oglycosidic) โดยจับกับน้ำตาล เช่น กลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) และรูติโนส(rutinose)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธีสเปคโตรโฟโตมิตรีเป็นวิธีการทดสอบโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมที่นิยมใช้มากที่สุดในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมฟลาโวนอยด์ (Aluminium - flavonoid complex)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radicals) คือ โมเลกุลหรืออะตอมที่ไม่เสถียรเนื่องจากขาดอิเล็กตรอนที่ปลายด้านนอกของอะตอมซึ่งโดยปกติโมเลกุลหรืออะตอมภายในร่างกายจะมีอิเล็กตรอนวงนอกสุดอยู่เป็นคู่ ทำให้เกิดการแย่งจับกับอิเล็กตรอนของเซลล์อื่นๆ ในร่างกาย ทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่าความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) โมเลกุลของร่างกายจะไม่เสถียร ขาดความสมดุลนำไปสู่โรคและความชราในร่างกายและอาจกลายพันธุ์เป็นเซลล์มะเร็งในภายหลัง เราจึงต้องการสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อช่วยต่อต้านโมเลกุลที่ไม่เสถียรนี้ และช่วยปกป้องร่างกายจากการเสื่อมสภาพของเซลล์เหล่านี้ (สุวดีและคณะ,2562)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นโมเลกุลที่สำคัญในการลดการทำงานของ reactive oxygen species (ROS) และ reactive nitrogen species (RNS) ในกระบวนการของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระต่อต้านอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะจับกับชีวโมเลกุลร่างกายของเราจะได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากที่ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระภายในเนื้อเยื่อ เช่น เอนไซม์หรือที่ได้รับจากการรับประทานอาหาร เชื่อว่าสามารถช่วยควบคุมกิจกรรมของ ROS ได้ (บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์,2561)

2.3.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็นสองประเภทเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดถูกผลิตขึ้นในเนื้อเยื่อ เช่น เอนไซม์โคแฟกเตอร์และสารโมเลกุลในส่วนของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่ไม่เป็นเอนไซม์นั้นสามารถได้รับมาจากแหล่งอาหารต่างๆซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอล(บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์,2561)

2.3.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่เป็นเอนไซม์ตัวอย่างเช่น catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), Glutathione reductase (GRe), glutathione peroxidase (GPx), heme oxygenase 1 (HO-1) และGlutathione Stransferase (GST) โดยที่ เอนไซม์SOD และ CAT สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ ROS ได้ดี จะพบ SOD ได้มากในสิ่งมีชีวิตที่เป็นยูคาริโฮตและโปรคาริโอตโดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไม่ให้ออกซิเจนเกิด superoxide และhydrogen peroxide ส่วน CATจะพบได้ในร่างกาย โดยจะปกป้องเซลล์ด้วยการกระตุ้นไม่ให้ hydrogen peroxide เข้าไปเปลี่ยนออกซิเจนในโมเลกุลและไม่ให้น้ำผลิตอนุมูลอิสระออกมา ซึ่ง CATจะทำงานได้ดีในเซลล์ตับเม็ดเลือดแดงและปอด ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม CAT สามารถเป็นสารประกอบที่มีพิษได้ ในปฏิกิริยา peroxidation โดยที่ CAT ที่เป็นสารประกอบที่มีพิษนี้จะพบได้ในไมโตคอนเดรียได้ส่งผลทำให้เกิดกรดฟอร์มิค ฟอร์มาลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ และฟีนอล(บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์,2561)

2.3.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระชนิดไม่ใช่เอนไซม์ โดยปกติแล้วมนุษย์มีกลไกในการป้องกันการเกิดสารต้านอนุมูลอิสระอาจเนื่องมาจากได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารที่ไม่เพียงพอ สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ เช่น วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีนอยด์ และโพลีฟีนอล พบว่าการปรับเปลี่ยนการรับประทานอาหารนั้น ส่งผลให้สารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปยับยั้งการเกิดมะเร็งได้บางชนิดในมนุษย์ นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Preventive antioxidant สารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่ป้องกันเพื่อป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระ

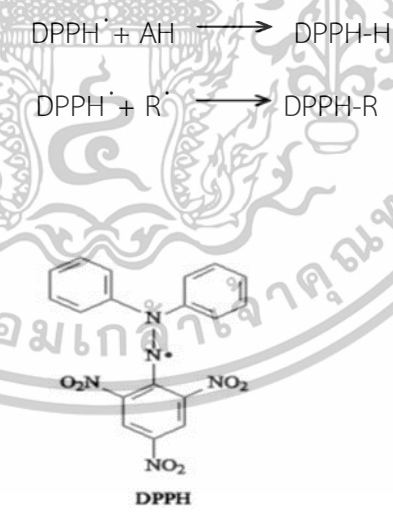
2. Scavenging antioxidant สารต้านอนุมูลอิสระทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

3. Chain breaking antioxidant สารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่ในการทำลายลูกโซ่อนุมูลอิสระ

2.3.3 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระ

วิธีที่ใช้บ่อยที่สุดในการพิจารณาความจุออกซิเดชันของโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนตัวเดียวมี 3 วิธี คือ 2,2-azobis (3-ethylbenzothialzoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 2,2 -diphenyl-l-picryhydrazyl (DPPH) และferric reducing antioxidant power (FRAP)

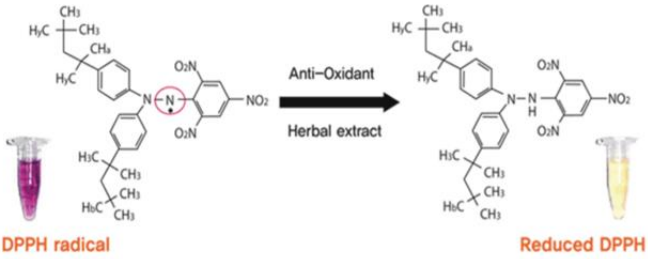
2.3.3.1 DPPH assay หรือ 2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยใช้ 2,2-diphenyl-l-picryhydrazyl (รูปที่ 2.3) เป็น stable radical ในตัวทำละลาย โดย $DPPH^{\cdot}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\cdot}$) ได้ดังสมการ เกิดสารละลายสีม่วงที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร



รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้าง DPPH

ที่มา: Prior et al.,2007

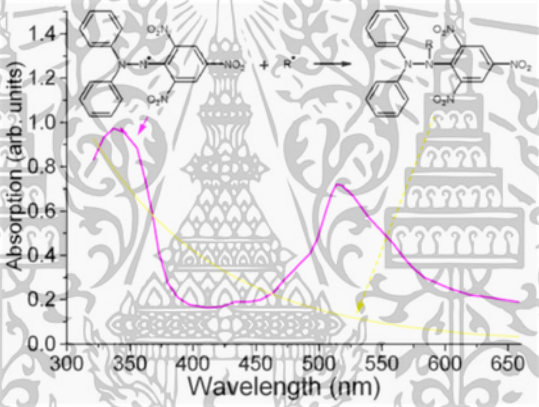
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH

ที่มา: http://www.erp.mju.ac.th

ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มข้นของสารละลายสีม่วงก็จะลดลงซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) หมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ เหลืออยู่ 50%

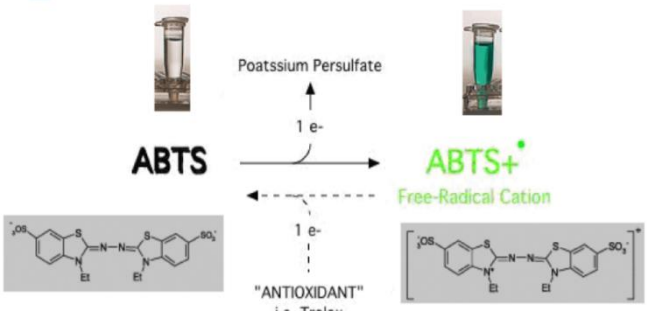


รูปที่ 2.3 กราฟแสดงความเข้มข้นของสารละลาย

ที่มา: http://www.erp.mju.ac.th

2.3.3.2 ABTS หรือ 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2,2-azino-bis (3 - ethylbenzothiazoline-6 - sulfamic acid) diammonium salt เป็นอนุมูลที่เสถียรในตัวทำละลายน้ำ สารละลายนี้มีสีเขียวสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรโดยถ้าสารมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูงสีเขียวก็จะลดลง รายงานค่าเป็น 50% effective concetration (EC_{50}) เช่นเดียวกับวิธี DPPH

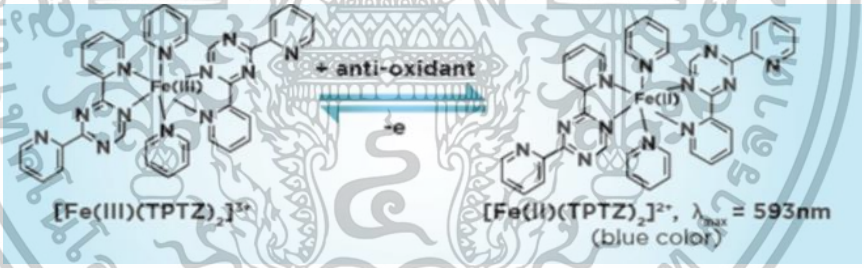
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาจากการทดสอบด้วยวิธี ABTS

ที่มา : http://www.erp.mju.ac.th

2.3.3.3 FRAP assay หรือ Ferric reducing antioxidant power เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}- TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน Ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}- TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงินวัดค่า absorbance ที่ 595 นาโนเมตร ข้อดีของวิธี คือ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวก รวดเร็ว มีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยาก



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาของ FRAP assay

ที่มา: http://www.erp.mju.ac.th

2.4 เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

เอนไซม์ไทโรซิเนสต้น (tyrosinase, EC 1.14.18.1) เป็นเอนไซม์ในที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) มีชื่ออื่นๆ เช่น monophenol monooxygenase, phenolase, phenoloxidase, tyrosine-dopa oxidase หรือ monophenol oxidase เป็นต้น เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่มีไอออนโลหะคอปเปอร์ 2 ตัวเป็นโคแฟคเตอร์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีนและโดปาที่พบอยู่ในกระบวนการสร้างเมลานิน โดยในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์นั้นเมลานินมีหน้าที่สำคัญในการป้องกันผิวหนังจากแสงแดด การผลิตเมลานินที่มากเกินความจำเป็นอาจก่อให้เกิดโรคความผิดปกติของสีผิวได้เพราะฉะนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจะ

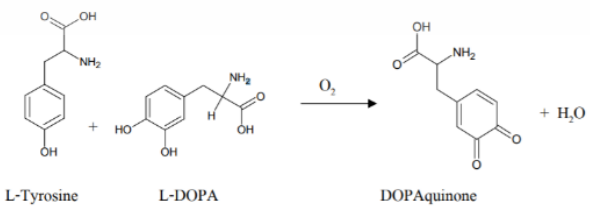
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

สามารถช่วยลดปริมาณเมลานินที่มากเกินไปได้ โดยในปัจจุบันสารที่ใช้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสนั้นได้มาจากสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่นิยมใช้ผสมในเครื่องสำอาง ได้แก่ กรดโคจิกที่เป็นสารใน กลุ่มไฮดรอกซีไพราโนนและอาร์บูตินที่เป็นสารในกลุ่มไกลโคซิลไฮโดรควิโนนสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสารตั้งต้น เอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่ามีหน้าที่สำคัญใน 3 ประเด็น คือ

1. ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เอนไซม์ไทโรซิเนสจะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์รงควัตถุเมลานิน (melanin) ที่อยู่ภายในเซลล์เมลาโนไซต์(Melanocytes) โดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารตั้งต้นทั้งแอล-ไทโรซีน (L-tyrosine) และแอล-โดปา (L-dopa) ร่วมกับออกซิเจนได้เป็นสารประกอบโดปาโครม (dopachrome)หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันโดยไม่อาศัยเอนไซม์เป็นตัวเร่งได้ผลิตภัณฑ์เป็นเมลานินชนิดต่างๆ ซึ่งจะถูกส่งต่อเพื่อสะสมยังเซลล์เคราติโนไซต์ (keratinocyte) และทำให้เกิดลักษณะการแสดงออกของสีผิว สีผม สีขน และสีนัยน์ตา ความผิดปกติของการผลิตเอนไซม์นำไปสู่ภาวะการเกิดโรคที่เกี่ยวกับสีผิว ในทางด้านการประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ทำการค้นหาสารยับยังเอนไซม์ไทโรซิเนสในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาว (Chang,2009)

2. ในผักและผลไม้พบว่าเอนไซม์กลุ่มนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของเอนไซม์ในผักและผลไม้ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของเอนไซม์นี้เป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตฟกช้ำ ฉีกขาด ถูกกระแทก บด หั่นเป็นชิ้นหรือสับ สารตั้งต้นและออกซิเจน จะทำปฏิกิริยากัน โมโนฟีนอล (ไม่มีสี) ถูกออกซิไดซ์เป็นไดฟีนอล(ไร้สี) และต่อมาจะถูกออกซิไดซ์เป็นโอควิโนน ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบสีน้ำตาล การศึกษาเกี่ยวกับสารยับยั้งไทโรซิเนสสามารถพัฒนาเป็นสารต้านการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น น้ำผลไม้ ผักสด หั่น และอาหารทะเล (Li et al., 2007; Nirmal and Benjakul, 2011)

3. ในสัตว์กลุ่มแมลงและครัสเตเชียนพบว่าเอนไซม์นี้จะถูกเรียกว่า polyphenoloxidase (PPO) โดยมีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันของแมลงมีหน้าที่ช่วยในกระบวนการป้องกันตัวและเจริญเติบโต ได้แก่การสร้างเมลานินเพื่อป้องกันรังสีที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ การรักษาบาดแผล การสร้างเกราะหุ้มปรสิต (parasite encapsulation) และการทำให้เกิดกระบวนการแข็งตัวของผนังลำตัว (sclerotization) หลังการลอกคราบเป็นต้น การศึกษาตัวยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสามารถนำไปสู่การพัฒนาสารกำจัดแมลงที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Kubo,1999)



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ที่มา: Miranda ,1988

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ชุมเห็ด

2.5.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ชื่อสามัญ : Foetid cassia

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Senna tora* (L.) Roxb

ชื่อวงศ์ Fabaceae หรือ Leguminosae

ชื่อท้องถิ่น : หน่อปะหน่ำเหน่อ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน ชุมเห็ดควาย ชุมเห็ดเขาควาย ชุมเห็ดเล็ก (ภาคกลาง) เล็บหมื่นน้อน ลับมือน้อย เล็บมื่นน้อย (ภาคเหนือ) พรมดาน พราดาน (สุโขทัย) หญ้าลึกลือ หญ้าลักลือ (ปราจีนบุรี) เล็นเค็ด (มหาสารคาม)

2.5.2 ลักษณะทั่วไปของใบชุมเห็ด

ต้นชุมเห็ด : มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กลำต้นมีสีเขียวอมสีน้ำตาลแดง ต้นมีความสูงประมาณ 0.3 -1.3เมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 12.3-17.4 มิลลิเมตร เป็นทรงพุ่มและกิ่งก้านมีขนอ่อนปกคลุม ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด โดยมักพบขึ้นเองตามริมคลอง ที่รกร้างหรือตามริมทาง

รูปที่ 2.5 ต้นชุมเห็ด

ที่มา: หนังสือสมุนไพรไทย เล่ม 1 ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ใบชุมเห็ด : มีลักษณะเป็นใบประกอบขนนก มีใบย่อย 3 คู่ ขอบใบมีขนหยักเป็นร่อง ใบกว้างประมาณ 2.19-2.69 ซม. ยาว 4.27-5.17 ซม.ใบมีสีเขียวเข้มหลังใบเรียบและไม่มีขน ใบมีกลิ่นฉุนเล็กน้อยก้านใบมีร่องลึกและก้านใบยาวประมาณ 2.71-3.99 ซม. ไม่มีขน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 ใบชุมเห็ด

ที่มา: หนังสือสมุนไพรไทย เล่ม 1 ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ดอกชุมเห็ด : ดอกมีลักษณะเป็นช่อออก ดอกตามซอกใบและปลายกิ่ง ช่อดอกมีความยาวประมาณ 2.71-4.03 ซม. ดอกมีสีเหลืองสดใสมีกลีบดอก 5 กลีบ ดอกมีเกสรตัวผู้และรังไข่ 10 อัน เส้นยาวงอเล็กน้อยและมีขนปกคลุมปลายเกสรตัวเมียมีลักษณะเป็นตุ่มสั้นก้านดอกยาวประมาณ 1 ซม. มีขนปกคลุม

รูปที่ 2.5 ดอกชุมเห็ด

ที่มา: หนังสือสมุนไพรไทย เล่ม 1 ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ผลชุมเห็ด : ผลมีลักษณะเป็นฝักยาวและแบนทั้งสองด้านมีความยาวประมาณ 15-24 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4-6 มิลลิเมตร ฝักมีเมล็ดประมาณ 20-30 เมล็ด เมล็ดเป็นสีน้ำตาลเหลือง สีน้ำตาล หรือสีเขียวอมเทาเมล็ดมีลักษณะแข็งและแบน เมล็ดมีขนาดกว้างประมาณ 2-3 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 3-6 มิลลิเมตร เมล็ดมีรสชาติขมเมา มีกลิ่นเฉพาะตัว หอมเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 ผลชุมเห็ด

ที่มา: หนังสือสมุนไพรไทย เล่ม 1 ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

2.5.3 สรรพคุณทางยาของชุมเห็ด

- เมล็ดใช้เป็นยาแก้เด็กเป็นตานขโมย ด้วยการใช้เมล็ดแห้ง 10 กรัม ตับไก่ 1 คู่ นำมาบดผสมกับเหล้าขาวเล็กน้อย แล้วปั้นเป็นก้อนนำมานึ่งให้สุกและใช้รับประทาน
- เมล็ดมีรสขมหวานชุ่ม เป็นยาเย็น โดยออกฤทธิ์ต่อตับและไต ช่วยทำให้เลือดเย็น
- ช่วยทำให้นอนหลับสบาย ทำให้ง่วงนอน แก้อาการนอนไม่หลับ ด้วยการใช้เมล็ดชุมเห็ดไทยนำมาคั่วให้เกรียมคล้ายเมล็ดกาแฟ แล้วนำมาบดเป็นผง ใช้ชงกับน้ำร้อนดื่ม จะให้รสหอมชุ่มชื่นใจดี ไม่ทำให้หัวใจสั่น
- เมล็ดใช้คั่วชงกับน้ำดื่มเป็นยาแก้ตับอักเสบ ตับแข็ง ใช้เป็นยาขับความร้อนในตับ ขับลมในตับ
- ช่วยแก้อาการท้องผูก ท้องผูกเรื้อรัง ด้วยการใช้เมล็ดแก่แห้งที่คั่วจนเหลืองแล้ว ประมาณ 10-13 กรัม (ต่อวัน) นำมาต้มกับน้ำดื่ม หรือนำมาคั่วให้เกรียมบดเป็นผง ใช้ชงกับน้ำดื่มต่างน้ำชา

2.6 ผักเหลียง

2.6.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ชื่อสามัญ : Baegu

ชื่อวิทยาศสาตร์ : *Gnetum gnemon* Var. Tenerum Markgr.

ชื่อวงศ์ : Gnetacceae

ชื่อท้องถิ่น : ผักเหลียง (ทุกภาค) ผักเหมียง (พังงา, ภูเก็ต,กระบี่) ผักเขลียง (สุราษฎร์ธานี) ผักเปรียง (นครศรีธรรมราช) กะเหรียง (บางท้องถิ่นของจังหวัดชุมพร)

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ลักษณะทั่วไปของผักเหลียง

ลำต้น : มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กทรงพุ่มเตี้ยมีลำต้นขนาด 10-30 มม. สูงประมาณ 2-3 เมตร และลำต้นและกิ่งก้านจะประกบกัน เปลือกเป็นสีน้ำตาล กิ่งอ่อนมีสีเขียวเข้มลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อนกิ่งเปราะหักง่าย

ใบ : ผักเหลียงมีลักษณะเหมือนใบยางเป็นใบเลี้ยงคู่และแตกออกเป็นใบเดี่ยวตรงข้ามกันเป็นคู่ ใบเป็นรูปไข่ มีก้านใบยาวประมาณ 1 - 2 ซม. ขนาดของใบกว้างประมาณ 4-10 ซม.และยาวประมาณ 10-20 ซม. ใบมีสีเขียวเข้มใบอ่อนมีสีแดงอมส้ม มันมีรสหวาน

รูปที่ 2.6 ใบเหลียง

ที่มา: สุธาชีพ ศุภเกสร (2527)

ดอก : ดอกของผักเหลียงมีลักษณะเป็นช่อที่ปลายกิ่ง มีความยาวช่อประมาณ 2-5 ช่อดอกมีลักษณะเป็นข้อที่มีดอกตัวผู้เรียงล้อมข้อ ตัวดอกมีขนาดเล็ก มีกลีบดอกสีขาว ลำต้นดอกสมบูรณ์เพศมีช่อดอกยาวประมาณ 5 – 7 เซนติเมตร ดอกมีขนาดใหญ่กว่าดอกต้นตัวผู้ ทั้งดอกตัวผู้ และดอกตัวเมียเรียงล้อมบนข้อเหมือนต้นดอกตัวผู้ ประมาณ 7 – 10 ข้อ

รูปที่ 2.6 ดอกผักเหลียง

ที่มา: สุธาชีพ ศุภเกสร (2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผล : ผลของผักเหลียงมีลักณะเป็นช่อมีประมาณ 10-20 ผล มีรูปทรงเป็นกระสวย กว้างประมาณ 1 - 1.5 ซม. ยาวประมาณ 2.5 - 4 ซม. เปลือกค่อนข้างหนา ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกจะมีสีเหลือง เนื้อของผลมีรสหวาน

รูปที่ 2.6 ผลผักเหลียง

ที่มา: สุธาชีพ ศุภเกสร (2527)

2.6.3 สรรพคุณทางยาของผักเหลียง

- ผักเหลียง มีสรรพคุณช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง แก้ปวดเมื่อยตามร่างกายและข้อกระดูก บำรุงเส้นเอ็น ช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุนได้
- ผักเหลียงมีวิตามินเอสูง ซึ่งจะช่วยบำรุงผิวพรรณและบำรุงสายตาช่วยการมองเห็น เพิ่มความสามารถในการมองเห็นตอนกลางคืนหรือในที่แสงสว่างน้อย ตามัว ตาฝ้าฟาง และยังช่วยป้องกันเซลล์เยื่อบุต่าง ๆ ของร่างกายทำงานผิดปกติ
- ใบเหลียงมีวิตามินบี จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบประสาทและบำรุงสมองให้ทำงานได้ดี ความจำดีขึ้น และยังช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์และสมองเสื่อมในผู้สูงอายุ
- ช่วยแก้โรคซางในเด็กที่ผอมแห้งแรงน้อยร่างกายขาดสารอาหาร ก็จะช่วยให้เด็กเจริญอาหารขึ้น
- ใบเหลียงมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ช่วยปกป้องเซลล์ต่างๆ ภายในร่างกายไม่ให้ถูกทำลายและช่วยให้ระบบการทำงานภายในร่างกายแข็งแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ชะมวง

2.7.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ชื่อสามัญ : Cowa

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Garcinia cowa* Roxb. ex Choisy

ชื่อท้องถิ่น : หมากโมก (อุดรธานี), ส้มป้อง มะป่อง (คนเมือง), มวงส้ม (นครศรีธรรมราช), กานิ (มลายู-นราธิวาส), กะมวง มวง ส้มมวง (ภาคใต้), ส้มม่วง, ส้มโมง, ส้มป่อง ตระมูง (เขมร), ยอดมวง,

2.7.2 ลักษณะทั่วไปของชะมวง

ต้นชะมวง : มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีความสูงของต้นประมาณ 5-10 ลำต้นเกลี้ยงและแตกกิ่งใบตอนบนของลำต้นกิ่งย่อยมีผิวเรียบเปลือกและลำต้นมีสีดำน้ำตาลมลักษณะเป็นขรุขระมีน้ำยางสีเหลืองขุ่นไหลเยิ้มออกมาจากเปลือกต้นเป็นไม้ที่ทนต่อความแห้งแล้งได้ดี

รูปที่ 2.7 ต้นชะมวง

ที่มา: ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ใบชะมวง : มีลักษณะเป็นใบเดี่ยวใบเป็นรูปรีแกมใบหอกหรือแกมขอบ ใบมีความกว้างประมาณ 2.5-5 เซนติเมตรและยาวประมาณ 8-13 เซนติเมตร ใบอ่อนเป็นสีเขียวอ่อนหรือเขียวอมสีม่วงแดง ส่วนใบแก่เป็นสีเขียวเข้ม (สีน้ำเงินเข้ม) บริเวณปลายกิ่งแตกเป็น 1-3 ยอด เนื้อใบมีลักษณะค่อนข้างหนาและเปราะส่วนก้านใบเป็นสีแดงมีความยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.7 ใบชะมวง

ที่มา : ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ดอกชะมวง : ดอกออกตามใบและตามกิ่งมีดอกย่อยประมาณ 3-8 ดอก ส่วนกลีบดอกเป็นสีเหลืองนวล มีกลิ่นหอม มีกลีบดอกหนาแข็ง 4 กลีบ และกลีบเลี้ยง 4 กลีบ ลักษณะเป็นรูปแกมรีขอบขนานปลายกลีบกลม ดอกมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร ส่วนดอกตัวเมียจะออกเป็นดอกเดี่ยวตามปลายกิ่งและมีเกสรตัวผู้เทียมเรียงอยู่รอบรังไข่

รูปที่ 2.7 ดอกชะมวง

ที่มา: ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

ผลชะมวง : ลักษณะของผลเป็นรูปทรงกลมแป้น ผิวผลเรียบเป็นมัน มีขนาดประมาณ 2.5-6 เซนติเมตร ผลอ่อนเป็นสีเขียว ผลสุกมีลักษณะเป็นสีเหลืองถึงส้มหม่น ผลมีร่องตื้นประมาณ 5-8 ร่อง ด้านบนปลายบุ๋มมีเนื้อหนา สีเหลือง ภายในผลมีเมล็ดขนาดประมาณ 4-6 เมล็ด ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปรีหนาผลสุกมีรสเปรี้ยวใช้รับประทานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.7 ผลชะมวง

ที่มา: ดร.นิจศิริ เรืองรังสี,2554

2.7.3 สรรพคุณทางยาของชะมวง

- ใบช่วยแก้โลหิต ผลอ่อนช่วยฟอกโลหิต
- ราก ใบ และผลอ่อนมีรสเปรี้ยว เป็นยาแก้ไข้ แก้ไข้ตัวร้อน
- ช่วยแก้เสมหะ กัดเสมหะ กัดฟอกเสมหะ เสมหะเป็นพิษ
- ช่วยแก้อาการร้อนในกระหายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือ

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น FD115 ยี่ห้อ BINDER
- เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) บริษัท Buchi รุ่น R-3
- เครื่องวัดค่าความดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Libra S70 ยี่ห้อ Biochrom
- เครื่องชั่งสาร (Balance) รุ่น AAA250L ยี่ห้อ ADAM
- เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) รุ่น VM-10 บริษัท Wisemix

3.1.2 วัสดุอุปกรณ์

- บีกเกอร์ (Beaker)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- แท่งแก้วคน (Glass rod)
- ขวดเก็บสารดูแรน (Duran boottle)
- หลอดทดลอง (Test tube)
- ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
- กระบอกตวง (Cylinder)
- กระดาษฟอยด์ (Foil)

3.1.3 สารเคมี

- ไดเมททิล ซัลฟอกไซด์ (Dimethyi sulphoxide DMSO)
- ไตรโซเดียม ออร์โธฟอสเฟต (Tri-sodium orthophosphate)
- อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride)
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- กรดแกลลิก (Gallic acid)
- เอทานอล (Ethanol, C2H5OH)
- น้ำกลั่น (Distilled water)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิตามินซี (Ascorbic acid)
- เมทานอล (Methanol CH_3OH)
- เคอร์ซิติน (Quercetin)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na2CO3)
- Folin-Ciocalteu colorimetric
- เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase enzyme)
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer)
- 2.5 mM L-DOPA
- กรดโคจิค (Kojic acid)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างและสกัดสาร

เตรียมตัวอย่างใบเหลียง ใบชะมวงและใบชุมเห็ด ชนิดละ 1 กิโลกรัม ล้างทำความสะอาดใบและนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จนตัวอย่างแห้งสนิท บดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างใบเหลียง ใบชะมวงและใบชุมเห็ดอย่างละ 150 กรัม เติมเอทานอล(Ethanol) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร แช่เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำตัวอย่างทั้ง 3 มากรองด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ชั่งสารสกัดที่ได้ ตัวอย่างละ 1 กรัม เติม ไดเมททิล ซัลฟอกไซด์ (DMSO) 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปศึกษาการทดลองขั้นต่อไป

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (1994) โดยใช้เคอร์ซิติน (quercetin) เป็นสารมาตรฐาน วิธีการจะทำการผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 mg/mL) หรือสารตัวอย่าง ปริมาตร0.3 มิลลิลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์($AlCl_3$reagent) ความเข้มข้น 1.0% (w/v) ปริมาตร 1.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ค่าที่ได้จะอยู่ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Guercetin equivalents,mg QE/g dried extract) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic,Skerget, and Knez (2007) ใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน วิธีการจะทำการผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 mg/mL) หรือสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10% (v/v) ปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ค่าที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีDPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, and Mendez (2002) โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน วิธีการจะทำการผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 mg/mL) หรือสารตัวอย่าง (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 mg/mL) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรกับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 0.05 mM ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาทีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

3.2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจะใช้กรดโคจิคเป็นสารมาตรฐาน การทดลองสามารถทำได้โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบหรือสารมาตรฐานละลายด้วย DMSO ให้ได้ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำสารตัวอย่างมาปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.1 M, pH 6.8) ปริมาตร 80 ไมโครลิตรและเอนไซม์ไทโรซิเนส 31 Units/มิลลิลิตรที่ละลายในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลท ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการเติมสารละลาย 2.5mM L-DOPA ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ช่วงความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร สามารถคำนวณร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Inhibition} = 100\ [(A-B)-(C-D)] / (A-B)$$

โดย A คือค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์ที่ไม่มีสารสกัด

B คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

C คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่มีเอนไซม์

D คือค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะสารสกัดไม่มีเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและอภิปรายการทดลอง

จากการนำตัวอย่างพืชพื้นบ้านทางภาคใต้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ใบเหลียง ใบชะมวงและใบชุมเห็ด นำมาแช่ด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำสารละลายที่ได้มาระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ผลที่ได้มีดังนี้

สารสกัดที่ได้ทั้งสามชนิดมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มโดยที่สารสกัดจากใบชะมวงมีสีเข้มสุดรองลงมาคือใบชุมเห็ดและใบเหลียงตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณและลักษณะของสารสกัด

สารสกัดชั้นเอทานอลของพืชพื้นบ้าน	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ใบเหลียง	10.22	6.81	ลักษณะเป็นของเหลวหนืดมีสีเขียวเข้ม
ใบชะมวง	27.04	18.02	ลักษณะเป็นของเหลวหนืดมีสีเขียวดำ
ใบชุมเห็ด	16.06	10.70	ลักษณะเป็นของเหลวหนืดมีสีเขียวน้ำตาล

รูปที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลของใบเหลียง ใบชะมวงและใบชุมเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสถานการณ์ COVID-19 ทำให้ไม่สามารถเข้าไปทำวิจัยในการทดลองส่วนที่เหลือได้ จึงได้รวบรวมและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากงานวิจัยอื่นๆ เพื่อเพิ่มเติมงานวิจัยเล่มนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

จากงานของ สุธิราและประสบอร(2559) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากถั่วแระและดอกส้มป่อยงานชิ้นนี้รายงานว่า ในการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ สารสกัดเมทานอลจากถั่วแระและดอกส้มป่อยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 113.54±2.75 และ 60.96±3.64 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 0.22±0.03 และ 0.98±0.01 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อยด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.66±0.03, 0.94±0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานวิตามินซีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.07±0.003 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจากวิธี ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.60±0.02, 0.84±0.01มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานวิตามินซี ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04±0.019มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สารสกัดจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.21±0.16,1.91±0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานกรดโคจิคมีคา IC_{50} เทากับ 0.20±0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (สุธิราและประสบอร,2559)

	สารสกัดดอกถั่วแระ	สารสกัดดอกส้มป่อย	สารมาตรฐาน
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด)	113.54 ± 2.75	60.96 ± 3.64	กรดแกลลิค
ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด)	0.22 ± 0.03	0.98 ± 0.01	เคอร์ซิติน
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.66 ± 0.03	0.94 ± 0.02	วิตามินซี 0.07 ± 0.003
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.60 ± 0.02	0.84 ± 0.01	วิตามินซี 0.04 ± 0.019
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	2.21 ± 0.16	1.91 ± 0.09	กรดโคจิค 0.20 ± 0.002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มผู้วิจัยสรุปผลการทดลองดังนี้ สารสกัดเมทานอลของดอกถั่วแระมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าสารสกัดเมทานอลจากดอกส้มป่อยประมาณ 2 เท่า ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดถั่วแระมีฤทธิ์ที่ดีกว่าสารสกัดส้มป่อยพิจารณาจากค่า IC_{50} ที่ต่ำกว่า ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่าสารสกัดจากดอกถั่วแระมีความสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ใกล้เคียงกับสารสกัดจากดอกส้มป่อยแต่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับกรดโคจิค ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแต่ไม่มีผลต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากงานของ สุนันทาและลักษมี(2562) ได้ทำการศึกษาสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง โดยสกัดสารออกฤทธิ์จาก ใบ ดอก และผล โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารตัวอย่าง พบว่า สารสกัดดอกเสม็ดขาวในตัวทำละลายเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดมีค่าท่ากับ 750.65±6.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (สุนันทาและลักษมี,2562)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/g DW)
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	72.60 ± 3.73 ^{n,o}
		Ethyl acetate	76.67 ± 5.08 ^{o}
		Ethanol	289.68 ± 7.84 ^{i}
		Methanol	303.49 ± 3.73 ^{h}
	ดอก	Hexane	142.52 ± 5.63 ^{l}
		Ethyl acetate	600.24 ± 7.32 ^{c}
		Ethanol	379.10 ± 5.63 ^{g}
		Methanol	750.65 ± 6.14 ^{a}
	ผล	Hexane	66.91 ± 6.14 ^{n,o}
		Ethyl acetate	480.73 ± 2.44 ^{e}
		Ethanol	727.07 ± 7.32 ^{b}
		Methanol	253.09 ± 5.08 ^{j}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	62.03 ± 2.82 ^{o,p}
		Ethyl acetate	144.15 ± 4.88 ^{l}
		Ethanol	485.61 ± 2.44 ^{f}
		Methanol	527.07 ± 4.88 ^{e}
	ดอก	Hexane	54.72 ± 3.73 ^{r}
		Ethyl acetate	73.41 ± 2.44 ^{o,p}
		Ethanol	153.09 ± 1.41 ^{k}
		Methanol	537.64 ± 1.41 ^{d}
	ผล	Hexane	40.08 ± 3.73 ^{s}
		Ethyl acetate	115.69 ± 5.08 ^{m}
		Ethanol	65.29 ± 3.73 ^{p,q}
		Methanol	85.61 ± 4.88 ^{n}

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดงเทียบกับรูติน พบว่าสารสกัดผลเสม็ดขาวในตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

665.59±1.56 มิลลิกรัมต่อสมมูลของรูตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สารสกัดใบเสม็ดขาวในตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 43.06±4.13 มิลลิกรัมต่อสมมูลของรูตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (สุนันทาและลักษมี,2562)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (mgRE/g DW)
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	43.06 ± 4.13 ^{s}
		Ethyl acetate	174.60 ± 4.68 ^{l}
		Ethanol	221.44 ± 1.56 ^{j}
		Methanol	226.85 ± 1.56 ^{j}
	ดอก	Hexane	338.56 ± 4.13 ^{f}
		Ethyl acetate	108.83 ± 4.13 ^{o}
		Ethanol	248.47 ± 5.63 ^{i}
		Methanol	192.61 ± 5.63 ^{k}
	ผล	Hexane	665.59 ± 1.56 ^{a}
		Ethyl acetate	566.49 ± 5.41 ^{b}
		Ethanol	491.71 ± 8.26 ^{c}
		Methanol	379.10 ± 5.63 ^{d}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	290.81 ± 2.70 ^{g}
		Ethyl acetate	108.83 ± 5.63 ^{o}
		Ethanol	180.90 ± 1.56 ^{l}
		Methanol	224.15 ± 3.12 ^{j}
	ดอก	Hexane	361.98 ± 1.56 ^{e}
		Ethyl acetate	70.99 ± 4.13 ^{q}
		Ethanol	147.57 ± 5.41 ^{m}
		Methanol	260.18 ± 6.24 ^{h}
	ผล	Hexane	332.25 ± 1.56 ^{f}
		Ethyl acetate	119.64 ± 4.13 ^{n}
		Ethanol	58.38 ± 4.68 ^{r}
		Methanol	100.72 ± 1.56 ^{p}

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดจากดอกเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด IC_{50} เท่ากับ 1.01±0.02 และ 1.30±0.01 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (สุนันทาและลักษมี,2562)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	IC_{50} (µg/ml)	
			DPPH	ABTS
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	772.84 ± 4.80 ^{g}	258.89 ± 2.89 ^{i}
		Ethyl acetate	520.16 ± 13.32 ^{f}	58.01 ± 0.55 ^{f}
		Ethanol	72.55 ± 0.98 ^{c}	74.93 ± 1.19 ^{g}
		Methanol	11.76 ± 0.24 ^{a}	53.79 ± 0.17 ^{e,f}
	ดอก	Hexane	162.07 ± 2.80 ^{d}	414.03 ± 4.19 ^{j}
		Ethyl acetate	4.59 ± 0.04 ^{a}	8.48 ± 0.05 ^{a}
		Ethanol	10.30 ± 0.07 ^{a}	8.97 ± 0.08 ^{a}
		Methanol	1.05 ± 0.03 ^{a}	0.55 ± 0.00 ^{a}
	ผล	Hexane	1616.58 ± 5.55 ^{i}	451.67 ± 8.19 ^{k}
		Ethyl acetate	7.02 ± 0.04 ^{a}	39.94 ± 0.70 ^{c,d}
		Ethanol	4.09 ± 0.11 ^{a}	5.36 ± 0.04 ^{a}
		Methanol	72.90 ± 2.02 ^{c}	69.38 ± 0.09 ^{g}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	928.04 ± 8.66 ^{h}	697.88 ± 6.00 ^{l}
		Ethyl acetate	48.06 ± 2.57 ^{b}	22.97 ± 0.63 ^{b}
		Ethanol	7.53 ± 0.09 ^{a}	56.06 ± 1.56 ^{e,f}
		Methanol	1.02 ± 0.02 ^{a}	1.30 ± 0.01 ^{a}
	ดอก	Hexane	1610.06 ± 24.15 ^{i}	768.13 ± 8.98 ^{m}
		Ethyl acetate	89.11 ± 1.56 ^{c}	31.86 ± 1.16 ^{b,c}
		Ethanol	35.43 ± 0.39 ^{b}	42.58 ± 0.94 ^{d}
		Methanol	1.01 ± 0.01 ^{a}	0.65 ± 0.01 ^{a}
	ผล	Hexane	1729.11 ± 64.69 ^{j}	782.38 ± 27.46 ^{n}
		Ethyl acetate	77.05 ± 1.51 ^{c}	24.12 ± 0.23 ^{b}
		Ethanol	232.22 ± 1.00 ^{e}	108.22 ± 2.22 ^{h}
		Methanol	88.80 ± 1.32 ^{c}	46.64 ± 1.23 ^{d,e}

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดในตัวทำละลายเมทานอล แสดงว่าในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงได้ดี ในขณะที่ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่าเหมาะที่จะใช้สกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง การทดลองนี้พบความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีหลายกลุ่ม การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่เหมาะสมจะช่วยให้ได้ปริมาณฟีนอลิกและสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่มาก

จากงานวิจัยของ คณาทิพย์ และคณะ(2563) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเอทานอลจากยอดอ่อน ใบ ผล และเมล็ดของกระทินไทยโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก (Total flavonoid Content) เทียบกับสารมาตรฐานแกลลิก แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (คณาทิพย์ และคณะ,2563)

สารสกัดกระถิน	มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
ยอดอ่อน	1,660.79 ± 93.71*
ใบ	642.94 ± 183.4†
ผล	277.74 ± 44.89
เมล็ด	86.10 ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าสารสกัดของยอดอ่อนกระถินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 1660.79±93.71 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดของเมล็ดกระถินมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุดเท่ากับ 86.10±0.00 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

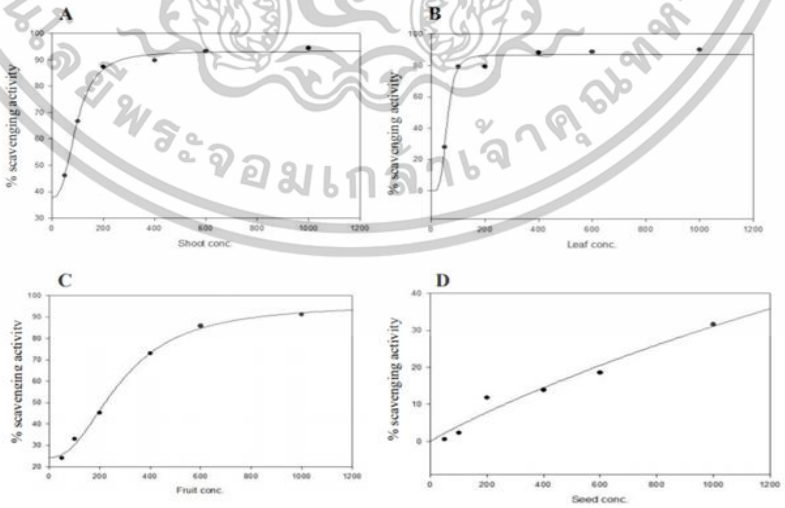
การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid Content) เทียบกับสารมาตรฐานเควอซิติน แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (คณาทิพย์ และคณะ,2563)

สารสกัดกระถิน	มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
ยอดอ่อน	438.72 ± 111.51*
ใบ	518.83 ± 18.76*
ผล	216.95 ± 4.45†
เมล็ด	34.27 ± 3.77

พบว่า สารสกัดของใบกระถินมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 518.83±18.76 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดและสารสกัดในส่วนของเมล็ดมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดเท่ากับ 34.27±3.77 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกในสารสกัดแต่ละส่วนของกระถิน ผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า % scavenging ความเข้มข้นของสารสกัดกระถินจากยอดอ่อน(A) สารสกัดจากใบ(B) สารสกัดจากผล(C) และสารสกัดจากเมล็ด(D) (คณาทิพย์ และคณะ ,2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้วิจัยสรุปผลได้ว่า พบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากยอดอ่อนมากที่สุด ส่วนฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบในสารสกัดจากใบมากที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆของกระถินไทย โดยสารฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารหนึ่งในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้มากในพืช โดยสามารถจับกับโลหะหนัก เช่น Fe^{2+}/Fe^{3+} และ Cu^{2+} ที่มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ดังนั้นสารฟลาโวนอยด์สามารถชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้ จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดสอดคล้องกับปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบ

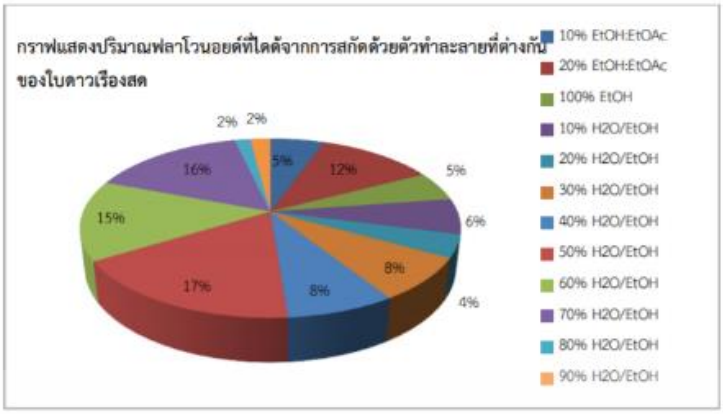
จากงานวิจัยของ ปิยะนุช และกาญจนา(2557) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง โดยพบว่าดาวเรืองเป็นแหล่งสำคัญของสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต่อต้านมะเร็ง มีสารประกอบทางเคมีหลายชนิดซึ่งในใบดาวเรืองสดยังพบสาร Kaempferitrin ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Chanut,B. 2013)

สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มที่สำคัญซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบดาวเรืองสดที่ได้ที่สกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน ทั้งหมด 12 สารสกัด แสดงค่ามากที่สุดคือระบบที่ใช้ 60%H2O/EtOH ดังแสดงในรูปที่ 4.3

รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด (ปิยะนุช และกาญจนา,2557)

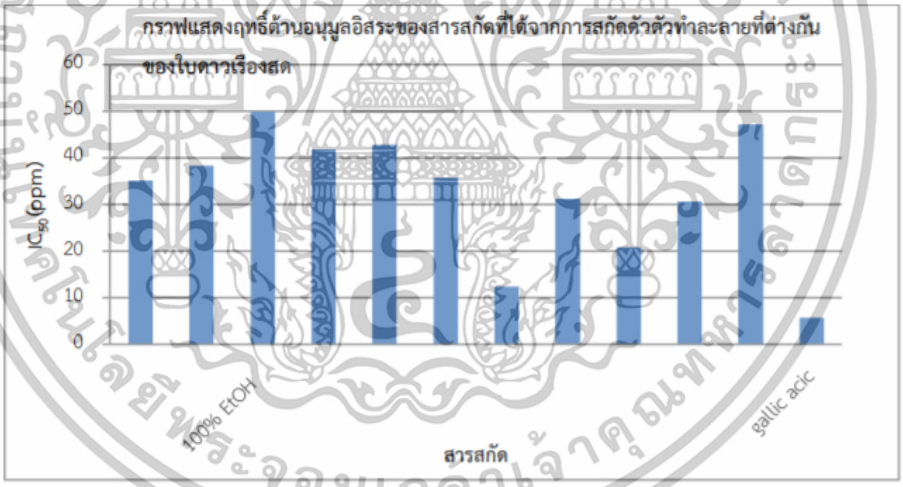
เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์มีสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระส่งผลทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น จึงยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จากการตรวจสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดใบดาวเรืองสดที่ได้ทั้ง 12 สารสกัด ระบบ50%H_2O/EtOH แสดงค่าปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ของใบดาวเรืองสด (ปิยะนุช และกาญจนา,2557)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบดาวเรืองทั้ง 12 สารสกัด โดยใช้เทคนิค DPPH assay ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ และถูกนำไปคำนวณหาค่า IC_{50}พบว่าระบบ 40%H_2O/EtOH ของสารสกัดใบดาวเรืองสดแสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุดโดยแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 12.44±0.01ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ของใบดาวเรืองสด (ปิยะนุช และกาญจนา,2557)

ผู้วิจัยได้สรุปผลว่า การสกัดใบดาวเรืองสดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณสารสกัดที่ได้แตกต่างกัน การใช้ระบบตัวทำละลาย10% EtOH/EtOAc ส่งผลให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด โดยจะใช้ปริมาณสารสกัดเทียบเป็น 13 เท่าของสารสกัดทั้งหมด ระบบตัวทำละลาย60% H_2O/EtOH และ 50% EtOHH_2O จะทำให้ได้ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมากที่สุด ส่วนระบบที่ดีที่สุดที่ใช้สกัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ40% H_2O/EtOH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

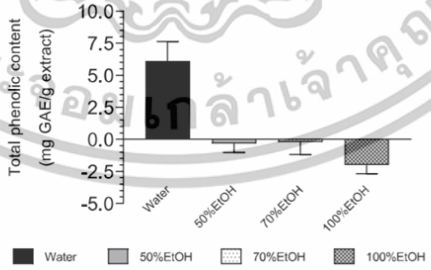
จากงานวิจัยของ นิตยา และคณะ(2563) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองขึ้นกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ดอกปอเทืองที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด แต่สารสกัดหยาบปอเทืองที่สกัดโดยใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้น 50 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.8 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่วัดได้จากวิธี DPPH (นิตยา และคณะ,2563)

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
น้ำ	45.77 ± 7.76
เอทานอลที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์	ND
เอทานอลที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์	ND
เอทานอลที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์	ND

หมายเหตุ : ND หมายถึง Not Detected (พารามิเตอร์ดังกล่าวตรวจไม่พบ)

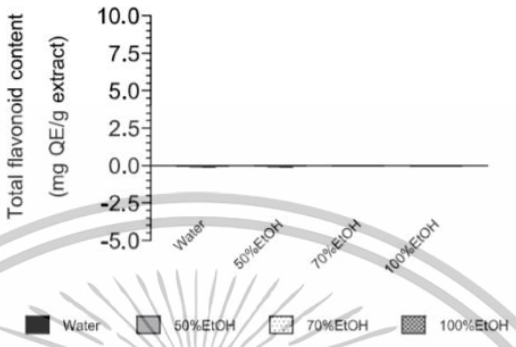
ผลการวิเคราะห์เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการตรวจหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทือง ในการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดตรวจพบปริมาณฟีนอลิกรวมเป็น 6.11±1.53 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด แต่การใช้เอทานอลที่ความเข้มข้น 50 70 และ100 เปอร์เซ็นต์ ในการสกัดตรวจไม่พบปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทือง ดังในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดโดยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน (นิตยา และคณะ,2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทือง พบว่าไม่สามารถพบได้แม้จะใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด แสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดโดยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน (นิตยา และคณะ,2563)

ผู้วิจัยได้สรุปผลว่า จากการสกัดสารจากดอกปอเทืองโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ เอทานอลที่มีความเข้มข้น 50 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่สกัดได้ พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบดอกปอเทืองที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 45.77±7.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่ตรวจพบในสารสกัดหยาบดอกปอเทืองจากการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.11±1.53 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดแต่กลับตรวจไม่พบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารในกลุ่มฟีนอลิกที่ตรวจพบเป็นสารในกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสกัดด้วยเอทานอล 95% และนำมาระเหยตัวทำละลายออกมาด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน จนได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้ทั้งสามชนิดมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเขียวเข้ม โดยที่สารสกัดจากใบชะมวงมีสีเข้มสุดรองลงมาคือใบชุมเห็ดและใบเหลียงตามลำดับ และการศึกษาค้นคว้าหาความรู้เพิ่มเติมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสจากสารสกัดต่างๆ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน แต่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์กลับไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต และลีนา ผู้พัฒนพงศ์.2545. สมุนไพรไทย ตอนที่ 7. ประชาชาชนจำกัด: กรุงเทพมหานคร.

คณาทิพย์ สิงห์สาย, อภิษฎา ศักดาวิโรจน์, กนกพิชญ์ เวชภาณิชย์กิจกุล และอสมาภรณ์ หมุนสมัย.2563.การเปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิกสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเอทานอลจากยอดอ่อน ใบ ผล และเมล็ดของกระถินไทย.

จันทิมา หอมกลบ, สุพนิดา วินิจฉัย, หทัยรัตน์ ริมคีรี, นครเหลืองประเสริฐ และวิชัย หฤทัยธนาสันติ์. 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตดจากผลมะขามป้อมจากแหล่งในประเทศไทย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48, 3-5 กุมภาพันธ์2554, กรุงเทพมหานคร.

เจนจิรา จิรัมย์และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์(1): 59-70.

ดร.นิจศิริ เรืองรังสีและธวัชชัย มังคละคุปต์. 2557. หนังสือสมุนไพรไทย เล่ม 1 Cha muang/ชะมวง. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก https://www.medthai.com. สืบค้นวันที่ 13 พฤษภาคม 2564.

นงลักษณ์ ห้วยหงส์ทอง.2559.การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรบาลชนิดที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา.

นิตยา ครชาตรี, สุกัญญา เซนสนา, อรนุช สุขอนันต์ และภวิกา มหาสวัสดิ์.2563.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบดอกปอเทือง.สาขาวิชาชีวทยาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์.2561.ปัจจัยที่มีผลต่อสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบขลู่.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

ปิยนุช เจริญผล และกาญจนา วงศ์กระจ่าง.2557.การศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณสารฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรืองสด.เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์.2546.สารประกอบฟีนอล [ออนไลน์].สืบค้นจาก: http://www.foodneworksolution.com สืบค้นวันที่ 18 พฤษภาคม 2564

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2557. หนังสือพจนานุกรมสมุนไพรไทย. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.eherb.hrdi.or.th. สืบค้นวันที่ 13 พฤษภาคม 2564.

วท 102 การพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.การค้นคว้าด้านสมุนไพรและการให้ความสำคัญกับภูมิปัญญาท้องถิ่น [ออนไลน์].สืบค้นจาก: http://www.erp.mju.ac.th สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2564.

สกนธ์ รัตนโกศล. 2562. ชุมเห็ดเทศสมุนไพรในตำรายาไทย. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก https://www.mgronline.com. สืบค้นวันที่ 12 พฤษภาคม 2564.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุนันทา ข้องสาย และลักษมี วิทยา.2562.สารประกอบฟีนอลิกสารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง.คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

สุธาชีพ ศุภเกษตร. 2527. ต้นผักเหลียงผักพื้นบ้านที่น่าสนใจ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก https://www.puechkaset.com. สืบค้น 12 พฤษภาคม 2564.

สุธิรา มณีฉาย และประสบอร รินทอง.2559.ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากถั่วแระและดอกส้มป่อย.คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

สุวดี โพธิ์วิจิตร, ปิยานี รัตนชำนอง, อุดมลักษณ์ มาตย์สถิตย์ และวีระศักดิ์ อัศววงศ์อารยะ.2562.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยพื้นบ้านสะค้านและมะแขว่นในเขตท้องถิ่นภาคเหนือ.คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี.

Arvouet, G. A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d' un extrait de propoliset indentification des principaux constituants. J. de Phamacie de Belgique, 49, 462-468

Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., & Mendez, J. (2002). Antioxidant activity of flavonoids from Licania licaniaeflora. Journal of Ethnopharmacology, 79(3), 379-381.

Chang, T. S., 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. Int J Mol Sci 10, 2440-2475.

Chanut, B. (2013).Extraction, Isolation and Identification of Major Flavonoid M from Leafof Tageteserecta.Silpakorn University Science and Technology Journal. 7(1):97.

Kubo, I., Kinst-Hori, I., 1999. Flavonols from saffron flower: tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism. J Agric Food Chem 47, 4121-4125.

Li, H., Cheng, K. W., Cho, C. H., He, Z., Wang, M., 2007. Oxyresveratrol as antibrowning agent for cloudy apple juices and fresh-cut apples. J Agric Food Chem 55, 2604-2610.

Majhenic, L., Skerget, M., & Knez, Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extract. Food Chemistry, 104(3), 1258-1268.

Miranda, M., Amicarelli, F., Poma, A., Ragnelli, A. M., Arcadi, A., 1988. Liposome-entrapped tyrosinase: a tool to investigate the regulation of the Raper-Mason pathway. Biochim Biophys Acta 966, 276-286.

Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., and O'Brien, C. 2007. Antioxidant capacityas in fluenced by total phenolic and anthocyanin content maturity and variety of Vaccinium species, Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 2686–2693.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

การคำนวณร้อยละผลผลิต

การคำนวณร้อยละผลผลิต % yield

จากสูตร % yield = (น้ำสารสกัดหยาบ/น้ำหนักตัวอย่าง) x 100

1.ใบเหลียง

น้ำหนักของสารสกัดหยาบ = 10.22 กรัม

น้ำหนักของใบเหลียง = 150 กรัม

แทนค่า % yield = (น้ำหนักสารสกัด/น้ำหนักตัวอย่าง) x 100

% yield = (10.22/150) x 100

% yield = 6.81

สารสกัดหยาบจากใบเหลียงในชั้นเอทานอลมี % yield = 6.81 กรัม

2. ใบชะมวง

น้ำหนักของสารสกัดหยาบ = 27.04 กรัม

น้ำหนักของใบชะมวง = 150 กรัม

% yield = (27.04/150) x 100

% yield = 18.02

สารสกัดหยาบจากใบชะมวงในชั้นเอทานอลมี % yield = 18.02 กรัม

3. ใบชุมเห็ด

น้ำหนักของสารสกัดหยาบ = 16.06

น้ำหนักของใบชะมวง = 150

แทนค่า % yield = (น้ำหนักสารสกัด/น้ำหนักตัวอย่าง) x 100

% yield = (16.0/150) x 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

% yield = 10.70

สารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดในชั้นเอทานอลมี % yield = 10.70 กรัม

ตารางที่ ก.1 แสดงน้ำหนักพืชพื้นบ้าน น้ำหนักสารสกัดหยาบและร้อยละผลผลิต

สารสกัดหยาบเอทานอลพืชพื้นบ้าน	น้ำหนักผักพื้นบ้าน (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% yield)
ใบเหลียง	150	10.22	6.81
ใบชะมวง	150	27.04	18.02
ใบชุมเห็ด	150	16.06	10.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา

ชื่อ-สกุล กิตติมา จันทร์เพ็ง

วัน เดือน ปีเกิด 6 กุมภาพันธ์ 2541

ที่อยู่ 83 หมู่ที่ 3 ตำบลสลุย อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร 86140

ประวัติการศึกษา ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนหงส์เจริญวิทยาคม
สายวิทย์-คณิต
ปีการศึกษา 2559

E-mal oppoza_8259@gmail.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้