สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดกรองสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซีเนสจากพืชพื้นบ้านไทย

นางสาวจุติพร เตชะวีรากร

นายเจษฎา ธำรงพาณิชย์

ปพ.
ว6337ก
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 84000
วัน,เดือน,ปี 23 ก.ย. 2551

b 11972862
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Screening of antioxidant and tyrosinase inhibitory activities from Thai traditional plants

Jutiporn Tachaveerakorn

Jedsada Tomrongpanit

A Special Project Submitted in Partial of the Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ เรื่องการคัดกรองสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซีเนสจากพืชพื้นบ้านไทย

นักศึกษา นางสาวจุติพร เตชะวีรากร

นายเจษฎา ธำรงพาณิชย์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จิตติ ท่าไว

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.วีนา ชูโชติ	
กรรมการ ดร.จิดาภา ทิน้อย	
กรรมการ ดร.จิตติ ท่าไว	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การคัดกรองสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชพื้นบ้านไทย
นักศึกษา	จุติพร เตชะวีรากร
	เจษฎา ธำรงพาณิชย์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. จิตติ ท่าไว

บทคัดย่อ

ในการศึกษาค้นคว้าถึงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของพันธุ์ไม้พื้นบ้านไทยห้าชนิด คือ เนื้อไม้ต้นมะม่วง (*Mangifera indica* L.) เนื้อไม้ต้นมะขามเทศ (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) เนื้อไม้ต้นมะตาด (*Dillenia indica* Linn.) เนื้อไม้ต้นชมพู่น้ำดอกไม้ (*Syzygium jambos* (L.) Alston) และเมล็ดสละ (*Salaceae zalacca* (Gaertner) Voss.) โดยนำพันธุ์ไม้ทั้งห้าชนิดมาทำการสกัดสาร โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay โดยมีเคอร์เซทินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก หาเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัด เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้เกิดการดักจับอนุมูลอิสระ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นมะขามเทศมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.02×10^{-2} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นชมพู่ และต้นมะม่วง ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 2.13×10^{-2} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2.16×10^{-2} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดทำได้ด้วยวิธี Dopachrome method โดยมี Dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) เป็นสารตั้งต้น และมีกรดโคจิกเป็นตัวควบคุมเชิงบวก แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่างทุกชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ แต่สารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากต้นมะตาดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงสุดเท่ากับ 47.82 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Screening of antioxidant and tyrosinase inhibitory activities from Thai traditional plants
Name	Jutiporn Tachaveerakorn
	Jedsada Tomrongpanit
Department	Applied biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Dr. Chitti Thawai

Abstract

This project was screened for antioxidant and tyrosinase inhibitory activities from five Thai traditional plants, the wood of *Mangifera indica* L., *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth., *Dillenia indica* Linn. and *Syzygium jambos* (L.) Alston. and the seed of *Salaceae zalacca* (Gaertner) Voss. These plants were extracted with three organic solvents (hexane, dichloromethane and methanol).

The antioxidant activity was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. Quercetin was used as reference standard. The results showed that the crude extract from all of plant samples plants showed the ability to reduce DPPH. Furthermore the crude methanolic extract of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. exhibited the best of antioxidant activity with the IC_{50} (Inhibition Concentration at 50%) at $1.02x10^{-2}$ mg/mL, followed by the crude methanolic extract of *Syzygium jambos* (L.) Alston and *Mangifera indica* L. (IC_{50} at $2.13x10^{-2}$ mg/mL and $2.16x10^{-2}$ mg/mL, respectively).

The tyrosinase inhibitory activity was examined by dopachrome method, using L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) as a substrate (kojic acid as a positive control). The results revealed that the crude extract from all of tested plants exhibited less tyrosinase inhibitory activity than 50%. So, the crude extract could not calculated for the tyrosinase inhibitory activity in the IC_{50}. However, the crude dichloromethane extract of *Dillenia indica* Linn. exhibited the best of tyrosinase inhibitory activity with 47.82% at the concentration of 1,000 µg/mL.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษ ในหัวข้อเรื่องการคัดกรองสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชพื้นบ้านไทย โครงงานนี้จะไม่สามารถบรรลุจุดประสงค์ไปได้หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.จิตติ ท่าไว ที่ให้คำปรึกษาความรู้ต่างๆ เกี่ยวกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามของผู้จัดทำ และข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทดลอง "การคัดกรองสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชพื้นบ้านไทย" (Screening of antioxidant and tyrosinase inhibitory activities from Thai traditional plants) จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ทางผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.สิทธิชัย เจริญเศรษฐศิลป์ ภาควิชาสถิติประยุกต์ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาการวางแผนการวิจัย โดยใช้หลักการทางสถิติ ทำให้การวิจัยนี้มีการวางแผนอย่างถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ และ ดร.จิดาภา ทิน้อย ที่ให้คำแนะนำปรึกษา และกรุณาช่วยตรวจแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องต่างๆ ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติทุกคนของผู้จัดทำ ที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวจุติพร เตชะวีรากร

นายเจษฎา ธำรงพาณิชย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ	5
2.2 เอนไซม์ไทโรซิเนส	8
2.3 พืชที่ใช้ในการทดลอง	12
2.4 การสกัดแยกสารสำคัญจากพืช	17
2.5 การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช	21
2.6 การทำสารสกัดให้เข้มข้น	23
บทที่ 3 อุปกรณ์และขั้นตอนการทดลอง	24
3.1 สารเคมี	24
3.2 อุปกรณ์	24
3.3 การเตรียมตัวอย่างพืชแห้ง	25
3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชเพื่อใช้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	25
3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	26
3.6 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทย	32
4.1.1 สารสกัดหยาบในส่วนของเฮกเซน	32
4.1.2 สารสกัดหยาบในส่วนของไดคลอโรมีเทน	33
4.1.3 สารสกัดหยาบในส่วนของเมทานอล	34
4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบ จากพืชพื้นบ้านไทย	40
4.2.1 สารสกัดหยาบในส่วนของเฮกเซน	40
4.2.2 สารสกัดหยาบในส่วนของไดคลอโรมีเทน	41
4.2.3 สารสกัดหยาบในส่วนของเมทานอล	42
วิจารณ์ผลการทดลอง	46
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	49
ภาคผนวก	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ต้นมะม่วง	12
2.2	ผลและต้นมะขามเทศ	13
2.3	ผลและต้นมะตาด	14
2.4	ต้นชมพู่น้ำดอกไม้	15
2.5	ต้นสละ	16
3.1	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความเป็นขั้ว	26
3.2	ตำแหน่งการเติมชุดทดสอบลงในจานพลาสติกเพาะเลี้ยงเชื้อชนิด 96 หลุม	30
4.1	ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน	33
4.2	ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน	34
4.3(ก)	ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด	35
4.3(ข)	ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากมะตาดและเมล็ดสละ ในตัวทำละลายผสมเมทานอลและสารละลาย DMSO (อัตราส่วน 1:1)	36
4.4	ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน	40
4.5	ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน	41
4.6	ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน	37
4.2 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน	38
4.3 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล	39
4.4 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน	43
4.5 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน	44
4.6 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล	45
5.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน และสารละลายเคอร์เซทินโดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	51
5.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน และสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	54
5.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่าง 3 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	57
5.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลจากมะตาดและเมล็ดสละ และสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายเมทานอลกับสารละลาย DMSO ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	59
5.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายไอโซโพรพานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร	61
5.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร	64
5.7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมไปด้วยพืชพรรณนานาชนิดและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงเหมาะสมอย่างยิ่งในการที่จะนำมาศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ต่างๆ จากพืชพื้นบ้านไทย

ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากพืชไทยมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรค และส่วนผสมในเครื่องสำอางมากยิ่งขึ้น จึงมีความสนใจเป็นอย่างยิ่งในการที่จะศึกษาคุณสมบัติในสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพืชพื้นบ้านไทย ซึ่งสารสกัดที่ได้อาจนำไปใช้เป็นตัวยาที่สำคัญในการทำยารักษาโรค หรือเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง และอาหารเสริมสุขภาพที่กำลังเป็นที่สนใจมากในตอนนี้ โดยโครงงานพิเศษนี้จะมุ่งเน้นในการสกัดสารจากเนื้อไม้ของพืชไทย ได้แก่ ต้นมะขามเทศ ต้นมะตาด ต้นมะม่วง ต้นชมพู่ และเมล็ดของสละ เพื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

อนุมูลอิสระ (Free radicals) หรือ ROS คือโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3}-10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัดด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรืออิออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระจะถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเองและในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกัน จากการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง คือระบบต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ที่สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (Substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยสารเหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า ภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stress) ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (Aging)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน (Autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน (Reoxygenation injury, reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็งเป็นต้น การทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ นับเป็นกลไกการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ และลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (พรทิพย์, 2548)

การหาขีดความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ทำโดยอาศัยหลักการ คือ ขั้นแรกจะสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อน แล้วจึงเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งหลักการนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างหลากหลาย ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ และชนิดของตัวตรวจวัดอนุมูลอิสระเป็นวิธีการตรวจวัดขีดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีที่มีการใช้อย่างแพร่หลายและรายงานไว้โดยนักวิจัยกลุ่มต่างๆ

สำหรับเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซีน (Tyrosine) ให้กลายเป็นเม็ดสีหรือเมลานิน (Melanin) ซึ่งถ้ากระบวนการนี้เกิดขึ้นแบบผิดปกติและมากเกินไปจะทำให้เกิดฝ้า กระ รอยหมองคล้ำได้ ดังนั้นการยับยั้งกระบวนการที่ผิดปกตินี้จะช่วยบำบัดปัญหาของฝ้า กระ รอยด่างดำ รอยหมองคล้ำได้ การรบกวนการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส หรือเมลาโนโซม (Melanosome) ในขบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน เช่น การใช้สารไฮโดรควิโนน (Hydroquinone, HQ) เดิมใช้ผสมในครีมรักษาฝ้า เพื่อลดและลบรอยดำจากฝ้า มีส่วนผสมตั้งแต่ 2-5 %HQ แต่ถ้าใช้ติดต่อกันนานๆ จะมีผลข้างเคียงได้ และทำให้ฝ้ากลับมาเป็นใหม่ได้จากผลของยาเอง ปัจจุบันสารชนิดนี้ได้ถูกห้ามใช้เป็นส่วนประกอบเครื่องสำอางสำหรับฝ้า โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เนื่องจากมีอันตรายสูง ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ห้ามผสมในเครื่องสำอางด้วย แต่ในคลินิกถ้าอยู่ในความดูแลของแพทย์ยังสามารถใช้ได้ ในขณะเดียวกันได้มีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาสารอื่นๆ ที่มีความปลอดภัยว่าเพื่อนำมาใช้แก้ไขปัญหาผิวพรรณเหล่านี้ พบว่าสารที่ได้จากธรรมชาติโดย เฉพาะจากพืชและสมุนไพรชนิดต่างๆนั้น บางชนิดให้ผลดีและมีความปลอดภัยกว่าการใช้ไฮโดรควิโนน (นิรนาม, 2544)

ด้วยเหตุผลทั้งหมดนี้ จึงเกิดความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากพืชพื้นบ้านไทย เพื่อที่จะนำข้อมูลเบื้องต้นเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ทางด้านวิทยาศาสตร์สาธารณสุขและทางอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อคัดกรองพืชพื้นบ้านไทยที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิในการต้านสารอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

1.2.2 ทำการสกัดตัวอย่างพืชพื้นบ้านไทย ได้แก่ มะขามเทศ มะม่วง มะตาด ชมพู่ และสละ และเป็นส่วนๆโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความเป็นขั้ว

1.2.3 เพื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากพืช คือ เนื้อไม้ของต้นมะขามเทศ ต้นมะม่วง ต้นมะตาด ต้นชมพู่ และเมล็ดของสละ โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ ตามลำดับความเป็นขั้ว

1.3.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถแยกสารสกัดหยาบจากส่วนของต้นไม้ไทย คือ เนื้อไม้ของต้นมะขามเทศ ต้นมะม่วง ต้นมะตาด ต้นชมพู่ และเมล็ดของสละ ออกเป็นส่วนตามลำดับความเป็นขั้ว

1.4.2 อาจค้นพบสารสกัดจากพืชทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี

1.4.3 ได้รับข้อมูลเบื้องต้นเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางด้านวิทยาศาสตร์สาธารณสุขและทางอุตสาหกรรมต่อไป

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.5.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากพืช

1.5.1.1 เตรียมตัวอย่างพืช ได้แก่ เนื้อไม้มะขามเทศ เนื้อไม้มะม่วง เนื้อไม้มะตาด เนื้อไม้ชมพู่ และเมล็ดของสละ

1.5.1.2 นำตัวอย่างพืชมาอบแห้งและทำให้มีขนาดเล็ก และละเอียดที่สุด

1.5.1.3 การสกัดสารจากตัวอย่างพืชโดยใช้เฮกเซน (Hexane)

1.5.1.4 การทำให้สารสกัดหยาบเข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ได้เป็นสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน (Crude hexane extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5.1.5 สกัดสารจากตัวอย่างพืชโดยไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)

1.5.1.6 การทำให้สารสกัดหยาบเข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ได้เป็นสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน (Crude dichloromethane extract)

1.5.1.7 สกัดสารจากตัวอย่างพืชโดยเมทานอล (Methanol)

1.5.1.8 การทำให้สารสกัดหยาบเข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ได้เป็นสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล (Crude methanolic extract)

1.5.2 ศึกษาสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่างแต่ละชนิด

1.5.2.1 การเตรียมสารดักจับอนุมูลอิสระ (DPPH)

1.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.5.3 ศึกษาสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

1.5.3.1 การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase solution)

1.5.3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

โดยปกติจะมีการกล่าวถึงเฉพาะอนุมูลอิสระ (Free radicals) ที่เป็นสาเหตุการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเรา แต่แท้จริงแล้ว Reactive oxygen species (ROS) คือตัวการสำคัญอีกตัวหนึ่ง โดย ROS จะรวมถึงโมเลกุลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เป็นทั้งอนุมูลอิสระ (Radicals) หรือที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (Non-radicals)

อนุมูลอิสระหรือ ROS คือโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3}-10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัดด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรืออิออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ และ ROS เช่น Superoxide anion radical ($O_2^{\bullet}$), Hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), Ozone (O_3), Hydrogen radical ($H^{\bullet}$) และ Methyl radical ($CH_3^{\bullet}$)

ชนิดของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ คือ

2.1.1 อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย เป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย

2.1.2 อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย ได้แก่

2.1.2.1 การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส

2.1.2.2 การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (Autoimmune diseses) เช่น โรคเก๊าท์

2.1.2.3 รังสี

2.1.2.4 สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่

2.1.2.5 การออกกำลังกายอย่างหักโหม

จากที่กล่าวมาแล้วว่าอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง และในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกันการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง คือระบบต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยสารเหล่านี้ รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้จะเกิดภาวะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรียกว่า ความเครียดที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน (Reoxygenation injury, reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น

การทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระนับเป็นกลไกการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ เช่น
   - Superoxide dismutase
   - Catalase
   - Glutathione peroxidase
   - Glutathione reductase
2. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ เช่น
   - Glutathione
   - Albumin
   - Transferrin
   - Uric acid
   - Cysteine
3. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ เช่น
   - Carotenoids
   - Ascorbic acid
   - Steroids
   - Flavonoids

สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

การหาขีดความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ทำโดยขั้นแรกจะเป็นการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อน แล้วจึงเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งหลักการนี้สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปใช้ได้อย่างหลากหลาย ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระในการยับยั้งอนุมูลอิสระซึ่งเป็นวิธีที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย (พรทิพย์, 2548)

ในปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากได้พยายามศึกษาและรายงานผลของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังเช่น สุรสินธิ์ และเหมือนฝัน (2547) ได้ศึกษาวิจัยเรื่องชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อพัฒนาตำรับชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่จะช่วยลดการทำลายเซลล์ และป้องกันการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากอนุมูลอิสระได้ โดยทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพร โดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical หรือ DPPH เป็นสารให้อนุมูลอิสระ เพื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง Microplate reader พบว่าชาในตำรับที่ประกอบด้วย ขิง:ชะเอมเทศ:มะตูม (1:1:3) เมื่อไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox พบว่า % Antioxidant Activity (%AA) ของชาสมุนไพร 1 ซอง (3 กรัม) มีฤทธิ์เทียบเท่ากับความเข้มข้นของ Trolox 35.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นครินทร์ และคณะ (2547) ศึกษาเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้านริ้วรอยจากดอกไม้และผลไม้ในประเทศไทย ทำการคัดเลือกผลไม้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดผลไม้โดยวิธี potentiometric titration จากผลไม้ในประเทศไทยจำนวน 20 ชนิด พบว่า สารสกัดจากมะดันมีปริมาณกรดผลไม้เข้มข้น 0.5596 นอร์มัล และมีความเหมาะสมในการนำมาตั้งตำรับ ส่วนการคัดเลือกดอกไม้จากทั้งหมด 6 ชนิด โดยใช้วิธี DPPH method พบว่าสารสกัดจากดอกดาวกระจายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (EC_{50} = 84.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ปวีณา และสุพัตรา (2547) ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากดอกไม้ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเอทานอลจากดอกไม้ 22 ชนิดด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ ABTS cation radical scavenging assay พร้อมทั้งหาปริมาณ Total phenolic compounds เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total phenolic compounds กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยผลที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธีให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน จากผลการทดลองโดยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าดอกหางนกยูง (*Caesulpinia pulcherrima*) มีฤทธิ์ดีที่สุด (IC_{50} = 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมีค่า IC_{50} ดีกว่าสารมาตรฐาน 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) ถึง1.33 เท่า ส่วนการทดลองหาปริมาณ total phenolic compounds พบว่าปริมาณสารมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดจากดอกพวงชมพู (*Antigonon leptopus Hook. & Arn*) มีปริมาณ Total phenolic compounds มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญและมีบทบาทมากในการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน โดยจะไปกระตุ้นการเปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซีน (Tyrosine) ไปเป็นสารไดไฮดรอกซีฟีนิลอลานีน (Dihydroxyphenylalanine, DOPA) และสารโดพาควิโนน (DOPA quinone) จนถึงเม็ดสีดำของยูเมลานิน (Eumelanin) ตามลำดับ จึงมีการสังเคราะห์สารที่ช่วยให้ผิวขาวโดยไปยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ ให้ทำงานน้อยลง เพื่อรักษาภาวะฝ้า กระ รวมไปถึงรอยด่างดำ ซึ่งสารที่นิยมนำมายับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ ได้แก่ สารในกลุ่ม ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone) (ในอดีตนำมาเป็นส่วนผสมผลิตครีมทาฝ้า แต่มีผลข้าง เคียงมากปัจจุบันจึงมีบทบาทน้อยลง) กรดวิตามินซี (Ascorbic acid) อาร์บูติน (Albutin) และ ลิโคริค (Licorice) เป็นต้น

เอนไซม์ไทโรซิเนสถูกสังเคราะห์ขึ้นใน Rough Endoplasmic Reticulum (RER) และถูกขนส่งต่อไปที่กอลจิบอดี (Golgi body) ซึ่งจะสร้างเปลือกหุ้มไทโรซิเนสให้เป็นถุงไว้เรียกว่า เมลาโนโซม (Melanosomes) ซึ่งเมลานินจะถูกสังเคราะห์ขึ้นในส่วนนี้ และจะปล่อยเข้าไปสู่ในส่วนที่เป็นไซโตพลาสต์ของเซลล์เมลาโนไซต์ (Melanocyte) และเมลานินจะทำหน้าที่เป็นตัวกรองรังสีไว้เพื่อปกป้องเซลล์ และป้องกันการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ ซึ่งเมลานินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สร้างขึ้นมาจากกรดอะมิโนไทโรซีน ซึ่งถูกกระตุ้นโดยรังสียูวีบี (UVB) การเกิดเมลานินจะต้องอาศัยเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีส่วนประกอบของแร่ทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วเกิดปฏิกิริยาหลายขั้นตอนจนเกิดเป็นเมลานิน การเปลี่ยนแปลงทั้งหมดเกิดขึ้นในเซลล์เมลาโนไซต์ หรือเรียกว่า คีราทีโนไซต์ (Keratinocyte) ซึ่งพบในชั้นล่างสุดของผิวหนังกำพร้า

เมลานินมีหน้าที่กรองรังสีที่จะมาทำอันตรายเซลล์ผิวหนัง โดยสามารถกรองรังสียูวีได้มากกว่าแสงที่มองเห็น และมากกว่ารังสีอินฟราเรด ถ้าผิวหนังโดนแดดมากเมลานินก็ถูกสร้างมากขึ้นเท่านั้น โดยจะส่งผลต่อผิว คือ ผิวจะหมองคล้ำและแห้งทำให้เกิดริ้วรอยต่างๆ ผิวหยาบกร้าน ผิวมีสุขภาพไม่ดี ทำให้การผลัดเซลล์ผิวลดลง ดังนั้นจึงควรมีการป้องกันแสงแดดที่อาจเป็นอันตรายต่อผิว ซึ่งสามารถทำได้โดย

1. ทาครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารป้องกันรังสียูวี (UV Protection)
2. หลีกเลี่ยงการถูกแสงในช่วง 10 โมงเช้า ถึง 4โมงเย็น เพราะเป็นช่วงที่มีรังสียูวีแรงที่สุด
3. หลีกเลี่ยงการโดนแสงแดดโดยตรง โดยการสวมหมวกหรือสวมเสื้อผ้าที่มิดชิดเพื่อปกป้องผิวจากแสงแดด (นิรนาม, 2547)

ผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวขึ้นเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อทำให้ผิวทั้งหมดขาวขึ้น ทำให้ฝ้าและกระจางลง สารออกฤทธิ์สำคัญทำให้หน้าขาวต้องรบกวนขั้นตอนการสร้างเมลานินหนึ่งขั้นตอน หรือมากว่าหนึ่งขั้นตอน สารทำให้ผิวขาวที่ใช้กันมากอาจแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 1 สารฟอกสี (Bleaching Agents) เช่น ไฮโดรควิโนน โมโนเบนโซน และ ปรอทแอมโมเนีย ทั้งหมดนี้เป็นสารห้ามใช้ในเครื่องสำอาง

ไฮโดรควิโนน เคยเป็นสารที่นิยมใช้กันมากในครีม หรือ โลชั่นป้องกันฝ้า ความเข้มข้นไม่เกินร้อยละ 2 สารนี้ออกฤทธิ์ลดการสร้างเมลานิน โดยขัดขวางเอนไซม์ไทโรซิเนสในการออกซิไดซ์ไทโรซิน มิให้เปลี่ยนเป็นโดพา ในขั้นตอนแรกของการสร้างเมลานิน ผลคือลดการสร้างเมลานินของไฮโดรควิโนนเป็นเพียงชั่วคราว หากหยุดใช้จะกลับเป็นอย่างเดิมหรือเป็นมากกว่าเดิม ข้อดีคือ ไม่ทำลายเซลล์สร้างสี ไฮโดรควิโนนมักทำให้เกิดการระคายเคือง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ร่วมกับกรดวิตามินเอ และหากใช้ไฮโดรควิโนนติดต่อกันเป็นเวลานานเกินกว่า 6 เดือน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนังทำให้เกิดเป็นฝ้าถาวรสีน้ำเงินอมดำ ดังนั้นไฮโดรควิโนนจึงถูกกำหนดเป็นสารห้ามใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 25 (พ.ศ.2539) ออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 นอกจากนี้ไฮโดรควิโนนยังมีข้อเสียคือ ไม่คงสภาพ ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายเมื่อถูกแสงแดดและอากาศ โดยเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาล

โมโนเบนโซน เป็นไฮโดรวิโนนโมโนเบนซิลอีเทอร์ ออกฤทธิ์เช่นเดียวกับไฮโดร-ควิโนน แต่ทำลายเซลล์สร้างสีผิว ทำให้เกิดรอยด่างขาวเป็นหย่อมๆ อย่างถาวร และเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง โมโนเบนโซนถูกกำหนดเป็นสารห้ามใช้ในเครื่องสำอางตั้งแต่ พ.ศ. 2525 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 12 พ.ศ. 2525 ออกตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2517 และยังคงห้ามใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 9 พ.ศ. 2536 ออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535

ปรอทแอมโมเนีย เคยเป็นที่นิยมใช้กันมากเช่นเดียวกับไฮโดรควิโนน ในครีมป้องกันฝ้าเรียกว่า ครีมไข่มุก โดยใช้ในอัตราส่วนไม่เกินร้อยละ 3.0 ปรอทแอมโมเนียรบกวนเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยรวมตัวกับโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ หรือโดยการจับกับไอออนทองแดงที่มีอยู่ในเอนไซม์ ทำให้ลดการสร้างเมลานิน การใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของปรอทแอมโมเนียติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้มีการสะสมปรอทในผิวหนัง และดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิต ทำให้ตับ และไตพิการ โรคโลหิตจาง เป็นต้น ปรอทแอมโมเนียถูกกำหนดเป็นสารห้ามในเครื่องสำอางตั้งแต่ พ.ศ. 2532 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 37 พ.ศ. 2532 ออกตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2517 และยังคงห้ามใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 9 พ.ศ. 2536 ออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 2 สารทำให้ผิวขาว (Whitening Agents) ที่นิยมใช้กันมากในเครื่องสำอางในท้องตลาดเมืองไทยได้แก่ อาร์บิวติน กรดโคจิด และ แอสคอร์บิกแมกนีเซียมฟอสเฟต สารดังกล่าวยังไม่มีประกาศควบคุมโดยเฉพาะ อาร์บิวติน เป็นไฮโดรควิโนน ไกลโคไซด์

อาร์บิวติน ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวมี 2 แบบ คือ ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และได้จากการสกัดจากพืช อาร์บิวตินเป็นส่วนประกอบสำคัญมากถึงร้อยละ 18 ใน Drug Urva ursi folium ระบุในตำรายาประเทศญี่ปุ่น หรือที่เรียกกันว่า Bearberry มีการนำสมุนไพรสกัด Bearberry extract นำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวอีกด้วย อาร์บิวตินไม่สลายเป็นไฮโดรควิโนนโดยเอนไซม์ในผิวหนังมนุษย์ อาร์บิวตินออกฤทธิ์โดยแย่งโดพาในการเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไทโรซิเนส มีผลต่อการยับยั้งการสร้างเมลานินไม่เป็นพิษต่อเซลล์สร้างเมลานินทำให้ผิวหน้าขาวขึ้นและมีความปลอดภัยสูง ไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคืองและอาการข้างเคียงใดๆ ทั้งยังคงสภาพต่อแสงแดดได้ดีกว่าไฮโดรควิโนนและได้ผลดีกว่ากรดโคจิก เป็นที่นิยมใช้กันมากในญี่ปุ่น โดยใช้อาร์บิวตินความเข้มข้นร้อยละ 3-7

กรดโคจิก ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวหน้าขาวได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี หรือได้จากการสกัดกรดโคจิกที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการหมักกลูโคสด้วยเชื้อรา*แอสเพอร์จิลลัส โอริซี* (*Aspergillus oryzae*) กรดโคจิกออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยจับกับไอออนทองแดงในเอนไซม์ไทโรซิเนส ช่วยลดการสร้างเมลานิน ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้หน้าขาวความเข้มข้นร้อยละ 1-3 บางสูตรใช้สำหรับเอสเทอร์ของโคจิก เช่น โคจิกไดพาร์มิเตต เอนไซม์เอสเทอเรส ที่ผิวหนังทำให้กรดโคจิก ถูกปล่อยออกมาอย่างช้าๆ จากเอสเทอร์ของกรดโคจิก

แมกนีเซียมแอสคอร์บิกฟอสเฟส เป็นฟอสเฟตเอสเทอร์ของวิตามินซี ที่มีความคงสภาพ ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี เมื่อใช้เป็นส่วนผสมในครีมหรือโลชั่นทาผิวหนัง จะไฮโดร-ไลซ์ได้โดยง่ายด้วยเอนไซม์ฟอสฟาเตสที่ผิวหนังให้วิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ซึ่งออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างเมลานินทำให้ผิวขาวขึ้น ขัดขวางการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งทำให้ผิวหนังเหี่ยว ในขณะเดียวกันช่วยเสริมสร้างคอลลาเจน

กลุ่มที่ 3 สารปกคลุมผิว (Covering Agents) ใช้พิกเมนต์ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติทึบแสงและมีสีขาวทันที แต่เมื่อล้างออกสีผิวหนังคงเดิมไม่ได้ขาวขึ้น สารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ ทิตาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide) ส่วนสารอื่นที่ใช้ เช่น ซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide) ทัลคัม (Talcum) บิสมัสซับไนเตรต (Bismus subnitrate) และคาโอลิน (Kaolin) พิกเมนต์เหล่านี้นอกจากทำให้ผิวขาวแล้ว ในขณะเดียวกันยังเป็นสารกันแดดด้วยเนื่องจากคุณสมบัติทึบแสง ผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวบางตำรับใช้ทิตาเนียมไดออกไซด์ผสมกับสมุนไพรสกัด (Wildberry extract) ซึ่งมีส่วนผสมของกรดโคจิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 เอเอชเอ หรือ อัลฟาไฮดรอกซีแอซิด เรียกกันว่า กรดผลไม้ เป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร เช่น กรดเมลิกในแอปเปิ้ล กรดซิตริกในมะนาว กรดทาร์ทาริกในองุ่น กรดแลกติกในนมเปรี้ยว และกรดไกลโคลิกในอ้อย เป็นต้น เอเอชเอช่วยละลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งยึดอยู่ระหว่างเซลล์ที่ตายแล้ว ลอกออกอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ทำให้รูขุมขนไม่อุดตันช่วยในการขับน้ำคัดหลั่งของต่อมเหงื่อ ลดรอยฝ้าและจุดด่างดำ และยังกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนอีกด้วย การเร่งหลุดออกเซลล์ทำให้ริ้วรอยเล็กๆ และรอยเหี่ยวย่นหลังจากการใช้หลายครั้ง และสะท้อนแสงอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ผิวดูอ่อนกว่าวัย จากการวิจัยการใช้ผลิตภัณฑ์เอเอชเอในคนปี ค.ศ. 2000 ซึ่งได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักคณะกรรมการอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา การประเมินผลการวิจัยพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการใช้เอเอชเอกับการลดเวลาในการทำให้ผิวหนังแดงขอบชัด ซึ่งหมายความว่าเอเอชเอทำให้ผิวหนังไวต่อรังสีอัลตร้าไวโอเลตมากขึ้น และเมื่อหยุดใช้ผิวหนังจะกลับคืนสู่ปกติภายในหนึ่งสัปดาห์ ส่วนผลการใช้ผลิตภัณฑ์เอเอชเอในระยะยาวกำลังระหว่างการวิจัย (นิรนาม, 2544)

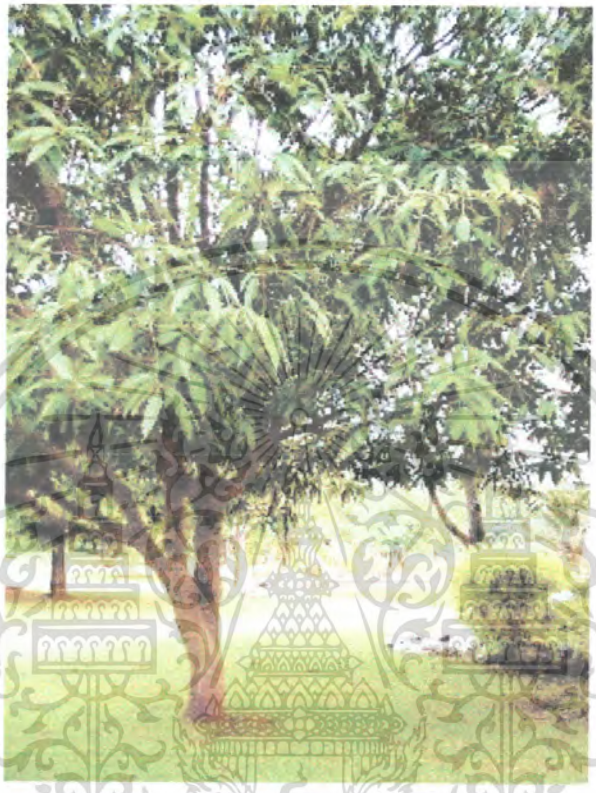
นอกจากนี้ยังมีการวิจัยค้นคว้าเพื่อหาสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นต้นเหตุของการเกิดภาวะฝ้า กระ รวมไปถึงรอยด่างดำ โดยมีการวิจัยถึงสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากแหล่งพืชธรรมชาติ เช่น งานวิจัยของปวีณา และสุพัตรา (2547) ได้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกไม้ด้วยวิธี Dopachrome method พบว่าสารสกัดจากดอกกุหลาบ (*Rosa damascerna*) และดอกรำเพย (*Thevetia peruviana*) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยทั้งสองชนิดมีค่า IC_{50} > 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งถือว่ามีค่าต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid (IC_{50} = 0.92 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

จารุภา และพรนิภา (2547) ได้วิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดความหมองคล้ำของสีผิวจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม โดยใช้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการลดความหมองคล้ำของสีผิว โดยการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม ทั้ง 8 ชนิด ด้วยวิธี Dopachrome method ได้มีการหาปริมาณสารตั้งต้น (substrate) และปริมาณเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เหมาะสม ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าปริมาณสารตั้งต้นที่เหมาะสม คือ 0.40 มิลลิโมล และปริมาณเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เหมาะสม คือ 18.72 ยูนิต จากผลการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มทั้งหมด 8 ชนิด พบว่า grapefruit oil, mandarin red oil และ kaffir lime leaf oil มีประสิทธิภาพดี เหมาะต่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลดความหมองคล้ำของสีผิวต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 พืชที่ใช้ในการทดลอง

2.3.1 มะม่วง



รูปที่ 2.1 ต้นมะม่วง

(ที่มา: http://prathom.swu.ac.th/panmai/index.asp?page=13&pagesize=30)

ชื่อวงศ์ Anacardiaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mangifera indica* L.

ชื่ออื่นๆ มะม่วงบ้าน มะม่วงสวน (ภาคกลาง) แป หมักโม่ง (ภาคเหนือ)

ลักษณะทั่วไป ไม้ต้น ไม่ผลัดใบ ขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูง 8-15 เมตร ทุกส่วนที่มีชีวิตมีน้ำยาง เปลือกต้นสีน้ำตาลปนเทา เรียบ แตกเป็นสะเก็ดหรือแตกเป็นร่องตื้นๆ ตามยาวลำต้น ใบเดี่ยว เรียงเวียน รูปขอบขนาน กว้าง 3-10 เซนติเมตร ยาว 15-45 เซนติเมตร เนื้อใบหนา เกลี้ยงและเป็นมัน ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ดอกขนาดเล็กสีขาวนวล ออกดอกช่วงเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ ผลเป็นผลมีเมล็ดเดียวแข็ง รูปไข่ รูปร่างกลมรี หรือรูปไต แตกต่างกันตามพันธุ์ กว้าง 3-5 เซนติเมตร ยาว 5-15 เซนติเมตร ผลสุกสีเหลืองหรือสีส้ม มีกลิ่นหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขยายพันธุ์ ตอนกิ่ง และเพาะเมล็ด

ประโยชน์ ใบอ่อนรับประทานเป็นผักสด ใบแก่ทำสีย้อมให้สีเหลือง ผลรับประทานเป็นผลไม้ ดอก เปลือก และเนื้อในเมล็ด แก้ท้องร่วง บิด แก้อาเจียน ยางจากผลและต้นผสมน้ำส้มทาแก้คันรักษาโรคผิวหนัง (สมสุข, 2542)

2.3.2 มะขามเทศ

รูปที่ 2.2 ผลและต้นมะขามเทศ

(ที่มา: http://www.uru.ac.th/~botany /detail.php?botany_id=7-53000-001-311&field=&value=&page=32)

ชื่อวงศ์ Leguminosae-mimosoideae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.

ชื่ออื่นๆ มะขามข้อง (แพร่)

ลักษณะทั่วไป ไม้ต้นกึ่งผลัดใบ ขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูง 8-15 เมตร เปลือกต้นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีเทา ลำต้นและกิ่งปกติมีหนามแหลม แต่อาจพบที่มีการปรับปรุงพันธุ์ไม่ให้มีหนาม ใบประกอบแบบขนนกสองชั้น มีใบย่อย 2 คู่ ฐานใบเบี้ยว ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง ดอกย่อยเกิดรวมเป็นกระจุกกลม สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ออกดอกเกือบตลอดปี ผลเป็นฝักรูปขอบขนาน ฝักโค้งเป็นวง ฝักสุกสีชมพูอ่อน เมล็ดสีดำ เนื้อหุ้มเมล็ดหนา เมื่อสุกมีสีขาวอมชมพู

การขยายพันธุ์ ตอนกิ่ง และเพาะเมล็ด

ประโยชน์ เนื้อหุ้มเมล็ดรับประทานได้ นิยมนำมาทำเป็นไม้ดัด ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ให้มีสีใบด่าง เหมาะสำหรับปลูกเป็นไม้ประดับ (ศูนย์วิจัยป่าไม้, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 มะตาด

รูปที่ 2.3 ผลและต้นมะตาด

(ที่มา: http://prathom.swu.ac.th/panmai/index.asp?page=13&pagesize=30)

ชื่อวงศ์ Dilleniaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dillenia indica* Linn.

ชื่ออื่นๆ ส้มป่าว (ภาคเหนือ) แส้น (ภาคใต้)

ลักษณะทั่วไป เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 10-15 เมตร ใบใหญ่ สีขาว ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ ตามง่ามใบก้านดอก ลำต้นมักคดงอ เปลือกหนาสีเทา หรือน้ำตาลแดง ดอกเป็น ขาว 3-5 เซนติเมตร มีขนสาก กลีบรองกลีบดอกเป็นแผ่นโค้งแผ่นบางๆ มีขนตามกิ่งอ่อน อุ้มน้ำ กลีบดอกขาว บางรูปไข่กลับ หลุดง่าย ผลกลมใบรูปไข่แกมรูปหอก หรือรูปไข่กลับรีๆ ขนาดใหญ่ มีลักษณะอวบน้ำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-15 เซนติเมตร 7-12x15-30 เซนติเมตร ใบบางแผ่นใบเป็นคลื่นปลายใบกางเป็นติ่งแหลมสั้นๆ โคนใบเรียวหรือมน ขอบใบหยักฟันเลื่อย ท้องใบมีขนประปราย เส้นแขนงใบมี 30-40 คู่ ก้านใบยาว 4-5 เซนติเมตร โคนก้านใบเป็นกาบหุ้มกิ่งดอก

การขยายพันธุ์ ตอนกิ่ง และเพาะเมล็ด

ประโยชน์ มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราหรือการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ในตำราสรรพคุณยาโบราณ พบว่า มะตาด ต้านการชัก ลดระดับน้ำตาลในเลือด ยาระบาย แก้ปวดท้อง แก้ไอ ขับเสมหะ และถอนพิษไข้ (ชำนาญ, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ชมพู่น้ำดอกไม้

รูปที่ 2.4 ต้นชมพู่น้ำดอกไม้

(ที่มา: http://www.bloggang.com/data/jekyll-and-hyde/picture/1147490849.jpg)

ชื่อวงศ์ Myrtaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Syzygium jambos* (L.) Alston

ชื่ออื่นๆ มะน้ำหอม (ภาคเหนือ) น้ำดอกไม้ (ภาคใต้)

ลักษณะทั่วไป ไม้ต้น ไม่ผลัดใบ ขนาดเล็ก สูง 5-10 เมตร เปลือกต้นสีเทาปนน้ำตาลเรียบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ใบรูปขอบขนานแกมรูปใบหอก กว้าง 3-5 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร เส้นแขนงใบ 10-20 คู่ ปลายเส้นแขนงใบเชื่อมกับเส้นถัดไปก่อนถึงขอบใบ ดอกออกเป็นช่อตามกิ่งและปลายกิ่ง สีขาว สีเขียวอ่อน หรือสีเหลืองอ่อน ฐานรองดอกเป็นรูปกรวย มีเกสรเพศผู้จำนวนมาก ประมาณ 200 อัน เมื่อดอกบานคล้ายพู่ ออกดอกเกือบตลอดปี ผลเป็นผลสด รูปผลแพร์ สีเขียวอ่อน สีเหลืองชีด หรือสีเหลืองอมชมพู เนื้อผลฉ่ำน้ำ

การขยายพันธุ์ ตอนกิ่ง และเพาะเมล็ด

ประโยชน์ เปลือกต้นและเมล็ดเป็นสมุนไพรแก้เบาหวานและแก้ท้องเสีย ผลรับประทานเป็นผลไม้ ใช้ปรุงเป็นยาหอม ชูกำลัง บำรุงหัวใจ (ศูนย์วิจัยป่าไม้, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.5 สละ

รูปที่ 2.5 ต้นสละ

(ที่มา: http://158.108.70.5/kusbotanic/plant2544/151_sala.html)

ชื่อวงศ์ Palmae (Arecaceae)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Salaceae zalacca* (Gaertner) Voss.

ชื่อสามัญ Salak

ลักษณะทั่วไป สละเป็นไม้ตระกูลปาล์ม มีลำต้นหรือเหง้าค่อนข้างเตี้ยมีหน่อแตกเป็นกอ ทางใบยาวประมาณ 2 – 3 เมตร คล้ายกับหางมะพร้าว แต่มีหนามแข็งแหลมยาวเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น ต้องการน้ำตลอดปี ไม่ชอบแสงแดดจัด สละเป็นพืชผสมข้าม มีต้นตัวผู้และตัวเมียแยกคนละต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การขยายพันธุ์	การตัดชำลำต้นแก่หรือแยกหน่อจากต้นเพศเมียเท่านั้น
ประโยชน์	ผลรับประทานได้ (รุ่งนภา, 2550)

2.4 การสกัดแยกสารสำคัญจากพืช

พืชที่จะนำมาสกัดอาจอยู่ในรูปพืชสดหรือพืชแห้ง สิ่งที่ต้องคำนึงถึงประการแรกคือ ต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ให้ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่เก็บจากป่าอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย เนื่องจากพืชมีลักษณะคล้ายกัน หรือมีชื่อพ้องกัน นอกจากนี้หากเป็นพืชสมุนไพรที่หายากและขาดแคลนอาจมีการปลอมปน สำหรับพืชที่ได้จากการเพาะปลูกไม่ค่อยมีปัญหาในเรื่องนี้ และแน่ใจได้ว่าเป็นพืชที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ (รัตนา, 2547)

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างพืช (วันดี, 2536)

การเตรียมตัวอย่างพืชนับเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึง สิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่

1. การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้อง
2. ไม่มีพืชอื่นปน เพราะจะทำให้ได้สารแปลกปลอม ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้
3. ไม่มีโรคพืช ถ้าตัวอย่างที่เก็บมามีจุลินทรีย์ จุลินทรีย์อาจให้สารซึ่งถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่เราต้องการ นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชจึงได้สารที่แตกต่างออกไปจากธรรมชาติ
4. ความแตกต่างของสารสำคัญในพืช (Variation of plant constituents) ในการเก็บพืชแต่ละครั้งเพื่อนำมาสกัดสารสำคัญในพืช อาจแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างเนื่องจากสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก เป็นต้น
5. ผลของการเก็บรักษาและการเตรียมพืช (Effect of preserving and processing process) ในการทำพืชให้แห้งบางครั้งจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชเสียไป เช่น Thyme สดมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ แต่ถ้าตัวอย่างแห้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้จะหมดไป ในระหว่างกระบวนการทำแห้งเอนไซม์ในพืชจะยังมีฤทธิ์อยู่จนกว่าเซลล์จะตาย แม้แต่เมื่ออบแห้งแล้วเอนไซม์บางชนิดจะสูญเสียฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาไป เนื่องจากเอนไซม์ไกลโคซิเดส (Glycosidase) ในบางกรณีเราก็ต้องการให้เกิดการเปลี่ยนโดยเอนไซม์ในพืชเพื่อให้ได้สารที่ต้องการ เช่น การผลิตคาเฟอีน (Cafeine) จากธรรมชาติ ต้องอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) เพื่อเปลี่ยนแทนนิน (Tannin) เป็นโฟลบาฟีน (Phlobaphene) และคาเฟอีน ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นหลังจากทิ้งใบชาให้เกิดการหมัก (Fermentation) หรือขณะทำให้แห้ง

84000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้.

ในระหว่างการเก็บตัวอย่างพืชควรควบคุมให้มีปริมาณน้ำน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดการทำงานของเอนไซม์ อย่างไรก็ตามพวกยาสมุนไพรส่วนใหญ่เมื่ออบแล้วทิ้งไว้ก็อาจดูดความชื้นกลับเข้าไปได้อีก จึงอาจเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ที่พันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic linkage) ทำให้ปริมาณไกลโคไซด์ (Glycoside) ลดลง เช่นในกรณีของไกลโคไซด์ในมะขามแขก หรืออาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยออกซิเจนในอากาศโดยมากจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่อิ่มตัว (Unsaturation) ดังปฏิกิริยานี้

$$R\text{-}CH{=}CH\text{-}CH_3 \rightarrow RCH_2\text{-}CO\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}CHO \rightarrow R\text{-}COOH$$

2.4.2 การทำตัวอย่างพืชให้แห้ง

โดยทั่วไปแล้วการสกัดจะได้ผลดีเมื่อเราสามารถสกัดสารจากพืชสด โดยการนำเอาพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์เพื่อยับยั้งเอนไซม์เสียก่อน เป็นการป้องกันไม่ให้สารเคมีในพืชเกิดการเปลี่ยนแปลง จากนั้นจึงนำไปทำการสกัด หรือเก็บพืชสดมาแช่แอลกอฮอล์ระหว่างที่ยังไม่ได้สกัด แต่วิธีการเหล่านี้ไม่สะดวกและไม่เหมาะกับอุตสาหกรรม จึงจำเป็นต้องนำเอาตัวอย่างพืชสดมาทำให้แห้งก่อน วิธีทำแห้งโดยคงคุณภาพของตัวอย่างพืช ควรจะทำให้แห้งด้วยวิธีที่เร็วและใช้อุณหภูมิต่ำๆ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลงไปได้ การทำให้แห้งอาจจะทำได้โดย

1. Air Drying เป็นการทำให้แห้งในอากาศ อาจจะเป็นการทำให้แห้งในที่ร่ม (Shade drying) หรือนำมาตากแดด (Sun drying)

2. Artificial heat เป็นการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากพลังงานอื่น เช่น ไฟฟ้า ได้แก่ การทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบ ซึ่งจะเป็นการควบคุมอากาศที่ผ่านเข้าออกและอุณหภูมิ วิธีนี้จะดีกว่าวิธีแรก ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน

2.4.4 การแตกย่อยเนื้อเยื่อตัวอย่างพืช

เป็นขบวนการแตกย่อยเนื้อเยื่อของพืชให้มีขนาดเล็กลง เพื่อทำให้การสกัดสารสำคัญจากพืชได้ผลดี อาจทำได้หลายวิธี คือ

1. Mechanical method เป็นวิธีซึ่งอาศัยหลักการบดด้วยโกร่ง แต่เนื่องจากในทางอุตสาหกรรมต้องใช้บดตัวอย่างพืชจำนวนมาก จึงจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือที่เหมาะสม ได้แก่

1.1 ตัวอย่างพืชแห้งทำได้โดยการใช้เครื่องบดชนิด Driven hammer mill เมื่อบดแล้วนำมาแร่งด้วยตะแกรง (Sieve) เพื่อให้ได้ขนาดที่ต้องการ ตัวอย่างพืชบางชนิดอาจจำเป็นต้องทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้แห้งในเดสซิเคเตอร์ (Dessicator) ก่อน หรืออาจจะแช่แข็งก่อนบดก็ได้ แต่การบดด้วยวิธีนี้อาจทำให้เกิด

1.1.1 การเปลี่ยนแปลงของเซลลูโลส โดยทำให้หมู่รีดิวซ์ (Reducing group) เป็นอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้

1.1.2 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน

1.1.3 เกิดปฏิกิริยามิลลาร์ด (Millard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และโปรตีน ได้สารประกอบเชิงซ้อนซึ่งทำการแยกหรือย่อยได้ยาก

1.1.4 ชิ้นส่วนของเครื่องบดหลุดปนลงไปในตัวอย่างพืช ดังนั้นเครื่องบดควรจะมีส่วนที่ต้องสัมผัสกับตัวอย่างพืชที่ทำด้วยแก้ว เซรามิก หรือหินโมรา

1.2 ตัวอย่างพืชสด อาจจะทำได้โดยการหั่นโดยใช้มีด หรือบดด้วยเครื่องบดเนื้ออาจจำเป็นต้องใช้ทราย อะลูมินา ผสมเพื่อช่วยให้การบดง่ายและละเอียดขึ้น

1.3 Dilute suspention ใช้ Waring blender, sonic และ supersonic vibration เขย่ากับทราย หรืออัดด้วยแก๊ส แล้วทำให้แก๊สขยายตัวขึ้น

2. Enzymatic disintegration เป็นวิธีย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น เอนไซม์เซลลูเลส ย่อยเซลลูโลส หรือเอนไซม์เพคติเนส ย่อยเพคติน เป็นต้น

3. Chemical disintegration เป็นวิธีการย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้สารเคมี เช่น ใช้ Dimethyl formamide ทำให้เซลล์ chlorella แตก เป็นต้น สารเคมีที่ใช้นอกจากนี้ เช่น Cholic, deoxycholic acid, sodium dodecylsulfate, cetyltriammonium bromide, urea, pyridine และ phenol เป็นต้น

2.4.5 การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ แต่ละวิธีมีข้อดี และข้อจำกัด วิธีการสกัดเหล่านี้ ได้แก่

1. Maceration เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักตัวอย่างพืชกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ หรือโถที่ปิดสนิท เป็นต้น ทิ้งไว้ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง การสกัดถ้าจะสกัดให้หมดจด (Exhausted) อาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดี คือ สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากกระบวนการสกัดด้วยวิธีนี้จะใช้เวลาในการสกัดมาก จึงมีผู้ดัดแปลงใช้ Mixer หรือ Homogenizer มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออก การสกัดจึงเร็วขึ้น เรียกวิธีสกัดนี้ว่า Vortical (turbo) extraction ซึ่งต่อมาได้พัฒนาใช้ Ultrasound extraction โดยใช้เสียงที่มีความถี่สูงเกิน 20,000 Hz แต่การใช้เสียงช่วยในการสกัดอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นเพอร์ออกไซด์ (Peroxide) ซึ่งอาจมีผลต่อสารที่สกัด และยังอาจทำให้เกิดการออกซิเดชันต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้ Ultrasound จะเกิดช่องว่าง และมีอากาศเข้าไปแทรกในตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังอาจเพิ่มความเร็วในการสกัด โดยเพิ่มอุณหภูมิ แต่ต้องระวังการสลายตัวของสารสำคัญเช่นกัน และยังมีผู้พัฒนาใช้ Electrical discharge ในการช่วยทำให้เนื้อเยื่อแตก และช่วยในการสกัดให้เร็วขึ้น โดยกระแสไฟฟ้าจะทำให้ช่องว่าง และพลังงานเคลื่อนที่ด้วยความเร็วและแรงพอที่ทำให้เนื้อเยื่อแตกออก

2. Percolation เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Perculator นำตัวอย่างพืชมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยๆ บรรจุตัวอย่างพืชทีละน้อยเป็นชั้นลงใน Perculator เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือตัวอย่างพืชประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกโดยเติมตัวทำละลายเหนือตัวอย่างพืชอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปกรอง

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารในระดับอุตสาหกรรม ใช้ Perculator ต่อกันหลายๆ ตัว เรียกว่า Countercurrent-operated perculator baterry และมีการดัดแปลงวิธีการสกัดให้มีการเคลื่อนที่ของสารที่จะสกัด และตัวทำละลายเข้าหากัน เรียกว่า Countercurrent extraction

3. Soxhlet Extractor เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายใน flask ระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาใน Thimble ซึ่งบรรจุตัวอย่างพืชไว้ เมื่อตัวทำละลายใน Extracting chamber สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปใน Flask ด้วยวิธีกาลักน้ำ Flask นี้ได้รับความร้อนจาก Heating mantle หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไป ทิ้งสารสกัดไว้ใน Flask ตัวทำละลายเมื่อกระทบ Condenser จะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดใหม่วนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนด้วยจึงอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัว

4. Liquid-liquid Extraction เป็นการสกัดสารจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่ผสมกับตัวทำละลายชนิดแรกแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

4.1 Extraction lighter คือตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารเบากว่าตัวทำละลายสาร

4.2 Raffinate lighter คือตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารหนักกว่าตัวทำละลายสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การสกัดน้ำมันหอมระเหย

5.1 Resorption เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีดูดซับ โดยมากใช้สกัดกลีบดอกไม้ ซึ่งอาจทำได้โดย

5.1.1 Enfleurage เป็นวิธีการดูดซับโดยเรียงกลีบดอกไม้ลงไปบนขี้ผึ้งซึ่งเคลือบไว้บนแผ่นแก้ว เมื่อน้ำมันหอมระเหยถูกดูดซับแล้วให้รีบเปลี่ยนกลีบดอกไม้ แล้วจึงนำขี้ผึ้งไปสกัดน้ำมันหอมระเหยอีกครั้งหนึ่ง

5.1.2 นำกลีบดอกไม้ไปต้มกับไขมันที่อุณหภูมิต่ำๆ แล้วกรองเอากลีบดอกไม้ออก นำไขมันไปสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

5.2 Solvent Extraction เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น สกัดน้ำมันกานพลูโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์

5.3 Mechanical Expression เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีบีบ เช่น นำเปลือกผลส้มไปบีบจะได้ Water –in-oil emulsion ซึ่งแยกน้ำมันหอมระเหยออกด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation)

5.4 Steam Distillation เป็นการกลั่นโดยใช้ไอน้ำ โดยผ่านไอน้ำไปบนตัวอย่างพืชซึ่งบรรจุไว้ใน Flask พร้อมกับไอน้ำ ไอน้ำจะพาเอาน้ำมันหอมระเหยไปยัง Condenser แล้วกลั่นตัวเป็นของเหลว เมื่อทิ้งไว้น้ำมันจะแยกตัวออกจากน้ำ

5.5 Water Distillation เป็นวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างพืชโดยต้มกับน้ำ เมื่อน้ำและน้ำมันหอมระเหยระเหยขึ้นไปถึง Condenser จะกลั่นตัว แล้วจึงนำของเหลวที่ได้ไปแยกน้ำมันหอมระเหยจากชั้นน้ำ เครื่องมือที่ใช้คือ Clevencaur's apparatus ซึ่งมีชนิดสำหรับน้ำมันหอมระเหยซึ่งหนักกว่าน้ำ และสำหรับน้ำมันหอมระเหยที่เบากว่าน้ำ

6. Extraction by Thermomicrodistillation เป็นการสกัดสารโดยใช้เครื่องมือ Thermomicro Analysis and Seperation Ovens (TAS oven) เป็นการสกัดสารขนาดน้อยมาก นำสารใส่ลงใน Cartridge ซึ่งข้างหนึ่งปิดให้สนิท ส่วนอีกข้างหนึ่งเป็น Capillaries เมื่อใส่เข้าใน Oven ความร้อนจะทำให้สารระเหย หรือระเหิดออกทาง Capillaries รองรับสารที่ระเหยหรือระเหิดออกมาด้วยแผ่น TLC แล้วนำไปตรวจสอบอีกครั้ง

2.5 การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช (วันดี, 2536)

ในการสกัดจะได้ผลดีอยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติ

1. เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดีพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป
3. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด
4. ไม่เป็นพิษ
5. ราคาไม่แพง

และในการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ต่อไปนี้ คือ

1. สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน
2. ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด ขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด
3. แรง (Force) แรงซึ่งเกี่ยวข้องในการละลายที่สำคัญ คือ

3.1 Dispersion force เป็นแรงที่เกิดจาก Transient charger induced ในโมเลกุล พวกตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะประกอบด้วยโมเลกุลซึ่งเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ ทำให้พวกสารที่ไม่มีขั้วเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างโมเลกุลได้ง่าย

3.2 Dipole-dipole force เป็นแรงที่พบในตัวทำละลายที่มีขั้วเกิดการเหนี่ยวนำโมเลกุลเกิดเป็นขั้วบวก และขั้วลบ ทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายที่มีขั้วจับกันแน่น พวกสารที่ไม่มีขั้วจะแทรกเข้าไปได้ยาก

3.3 H-bonding สารที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับตัวทำละลายได้ดีก็จะละลายได้ดี สารที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้แบ่งออกเป็น

3.3.1 สารที่มี Active hydrogen แต่ไม่มี Donor atom เช่น $CHCl_3$

3.3.2 สารที่มี Donor atom แต่ไม่มี Active hydrogen

3.3.3 สารที่มีทั้ง Donor atom และ Active hydrogen

3.3.4 สารที่สามารถจับตัวต่อเนื่องเป็นร่างแห เกิดเป็นโมเลกุลใหม่ (Network of bonding) ได้แก่ น้ำ โพลีฟีนอล และกรดไฮดรอกซี เป็นต้น

โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายที่มีขั้วเหมาะกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะสมกับสารที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายทีมีขั้วและไม่มีขั้ว อาจทำให้การละลายดีขึ้น เช่น กรดสามารถละลายได้ทั้งในเอทานอล อะซิโตน

บางครั้งการเลือกใช้ตัวทำละลายอาจจะอาศัยการพิจารณาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร เช่น ß-amyrene, ß-amyrin และ Oleanolic acid มีสูตรโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน แต่การละลายจะแตกต่างกัน คือ ß-amyrene จะละลายดีในเฮกเซนเพราะเป็นสารไม่มีขั้ว ß-amyrin ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เพิ่มขึ้นจะละลายได้ดีในคลอโรฟอร์มและอีเทอร์ เพราะมีขั้วเพิ่มขึ้น ส่วน Oleanolic acid มีทั้งหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) และหมู่ไฮดรอกซิล จึงต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้น เช่น เอทธิลอะซิเตต และอะซิโตน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวทำละลายอาจจัดเรียงตามลำดับความมีขั้วจากน้อยไปมาก ดังนี้

Cyclohexane, carbon tetrachloride, benzene, ether, chloroform, acetone, ethyl acetate, ethanol, methanol, น้ำ, กรด และ เบส

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ คือ

1. คลอโรฟอร์ม เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มี Selectivity น้อย เกิดอิมัลชันง่าย ถ้าใช้สกัดสารที่เป็นด่างแก่ อาจจะสลายตัวให้กรดเกลือ

2. อีเทอร์ มีความสามารถในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่มี Selectivity ดีกว่าคลอโรฟอร์ม ข้อเสีย คือ ระเหยง่าย ระเบิดง่าย เกิดออกไซด์ได้ง่าย และดูดน้ำได้มาก

3. เฮกเซน เหมาะสำหรับสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากตัวอย่างพืช มีราคาถูก

4. แอลกอฮอล์ นิยมใช้เมทานอล และเอทานอล เป็น All process solvent เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างมาก และยังใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชด้วย

2.6 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (วันดี, 2536)

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรและความเจือจางมาก จึงจำเป็นต้องทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี คือ

2.6.1 การระเหย (Free evaporation) คือ การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water bath) หรือ Hot plate บางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วยเพื่อให้ระเหยได้ดีขึ้น

2.6.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ Vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ Distillation flask, condenser และ receive flask โดย distillation flask จะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำ เพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ เครื่องมือที่ดีต้องมีระบบทำสุญญากาศที่ดี ระยะระหว่าง distillation flask และ condenser สั้น และมีระบบทำความเย็นที่ดี

2.6.3 การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นการสกัดด้วยน้ำใช้ Lyophilizer หรือ Freeze dryer แต่ถ้าเป็นตัวทำละลายอื่น เฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่จะแข็ง ซึ่งเราแยกจากสารสกัดที่เข้มข้นได้โดยการปั่นเหวี่ยง

2.6.4 อัลตราฟิวเตรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยน้ำโดยการใช้เมมเบรน (Membrane) ซึ่งใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี

3.1.1 เฮกเซน (Hexane, C_6H_{14})

3.1.2 ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane, CH_2Cl_2)

3.1.3 เมทานอล (Methanol, CH_3OH)

3.1.4 ไอโซโพรพานอล (2-Propanal)

3.1.5 เอทานอล (Ethanol AR grade, Merck, Germany)

3.1.5 เมทานอล (Methanol AR grade, Merck, Germany)

3.1.6 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (DPPH, D9132-1G, Sigma, USA.)

3.1.7 เคอร์ซิทิน (Quercetin dehydrate minimum 98% HPLC, Q0125-10G, Sigma, USA.)

3.1.8 3,4-ไดไฮดรอกซี-แอล-ฟีนิลอลานีน (L-DOPA, D9628-5G, Sigma, USA.)

3.1.9 เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase from mushroom 2033 Units/mg, No.93898, Fluka, Switzerland)

3.1.10 กรดโคจิก (Kojic acid, K3125-5G, Sigma, USA.)

3.1.11 โมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (NaH_2PO_4)

3.1.12 ไดเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

3.1.13 ไดเมทิลซัลฟ็อกไซด์ (DMSO)

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 ตู้อบลมร้อน (No. 8100, บริษัท Contherm, New Zealand)

3.2.2 เครื่องชั่งสารความละเอียด 4 ตำแหน่ง (AR2140, บริษัท Ohaus, Germany)

3.2.3 เครื่องปั่น (บริษัท Phillips)

3.2.4 ขวดโหลแก้วทรงสูง (สำหรับหมักตัวอย่าง)

3.2.5 แท่งแก้วคนสาร

3.2.6 กระบอกตวงขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร (บริษัท Pyrex, USA)

3.2.7 กรวยกรองพลาสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.8 กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

3.2.9 ชุดกรองสุญญากาศ (บริษัท Pyrex, USA)

3.2.10 บีกเกอร์ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร (บริษัท Pyrex, USA)

3.2.11 ขวดสีชาขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.12 เครื่องกำเนิดคลื่นเสียง (Sonicator) (บริษัท GAST, USA)

3.2.13 หลอดทดลอง (บริษัท Pyrex, USA)

3.2.14 จานพลาสติกเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 หลุม (96 wells microplate) (Costar 3590, บริษัท Corning incorporated, USA)

3.2.15 ทิป (บริษัท QSP, USA)

3.2.16 ไมโครปิเปต (บริษัท Gilson, France)

3.2.17 หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ 1.5 มิลลิลิตร (บริษัท Axygen, USA)

3.2.18 ชุดคิวเวตควอทซ์

3.2.19 กระดาษฟลอยด์

3.2.20 ช้อนตักสารขนาดเล็ก

3.2.21 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (pH510, EUTech)

3.2.22 เครื่องผสมสาร (Vortex)

3.2.23 เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator laboratory 4001, Heidolph, Germany)

3.2.24 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, รุ่น Helios alpha 9423, Thermo Scientific, England)

3.2.25 เครื่อง Microplate reader (Microplate reader 1401, Labsystems iEMS)

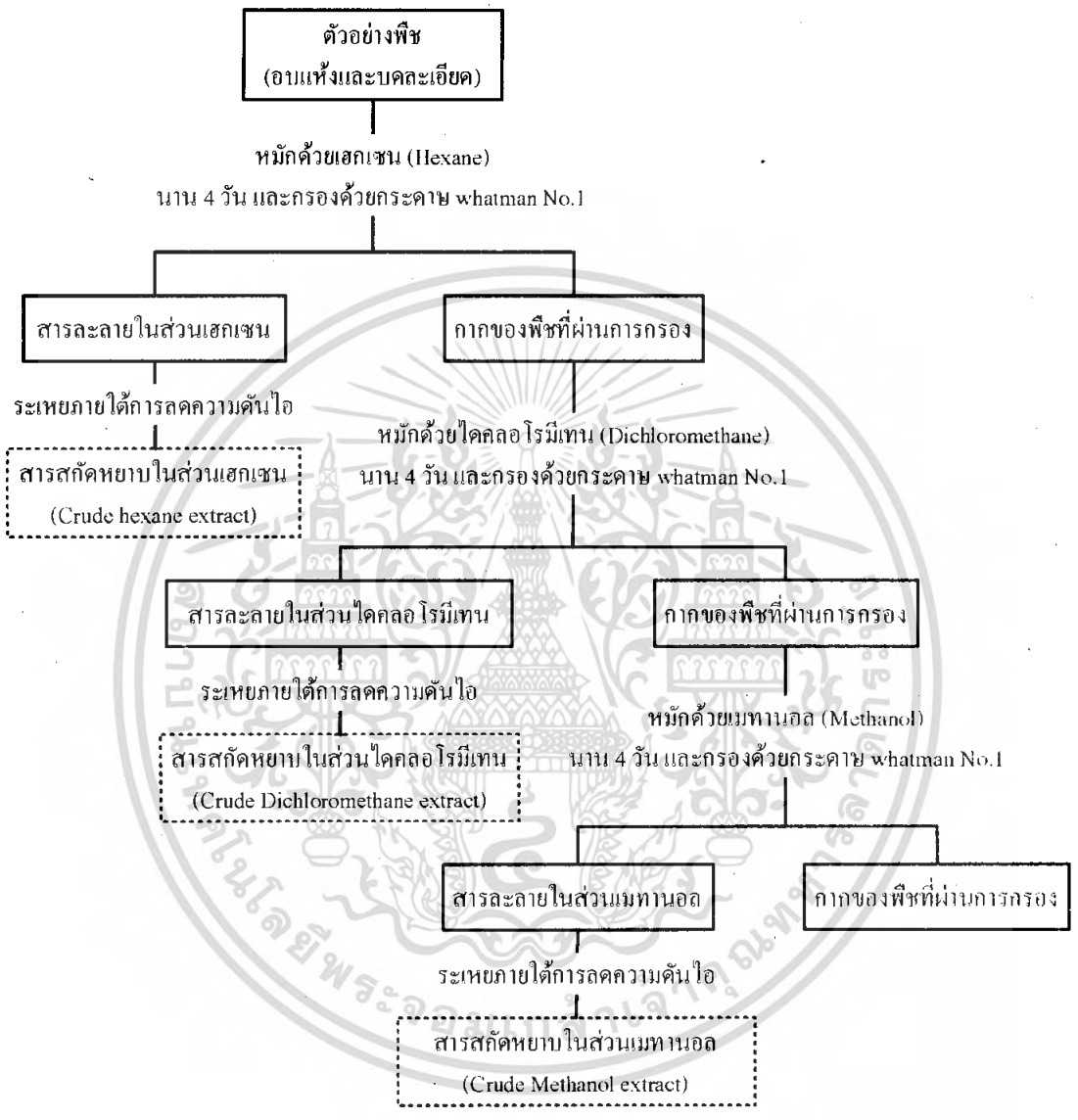
3.3 การเตรียมตัวอย่างพืชแห้ง

นำตัวอย่างส่วนเนื้อไม้ของต้นมะขามเทศ ต้นมะตาด ต้นมะม่วง ต้นชมพู่ และเมล็ดของสละ มาทำให้แห้งด้วยการอบในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนของพืชที่แห้งไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (ส่วนของเมล็ดสละควรใช้ของแข็งทุบให้แหลกแล้วค่อยปั่นด้วยเครื่องปั่นอีกครั้ง) และชั่งน้ำหนักหลังอบแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบจากพืช เพื่อใช้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาหมัก (Macerate) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความเป็นขั้ว ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.1 ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Free Radical Scavenging Activity Assay (Yamasaki, 1994)

3.5.1 การเตรียมสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์)

ชั่ง DPPH 1.6 มิลลิกรัมละลายในเอทานอลหรือเมทานอล (ตามความเหมาะสมของแต่ละการทดลอง) 20 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องกำเนิดคลื่นเสียง (Sonicator) ช่วยในการละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 30 นาที นำมากรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 อย่างรวดเร็ว จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ควรเก็บให้พ้นแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.5.2 ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบในแต่ละส่วนที่สกัดได้ของพืชทั้งหมดตามข้อ 3.4 เจือจางในตัวทำละลายที่เหมาะสมความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้มีความเข้มข้นของสาร 10 ระดับ ได้แก่ 5×10^{-1}, 5×10^{-2}, 5×10^{-3}, 5×10^{-4}, 5×10^{-5}, 5×10^{-6}, 5×10^{-7}, 5×10^{-8}, 5×10^{-9} และ 5×10^{-10} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร (อัตราส่วน 1:1) ลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายที่ได้แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยมีตัวทำละลายที่เหมาะสมของแต่ละการทดลอง (แทนสารตัวอย่าง) เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) มีเคอร์เซทินที่ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และมีตัวทำละลายนั้นๆ เป็นแบลงค์ (Blank) รายงานผลที่ได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับผลของตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control)

หมายเหตุ 1. สารสกัดหยาบในส่วนเฮกเซน ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

2. สารสกัดหยาบในส่วนไดคลอโรมีเทน ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3. สารสกัดหยาบของมะม่วง มะขามเทศ และชมพู่ในส่วนเมทานอล ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

4. สารสกัดหยาบของมะตาด และเมล็ดสละในส่วนเมทานอล ใช้เมทานอลกับไดเมทิลซัลฟ็อกไซด์ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลาย

3.5.3 การคำนวณร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging) ทำการคำนวณโดยสมการต่อไปนี้

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

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากทำการบ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากทำการบ่ม

สำหรับการประเมินค่า IC_{50} ของสารที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ทำได้โดยการเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระที่ได้จากการคำนวณ จากนั้นหาค่า IC_{50} ได้เมื่อวิเคราะห์ผลจากกราฟ

3.6 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (บุญชู, 2545)

3.6.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ทำการเตรียมสารละลาย ก และ ข ดังนี้

สารละลาย ก : สารละลายของโมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (ชั่ง $NaH_2PO_4.2H_2O$ ปริมาณ 312 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร)

สารละลาย ข : สารละลายไดเบสิก โซเดียมฟอสเฟต (ชั่ง Na_2HPO_4 ปริมาณ 284 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร) จากนั้นทำการผสมให้เข้ากัน แล้วปรับพีเอชเท่ากับ 6.8 โดยถ้าพีเอชต่ำกว่า 6.8 ต้องเติมสารละลาย ข ลงไป หรือถ้าพีเอชสูงกว่า 6.8 ต้องเติมสารละลาย ก ลงไป จนได้พีเอชเท่ากับ 6.8

3.6.2 การเตรียมสารละลาย L-DOPA ความเข้มข้น 0.85 มิลลิโมลาร์

ชั่ง L-DOPA 0.8 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (จากข้อ 3.6.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.6.3 การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 480 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

ชั่งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Mushroom tyrosinase 2033 Units/mg) 1.18 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (จากข้อ 3.6.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.6.4 ขั้นตอนการทดสอบ

นำสารสกัดหยาบในแต่ละส่วนที่ได้จากข้อ 3.4 ปริมาณ 5 มิลลิกรัม ละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยตัวทำละลายจนได้ค่าความเข้มข้นที่ 1,000, 500, 100, 50, 10, 5, 1 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยในแต่ละหลุมทำการเติมสารต่างๆ ดังนี้ (รูปที่ 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลุม A (ชุดควบคุม)	สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 480 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 140 ไมโครลิตร และตัวทำละลาย ปริมาตร 20 ไมโครลิตร
หลุม B (แบลงค์ของชุด A)	สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 160 ไมโครลิตร และตัวทำละลาย ปริมาตร 20 ไมโครลิตร
หลุม C (ชุดสารตัวอย่าง)	สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 480 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 140 ไมโครลิตร และสารตัวอย่างที่เจือจางในแต่ละความเข้มข้นด้วยตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร
หลุม D (แบลงค์ของชุด C)	สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 160 ไมโครลิตร และสารตัวอย่างที่เจือจางในแต่ละความเข้มข้นด้วยตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร

ทำการบ่มสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA ความเข้มข้น 0.85 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้กรดโคจิกเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และสารละลายที่เป็นตัวทำละลายเป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control)

<u>หมายเหตุ</u> 1. สารสกัดหยาบในส่วนเฮกเซน ใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย

2. สารสกัดหยาบในส่วนไดคลอโรมีเทน ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3. สารสกัดหยาบในส่วนเมทานอล ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

D (แบลงค์ของชุดตัวอย่าง) 3 ซ้ำ

C (ชุดของสารตัวอย่าง) 4 ซ้ำ

µg/mL											
1000	D1	D2	D3		C1	C2	C3	C4			
500										B1	
100										B2	
50										B3	
10										A1	
5										A2	
1										A3	
0.5										A4	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

รูปที่ 3.2 ตำแหน่งการเติมชุดทดสอบลงใน 96 well microplate

3.6.5 การคำนวณร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส คำนวณได้ดังนี้

$$\%\text{Tyrosinase inhibition} = \frac{[(A-B)-(C-D)]}{A-B} \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ในชุดที่ไม่ได้เติมสารตัวอย่าง (ชุดควบคุม)

B = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ในชุดที่ไม่ได้เติมสารตัวอย่าง และสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส (แบลงค์ของชุดควบคุม)

C = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ในชุดที่มีการเติมสารตัวอย่าง (ชุดของตัวอย่าง)

D = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ในชุดที่มีการเติมสารตัวอย่าง แต่ไม่เติมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส (แบลงค์ของชุดตัวอย่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.6 การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ไทโร-ซิเนสได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (Inhibitory Concentration 50, IC_{50})

สำหรับการประเมินค่า IC_{50} ของสารที่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำได้โดยการเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่ได้จากการคำนวณ จากนั้นสามารถหาค่า IC_{50} ได้เมื่อวิเคราะห์ผลจากกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

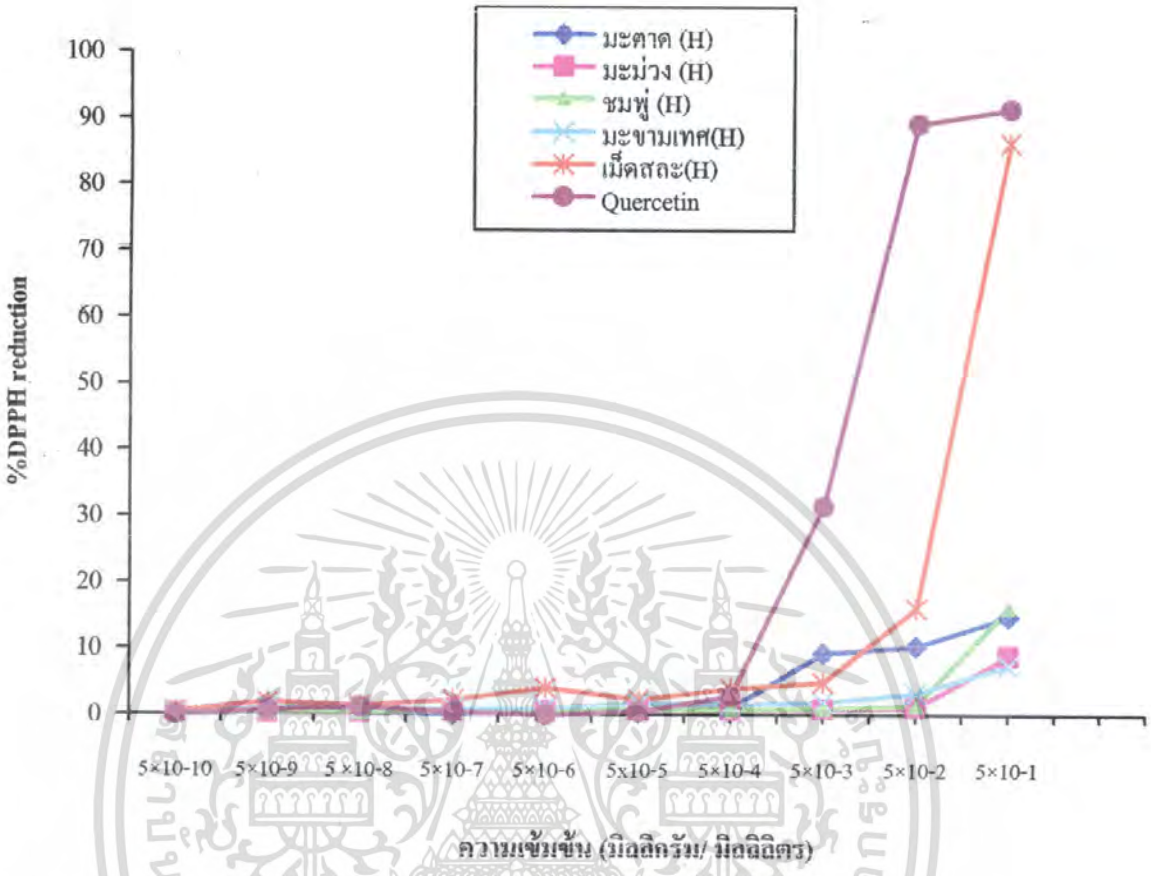
4.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทย

เมื่อนำพืชตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มะม่วง มะตาด ชมพู่ มะขามเทศ และเมล็ดสละ ที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ตามลำดับความเป็นขั้ว จนได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน ชั้นไดคลอโรมีเทน และชั้นเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging

4.1.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่าง

สารสกัดหยาบของพืชตัวอย่างที่นำมาทดลองทุกชนิดในส่วนของเฮกเซนสามารถละลายได้ในเอทานอล (AR grade) โดยนำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมาเจือจางความเข้มข้นด้วยเอทานอลให้ได้ ระดับความเข้มข้นที่ 5×10^{-1} - 5×10^{-10} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ละลายในเอทานอลเช่นเดียวกัน ในอัตราส่วนของสารตัวอย่างต่อสารละลาย DPPH เท่ากับ 1:1 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมีเอทานอล (แทนสารตัวอย่าง) เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) มีเคอร์เซทินที่ละลายในเอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และมีเอทานอลเป็นแบลงค์ (Blank) ได้ผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากเนื้อไม้ของต้นมะตาด มะม่วง ชมพู่ และมะขามเทศ ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดในการทดลอง (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.88, 8.97, 16.21 และ 7.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ ส่วนสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนของเมล็ดสละ แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ 86.43 เปอร์เซ็นต์ ในระดับความเข้มข้นสูงสุด (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.61×10^{-1} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารมาตรฐานเคอร์เซทิน(Quercetin) แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ 91.57 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.99×10^{-3} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (รูปที่4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



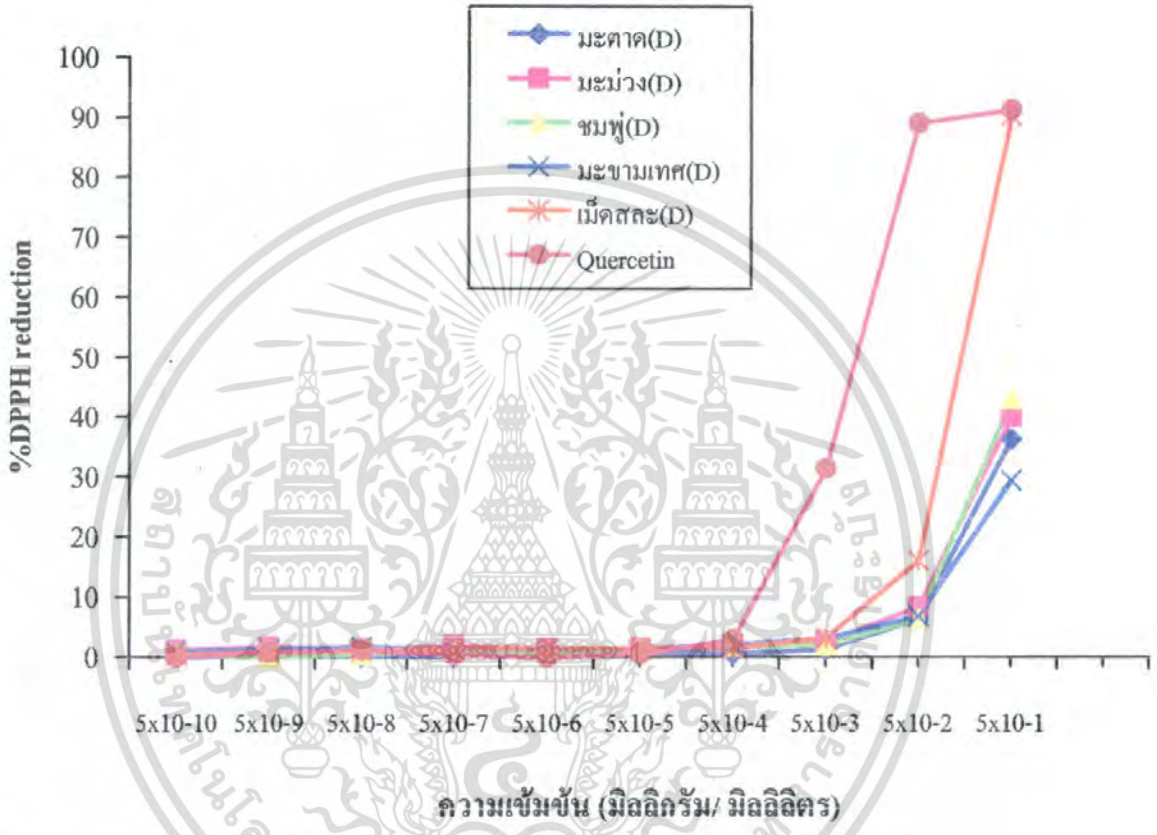
รูปที่ 4.1 ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิดในส่วนเฮกเซน เมื่อเปรียบเทียบกับเคอร์เซทินที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

4.1.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่าง

สารสกัดหยาบของพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิดในส่วนของไดคลอโรมีเทนสามารถละลายในเอทานอลในการเตรียมสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น เมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ละลายในเอทานอลแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังตารางที่ 4.2 โดยค่า ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดสละในส่วนไดคลอโรมีเทนมีค่าเท่ากับ 90.62เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเคอร์เซทิน คือ 91.57 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่างชนิดอื่นที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดมีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของแต่ละชนิดของสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟ (รูปที่ 4.2) เพื่อหาค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดสละในส่วนไดคลอโรมีเทนมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.32×10^{-1} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งน้อยกว่าค่า IC_{50} ของเคอร์เซทินที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ $8.99x10^{-3}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดหยาบของพืชชนิดอื่นนั้นไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้เนื่องจากความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลองให้ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์



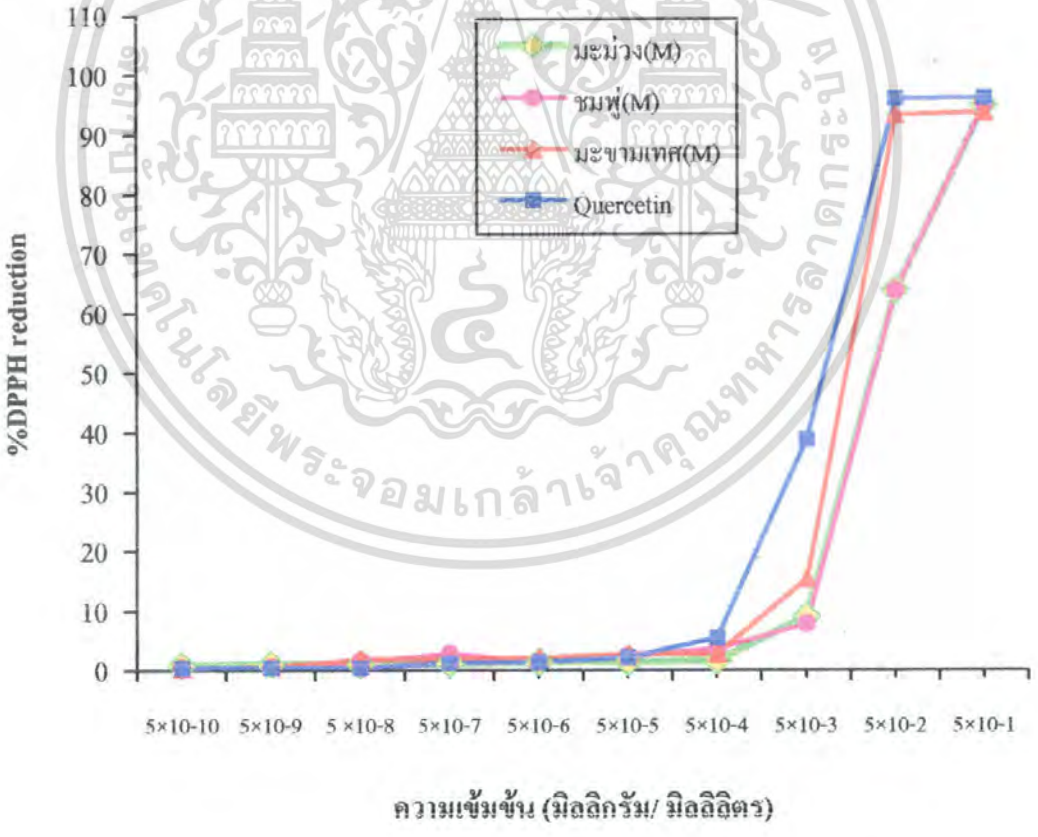
รูปที่ 4.2 ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิดในส่วนไดคลอโรมีเทน เมื่อเปรียบเทียบกับเคอร์เซทิน

4.1.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่าง

สารสกัดหยาบในส่วนของเมทานอลของพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายที่แตกต่างกันคือ สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ของต้นชมพู่ มะม่วง และมะขามเทศ สามารถละลายได้ในเมทานอลได้หมด แต่ในส่วนของสารสกัดหยาบของต้นมะตาด และเมล็ดสละ ต้องละลายในสารละลายผสมระหว่างเมทานอลและไดเมทิลซัลฟ็อกไซด์ (DMSO) ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นทำการเจือจางด้วยตัวทำละลายนั้นๆ จากตารางที่ 4.3 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลของต้นชมพู่ มะม่วง และมะขามเทศ แสดงค่าร้อยละของการดักจับ

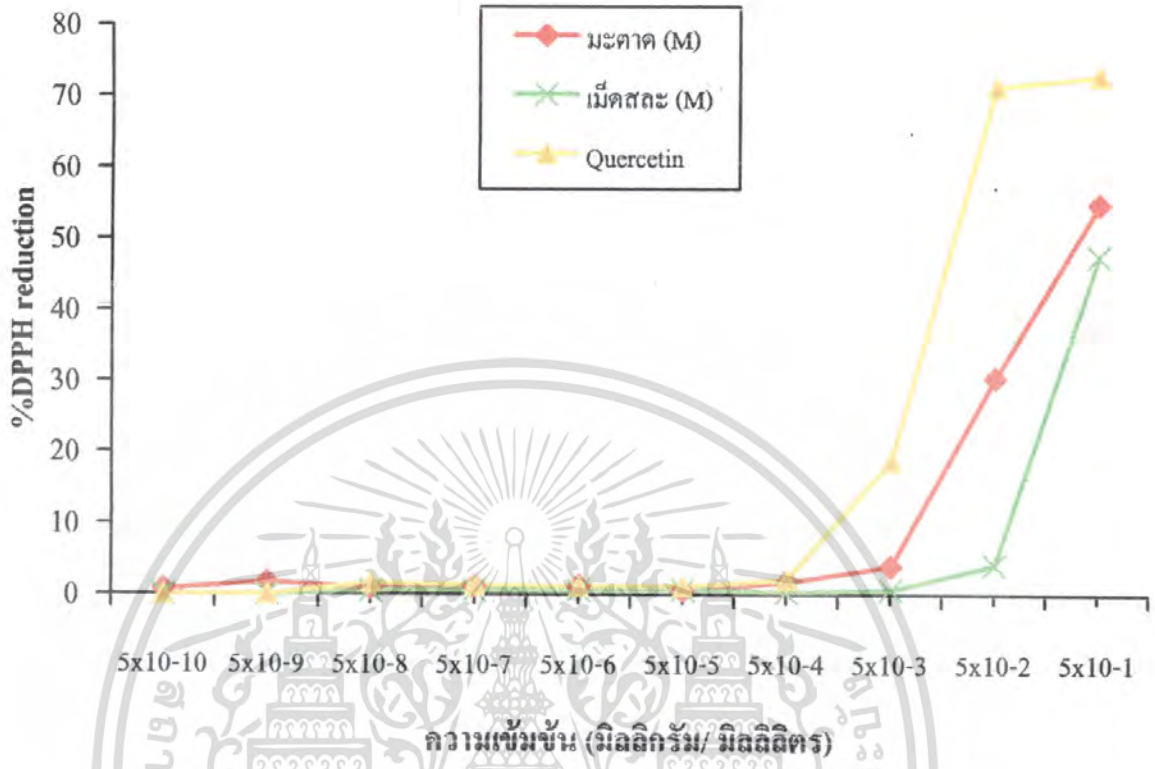
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลอิสระในระดับสูง คือ 95.22, 94.92 และ 93.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับเคอร์เซทินที่มีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ เท่ากับ 96.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ $6.01x10^{-3}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลของต้นมะม่วงมีค่า IC_{50} เท่ากับ $2.16x10^{-2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบของต้นชมพู่มีค่า IC_{50} เท่ากับ $2.13x10^{-2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบของต้นมะขามเทศมีค่าเท่ากับ $1.02x10^{-2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.3(ก)) ส่วนสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของเมล็ดสละ และต้นมะตาดมีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ 47.54 และ 54.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเคอร์เซทินที่เท่ากับ 72.78 เปอร์เซ็นต์ โดยค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของต้นมะตาดเท่ากับ $4.33x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า IC_{50} ของเคอร์เซทินเท่ากับ $3.07x10^{-2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.3(ข))



รูปที่ 4.3(ก) ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล จากพืชตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับเคอร์เซทินในตัวทำละลายเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3(ข) ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นมะตาด และเมล็ดสละ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายผสมของเมทานอล และ DMSO (อัตราส่วน 1:1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินโดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร และค่า %DPPH reduction ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด											
	มะตาด (100% ethanol)		มะม่วง (100% ethanol)		ชมพู่ (100% ethanol)		มะขามเทศ (100% ethanol)		เม็ดสละ (100% ethanol)		Quercetin (100% ethanol)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Negative control	1.163	-	1.159	-	1.160	-	1.126	-	1.135	-	1.139	-
$5x10^{-1}$	0.990	14.88	1.055	8.97	0.972	16.21	1.042	7.46	0.154	86.43	0.096	91.57
$5x10^{-2}$	1.042	10.40	1.146	1.12	1.143	1.47	1.089	3.29	0.951	16.21	0.112	89.29
$5x10^{-3}$	1.054	9.37	1.149	0.86	1.148	1.03	1.104	1.95	1.079	4.93	0.780	31.52
$5x10^{-4}$	1.151	1.03	1.151	0.69	1.151	0.78	1.107	1.69	1.090	3.96	1.106	2.90
$5x10^{-5}$	1.155	0.69	1.151	0.69	1.150	0.86	1.106	1.78	1.109	2.29	1.133	0.53
$5x10^{-6}$	1.155	0.69	1.153	0.52	1.153	0.60	1.114	1.07	1.089	4.05	1.139	0.00
$5x10^{-7}$	1.162	0.09	1.153	0.52	1.153	0.06	1.115	0.98	1.110	2.20	1.135	0.35
$5x10^{-8}$	1.158	0.43	1.156	0.26	1.157	0.26	1.116	0.89	1.120	1.32	1.126	1.14
$5x10^{-9}$	1.160	0.26	1.157	0.17	1.157	0.26	1.114	1.07	1.113	1.94	1.131	0.70
$5x10^{-10}$	1.163	0.00	1.157	0.17	1.158	0.17	1.124	0.18	1.129	0.53	1.140	0.00

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินโดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร และค่า %DPPH reduction ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด											
	มะตาด (100% ethanol)		มะม่วง (100% ethanol)		ชมพู่ (100% ethanol)		มะขามเทศ (100% ethanol)		เม็ดสละ (100% ethanol)		Quercetin (100% ethanol)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Negative control	1.115	-	1.138	-	1.116	-	1.138	-	1.120	-	1.139	-
$5x10^{-1}$	0.708	36.50	0.680	40.25	0.633	43.28	0.801	29.61	0.105	90.62	0.096	91.57
$5x10^{-2}$	1.044	6.37	1.042	8.44	1.045	6.36	1.059	6.94	0.939	16.16	0.122	89.29
$5x10^{-3}$	1.101	1.26	1.109	2.55	1.093	2.06	1.102	3.16	1.084	3.21	0.780	31.52
$5x10^{-4}$	1.109	0.54	1.115	2.02	1.096	1.79	1.114	2.11	1.084	1.52	1.106	2.90
$5x10^{-5}$	1.106	0.81	1.122	1.41	1.102	1.25	1.122	1.41	1.103	1.52	1.133	0.53
$5x10^{-6}$	1.112	0.27	1.122	1.41	1.108	0.72	1.123	1.32	1.104	1.43	1.139	0.00
$5x10^{-7}$	1.113	0.18	1.116	1.93	1.101	1.34	1.123	1.32	1.104	1.43	1.135	0.35
$5x10^{-8}$	1.114	0.09	1.123	1.32	1.111	0.45	1.118	1.76	1.106	1.17	1.126	1.14
$5x10^{-9}$	1.111	0.36	1.119	1.67	1.116	0.00	1.123	1.32	1.110	0.89	1.131	0.70
$5x10^{-10}$	1.115	0.00	1.124	1.23	1.111	0.45	1.127	0.97	1.117	0.27	1.140	0.00

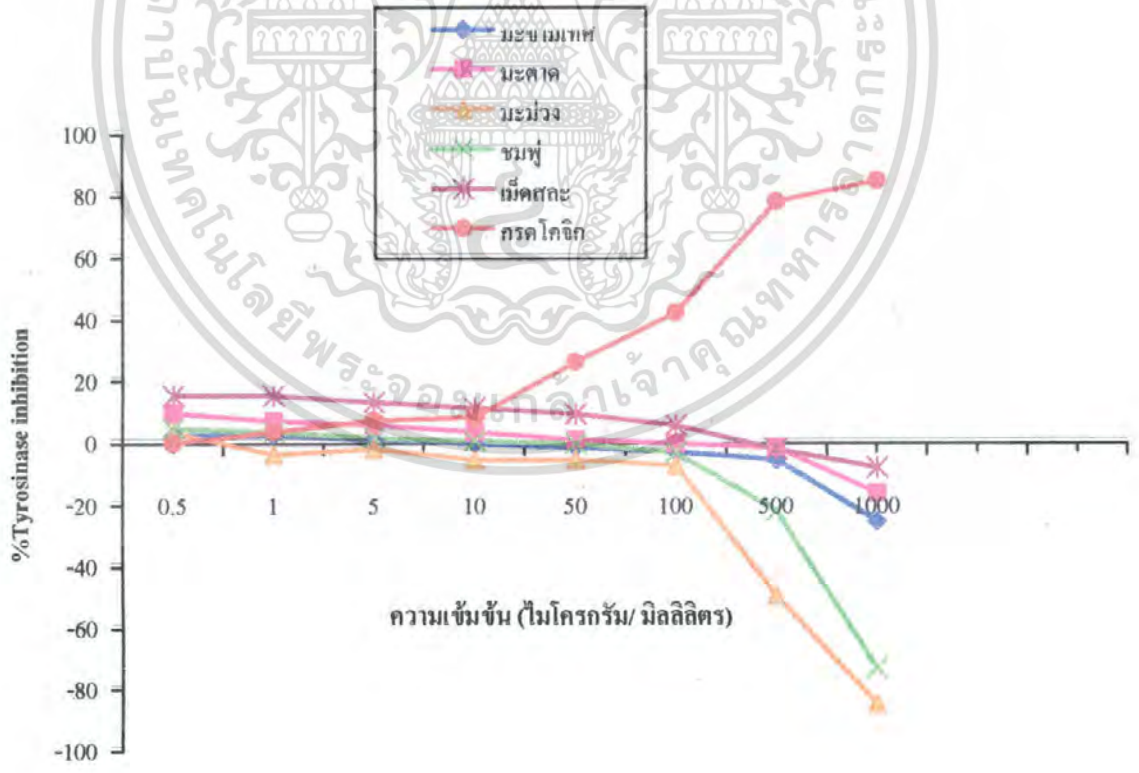
ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินโดยมีเมทานอลและเมทานอลกับสารละลาย DMSO (อัตราส่วน 1:1) เป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร และค่า %DPPH reduction ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด													
	มะม่วง (100% methanol)		ชมพู่ (100% methanol)		มะขามเทศ (100% methanol)		Quercetin (100% methanol)		มะตาด (MeOH+DMSO)		เม็ดสละ (MeOH+DMSO)		Quercetin (MeOH+DMSO)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Negative control	1.062	-	1.045	-	1.057	-	1.040	-	1.609	-	1.563	-	1.565	-
$5x10^{-1}$	0.054	94.92	0.050	95.22	0.066	93.76	0.039	96.25	0.727	54.82	0.820	47.54	0.426	72.78
$5x10^{-2}$	0.384	63.84	0.379	63.73	0.070	93.38	0.041	96.06	1.118	30.52	1.497	4.22	0.449	71.31
$5x10^{-3}$	0.965	9.13	0.964	7.75	0.895	15.33	0.636	38.85	1.544	4.04	1.552	0.70	1.270	18.85
$5x10^{-4}$	1.045	1.60	1.007	3.64	1.027	2.84	0.983	5.48	1.580	1.80	1.558	0.32	1.531	2.17
$5x10^{-5}$	1.047	1.41	1.020	2.39	1.028	2.74	1.017	2.21	1.599	0.62	1.551	0.77	1.547	1.15
$5x10^{-6}$	1.047	1.41	1.030	1.44	1.034	2.18	1.025	1.44	1.588	1.30	1.551	0.77	1.547	1.15
$5x10^{-7}$	1.049	1.22	1.016	2.78	1.037	1.89	1.027	1.25	1.590	1.18	1.553	0.64	1.539	1.66
$5x10^{-8}$	1.050	1.13	1.029	1.53	1.038	1.80	1.035	0.48	1.595	0.87	1.554	0.58	1.543	1.40
$5x10^{-9}$	1.050	1.13	1.039	0.57	1.050	0.66	1.035	0.48	1.581	1.74	1.566	0.00	1.568	0.00
$5x10^{-10}$	1.053	0.85	1.040	0.48	1.054	0.28	1.036	0.38	1.598	0.68	1.566	0.00	1.568	0.00

4.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทย

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่าง

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากต้นมะขามเทศ มะตาด มะม่วง ชมพู่ และเมล็ดสละ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก โดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย นำมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไทโรซิเนสและ L-DOPA ตามลำดับ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ที่เวลา 20 นาที ได้ผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนของพืชตัวอย่างทุกชนิด แสดงค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ และพบการตกตะกอนกลับของสารสกัดหยาบในระดับความเข้มข้นสูงๆ ทำให้ค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่ได้มีค่าติดลบ ในขณะที่สารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) แสดงค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 84.90 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 111.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.4)

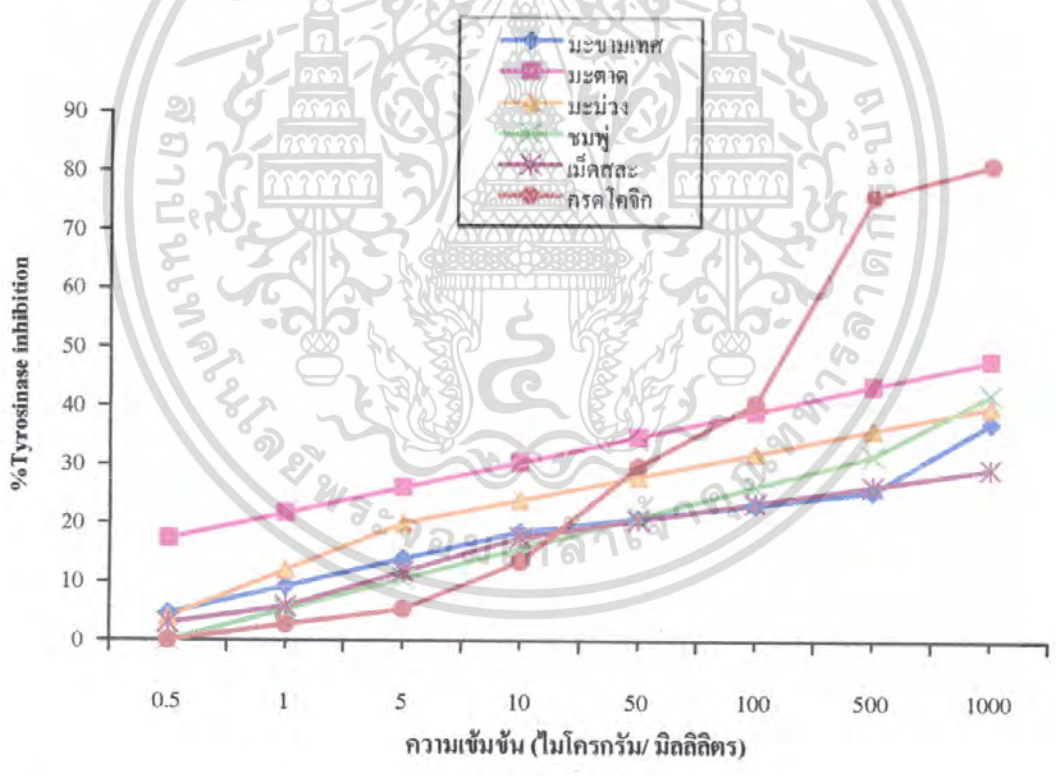


รูปที่ 4.4ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่าง

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่าง เทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 4.5 พบว่าสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของต้นมะขามเทศ มะตาด มะม่วง ชมพู่ และเมล็ดสละ มีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดในการทดลอง (1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือที่ 37.21, 47.82, 40.00, 42.10 และ 29.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ ในขณะที่สารมาตรฐานกรดโคจิกแสดงค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 81.08 เปอร์เซ็นต์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 122.48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.5

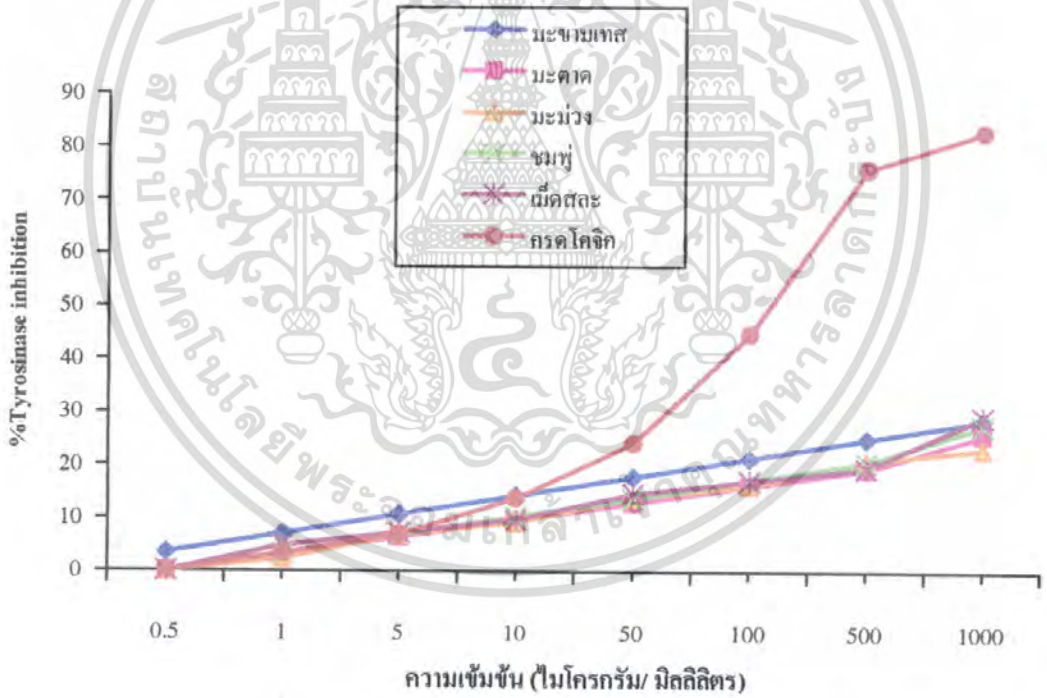


รูปที่ 4.5 ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน จากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่าง

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ได้ผลดังตารางที่ 4.6 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นมะขามเทศ มะตาด มะม่วง ชมพู่ และเมล็ดสละ มีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 28.57, 25.81, 23.26, 27.59 และ 29.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้นี้ไม่สามารถนำมาหาค่า IC_{50} จากกราฟได้ เนื่องจากมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และในสารมาตรฐานกรดโคจิกมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 62.07 เปอร์เซ็นต์ (ระดับความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 116.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกโดยมีไอโซ-โพรพานอลเป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร และค่า %Tyrosinase inhibition ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด											
	มะตาด (2-Propanol)		มะม่วง (2-Propanol)		ชมพู่ (2-Propanol)		มะขามเทศ (2-Propanol)		เม็ดสละ (2-Propanol)		กรดโคจิก (2-Propanol)	
	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%
Negative control	0.081	-	0.057	-	0.106	-	0.076	-	0.052	-	0.106	-
1000	0.094	-16.05	0.105	-84.21	0.183	-72.64	0.095	-25.00	0.056	-7.69	0.016	84.90
500	0.082	-1.23	0.085	-49.12	0.129	-21.70	0.080	-5.26	0.053	-1.92	0.023	78.30
100	0.081	0.00	0.061	-7.02	0.109	-2.83	0.078	-2.63	0.049	5.77	0.061	42.45
50	0.080	1.23	0.060	-5.26	0.106	0.00	0.077	-1.32	0.047	9.62	0.078	26.42
10	0.078	3.70	0.060	-5.26	0.105	0.94	0.076	0.00	0.046	11.54	0.097	8.49
5	0.076	6.17	0.058	-1.75	0.104	1.89	0.075	1.32	0.045	13.46	0.098	7.55
1	0.075	7.41	0.059	-3.51	0.102	3.77	0.074	2.63	0.044	15.38	0.102	3.77
0.5	0.073	9.88	0.055	3.51	0.101	4.72	0.074	2.63	0.044	15.38	0.107	0.00

หมายเหตุ Abs.* เป็นค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของสารที่หักลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์แล้ว

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกโดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร และค่า %Tyrosinase inhibition ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด											
	มะตาด (Ethanol)		มะม่วง (Ethanol)		ชมพู่ (Ethanol)		มะขามเทศ (Ethanol)		เม็ดสละ (Ethanol)		กรดโคจิก (Ethanol)	
	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%
Negative control	0.023	-	0.025	-	0.019	-	0.043	-	0.034	-	0.037	-
1000	0.012	47.82	0.015	40.00	0.011	42.10	0.027	37.21	0.024	29.41	0.007	81.08
500	0.013	43.47	0.016	36.00	0.013	31.58	0.032	25.58	0.025	26.47	0.009	75.68
100	0.014	39.13	0.017	32.00	0.014	26.32	0.033	23.26	0.026	23.53	0.022	40.54
50	0.015	34.78	0.018	28.00	0.015	21.05	0.034	20.93	0.027	20.59	0.026	29.73
10	0.016	30.43	0.019	24.00	0.016	15.79	0.035	18.60	0.028	17.65	0.032	13.51
5	0.017	26.09	0.020	20.00	0.017	10.53	0.037	13.95	0.030	11.76	0.035	5.40
1	0.018	21.74	0.022	12.00	0.018	5.26	0.039	9.30	0.032	5.88	0.036	2.70
0.5	0.019	17.39	0.024	4.00	0.019	0.00	0.041	4.65	0.033	2.94	0.037	0.00

<u>หมายเหตุ</u> Abs.* เป็นค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของสารที่หักลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์แล้ว

ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกโดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย

ระดับความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร และค่า %Tyrosinase inhibition ของสารสกัดพืชตัวอย่างแต่ละชนิด											
	มะตาด (Methanol)		มะม่วง (Methanol)		ชมพู่ (Methanol)		มะขามเทศ (Methanol)		เม็ดสละ (Methanol)		กรดโคจิก (Methanol)	
	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%	Abs.*	%
Negative control	0.031	-	0.043	-	0.029	-	0.028	-	0.041	-	0.029	-
1000	0.023	25.81	0.033	23.26	0.021	27.59	0.020	28.57	0.029	29.27	0.004	82.75
500	0.025	19.35	0.034	20.93	0.023	20.69	0.021	25.00	0.033	19.51	0.007	75.86
100	0.026	16.13	0.036	16.28	0.024	17.24	0.022	21.43	0.034	17.07	0.016	44.83
50	0.027	12.90	0.037	13.95	0.025	13.79	0.023	17.86	0.035	14.63	0.022	24.14
10	0.028	9.68	0.039	9.30	0.026	10.34	0.024	14.28	0.037	9.76	0.025	13.79
5	0.029	6.45	0.040	6.98	0.027	6.90	0.025	10.71	0.038	7.32	0.027	6.90
1	0.030	3.22	0.042	2.32	0.028	3.45	0.026	7.14	0.039	4.88	0.028	3.45
0.5	0.031	0.00	0.043	0.00	0.029	0.00	0.027	3.57	0.041	0.00	0.029	0.00

<u>หมายเหตุ</u> Abs.* เป็นค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของสารที่หักลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์แล้ว

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าสารสกัดที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าหรือเท่ากับค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมจะไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แต่ในการทดสอบของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้นสูงมีผลต่อค่าการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนมีความเป็นขั้วต่ำเมื่อผสมกับสารต่างๆ ที่มีส่วนประกอบของน้ำซึ่งมีขั้วสูง คือ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จึงทำให้เกิดการตกตะกอนกลับของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนซึ่งไปรบกวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ Dopachrome ทำให้เกิดผลลบลวง (false negative) ของค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการทดลองสารสกัดหยาบจากพืชไทยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสกลนันท์ (2545) ซึ่งทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากมะขามป้อมด้วยเฮกเซน เอทิลอะซีเตต และเมทานอล ด้วยวิธี DPPH scavenging method พบว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อมในชั้นเฮกเซนเท่านั้นที่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซีเตตมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ BHA , วิตามินซี และวิตามินอี ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.20, 3.29 และ 7.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และการศึกษาการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของนิรุสลีนินและรัศมี (2545) ซึ่งทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสมุนไพรไทยที่ระบุไว้ในเครื่องสำอางและยังไม่พบรายงานการทดสอบ ได้แก่ ต้นชะเอมเทศ เถาบอระเพ็ด เหง้าว่านชักมดลูก และผลส้มแขกโดยสกัดด้วยเมทานอลแล้วทดสอบด้วยวิธี Dopachrom พบว่าสารสกัดหยาบจากต้นชะเอมเทศมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิกที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 25.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทยทั้ง 5 ชนิดโดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging method) เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สารสกัดหยาบของพืชพื้นบ้านไทยทั้ง 5 ชนิด คือ ต้นมะม่วง ต้มมะตาด ต้นมะขามเทศ ต้นชมพู่ และเมล็ดสละ แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของต้นมะขามเทศแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $1.67x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และที่สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของต้นชมพู่ และมะม่วง มีค่า IC_{50} เท่ากับ $2.04x10^{-1}$ และ $2.06x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นมะขามเทศ ชมพู่ และมะม่วง มีค่าที่ใกล้เคียงกับค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานเคอร์เซทิน (ตัวควบคุมเชิงบวก) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีค่าเท่ากับ $1.27x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบของเมล็ดสละในชั้นไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $2.7x10^{-1}$ และ $2.8x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเคอร์เซทินที่มีเอทานอลเป็นตัวทำละลายมีค่า IC_{50} เท่ากับ $1.6x10^{-1}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สรุปได้ว่าไม่มีสารสกัดหยาบชนิดใดในพืชตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐานเคอร์เซทิน แต่พบว่าสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานเคอร์เซทิน คือสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของเนื้อไม้จากต้นมะขามเทศ

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทยทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Dopachrome method โดยใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทยทั้ง 5 ชนิดในส่วนของเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ ซึ่งสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนของต้นมะตาดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด โดยมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 47.82 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่สารมาตรฐานกรดโคจิกมีค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 81.08 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า IC_{50} ที่ 445.88 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบนี้สามารถสรุปได้ว่าไม่มีสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่างชนิดใดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก

จากการทดสอบสารสกัดหยาบจากตัวอย่างพืชพื้นบ้านไทยในการคัดกรองสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยหาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ที่น่าสนใจ เช่นในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากต้นมะขามเทศ มะม่วง และชมพู่ ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยนำสารสกัดหยาบมาแยกหาสารสำคัญด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี (Chromatography) เพื่อตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบต่อไป นอกจากนี้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ควรใช้สารละลายที่เตรียมใหม่ของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase from mushroom) และสารละลาย L-DOPA ทุกครั้งในการทดสอบ เพื่อทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีอยู่ และเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของ L-DOPA ไปเป็น Dopachrome ทำให้เกิดสีขึ้นเมื่อทิ้งสารละลายไว้เป็นเวลานาน ซึ่งจะทำให้มีผลต่อการทดสอบได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จารุภา น่วมเลิศ และ พรนิภา ตปนียศิลป์. 2547. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดความหมองคล้ำของสีผิวจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม. [Online].Available: http://pharm.swu.ac.th/senior_project/Abstract47/1_jarupa.pdf

ชำนาญ ทองเกียรติกุล. 2548. มะตาด หรือแอปเปิ้ลมอญ ต้นไม้อนุรักษ์ของคนรามัญ. [Online].Available: http://www.matichon.co.th/techno/techno.phpsrctag=0505151048&srcday=2005/10/15&search=no

นครินทร์ เหนือบัว ภราดร ดิเรกโรจน์วุฒิ และ มงคล อิงคะโลหะกุล. 2547. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้านริ้วรอยจากดอกไม้และผลไม้ในประเทศไทย. [Online].Available: http://pharm.swu.ac.th/senior_project/Abstract47/3_nakarin.pdf

นิรนาม. 2544. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสิ่งเป็นพิษ เล่ม 15. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. [Online].Available: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=55

นิรนาม. 2547. คุณรู้อะไรบ้างเกี่ยวกับเมลานิน. อักษรเจริญทัศน์. [Online].Available: http://www.aksorn.com/lib/libshow.asp?sid=11&sara=hed_04&level=s

นิรุสลีนิน มะเต๊ะ และ รัศมี วัฒนานนท์. 2545. ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสมุนไพรไทย. ปริญญานิพนธ์ เภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล.

บุญชู ศรีตุลารักษ์. 2545. สารฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากหาดหนุนและจั่น. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต สาขาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปวีณา ดวงสุริยเนตร และ สุพัตรา นาเมืองรักษ์. 2547. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากดอกไม้ในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส. [Online].Available: http://pharm.swu.ac.th/senior_project/Abstract47/5_paweena.pdf

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2548. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารออนไลน์ ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ องค์การเภสัชกรรม. [Online].Available: http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รุ่งนภา โรจน์รุ่ง และ ณัชชา จันทร์วิบูลย์. 2550. การปลูกสละ. สำนักงานเกษตรอำเภอยะหา [Online].Available: http://yala.doae.go.th/data/salah%2002.htm

วรวิทย์ วงศ์กิระปราชญ์ สิรินทิพย์ บุดดา และ อินทนนท์ หิรัญคำ. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบของไม้ไทย. ปริญญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วันดี กฤษณพันธ์. 2536. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สกลนันท์ เนาว์แสง. 2545. สมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. ปริญญานิพนธ์ เภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. พืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แพร่พิทยา

สุรสินธุ์ เลิศสุทธิรักษ์ และ เหมือนฝัน สีใส. 2547. ชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. [Online].Available: http://pharm.swu.ac.th/senior_project/Abstract47/2_surasin.pdf

ศูนย์วิจัยป่าไม้. 2547. ต้นไม้ในกรุงเทพมหานคร เขตป้อมปราบศัตรูพ่าย. กรุงเทพ: ศูนย์วิจัยป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yaki A. and Sakata K. 1994. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by bacteria from fish and shell. Biosci. Biotech. Biochem. 58: 1780-1783

Yamasaki. 1994. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. Chem. Pharm. Bull. 42: 1663-1665

[Online].Available: http://prathom.swu.ac.th/panmai/index.asp?page=13&pagesize=30

[Online].Available: http://www.bloggang.com/data/jekyll-and-hyde/picture/1147490849.jpg

[Online].Available: http://158.108.70.5/kusbotanic/plant2544/151_sala.html

[Online].Available: http://www.uru.ac.th/ ~botany /detail.php?botany_id=7-53000-001-0311&field=&value=&page=32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. ผลการวิจัยการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทย

ตารางที่ 5.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินโดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1) มะตาด (Ethanol)					
Negative control	1.190	1.155	1.144	1.163	**0.00**
5×10^{-1}	0.985	0.982	1.003	0.990	14.88
5×10^{-2}	1.019	1.054	1.053	1.042	10.40
5×10^{-3}	1.053	1.049	1.060	1.054	9.37
5×10^{-4}	1.147	1.150	1.157	1.151	1.03
5×10^{-5}	1.153	1.166	1.147	1.155	0.69
5×10^{-6}	1.155	1.165	1.145	1.155	0.69
5×10^{-7}	1.162	1.159	1.165	1.162	0.09
5×10^{-8}	1.176	1.154	1.145	1.158	0.43
5×10^{-9}	1.152	1.173	1.155	1.160	0.26
5×10^{-10}	1.165	1.155	1.169	1.163	0.00
2) มะม่วง (Ethanol)					
Negative control	1.154	1.159	1.165	1.159	**0.00**
5×10^{-1}	1.051	1.069	1.046	1.055	8.97
5×10^{-2}	1.148	1.147	1.144	1.146	1.12
5×10^{-3}	1.145	1.142	1.160	1.149	0.86
5×10^{-4}	1.155	1.149	1.148	1.151	0.69
5×10^{-5}	1.142	1.156	1.154	1.151	0.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5×10^{-6}	1.145	1.154	1.161	1.153	0.52
5×10^{-7}	1.152	1.156	1.151	1.153	0.52
5×10^{-8}	1.157	1.155	1.157	1.156	0.26
5×10^{-9}	1.153	1.159	1.158	1.157	0.17
5×10^{-10}	1.152	1.160	1.159	1.157	0.17
3) ชมพู่ (Ethanol)					
Negative control	1.158	1.165	1.157	1.160	**0.00**
5×10^{-1}	0.974	0.990	0.951	0.972	16.21
5×10^{-2}	1.154	1.131	1.144	1.143	1.47
5×10^{-3}	1.137	1.148	1.159	1.148	1.03
5×10^{-4}	1.149	1.157	1.147	1.151	0.78
5×10^{-5}	1.141	1.151	1.159	1.150	0.86
5×10^{-6}	1.153	1.152	1.154	1.153	0.60
5×10^{-7}	1.156	1.145	1.157	1.153	0.60
5×10^{-8}	1.159	1.155	1.157	1.157	0.26
5×10^{-9}	1.158	1.156	1.157	1.157	0.26
5×10^{-10}	1.161	1.157	1.156	1.158	0.17
4) มะขามเทศ (Ethanol)					
Negative control	1.127	1.128	1.122	1.126	**0.00**
5×10^{-1}	1.035	1.059	1.032	1.042	7.46
5×10^{-2}	1.072	1.099	1.095	1.089	3.29
5×10^{-3}	1.107	1.098	1.106	1.104	1.95
5×10^{-4}	1.103	1.113	1.106	1.107	1.69
5×10^{-5}	1.114	1.114	1.093	1.106	1.78
5×10^{-6}	1.110	1.117	1.116	1.114	1.07
5×10^{-7}	1.113	1.118	1.114	1.115	0.98
5×10^{-8}	1.113	1.118	1.118	1.116	0.89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5×10^{-9}	1.119	1.110	1.114	1.114	1.07
5×10^{-10}	1.126	1.122	1.125	1.124	0.18
5) เม็ดสละ (Ethanol)					
Negative control	1.143	1.123	1.140	1.135	**0.00**
5×10^{-1}	0.168	0.150	0.143	0.154	86.43
5×10^{-2}	0.974	0.934	0.944	0.951	16.21
5×10^{-3}	1.085	1.080	1.071	1.079	4.93
5×10^{-4}	1.117	1.067	1.085	1.090	3.96
5×10^{-5}	1.122	1.111	1.093	1.109	2.29
5×10^{-6}	1.101	1.081	1.086	1.089	4.05
5×10^{-7}	1.111	1.097	1.121	1.110	2.20
5×10^{-8}	1.131	1.101	1.129	1.120	1.32
5×10^{-9}	1.115	1.123	1.101	1.113	1.94
5×10^{-10}	1.130	1.129	1.128	1.129	0.53
6) Quercetin (Ethanol)					
Nagative control	1.143	1.143	1.130	1.139	**0.00**
5×10^{-1}	0.090	0.099	0.098	0.096	91.57
5×10^{-2}	0.115	0.123	0.127	0.122	89.29
5×10^{-3}	0.803	0.761	0.776	0.780	31.52
5×10^{-4}	1.101	1.105	1.112	1.106	2.90
5×10^{-5}	1.144	1.124	1.131	1.133	0.53
5×10^{-6}	1.124	1.134	1.158	1.139	0.00
5×10^{-7}	1.138	1.140	1.126	1.135	0.35
5×10^{-8}	1.127	1.131	1.120	1.126	1.14
5×10^{-9}	1.135	1.139	1.120	1.131	0.70
5×10^{-10}	1.141	1.144	1.135	1.140	-0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารละลายเดอร์เซทินในตัวทำละลายเอทานอลที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1) มะตาด (Ethanol)					
Negative control	1.113	1.118	1.115	1.115	**0.00**
5×10^{-1}	0.709	0.714	0.700	0.708	36.50
5×10^{-2}	1.038	1.043	1.050	1.044	6.37
5×10^{-3}	1.110	1.107	1.086	1.101	1.26
5×10^{-4}	1.104	1.112	1.111	1.109	0.54
5×10^{-5}	1.106	1.098	1.113	1.106	0.81
5×10^{-6}	1.108	1.111	1.116	1.112	0.27
5×10^{-7}	1.107	1.117	1.114	1.113	0.18
5×10^{-8}	1.112	1.114	1.116	1.114	0.09
5×10^{-9}	1.108	1.112	1.114	1.111	0.36
5×10^{-10}	1.117	1.112	1.116	1.115	0.00
2) มะม่วง (Ethanol)					
Negative control	1.130	1.141	1.144	1.138	**0.00**
5×10^{-1}	0.687	0.675	0.677	0.680	40.25
5×10^{-2}	1.044	1.041	1.040	1.042	8.44
5×10^{-3}	1.103	1.111	1.112	1.109	2.55
5×10^{-4}	1.119	1.109	1.116	1.115	2.02
5×10^{-5}	1.120	1.125	1.120	1.122	1.41
5×10^{-6}	1.131	1.126	1.110	1.122	1.41
5×10^{-7}	1.111	1.114	1.124	1.116	1.93
5×10^{-8}	1.132	1.113	1.124	1.123	1.32
5×10^{-9}	1.122	1.115	1.120	1.119	1.67
5×10^{-10}	1.124	1.122	1.126	1.124	1.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
3) ชมพู่ (Ethanol)					
Negative control	1.114	1.116	1.117	1.116	**0.00**
5×10^{-1}	0.653	0.636	0.611	0.633	43.28
5×10^{-2}	1.047	1.061	1.027	1.045	6.36
5×10^{-3}	1.101	1.077	1.102	1.093	2.06
5×10^{-4}	1.085	1.095	1.108	1.096	1.79
5×10^{-5}	1.107	1.076	1.123	1.102	1.25
5×10^{-6}	1.114	1.104	1.107	1.108	0.72
5×10^{-7}	1.072	1.112	1.119	1.101	1.34
5×10^{-8}	1.119	1.117	1.097	1.111	0.45
5×10^{-9}	1.118	1.112	1.117	1.116	0.00
5×10^{-10}	1.114	1.107	1.112	1.111	0.45
4) มะขามเทศ (Ethanol)					
Negative control	1.132	1.136	1.147	1.138	**0.00**
5×10^{-1}	0.790	0.792	0.822	0.801	29.61
5×10^{-2}	1.070	1.046	1.060	1.059	6.94
5×10^{-3}	1.103	1.101	1.102	1.102	3.16
5×10^{-4}	1.110	1.112	1.119	1.114	2.11
5×10^{-5}	1.122	1.117	1.126	1.122	1.41
5×10^{-6}	1.122	1.124	1.124	1.123	1.32
5×10^{-7}	1.123	1.138	1.107	1.123	1.32
5×10^{-8}	1.130	1.092	1.131	1.118	1.76
5×10^{-9}	1.128	1.131	1.109	1.123	1.32
5×10^{-10}	1.139	1.105	1.137	1.127	0.97
5) เม็ดสละ (Ethanol)					
Negative control	1.113	1.122	1.126	1.120	**0.00**
5×10^{-1}	0.106	0.107	0.101	0.105	90.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5×10^{-2}	0.930	0.941	0.946	0.939	16.16
5×10^{-3}	1.082	1.085	1.085	1.084	3.21
5×10^{-4}	1.105	1.115	1.088	1.084	1.52
5×10^{-5}	1.110	1.100	1.099	1.103	1.52
5×10^{-6}	1.107	1.102	1.104	1.104	1.43
5×10^{-7}	1.090	1.105	1.116	1.104	1.43
5×10^{-8}	1.112	1.110	1.096	1.106	1.17
5×10^{-9}	1.101	1.115	1.114	1.110	0.89
5×10^{-10}	1.118	1.115	1.117	1.117	0.27
6) Quercetin (Ethanol)					
Negative control	1.143	1.143	1.130	1.139	**0.00**
5×10^{-1}	0.090	0.099	0.098	0.096	91.57
5×10^{-2}	0.115	0.123	0.127	0.122	89.29
5×10^{-3}	0.803	0.761	0.776	0.780	31.52
5×10^{-4}	1.101	1.105	1.112	1.106	2.90
5×10^{-5}	1.144	1.124	1.131	1.133	0.53
5×10^{-6}	1.124	1.134	1.158	1.139	0.00
5×10^{-7}	1.138	1.140	1.126	1.135	0.35
5×10^{-8}	1.127	1.131	1.120	1.126	1.14
5×10^{-9}	1.135	1.139	1.120	1.131	0.70
5×10^{-10}	1.141	1.144	1.135	1.140	-0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล จากพืชตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด และสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1) มะม่วง (methanol)					
Negative control	1.067	1.059	1.060	1.062	**0.00**
5×10^{-1}	0.051	0.057	0.054	0.054	94.92
5×10^{-2}	0.376	0.390	0.385	0.384	63.84
5×10^{-3}	0.960	0.976	0.959	0.965	9.13
5×10^{-4}	1.050	1.048	1.037	1.045	1.60
5×10^{-5}	1.047	1.051	1.042	1.047	1.41
5×10^{-6}	1.042	1.052	1.046	1.047	1.41
5×10^{-7}	1.058	1.046	1.044	1.049	1.22
5×10^{-8}	1.055	1.041	1.053	1.050	1.13
5×10^{-9}	1.042	1.056	1.053	1.050	1.13
5×10^{-10}	1.053	1.048	1.058	1.053	0.85
2) ชมพู่ (methanol)					
Negative control	1.054	1.045	1.035	1.045	**0.00**
5×10^{-1}	0.047	0.055	0.049	0.050	95.22
5×10^{-2}	0.389	0.381	0.367	0.379	63.73
5×10^{-3}	0.968	0.966	0.958	0.964	7.75
5×10^{-4}	1.003	1.007	1.010	1.007	3.64
5×10^{-5}	1.016	1.023	1.022	1.020	2.39
5×10^{-6}	1.037	1.039	1.014	1.030	1.44
5×10^{-7}	1.017	1.015	1.017	1.016	2.78
5×10^{-8}	1.036	1.014	1.036	1.029	1.53
5×10^{-9}	1.047	1.029	1.040	1.039	0.57
5×10^{-10}	1.029	1.043	1.047	1.040	0.48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
3)มะขามเทศ (methanol)					
Negative control	1.047	1.058	1.066	1.057	**0.00**
5×10^{-1}	0.066	0.067	0.065	0.066	93.76
5×10^{-2}	0.069	0.074	0.068	0.070	93.38
5×10^{-3}	0.929	0.870	0.885	0.895	15.33
5×10^{-4}	1.027	1.034	1.020	1.027	2.84
5×10^{-5}	1.018	1.045	1.022	1.028	2.74
5×10^{-6}	1.037	1.026	1.040	1.034	2.18
5×10^{-7}	1.036	1.042	1.034	1.037	1.89
5×10^{-8}	1.045	1.037	1.033	1.038	1.80
5×10^{-9}	1.050	1.050	1.049	1.050	0.66
5×10^{-10}	1.029	1.079	1.006	1.054	0.28
4) Quercetin (methanol)					
Negative control	1.038	1.046	1.036	1.040	**0.00**
5×10^{-1}	0.042	0.037	0.037	0.039	96.25
5×10^{-2}	0.038	0.046	0.039	0.041	96.06
5×10^{-3}	0.635	0.629	0.644	0.636	38.85
5×10^{-4}	0.982	0.979	0.988	0.983	5.48
5×10^{-5}	1.002	1.013	1.036	1.017	2.21
5×10^{-6}	1.015	1.023	1.038	1.025	1.44
5×10^{-7}	1.024	1.028	1.030	1.027	1.25
5×10^{-8}	1.048	1.030	1.028	1.035	0.48
5×10^{-9}	1.030	1.026	1.050	1.035	0.48
5×10^{-10}	1.050	1.024	1.033	1.036	0.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลจากมะตาดและเม็ดสละ และสารละลายเคอร์เซทินในตัวทำละลายเมทานอลกับสารละลาย DMSO (อัตราส่วน 1:1) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1) มะตาด (Methanol + DMSO)					
Negative control	1.605	1.612	1.611	1.609	**0.00**
5×10^{-1}	0.685	0.760	0.737	0.727	54.82
5×10^{-2}	1.113	1.103	1.138	1.118	30.52
5×10^{-3}	1.547	1.528	1.557	1.544	4.04
5×10^{-4}	1.577	1.589	1.575	1.580	1.80
5×10^{-5}	1.600	1.609	1.587	1.599	0.62
5×10^{-6}	1.570	1.592	1.603	1.588	1.30
5×10^{-7}	1.577	1.582	1.611	1.590	1.18
5×10^{-8}	1.590	1.583	1.612	1.595	0.87
5×10^{-9}	1.581	1.582	1.580	1.581	1.74
5×10^{-10}	1.601	1.607	1.587	1.598	0.68
2) เม็ดสละ (Methanol + DMSO)					
Negative control	1.551	1.564	1.576	1.563	**0.00**
5×10^{-1}	0.816	0.819	0.825	0.820	47.54
5×10^{-2}	1.481	1.509	1.502	1.497	4.22
5×10^{-3}	1.558	1.536	1.562	1.552	0.70
5×10^{-4}	1.558	1.546	1.570	1.558	0.32
5×10^{-5}	1.557	1.556	1.541	1.551	0.77
5×10^{-6}	1.546	1.551	1.556	1.551	0.77
5×10^{-7}	1.547	1.552	1.560	1.553	0.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
5×10^{-8}	1.560	1.556	1.547	1.554	0.58
5×10^{-9}	1.568	1.551	1.580	1.566	-0.19
5×10^{-10}	1.566	1.552	1.579	1.566	-0.19
3) Quercetin (Methanol + DMSO)					
Negative control	1.541	1.599	1.554	1.565	**0.00**
5×10^{-1}	0.411	0.417	0.449	0.426	72.78
5×10^{-2}	0.425	0.446	0.475	0.449	71.31
5×10^{-3}	1.246	1.271	1.292	1.270	18.85
5×10^{-4}	1.507	1.513	1.573	1.531	2.17
5×10^{-5}	1.532	1.558	1.551	1.547	1.15
5×10^{-6}	1.534	1.547	1.561	1.547	1.15
5×10^{-7}	1.584	1.515	1.517	1.539	1.66
5×10^{-8}	1.568	1.506	1.556	1.543	1.40
5×10^{-9}	1.562	1.576	1.567	1.568	-0.19
5×10^{-10}	1.571	1.567	1.566	1.568	-0.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการวิจัยการทดสอบฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบจากพืชพื้นบ้านไทย

ตารางที่ 5.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายไอโซ-โพรพานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
1) มะตาด (2-propanol)					
0	0.130	0.049	-	-	**0.00**
1000			0.150	0.056	-16.05
500			0.132	0.050	-1.23
100			0.130	0.049	0.00
50			0.129	0.049	1.23
10			0.125	0.047	3.70
5			0.124	0.048	6.17
1			0.123	0.048	7.41
0.5			0.119	0.046	9.88
2) มะม่วง (2-propanol)					
0	0.104	0.047	-	-	**0.00**
1000			0.162	0.057	-84.21
500			0.133	0.048	-49.12
100			0.108	0.047	-7.02
50			0.107	0.047	-5.26
10			0.106	0.046	-5.26
5			0.106	0.048	-1.75
1			0.105	0.046	-3.51
0.5			0.102	0.047	3.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
3) ชมพู่ (2-propanol)					
0	0.155	0.049	-	-	**0.00**
1000			0.257	0.074	-72.64
500			0.189	0.060	-21.70
100			0.161	0.052	-2.83
50			0.160	0.054	0.00
10			0.154	0.049	0.94
5			0.153	0.049	1.89
1			0.150	0.048	3.77
0.5			0.147	0.046	4.72
4) มะขามเทศ (2-propanol)					
0	0.122	0.046	-	-	**0.00**
1000			0.151	0.056	-25.00
500			0.129	0.049	-5.26
100			0.125	0.047	-2.63
50			0.126	0.049	-1.32
10			0.124	0.048	0.00
5			0.122	0.047	1.32
1			0.122	0.048	2.63
0.5			0.121	0.047	2.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
5) เม็ดสละ (2-propanol)					
0	0.102	0.050	-	-	**0.00**
1000			0.124	0.068	-7.69
500			0.110	0.057	-1.92
100			0.102	0.053	5.77
50			0.100	0.053	9.62
10			0.100	0.054	11.54
5			0.101	0.056	13.46
1			0.100	0.056	15.38
0.5			0.094	0.050	15.38
6) กรดโคจิก (2-propanol)					
0	0.155	0.049	-	-	**0.00**
1000			0.066	0.050	84.90
500			0.072	0.049	78.30
100			0.110	0.049	42.45
50			0.128	0.050	26.42
10			0.144	0.047	8.49
5			0.148	0.050	7.55
1			0.152	0.050	3.77
0.5			0.156	0.049	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
1) มะตาด (Ethanol)					
0	0.068	0.045	-	-	**0.00**
1000			0.076	0.064	47.82
500			0.067	0.054	43.47
100			0.064	0.050	39.13
50			0.067	0.052	34.78
10			0.067	0.051	30.43
5			0.067	0.050	26.09
1			0.065	0.047	21.74
0.5			0.065	0.046	17.39
2) มะม่วง (Ethanol)					
0	0.078	0.053	-	-	**0.00**
1000			0.083	0.068	40.00
500			0.075	0.059	36.00
100			0.074	0.057	32.00
50			0.074	0.056	28.00
10			0.075	0.056	24.00
5			0.075	0.055	20.00
1			0.076	0.054	12.00
0.5			0.076	0.052	4.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
3) ชมพู่ (Ethanol)					
0	0.069	0.050	-	-	**0.00**
1000			0.081	0.070	42.10
500			0.075	0.062	31.58
100			0.072	0.058	26.32
50			0.072	0.057	21.05
10			0.072	0.056	15.79
5			0.073	0.056	10.53
1			0.071	0.053	5.26
0.5			0.068	0.049	0.00
4) มะขามเทศ (Ethanol)					
0	0.089	0.046	-	-	**0.00**
1000			0.083	0.056	37.12
500			0.082	0.050	25.58
100			0.084	0.051	23.26
50			0.081	0.047	20.93
10			0.083	0.048	18.60
5			0.084	0.047	13.95
1			0.086	0.047	9.30
0.5			0.088	0.047	4.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
5) เม็ดสละ (Ethanol)					
0	0.085	0.051	-	-	**0.00**
1000			0.104	0.080	29.41
500			0.094	0.069	26.47
100			0.087	0.061	23.53
50			0.085	0.058	20.59
10			0.085	0.057	17.65
5			0.084	0.054	11.76
1			0.085	0.053	5.88
0.5			0.083	0.050	2.94
6) กรดโคจิก (Ethanol)					
0	0.083	0.046	-	-	**0.00**
1000			0.054	0.047	81.08
500			0.054	0.045	75.68
100			0.068	0.046	40.54
50			0.072	0.046	29.73
10			0.080	0.048	13.51
5			0.083	0.048	5.40
1			0.083	0.047	2.70
0.5			0.082	0.045	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากพืชตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด และสารมาตรฐานกรดโคจิกในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

ชนิดของพืช/ ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
1) มะตาด (Methanol)					
0	0.076	0.045	-	-	**0.00**
1000			0.081	0.058	25.81
500			0.076	0.051	19.35
100			0.074	0.048	16.13
50			0.074	0.047	12.90
10			0.075	0.047	9.68
5			0.074	0.045	6.45
1			0.075	0.045	3.22
0.5			0.074	0.043	0.00
2) มะม่วง (Methanol)					
0	0.088	0.045	-	-	**0.00**
1000			0.087	0.054	23.26
500			0.085	0.051	20.93
100			0.087	0.051	16.28
50			0.086	0.049	13.95
10			0.085	0.046	9.30
5			0.086	0.046	6.98
1			0.085	0.043	2.32
0.5			0.087	0.044	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
3) ชมพู่ (Methanol)					
0	0.077	0.048	-	-	**0.00**
1000			0.081	0.060	27.59
500			0.081	0.058	20.69
100			0.076	0.052	17.24
50			0.074	0.049	13.79
10			0.074	0.048	10.34
5			0.073	0.046	6.90
1			0.074	0.046	3.45
0.5			0.072	0.043	0.00
4) มะขามเทศ (Methanol)					
0	0.072	0.044	-	-	**0.00**
1000			0.079	0.059	28.57
500			0.072	0.051	25.00
100			0.073	0.051	21.43
50			0.076	0.053	17.86
10			0.072	0.048	14.28
5			0.071	0.046	10.71
1			0.071	0.045	7.14
0.5			0.070	0.043	3.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช/ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	A (ชุดควบคุม)	B (แบลงค์ของชุดควบคุม)	C (ชุดสารตัวอย่าง)	D (แบลงค์ของชุดสารตัวอย่าง)	%Tyrosinase inhibition
5) เม็ดสละ (Methanol)					
0	0.086	0.045	-	-	**0.00**
1000			0.083	0.054	29.27
500			0.080	0.047	19.51
100			0.081	0.047	17.07
50			0.081	0.046	14.63
10			0.084	0.047	9.76
5			0.085	0.047	7.32
1			0.086	0.047	4.88
0.5			0.086	0.045	0.00
6) กรดโคจิก (Methanol)					
0	0.077	0.048	-	-	**0.00**
1000			0.052	0.048	82.75
500			0.055	0.048	75.86
100			0.063	0.047	44.83
50			0.070	0.046	24.14
10			0.071	0.046	13.79
5			0.074	0.047	6.90
1			0.074	0.046	3.45
0.5			0.076	0.047	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้