ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นกระทือป่าและว่านริดสีดวง

Antioxidant activities and total phenolic contents of extracts from *Zingiber thorelii* Gagnep. and *Curcuma* sp.

กันญารัตน์ ภิรมย์มั่น

KANYARAT PIROMMAN

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โครงงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

หัวข้อโครงงานวิจัย	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นกระทือป่า และว่านริดสีดวง
ชื่อนิสิต	นางสาว กันญารัตน์ ภิรมย์มั่น
รหัสนิสิต	47030428
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีวเคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข
ปีการศึกษา	2550

คณะกรรมการสอบได้พิจารณาโครงงานวิจัยฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

..... ประธานกรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา
(ผศ.ดร. กล่าวขวัญ ศรีสุข)

..... กรรมการ
(อ.ดร. จิตติมา เจริญพานิช)

..... กรรมการ
(อ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)

ภาควิชาชีวเคมีอนุมัติให้รับโครงงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

…….. ผู้รักษาราชการแทนหัวหน้าภาควิชาชีวเคมี
(อ.ดร. จิตติมา เจริญพานิช)
วันที่...../...../.....

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อโครงงานวิจัย	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นกระทือป่า และว่านริดสีดวง
ชื่อนิสิต	นางสาว กันญารัตน์ ภิรมย์มั่น
รหัสนิสิต	47030428
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีวเคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข
ปีการศึกษา	2550

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำของต้นกระทือป่า (*Zingiber thorelii* Gagnep.) และว่านริดสีดวง (*Curcuma* sp.) โดยนำมาทำการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และการทดสอบฤทธิ์ในการรีดิวซ์ การศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่ทำการเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐานคือ บีเอชที (butylated hydroxyltoluene; BHT) และกรดแอสคอร์บิก จากการทดลองพบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของต้นกระทือป่ามีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH และมีฤทธิ์ในการรีดิวซ์สูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยน้ำ > และส่วนสกัดเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวงมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH และมีฤทธิ์ในการรีดิวซ์สูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮกเซน > ส่วนสกัดย่อยน้ำ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่าและว่านริดสีดวงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด และพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9822

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

PROJECT TITLE	Antioxidant activities and total phenolic contents of extracts from *Zingiber thorelii* Gagnep. and *Curcuma* sp.
NAME	Miss Kanyarat Piromman
STUDENTID	47030428
PROGRAM	Bachelor of Science (Biochemistry)
ADVISOR	Assist. Prof. Klaokwan Srisook, Ph.D
ACADEMIC YEAR	2007

ABSTRACT

In this study, the antioxidant activites of hexane, ethyl acetate and water extract from *Zingiber thorelii* Gagnep. and *Curcuma* sp. were evaluated by various antioxidant activity assays, including DPPH radical scavenging activity and reducing power. The antioxidant activities were compared to standard antioxidants such as butylated hydroxytoluene (BHT) and ascorbic acid. Among solvent extract from *Z. thorelii* Gagnep., the ethyl acetate extract showed the highest DPPH radical scavenging activity and reducing power, the activity decreased in the order water extract > hexane extract. The antioxidant activities of extracts from *Curcuma* sp. are in the order: ethyl acetate extract > hexane extract > water extract. In addition to antioxidant activities, total phenolic compounds were measured in the extracts using the Folin – Ciocalteu method. Both ethyl acetate extract from *Z. thorelii* Gagnep. and *Curcuma* sp. contained the most phenolics content among others. A correlation between the DPPH radical scavenging activity and total phenolic compounds was observed with the correlation coefficient 0.9822 .

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประกาศคุณูประการ

โครงงานวิจัยทางชีวเคมีฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้คำปรึกษาและช่วยแนะแนวทางในการศึกษาค้นคว้า เพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติม รวมทั้งให้ความช่วยเหลือแก้ไขจุดบกพร่องในการเขียนโครงงานวิจัยทางชีวเคมีฉบับนี้ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร. จิตติมา เจริญพานิช และ อ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข ที่ให้คำแนะนำและกรุณาเป็นกรรมการในการเสนอโครงงานวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควชีวเคมีทุกท่านสำหรับความรู้ และคำแนะนำต่างๆในการศึกษาที่ผ่านมาตลอดระยะเวลา 4 ปี

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่เป็นกำลังใจในการศึกษาและสนับสนุนทุนทรัพย์ในการศึกษาตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆปี4 ทุกคนที่อยู่เป็นเพื่อนกันในยามทำแลปหรือทำรายงานจนดึกดื่น และสำหรับความช่วยเหลือต่างๆที่ทำให้โครงงานวิจัยทางชีวเคมีฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

กันญารัตน์ ภิรมย์มั่น

23 กุมภาพันธ์ 2551

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

ปกใน ก
หน้าอนุมัติ ข
บทคัดย่อภาษาไทย ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง
ประกาศคุณูปการ จ
สารบัญ ฉ
สารบัญตาราง ซ
สารบัญรูป ฌ

บทที่

1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 สมมติฐานของการทดลอง 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย 2
1.5 ขอบเขตของการวิจัย 2
2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ทฤษฎี 3
2.1.1 อนุมูลอิสระ 3
2.1.2 กระบวนการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย 4
2.1.3 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ 5
2.1.4 การป้องกันอันตรายและความเสียหายที่เกิดอนุมูลอิสระ 6
2.1.5 ข้อมูลพืชสมุนไพรของพืชในสกุล Zingiber และ Curcuma 10
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
3 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง 16
3.1 วัสดุ และอุปกรณ์ 16
3.2 สารเคมี 16
3.3 วิธีการทดลอง 17

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
4.	ผลการทดลอง	20
	4.1 น้ำหนักของส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิล อะซิเตท และน้ำ	20
	4.2 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH	20
	4.3 การทดสอบค่า reducing power	25
	4.4 การทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม	27
5.	อภิปราย สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	29
	5.1 อภิปรายผลการทดลอง	29
	5.2 สรุปผลการทดลอง	31
	5.3 ข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม		32
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี		35
ภาคผนวก ข การหาค่า IC_{50} ในการกำจัดอนุมูล DPPH		37
ภาคผนวก ค การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม		40
ภาคผนวก ง โครงสร้างของสาร		43
ประวัติย่อนิสิต		44

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4-1 Yield ของส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของลำต้นใต้ดินกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง 20
4.2 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นกระทือป่า ที่ความเข้มข้นต่างๆ 21
4-3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นว่านริดสีดวง ที่ความเข้มข้นต่างๆ 22
4-4 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของ ascorbic acid และBHT 23
4-5 การกำจัดอนุมูล DPPH (IC_{50})ของส่วนสกัดย่อยกระทือป่าและว่านริดสีดวง 24
4-6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและการกำจัดอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตรของส่วนสกัดย่อยกระทือป่าและว่านริดสีดวง 27

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2-1 วิตามินซี 7
2-2 วิตามินอี 7
2-3 ตัวอย่างสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ 8
2-4 บีเอชเอ 9
2-5 บีเอชที 10
2-6 กระทือ 12
2-7 ขมิ้นชัน 13
4-1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นกระทือป่า ที่ความเข้มข้นต่างๆ 22
4-2 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นว่านริดสีดวง ที่ความเข้มข้นต่างๆ 23
4-3 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของ ascorbic acid และ BHT 24
4-4 กราฟฤทธิ์ในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดกระทือป่าที่สกัดแยกส่วนด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ. 25
4-5 กราฟฤทธิ์ในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดว่านริดสีดวงที่สกัดแยกส่วนด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตทและน้ำ 26
4-6 กราฟฤทธิ์ในการรีดิวซ์ ของสารมาตรฐาน ascorbic acid 26
4-7 กราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid 28
4-8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH กับปริมาณฟีนอลรวม ส่วนสกัดพืชทั้ง 2 ชนิด 28
5-1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล 30

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมา และ ความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันวิทยาการใหม่ๆทำให้ค้นพบว่าโรคทั้งหลายที่เกิดขึ้นในปัจจุบันมีส่วนที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสลายภายในเซลล์อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาจาก อนุมูลอิสระ และทำให้ส่งผลทางลบต่อปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆภายในร่างกายของเรา ระบบภูมิคุ้มกันที่ลดลงและการเกิดอนุมูลอิสระที่มากขึ้นจะทำให้ร่างกายเสื่อมโทรมลง (กมลวรรณ นันทเพ็ชร, 2544) ซึ่งการสะสมอนุมูลอิสระที่มากขึ้นทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stress โดยจะนำไปสู่กระบวนการเกิดโรคต่างๆ เช่นโรคเบาหวาน โรคไต สมองขาดเลือด หลอดเลือดแข็งตัว ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ และโรคมะเร็ง และปัจจัยอื่นๆก็มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระคือ การสูบบุหรี่ การได้รับแสงแดดมากเกินไป การได้รับสารกัมมันตภาพรังสี เป็นต้น ภายในร่างกายจะมีกลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระทั้งที่สร้างได้ในร่างกาย และได้รับจากสารอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้โดยยับยั้งแหล่งที่จะเป็นต้นกำเนิดของอนุมูลอิสระ หรือทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อลดผลเสียที่จะเกิดขึ้น

ปัจจุบันได้มีกระแสความนิยมการใช้สมุนไพรในผลิตภัณฑ์ต่างๆเพิ่มมากขึ้น เพราะมีรายงานสารพฤกษเคมีในพืชสมุนไพรมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเช่น การใช้เคอร์คูมินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีตามธรรมชาติ แยกได้จากเหง้าของขมิ้นชันซึ่งเป็นพืชในตระกูล Zingiberaceae มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย สามารถใช้ในการรักษาโรคมะเร็งโดยยับยั้งการงอกใหม่ของหลอดเลือด(โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) ดังนั้นจึงมีความพยายามในการค้นคว้าหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดใหม่จากพืชเพื่อประโยชน์ที่จะช่วยในด้านที่เป็นยารักษาโรค อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอาหาร

กระทือป่า (*Zingiber thorelii* Gagnep.) และ ว่านริดสีดวง(*Curcuma sp.*) เป็นพืชในตระกูล Zingiberaceae เช่นเดียวกันกับขิง แต่พืชทั้งสองชนิดนี้ยังไม่มีรายงานถึงการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชทั้งสองชนิดนี้ อันจะนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาสมุนไพร หรือใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดสารจากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวงด้วยเอทานอล และสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท น้ำ

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ จากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง

3. เพื่อศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ จากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง

4. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมที่มีอยู่ในส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ จากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง

1.3 สมมติฐานของการทดลอง

กระทือป่า และ ว่านริดสีดวง เป็นพืชในวงศ์ขิง โดยพืชวงศ์นี้มีหลายชนิดเช่น ขิง ข่า ไพล เร่ว ว่านชักมดลูกถูกพบว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ดังนั้นกระทือป่า และ ว่านริดสีดวงน่าจะมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันเหมือนกัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ จากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง

2. สามารถทราบถึงปริมาณพวกสารประกอบฟีนอลรวมที่มีอยู่ในส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ จากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวง

3. ได้ข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ที่จะสนับสนุนการนำพืชทั้งสองชนิดไปพัฒนาเป็นยาสมุนไพร

1.5 ขอบเขตการวิจัย

ทำการสกัดสารจากลำต้นใต้ดินของกระทือป่า และ ว่านริดสีดวงที่ได้มาจากสวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก งานสวนพฤกษศาสตร์ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลเขาหินซ้อน อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา ด้วยเอทานอล และสกัดแยกส่วนด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ทดสอบการกำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์ และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดต่างๆจากพืชทั้ง 2 ชนิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี

2.1.1 อนุมูลอิสระ (Free radical) (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $A^{\bullet}$ อนุมูล $A^{-\bullet}$ และอนุมูล $A^{+\bullet}$ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง อนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ตัวอย่างอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพได้แก่อนุมูลซุปเปอร์ออไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\bullet}$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรือ อนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\bullet}NO$) อนุมูลวิตามินอี และวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา นอกจากนี้ยังมีสารอีกหลายชนิดที่ไม่ได้อยู่ในสภาวะอนุมูล แต่มีความเกี่ยวข้องหรือเป็นผลผลิตของอนุมูล ซึ่งมีความคงตัวที่ต่ำ และสลายได้ง่าย เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เปอร์ออกซิไนไตรท์ ($ONOO^-$)

อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS, RS)	
Superoxide, Superoxide anion $O_2^{-\bullet}$	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, $^{\bullet}OH$	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2^{\bullet}$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2^{\bullet}$	Singlet oxygen ($O_2^{\cdot}$ g)
Alkoxyl, $RO^{\bullet}$	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_3^{-\bullet}$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{-\bullet}$	Peroxynitrous acid, ONOOH
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide, $NO^{\bullet}$	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2^{\bullet}$ $NO_3^{-\bullet}$	Nitrosyl cation, NO^+ Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide,N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3
	Nitronium (nitryl) cation , NO_2^+
	Alkyl peroxynitrites, ROONO
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acid, HOCl
	Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl
	Chloramines Chlorine gas (Cl_2)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เมื่อมีการเกิดอนุมูลอิสระ และอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ เพิ่มขึ้นมากเกินกว่าที่สารต้านอนุมูลตามธรรมชาติที่มีอยู่ในเซลล์จะจัดการได้ นอกจากมีอนุมูลอิสระที่ไม่ถูกกำจัดจำนวนมากแล้ว ยังมีผลทำให้สารต้านอนุมูลธรรมชาติในเซลล์ เช่น กลูตาไทโอน (GSH) วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี มีปริมาณลดลงหรือหมดไป เกิดภาวะออกซิเดชันในเซลล์ไม่สมดุลโดยมีอนุมูลอิสระมากเกินไป เซลล์จึงตกอยู่ในสภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากออกซิเดชัน (oxidative stress)

2.1.2 กระบวนการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระเป็นกระบวนการปกติที่เกิดในร่างกาย รวมถึงการได้รับสารจากภายนอกโดยจะเข้ามากระตุ้นภายในร่างกายให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ โดยจะกล่าวถึงภาวะที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเท่านั้น

1. อนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการหายใจและกระบวนการสร้างพลังงานภายในร่างกาย

ไมโตคอนเดรียเป็นแหล่งที่สร้างพลังงานและเกี่ยวข้องกับกระบวนการหาย ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นคือ อนุมูลซุปเปอร์ออไซด์แอนอิออน อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เมื่อการสร้างพลังงานให้กับร่างกายโดยออกซิเดทีฟฟอสโฟริเลชัน (oxidative phosphorylation) พบว่าออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้สร้างพลังงานจะมีการรีดิวซ์ไม่สมบูรณ์ประมาณ 2-10% ได้เป็นอนุมูลซุปเปอร์ออไซด์แอนอิออน ซึ่งนำไปสู่อนุมูลอิสระตัวอื่นคือ อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยที่อนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ในสภาวะที่มี Fe^{2+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + OH^{-}$) นอกจากปฏิกิริยาเฟนตันแล้วยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีโดยปฏิกิริยาฮาเบอร์ไวส์ (haber-weiss) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\cdot} + OH^{-}$)อนุมูลอิสระที่หลุดออกมาจากห่วงโซ่หายใจทั้ง ROS และ RNS เมื่อถูกกระตุ้นจึงจำเป็นต้องดึงอิเล็กตรอนออกมาจากโมเลกุลอื่นเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ซึ่งทำให้มีอนุมูลอิสระตัวใหม่เกิดขึ้น เป็นจุดเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่เพื่อสร้างอนุมูลอิสระ หากไม่มีการยับยั้งให้มีการสร้างลดลงของอนุมูลตัวใหม่ จะทำให้เกิดปฏิกิริยา เช่น ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเป็นการสร้างอนุมูลอิสระภายในเยื่อหุ้มเซลล์

2. อนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

เมื่อเซลล์ในร่างกายของเราพบว่ามีแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายจะมีการสร้างอนุมูลอิสระมาทำลายแบคทีเรียนั้นๆ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายจะควบคุมการสร้างอนุมูลอิสระ แต่ถ้าเมื่อใดที่ระบบภูมิคุ้มกันไม่สามารถควบคุมการสร้างได้ จะทำให้เกิดโทษต่อร่างกายโดยอนุมูลอิสระที่มีการสร้างขึ้นมากมายจะไปทำลายเซลล์ร่างกาย เช่น การเป็นโรคออโต้อิมมูน (autoimmune diseases)

3. อนุมูลอิสระเป็นผลผลิตที่มาจากการทำงานของเอนไซม์หรือปฏิกิริยาเคมีในร่างกาย

อนุมูลอิสระจะถูกสร้างจากกระบวนการย่อยสลายของอะดีนาลิน (adrenaline) กระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน (lipid metabolism) และเหล็ก (iron metabolism)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.1.3 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรค ทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมีพัฒนาการอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาทในสมอง และภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต คือ หัวใจ และสมอง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบอนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไร้คู่ ดังนั้นจึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค คือ ชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์ และสารสื่อประสาท และดีเอ็นเอ

ลิพิดโปรตีนและดีเอ็นเอ เป็นชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้เพราะชีวโมเลกุลเหล่านี้มีอิเล็คตรอน หรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกได้ง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าจับคู่กับอิเลคตรอนของชีวโมเลกุล หรือดึงอิเล็กตรอน หรืออะตอมไฮโดรเจนออกจากชีวโมเลกุลนั้นๆ กล่าวคือชีวโมเลกุลคือ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ ถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระ อุบัติการเหล่านี้ทำให้คุณสมบัติ และการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไปเกิดความบกพร่อง หรือถูกทำลาย อันเป็นเหตุของการเกิดโรค

1. กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์

ในสิ่งมีชีวิตการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเรียกว่าลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และ ฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียสภาพจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในที่เซลล์เมมเบรนหรือ ลิพิดในเลือด และ ในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูล สามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรนอันมีลิพิด 2 ชั้นเป็นประกอบ ทำให้เกิดสารประกอบผลผลิตที่หลากหลาย

2. กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดส์

อนุมูลอิสระมีบทบาทในปฏิกิริยาที่ทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ เช่น nicking การจับคู่เบสในดีเอ็นเอผิดไป การจัดเรียงลำดับของนิวคลิโอไทด์ผิดไป การหายไปของดีเอ็นเอบางส่วน การมีนิวคลีโอไทด์หรือดีเอ็นเอบางส่วนสอดแทรก และ การเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายซึ่งทำความเสียหายต่อดีเอ็นเอ ได้แก่ การเติมหมู่เมททิล การกำจัดหมู่พิวรีน และการกำจัดหมู่อะมิโน อนุมูลอิสระต่างชนิดกันจะมีผลต่อดีเอ็นเอในรูปแบบที่แตกต่างกันเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะไม่ทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอ ในขณะที่อนุมูล $^{\cdot}OH$ สามารถทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอทั้งสี่ชนิดเกิดเป็นสารหลากหลายชนิด ส่วนอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ทำปฏิกิริยาจะเฉพาะเจาะจงกับกัวนีนเท่านั้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดส์

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนจะเพิ่มการเผาผลาญโปรตีนซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลใหญ่ได้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลง ผลที่ตามมาจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตเพราะมีผลกระทบต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย โปรตีนเมื่อถูกออกซิไดส์โครงสร้างของโปรตีนจะเปลี่ยนไปได้หลายรูปแบบ การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์ รีเซพเตอร์และสารสื่อต่างๆซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง

2.1.4 การป้องกันอันตรายและความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

กลไกที่สำคัญที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้แก่

2.1.4.1 เอนไซม์ที่ป้องกันการออกซิเดชัน (antioxidant defuse enzyme)

ในระดับเซลล์เอนไซม์เป็นกลไกสำคัญขั้นแรกที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล เอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่

<u>เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส</u> (superoxide dismutase ; SOD) เอนไซม์ SOD จะทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่ เกิดขึ้นในร่างกาย คืออนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{\cdot-}$) โดยการเปลี่ยนอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$2\,O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

<u>เอนไซม์คาตาเลส</u> (Catalase ; CAT) เอนไซม์คาตาเลสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ในเปอร์รีอกซิโซม มีฮีมคือ ferriprotoporphyrin เป็นองค์ประกอบ เอนไซม์คาตาเลสทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ไซด์ไปเป็นโมเลกุลของน้ำกับออกซิเจน

$$2H_2O_2 + 2H^+ \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

<u>เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส</u> (glutathione peroxidase ; GPx) เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะมีธาตุซิลิเนียมเป็นองค์ประกอบสำคัญอยู่ในโครงสร้างของเอนไซม์ เอนไซม์ GPx ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้แก่ ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และไฮโดรเจนเปอร์ไซด์ โดยมีการออกซิไดส์กลูตาไทโอน ร่วมในปฏิกิริยาด้วย เป็นการสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ให้เกิดปฏิกิริยาแฟนตันซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เอนไซม์นี้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่ให้ถูกทำลายหรือเสียหายจากภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไป

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + H_2O$$

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GPx} ROH + GSSG + H_2O$$

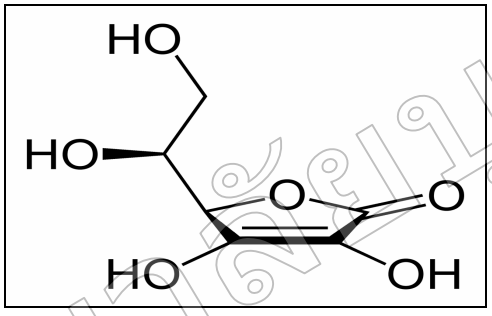
2.1.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารต้านอนุมูลที่มีอยู่ตามธรรมชาติเช่น

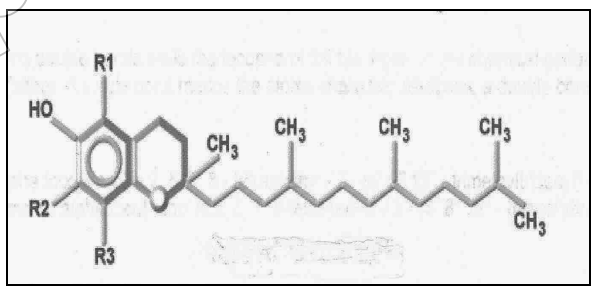
1.วิตามินซี มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำที่เป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก ($AscH_2$) มีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ ปฏิกิริยาโดยรวมคือการให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจน แก่อนุมูลอิสระ เป็นการกำจัดหรือสลายอนุมูลอิสระคือ $R^{\cdot}$ ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ $Asc^{\cdot-}$ แสดงดังรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1 วิตามินซี

(ที่มา:http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Ascorbic-acid-2D-skeletal.png [10 กุมภาพันธ์ 2551])

2. วิตามินอี หรือ tocopherol เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมันจากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์หรือรูปแบบ α-tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุดจากบรรดาไอโซเมอร์ทั้งแปด วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน แสดงดังรูปที่ 2-2



รูปที่ 2-2 วิตามินอี

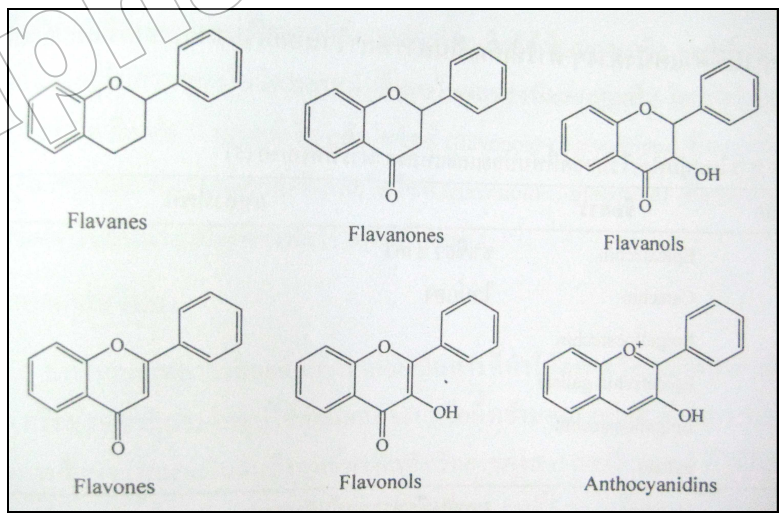
(ที่มา:http://www.benbest.com/nutrceut/VitaminE.html[10 กุมภาพันธ์ 2551])

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวด์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม– 1 กรัมซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลโครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญได้แก่ ฟลาโวนอยด์

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้แก่ ฟลาแวน(flanvanes), ฟลาวาโนน(flavanones), ฟลาวานอล(flavanols), ฟลาโวนอล(flavonols), ฟลาโวน(flavones) และ แอนโทไซยานิดิน(anthocyanidins) เป็นต้น โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิดดังรูปที่ 2-3



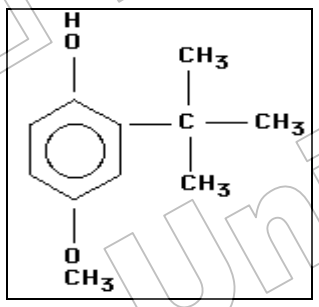
รูปที่ 2-3 ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์
(ที่มา : โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) เช่น

1. บีเอชเอ (butylated hydroxylanisole, BHA) เป็นวัตถุกันหืนที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบ บีเอชเอเป็นสารประกอบที่มีผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นฉุน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารผสม 2- และ 3- tert –butyl -4-hyfroxyanisole หรืออาจใช้ร่วมกับแกลเลตหรือบีเอชที เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ดังรูปที่ 2-4

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้บีเอชเอในปริมาณไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของอาหาร อาจใช้เพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่นที่กำหนดไว้ แต่ปริมาณแกลเลตต้องไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของอาหาร โดยประสิทธิภาพของบีเอชเอจะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นที่ใช้เพิ่มขึ้น แต่จะสูงที่ประมาณความเข้มข้นร้อยละ 0.02 เท่านั้น ถึงแม้จะใช้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพก็ไม่ได้เพิ่มขึ้นเลย



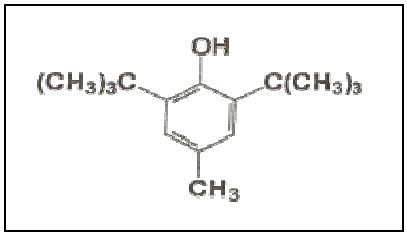
รูปที่ 2-4 บีเอชเอ

(ที่มา:class.fst.ohio-state.edu/fst605/images/BHA.gif โครงสร้าง BHA [10 กุมภาพันธ์ 2551])

2. บีเอชที (butylated hydroxytoluene, BHT) เป็นวัตถุกันหืนชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันเช่นเดียวกับบีเอชเอ แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย บีเอชทีเป็นสารประกอบที่เป็นผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่ละลายน้ำ และ propane-1,2-diol แต่ละลายในแอลกอฮอล์ และให้กลิ่นฟีนอล (phenol) เช่นเดียวกัน มักนิยมให้ผสมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่น เพื่อเสริมให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น นิยมใช้ในอาหารประเภท ไขมันสัตว์ น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์ปลา และน้ำมันหอมระเหย ดังรูปที่ 2-5

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้ได้เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยอาจจะใช้เพียงอย่างเดียว หรือใช้รวมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่นที่กำหนดไว้ แต่ปริมาณแกลเลตต้องไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของอาหาร โดยประสิทธิภาพของบีเอชทีเพิ่มขึ้น ถ้าปริมาณบีเอชทีเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 2-5 บีเอชที

(ที่มา: www.rdcsrl.com/images/bht.gif [10 กุมภาพันธ์ 2551])

2.1.4.3 สารคีเลทโลหะ (metal chelator)

การขจัดโลหะทรานซิชันโดยใช้สารคีเลทโลหะ เป็นอีกกลไกหนึ่งที่ใช้ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล ทั้งนี้เพราะโลหะทรานซิชัน เช่น ธาตุเหล็ก และทองแดง มีส่วนสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ สารคีเลทโลหะในร่างกายส่วนใหญ่เป็นโปรตีนทำหน้าที่จับโลหะทรานซิชันที่ก่อให้เกิด ·OH เข้ามารวมไว้ในโครงสร้างโดยอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โลหะจึงไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้ โปรตีนในร่างกายที่จับกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีดังนี้ คือ ทรานเฟอร์ริน (transferrin) เฟอร์ริติน (ferritin) แลกโตเฟอร์ริน (lactoferrin) เซรูโลพลามิน (ceruloplasmin) ฮีโมเพล็กซิน (hemoplexin) แฮบโทโกลบิน (haptoglobin) และอัลบูมิน

2.1.5 ข้อมูลพืชสมุนไพรของพืชในสกุล Zingiber และ Curcuma (อุดมการ อินทุใส และคณะ ,2549)

พืชทั้งสองชนิดได้รับความอนุเคราะห์จากสวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก งานสวนพฤกษศาสตร์ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลเขาหินซ้อน อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา เนื่องจากกระทือป่าเป็นต้นไม้ที่หายากและยังไม่ได้มีการสำรวจในประเทศไทย เพราะฉะนั้นจึงมีข้อมูลเกี่ยวกับต้นไม้ชนิดนี้น้อยมาก ในขณะที่ว่านริดสีดวงเป็นพืชที่ยังไม่ได้รับการจำแนกเข้าระบบอนุกรมวิธานของต้นไม้ แต่การศึกษาเบื้องต้นพบว่าอยู่ในตระกูล Curcuma และชาวบ้านใช้พืชชนิดนี้ในการรักษาโรคริดสีดวงทวารได้ผลดี จึงหาลักษณะและสรรพคุณเทียบเคียงจากพืชในวงศ์และสายพันธุ์เดียวกันมาทำการเปรียบเทียบได้ดังนี้

2.1.5.1 กระทือป่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber thorelii* Gagnep.

กระทือ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zingiber zerumbet* Smith.

ชื่อวงศ์ : Zingiberaceae

ชื่อท้องถิ่น : กระทือ (ภาคกลาง) ;กระทือป่า, กะแวน, กะแอน, แสมดำ (ภาคเหนือ);

เฮียวข่า (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน); เปลพ้อ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน); เฮียวแดง,เฮียวดำ (แม่ฮ่องสอน)

ชื่อสามัญ : -

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ไม้ล้มลุกที่มีลำต้นใต้ดินลักษณะเป็นเหง้า มีกลิ่นน้ำมันระเหย เนื้อในเหง้าหรือลำต้นใต้ดินมีสีขาวอมเหลืองอ่อน เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง แทงหน่อออกด้านข้างและนอกสุด ลำต้นส่วนของกาบ ใบที่แผ่ออกแล้วหุ้มซ้อนทับกับจนกลายเป็นลำต้นเทียมมีสีเขียว ใบเป็นใบเดี่ยว แตกใบเรียงสลับ ลักษณะใบรูปขอบขนานหรือรูปใบหอก ปลายใบเรียวแหลม โคนใบมนและสอบเรียวเข้าหาก้านใบ ขอบใบเป็นคลื่น แผ่นใบสีเขียวเข้ม ท้องใบหรือใต้ใบมีขนสีขาวนวล ก้านใบสั้น ออกดอกเป็นช่อแบบช่อเชิงลด แตกช่อจากหัวใต้ดินโผล่พ้นดินขึ้นมา ช่อดอกที่เห็นเป็นรูปทรงกระบอกสีเขียวปนแดง ปลายและโคนมนโค้ง ประกอบด้วยใบประดับที่เรียงซ้อนกันแน่น เมื่อดอกยังอ่อนจะปิดแน่น และจะขยายอ้าออกให้เห็น ดอกที่อยู่ภายในลักษณะเป็นหลอดโผล่ออกมาจากซอกใบประดับ กลีบดอกมีสีเหลืองอ่อนหรือสีขาวนวลโคนกลีบดอกม้วนห่อส่วนปลายกลีบผายกว้าง ผลกลมโต แข็งสีแดง เป็นแบบผลแห้งแตก

ส่วนที่ใช้เป็นยา : ลำต้นใต้ดินหรือเหง้าแก่สด

สรรพคุณในตำรายาทั่วไป

เหง้าหรือลำต้นใต้ดิน : รสขมขื่นปร่า แก้แน่นหน้าอก แก้ปวดมวนในท้อง บำรุงน้ำนมให้สมบูรณ์ เป็นยาขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ บำรุงธาตุ ขับปัสสาวะ แก้เสมหะเป็นพิษ แก้บิด ขับน้ำย่อยเจริญอาหาร แก้บิดปวดเบ่ง เป็นยาบำรุงกำลัง แก้ฝี ผสมในตำหรับยาร่วมกับสมุนไพรตัวอื่น แก้ไข้ตัวเย็น แก้กระษัย แก้ท้องอืด แก้โรคลม เป็นยาระบาย แก้ปัสสาวะขุ่นข้น แก้บิด บำรุงธาตุ

ใบ : รสขมขื่นเล็กน้อย ใช้ใบต้มเอาน้ำดื่มเป็นยาขับเลือดเน่าในมดลูก ขับน้ำคาวปลา แก้ปัสสาวะเป็นโลหิต ใช้ผสมในตำหรับยาร่วมกับสมุนไพรอื่น เป็นยาแก้ไข้ป่า อีสุกอีใส เป็นยาประคบเส้นฟกบวม ถอนพิษไข้ แก้ไข้ กระทุ้งพิษไข้ แก้ไข้อีดำอีแดง แก้หัด ไข้ร้อนในกระหายน้ำ แก้ไข้เปลี่ยนฤดู แก้ไข้เซื่องซึมผิดสำแดง

ต้น : รสขมขื่น เป็นยาแก้เบื่ออาหาร ทำให้เจริญอาหาร แก้ไข้

ดอก : รสขมขื่น แก้ไข้เรื้อรัง แก้ผอมแห้ง แก้ไข้ตัวเย็นแก้ไข้จับสั่น แก้ผอมเหลือง บำรุงธาตุ แก้ลม

เกสร : รสเฝื่อนปร่า บำรุงธาตุ แก้ลม

ราก : รสขมขื่นเล็กน้อย แก้ไข้แก้ตัวเย็น แก้ไข้ตัวร้อน แก้ไข้ต่างๆ แก้เคล็ดขัดยอก

ช่วงเวลาที่เก็บเป็นยา : ช่วงอายุ 8-12 เดือนหรือในช่วงฤดูแล้งในขณะที่ลำต้นบนดินตาย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 2-6 กระทือ

(ที่มา: http://picdb.thaimisc.com/9anant/5-78.jpg [10 กุมภาพันธ์ 2551])

2.1.5.2 ว่านริดสีดวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma* sp.

ขมิ้นชัน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Curcuma longa* Linn

ชื่อวงศ์ : Zingiberaceae

ชื่อท้องถิ่น : ขมิ้น (ทั่วไป); ขมิ้นแกง, ขมิ้นหยวก, ขมิ้นหัว (เชียงใหม่), ขมิ้นชัน (ภาคกลาง, พิษณุโลก) ขี้มิ้น, หมิ้น(ภาคใต้); ตายอ (กะเหรี่ยง-กำแพงเพชร);สะยอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)

ชื่อสามัญ : Turmeric

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ไม้ล้มลุก มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า ประกอบด้วยแง่งที่มีลักษณะต่างๆกันคือ แง่งแม่หรือแง่งหลักจะมีลักษณะกลม ซึ่งจะเป็นที่แตกของแขนงที่สองและสามต่อไปแขนงที่แตกออกมานี้ถ้ามีลักษณะกลม จะเรียกว่าหัว และถ้ามีลักษณะยาวคล้ายนิ้วมือจะเรียกว่านิ้ว ซึ่งเป็นที่เกิดของรากฝอย เนื้อในหัวมีสีเหลืองอมส้มและมีกลิ่นหอม ใบเป็นใบเดี่ยว แผ่นใบมีลักษณะยาวเรียว ปลายใบแหลม มีเส้นกลางใบเห็นได้ชัดเจนทางด้านล่างของใบ ใบเรียงแบบสลับ และอยู่กันเป็นกลุ่ม ออกดอกเป็นช่อ ช่อดอกจะเกิดบนลำต้นที่มีใบหรือโผล่ขึ้นมาจากใจกลางของกลุ่มใบ ช่อดอกมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปร่างแบบทรงกระบอกหรือรูปกรวย ใบประดับมีสีเขียวอ่อนๆหรือสีขาวตรงปลายช่อดอกจะมีสีชมพูอ่อนจัดเรียงซ้อนกันอย่างเป็นระเบียบ กลีบรองกลีบดอกจะเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ มีขน กลีบดอกมีสีขาวตรงโคนเชื่อมติดกันเป็นท่อยาว

ส่วนที่นำมาใช้เป็นยา : เหง้าสดและแห้ง

สรรพคุณในตำรับยาทั่วไป

เหง้า : รสฝาดหวานเอียน แก้ไข้เรื้อรัง แก้โรคผิวหนัง แก้เสมหะ และโลหิต แก้ท้องร่วง สมานแผล แก้ธาตุพิการ ขับผายลม แก้ผื่นคัน น้ำคันจากเหง้าสดทาแก้แผลถลอก แก้โรคผิวหนังผื่น ลดการอักเสบ ทำให้ผิวพรรณผุดผ่อง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร

ผงขมิ้น : เคี่ยวกับน้ำมันพืช ทำน้ำมันใส่แผลสด ผสมน้ำทาผิว แก้เม็ดผดผื่นคัน

ขมิ้นสด : โขลกกับดินประสิวเล็กน้อย ผสมน้ำปูนใสพอกบาดแผล และแก้เคล็ดขัดยอก เผาไฟแล้วโขลกรวมกับน้ำปูนใส รับประทานแก้ท้องร่วง แก้บิด

องค์ประกอบของสารต้านออกซิเดชัน : ในน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชันพบสารเคมี คือ สารที่มีสีเหลืองเรียกว่า curcumin และ resin นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยประมาณ 5% ซึ่งประกอบด้วย borneol, camphene, zingerene, 1,4-cineol, sabinene และ phellandrene

รูปที่ 2-7 ขมิ้นชัน

(ที่มา : http://www.khaolaor.com/news/images/hn_06.jpg [10 กุมภาพันธ์ 2551])

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สังวาล สมบูรณ์ และคณะ (2542) ทำการวิเคราะห์ส่วนเหง้าสด (rhizome) ของพืชตระกูล Zingiberaceae 6 ชนิด ได้แก่ ข่า (*Alpinia galanga* (L.)Swartx) ขิง (*Zingiber officinale* Rosc) เร่ว (*Alpinia allughas* Rosc) กระชาย (*Boesenbergia pandurata* Holtt) ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb) และขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria* Rose) มาสกัดน้ำมันระเหยง่ายด้วยวิธี hydro-distillation สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหย ด้วย GC-MS พบว่ามีองค์ประกอบแตกต่างกัน องค์ประกอบที่พบมาก 3 อันดับแรกในน้ำมันระเหยง่ายของแต่ละชนิดคือ น้ำมันระเหยง่ายข่า ได้แก่ 1,8 cineole44.61%, trans-carryophyllene 9.67% และ β-bisaeolene 7.34% น้ำมันระเหยง่ายขิง ได้แก่ *E*-citral 29.05%, Zcitral 20.11% และ 1,8-cineole 11.17% น้ำมันระเหยง่ายเร่ว ได้แก่ 1,8-cineole 27.06%, benzene,1,2,4-trimethyl 12.30% และ fenchone 9.84% น้ำมันระเหยง่ายกระชาย ได้แก่ trans-geraniol 31.75%, 1,8-cineole23.81% และ 1,3,7-octatriene 3,7-dimethyl 19.05% น้ำมันระเหยง่ายไพล ได้แก่ β-phelandrene 29.07%, 3-cyclohexene-1-ol, 4-methyl-1(1-methylethyl) 27.62% และ 2-dimethylamino-indene 23.26% น้ำมันระเหยง่ายขมิ้นอ้อย ได้แก่ I-pentanone,1-phenol 52.63%, benzal-dehyde,4-ethyl 17.11% และ benzene-1-ethyl-3,5-dimethyl 11.18% นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันระเหยง่ายเกือบทุกชนิด คือ1,8-cineole ยกเว้นในน้ำมันระเหยง่ายไพล

จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล และคณะ (2549) ในการวิจัยนี้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชวงศ์ Zingiberaceae 5 ชนิด ได้แก่ ข่า (A. *galanga* (L.) Swartx) ขมิ้นชัน(Curcuma longa Linn) ขมิ้นขาว (*C.mangga* Val.& Zijp) ไพล (Z. *cassumunar* Roxb.) ไพลดำ (*Z.ottensii* Valeton) โดยศึกษาการสกัด 3 อย่างด้วยกันได้แก่ สารสกัดน้ำ สารสกัดแอลกอฮอล์ ทำการสกัดโดยวิธี continuous extraction และน้ำมันหอมระเหยเตรียมโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) เปรียบเทียบกับ Trolox (milligram of trolox per gram of sample) ผลการทดลองพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดแอลกอฮอล์ของขมิ้นชัน น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดน้ำของไพล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในกลุ่ม โดยมีค่าเท่ากับ 187.543, 56.469 และ 32.058 mg/g ตามลำดับ

นิติมา วงศ์วัฒนานุกูล และคณะ (2549) การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) และสารหอม (absolute) จากพืชหอมและเครื่องเทศไทย มาจากพืช 12 วงศ์ จำนวน 19 ชนิด โดยการวัดความสามารถในการขจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH˙) เปรียบเทียบสารมาตรฐาน 3 ชนิด คือ trolox, quercetin และ kaempferol น้ำมันหอมระเหยสกัดโดยการกลั่นด้วยน้ำส่วนสารหอม สกัดโดยตัวทำละลาย ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันกระเพามีฤทธิ์ดีที่สุด (Ocimum Sanctum Linn., IC_{50}=0.6294 mg/mL) รองลงมาคือ น้ำมันไพล (Z. cassumunar Roxb., IC_{50}=1.0599 mg/mL) และน้ำมันขิง (Z. officinale, IC_{50}=4.385mg/mL)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ศศิธร อุทธตรี (2549) ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน การกำจัดอนุมูล DPPH และสารประกอบฟีนอลรวมของพืชวงศ์ Zingiberaceae 4 ชนิด คือ เร่ว (*Alpinia allughas* Rosc) กระวาน (*Amomum kravanh* Pierre) ว่านชักมดลูก (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) และกระทือ (*Zingiber zerumbet* Smith) พบว่า ส่วนสกัดของว่านชักมดลูกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 292.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ เร่ว กระทือ และกระวาน มีค่าเท่ากับ 779.62 , 824.68 และ 1,162.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การทดสอบ Reducing power มีลักษณะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารทดสอบ โดยว่านชักมดลูกที่สูงอย่างเด่นชัดที่ความเข้มข้น 500 ถึง 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ส่วนสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดว่านชักมดลูก กระทือ เร่ว และกระวาน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม เท่ากับ 103.5 , 46.6 , 38.6 และ 22.1 มิลลิกรัม gallic acid ต่อกรัม ตามลำดับ

Habsah และคณะ (2000) นำส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน และ เมทานอลของพืชวงศ์ Zingiberaceae 13 ชนิดในสกุล *Alpinia, Costus* และ *Zingiber* มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน พบว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทน และเมทานอลของพืชที่ศึกษามีความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน ที่ใกล้เคียงหรือได้สูงกว่า α-tocopherol นอกจากที่ยับยั้งพบว่าส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนของ *Z. cassumunar*, *Curcuma megalobracea* และ *Curcuma spiralis* มีความสามารถต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่ดีกว่าส่วนสกัดเมทานอล

Mau และคณะ (2003) ทำการแยกองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยของลำต้นใต้ดินของขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria*)โดยการกลั่นแยกด้วยไอน้ำและการแยกด้วยสารละลาย สามารถแยกส่วนประกอบทั้งหมดได้ 36 ชนิด แบ่งเป็นพวก terpenes 17 ชนิด สารพวก alcohol 13 ชนิด และสารพวก ketone 13 ชนิดโดยน้ำมันหอมระเหยของ *C.zedoaria* แสดงฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชั่นที่ดีเมื่อทดสอบโดยวิธี reducing power , การกำจัดอนุมูล DPPH และการคีเลท ferrous ion นอกจากนี้ยังพบว่า ในส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยมี epicurzerenone, curzerene และ curdione พบเป็นอันดับที่ 1 ,2 และ 3 (24.1, 10.4 และ 7.00% ตามลำดับ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1วัสดุ และอุปกรณ์

1. ขวดรูปลูกแพร
2.กรวยแก้วขนาด 1000 ml
3.กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
4.ชุดกรองแบบบุชเนอร์
5. หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 ml
6. หลอดพลาสติกฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร และขนาด 50 มิลลิลิตร
7. ไมโครเพลท
8. ปิเปตอัตโนมัติ
9. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท precsia ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
10. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง บริษัท Matrohm ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
11. เครื่อง vortex บริษัท IKA work ประเทศมาเลเซีย
12. เครื่องปั่นเหวี่ยง บริษัท CENTRION ประเทศสหราชอาณาจักร
13. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) บริษัท Eyela ประเทศญี่ปุ่น
14. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท บริษัท VERSAMAX

3.2 สารเคมี

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, ประเทศเยอรมนี)
2. butylated hydroxyl toluene (BHT) (Aldrich, ประเทศเยอรมนี)
3. dimethyl sulfoxide (DMSO)(Scharlau, ประเทศสเปน)
4. ethanol (commercial grade)
5. ethyl acetate (commercial grade)
6. folin Ciocalteu’reagent (Carlo erba, ประเทศเยอรมนี)
7. gallic acid (Fluka, ประเทศเยอรมนี)
8. hexane (commercial grade)
9. iron (III) chloride (Fisher Chemicals, ประเทศสหราชอาณาจักร)
10. L-(+) ascorbic acid (Scharlau, ประเทศสเปน)
11. methanol (JHD, ประเทศจีน)
12. potassium ferricyanide (Univar, ประเทศออสเตรเลีย)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

13. potassium dihydrogen phosphate (Carlo erba, ประเทศเยอรมนี)

14. dipotassium hydrogen phosphate (Carlo erba, ประเทศเยอรมนี)

15. sodium carbonate (Carlo erba, ประเทศเยอรมนี)

16. trichoroacetic acid (Carlo erba, ประเทศเยอรมนี)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมต้นกระทือป่าและว่านริดสีดวง

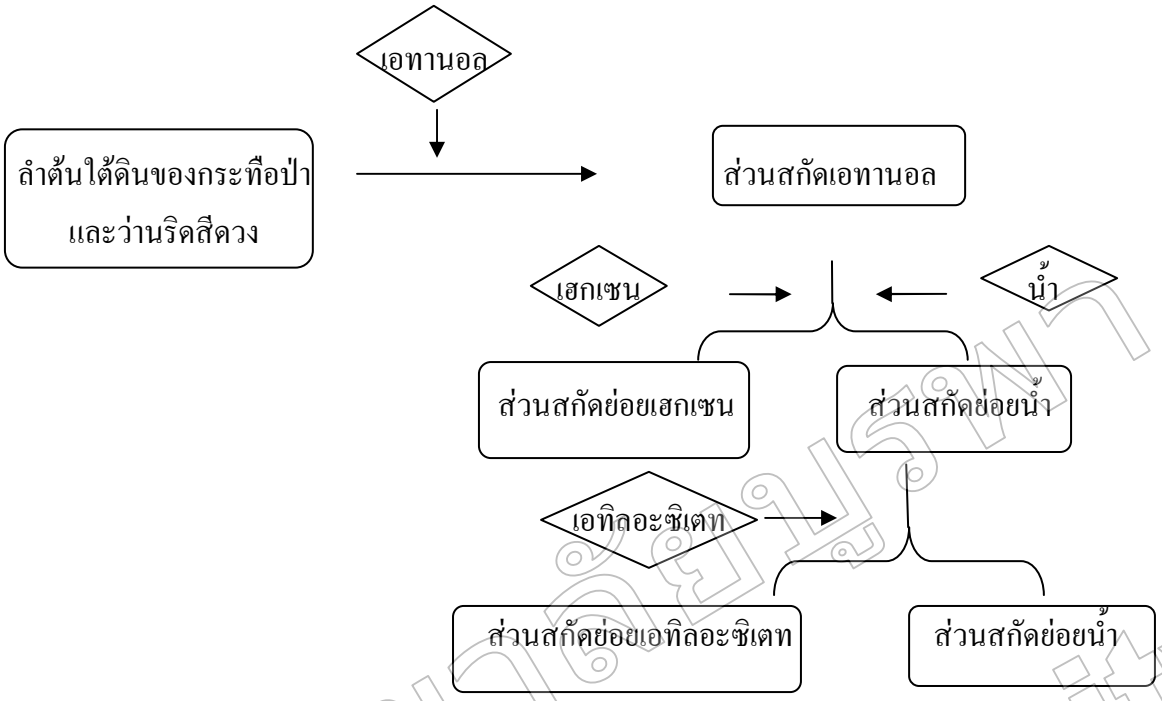
นำพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ กระทือป่า และว่านริดสีดวง ที่ได้มาจากสวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก งานสวนพฤกษศาสตร์ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลเขาหินซ้อน อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยใช้ส่วนของลำต้นใต้ดิน นำมาล้างให้สะอาด หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง แล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ชั่งน้ำหนักพืชหลังจากที่ปั่นได้ทั้งหมด

3.3.2 การสกัดต้นกระทือป่าและว่านริดสีดวง

นำลำต้นใต้ดินของกระทือป่าที่บดละเอียดจำนวน 73 กรัมและว่านริดสีดวงที่บดละเอียดจำนวน 202 กรัมใส่ถุงผ้าสำหรับกรองที่ซ้อนกัน 3 ชั้น แช่ถุงผ้าในสารละลายเอทานอลที่บริสุทธิ์ ปริมาตร 2 ลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ต้องเขย่าถุงผ้าทุกๆวันเป็นเวลาเช้าเย็น กรองส่วนสกัดที่ได้ด้วยเครื่องดูดสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำผงของลำต้นใต้ดินของกระทือป่าและว่านริดสีดวงนำไปใส่ถุงกรองเพื่อสกัดด้วยเอทานอล ซ้ำอีก 2 ครั้ง และนำส่วนเอทานอลที่ได้ทั้งหมด มาทำการระเหยตัวทำละลายเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) และ เครื่องระเหิดแห้ง (freeze dryer) ตามลำดับ ชั่งน้ำหนักส่วนสกัดเอทานอลที่ได้และเก็บไม่ให้โดนแสงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ทำการสกัดแยกส่วนสกัดเอทานอลโดยนำส่วนสกัดเอทานอลของกระทือป่าจำนวน 48.9414 กรัมและว่านริดสีดวงจำนวน 3.4298 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 300 มิลลิลิตรเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร และเติมเฮกเซน 200 มิลลิลิตรและทำการสกัดในกรวยแยก แยกส่วนที่เป็นชั้นเฮกเซนออก(ชั้นบน) นำส่วนชั้นน้ำมาสกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 200 มิลลิลิตรอีกครั้งนำชั้นเฮกเซนรวมกับชั้นเฮกเซนที่สกัดได้ในครั้งแรก จากนั้นนำส่วนชั้นน้ำสกัดด้วย เอทิลอะซิเตท 2 ครั้งๆละ 200 มิลลิลิตรตามแผนผังการสกัดในรูปที่ 3-1 และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนและเครื่องระเหิดแห้งตามลำดับ ชั่งน้ำหนักส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำที่ได้ ก่อนนำไปเก็บ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้โดนแสงเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 3-1 แผนผังการสกัดแยกส่วนกระทือป่าและว่านริดสีดวง

3.3.3 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH (Nagai และคณะ, 2005)

เตรียมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และส่วนสกัดลำต้นใต้ดินที่ละลายในเมทานอลและสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลทโดยมี ascorbic acid และ BHT เป็นตัวเทียบมาตรฐาน สามารถคำนวณเปอร์เซนต์การกำจัดอนุมูล DPPH จากสูตร

เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH = A_a- (A_b–A_c)/ A_a x100

โดยที่ A_a คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุมที่ประกอบด้วยเมทานอล และสารละลาย DPPH

A_b คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมทดสอบที่ประกอบด้วยเมทานอล และสารละลาย DPPH

A_c คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยส่วนสกัดและเมทานอล

3.3.4 การทดสอบ reducing power (ศศิธร อุทธตรี, 2549)

นำส่วนสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ phosphate buffer (0.2 มิลลิโมลาร์,pH=6.6) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ1% $K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการเติม 10% trichloroacetic acid ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เขย่าผสม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 3000 rpm นาน 10 นาที เก็บสารละลายส่วนบน 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.1% $FeCl_3$ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท

3.3.5 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Mongkolsilp และคณะ, 2004)

สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่ละลายในเมทานอล ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0, 0.0625, 0.125, 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในปฏิกิริยาประกอบด้วย น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย gallic acid หรือส่วนสกัดที่ละลายใน DMSO ปริมาตร 125 ไมโครลิตรและสารละลาย Folin Ciocalteu's reagent ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เขย่าให้ผสมกัน แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติม 7% sodium carbonate ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 น้ำหนักส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ

จากการสกัดแยกส่วนลำต้นใต้ดินของกระทือป่าและว่านริดสีดวงด้วย เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ พบว่า ส่วนสกัดที่ได้ yield สูงที่สุดของต้นกระทือป่าคือ ส่วนสกัดย่อยเฮกเซนเท่ากับ 0.8503 กรัม หรือร้อยละ 1.165 ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทเท่ากับ 0.5248 กรัม หรือร้อยละ 0.719 ของน้ำหนักแห้ง และส่วนสกัดย่อยน้ำเท่ากับ 0.3830 กรัมหรือร้อยละ 0.525 ของน้ำหนักแห้ง และส่วนสกัดที่ได้ yield สูงที่สุดต้นว่านริดสีดวงคือ คือ ส่วนสกัดย่อยน้ำเท่ากับ 17.5652 กรัม หรือร้อยละ 8.696 ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทเท่ากับ 2.9613 กรัม หรือร้อยละ 1.466 ของน้ำหนักแห้ง และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนเท่ากับ 2.5218 กรัม หรือร้อยละ 1.248 ของน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 4-1 Yield ของส่วนสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของลำต้นใต้ดินกระทือป่า และว่านริดสีดวง

ส่วนสกัด		Yield (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักแห้ง
กระทือป่า	เฮกเซน	0.8503	1.165
	เอทิลอะซิเตท	0.5248	0.719
	น้ำ	0.3830	0.525
ว่านริดสีดวง	เฮกเซน	2.5218	1.248
	เอทิลอะซิเตท	2.9613	1.466
	น้ำ	17.5652	8.696

4.2 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

จากการทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ส่วนของลำต้นใต้ดินของพืชทั้ง 2 ชนิด และสารต้านออกซิเดชัน ascorbic acid และ BHT พบว่า ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH แปรผันตรงตามความเข้มข้นของส่วนสกัดยกเว้นส่วนสกัดย่อยน้ำของว่านริดสีดวง (ตารางที่ 4-2 , 4-3 และรูปที่ 4-1, 4-2) โดยที่ค่า IC_{50} ของ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า มีค่าสูงสุดเท่ากับ 555.5 ไมโครกรัมต่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

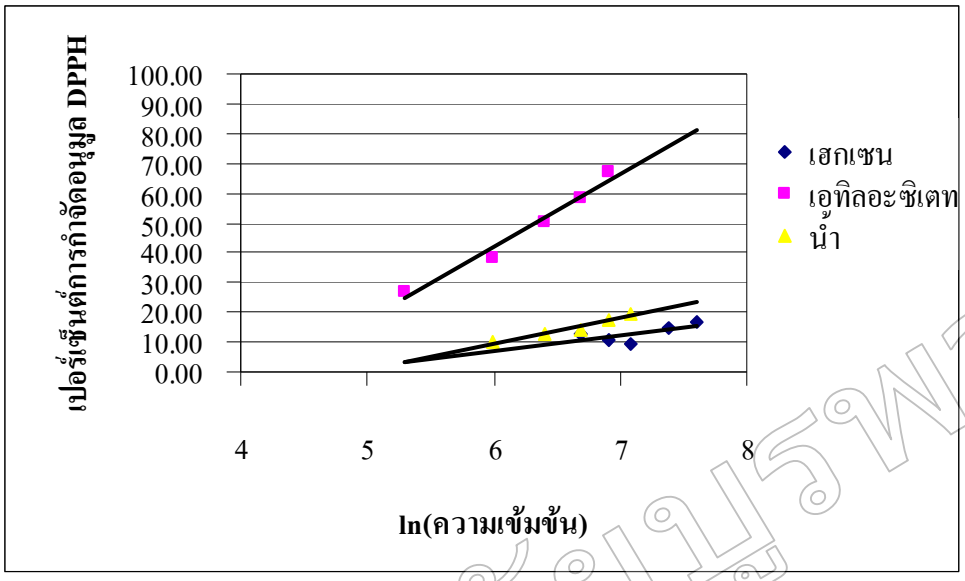
มิลลิลิตรรองลงมาคือส่วนสกัดย่อยน้ำมีค่า IC_{50} > ความเข้มข้น 1200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนมีค่า IC_{50} > ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า IC_{50} ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวงมีค่าสูงสุด เท่ากับ 101.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮกเซนและ ส่วนสกัดย่อยน้ำโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1772.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ > ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน ascorbic acid และ BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 22.943 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 55.457 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตาราง 4-4 และรูป 4-3) และตารางที่ 4-5 เป็นตารางการกำจัดอนุมูล DPPH (IC_{50})ของส่วนสกัดย่อยกระทือป่าและว่านริดสีดวง

ตารางที่ 4-2 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นกระทือป่าที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH		
	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตท	น้ำ
200	-	27.10 ± 3.30(n=3)	-
400	-	38.13 ± 4.06(n=3)	10.07 ± 5.84(n=3)
600	-	50.62 ± 3.02(n=3)	12.88 ± 5.05(n=3)
800	13.05 ± 0.72(n=3)	58.32 ± 4.79(n=3)	14.26 ± 5.24(n=3)
1000	10.89 ± 3.99(n=3)	67.10 ± 2.94(n=3)	17.35 ± 4.36(n=3)
1200	9.23 ± 5.43(n=3)	-	19.76 ± 4.10(n=3)
1600	14.78 ± 6.11(n=3)	-	-
2000	16.82 ± 7.45(n=3)	-	-

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองแต่ละครั้งเป็นอิสระต่อกัน
n คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



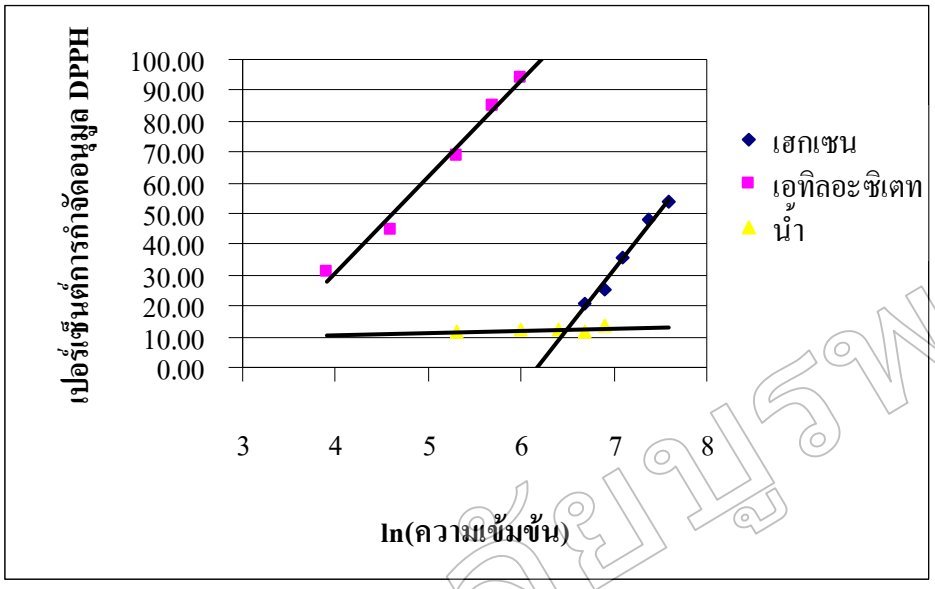
รูปที่ 4-1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นกระทือป่าที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4-3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นว่านริดสีดวงที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH		
	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตท	น้ำ
50	-	31.31 ± 2.22(n=3)	-
100	-	45.02 ± 2.51(n=3)	-
200	-	68.71 ± 2.35(n=3)	11.58 ± 2.69(n=3)
300	-	85.16 ± 1.42(n=3)	-
400	-	94.16 ± 1.84(n=3)	12.32 ± 3.17(n=3)
600	-	-	12.07 ± 3.98(n=3)
800	20.78 ± 5.46(n=3)	-	11.70 ± 2.54(n=3)
1000	25.61 ± 5.13(n=3)	-	13.33 ± 1.72(n=3)
1200	35.85 ± 4.42(n=3)	-	-
1600	48.07 ± 3.29(n=3)	-	-
2000	53.71 ± 3.57(n=3)	-	-

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองแต่ละครั้งเป็นอิสระต่อกัน
n คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



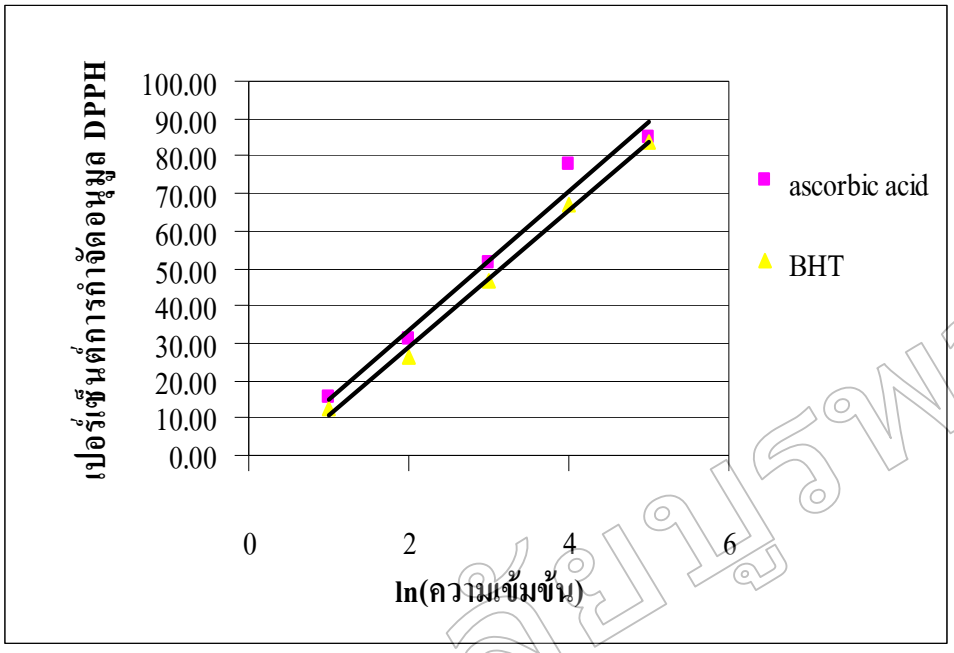
รูปที่ 4-2 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดต้นว่านริดสีดวงที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4-4 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของ ascorbic acid และ BHT

ความเข้มข้นของสารทดสอบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH	
	ascorbic acid	BHT
6.25	15.74 ± 5.41(n=4)	-
12.5	31.07 ± 11.14(n=4)	12.53± 1.90 (n=7)
25	51.74 ± 7.49(n=4)	26.24± 1.61(n=7)
50	77.73 ± 2.77(n=4)	46.66± 2.06 (n=7)
100	85.21 ± 1.60(n=4)	67.21± 3.88 (n=7)
200	-	83.76 ± 2.35 (n=7)

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองแต่ละครั้งเป็นอิสระต่อกัน
n คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 4-3 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH ของ ascorbic acid และ BHT

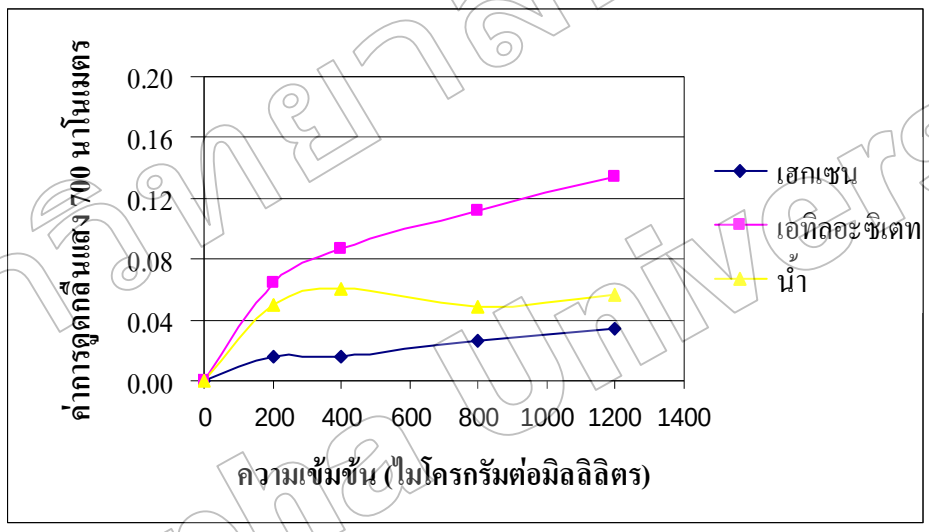
ตารางที่ 4-5 การกำจัดอนุมูล DPPH (IC_{50})ของส่วนสกัดย่อยกระทือป่าและว่านริดสีดวง

ส่วนสกัดย่อย	การกำจัดอนุมูล DPPH (IC_{50}) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	กระทือป่า	ว่านริดสีดวง
เฮกเซน	> 2000	1772.24
เอทิลอะซิเตท	555.5	101.90
น้ำ	> 1200	> 1000

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

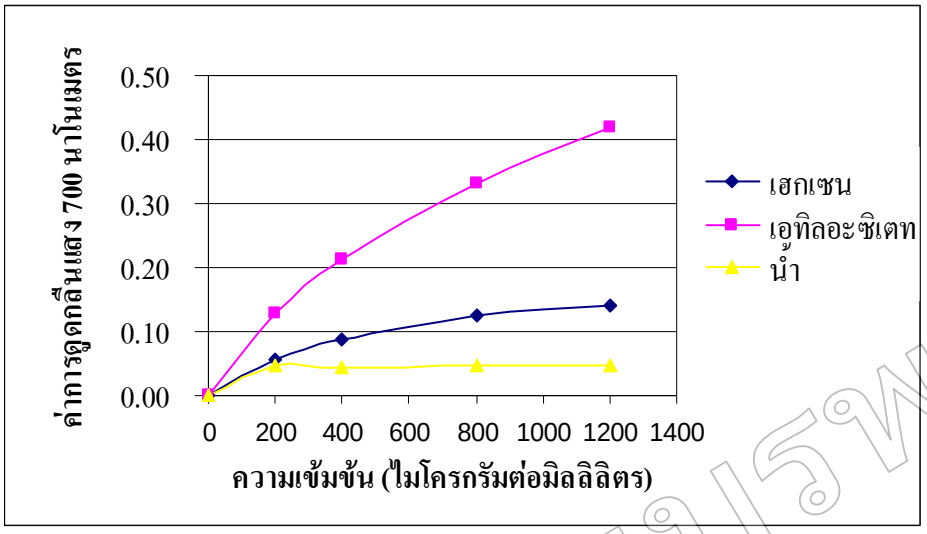
4.3 การทดสอบค่า reducing power

การทดสอบฤทธิ์ในการรีดิวซ์เป็นการทดสอบความสามารถของส่วนสกัดในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ผลที่ได้จะแสดงถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดี ผลการทดลองพบว่า ค่าการรีดิวซ์ แปรผันตามความเข้มข้นของส่วนสกัดทุกชนิด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนสกัดจากต้นกระทือป่า พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทที่ค่าการรีดิวซ์สูงสุด ตามลำดับ ส่วนสกัดย่อยน้ำ และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ตามลำดับ (รูป 4-4) ในขณะที่ความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากต้นว่านริดสีดวงเรียงตามลำดับดังนี้ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท > ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน > ส่วนสกัดย่อยน้ำ (รูปที่ 4-5) สำหรับสารต้านออกซิเดชัน ascorbic acid มีค่าการรีดิวซ์สูงมาก ซึ่งจะแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดี รูปที่ 4-6

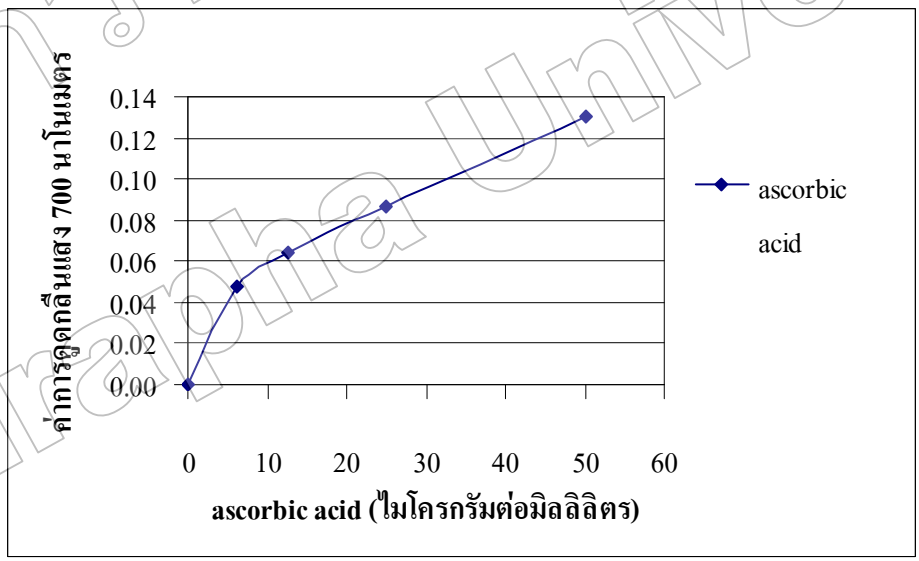


รูปที่ 4-4 กราฟแสดงฤทธิ์ในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดกระทือป่าที่ความเข้มข้นต่างๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 4-5 กราฟแสดงฤทธิ์ในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดว่านริดสีดวงที่ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4-6 กราฟฤทธิ์ในการรีดิวซ์ ของสารมาตรฐาน ascorbic acid

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

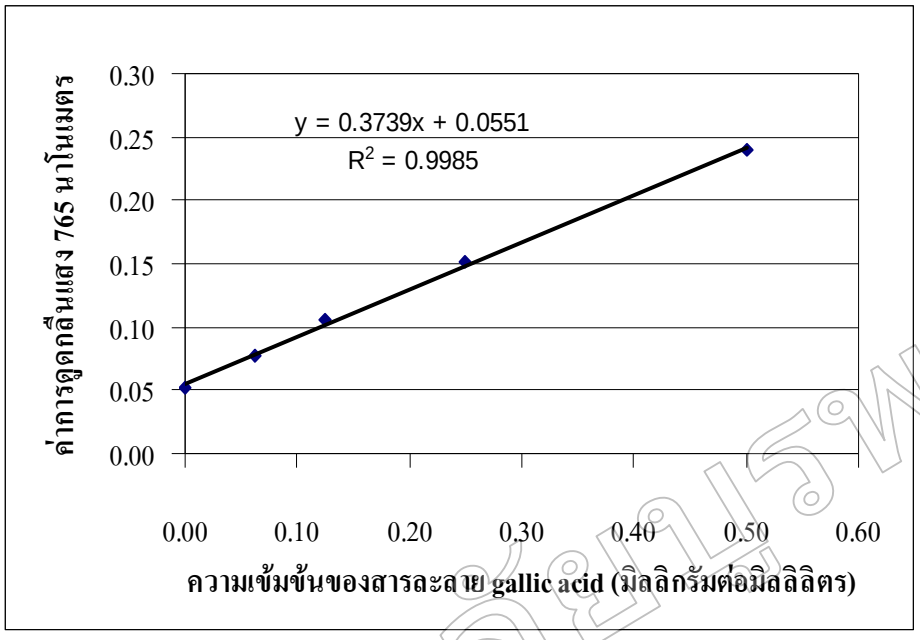
4.4 การทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากส่วนสกัดของต้นกระทือป่าพบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุดเท่ากับ 1154.75 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม และรองลงมาคือเฮกเซนมีค่าเท่ากับ 269.75 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากว่านริดสีดวง พบว่า ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด รองลงมาคือเฮกเซน และน้ำมีค่าเท่ากับ 433.5 , 22.65 และ 17.85 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-6 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid ในรูป 4-7 สมการของกราฟคือ $y = 0.3739x + 0.0551$, $R^2=0.998$

ตารางที่ 4-6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและการกำจัดอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของส่วนสกัดย่อยกระทือป่าและว่านริดสีดวง

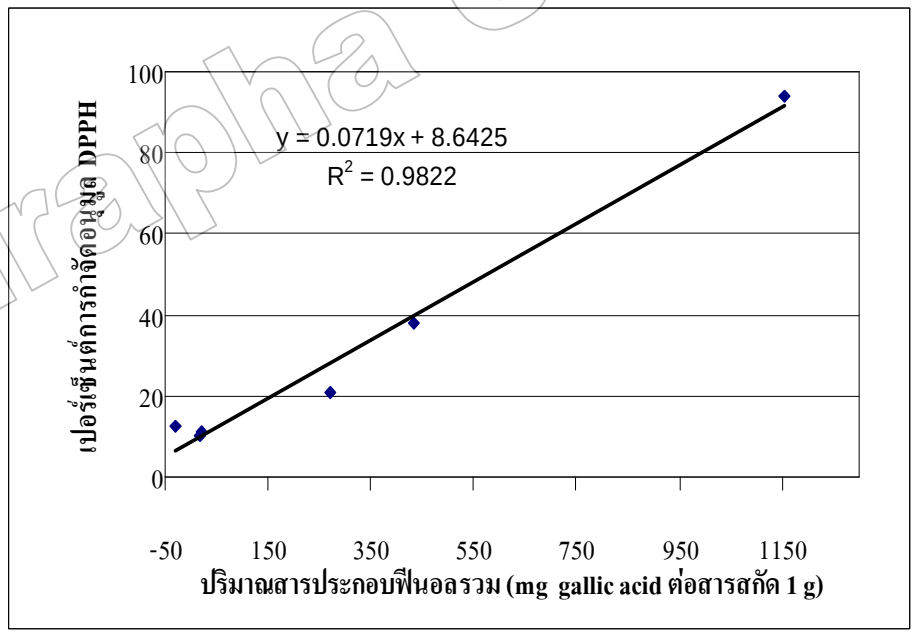
ส่วนสกัดย่อย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1กรัม)		การกำจัดอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	
	กระทือป่า	ว่านริดสีดวง	กระทือป่า	ว่านริดสีดวง
เฮกเซน	269.75	22.65	> 2000	20.78
เอทิลอะซิเตท	1154.75	433.5	555.5	94.16
น้ำ	-28.5	17.85	> 1200	12.32

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 4-7 กราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid

เมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้นส่วนสกัดเท่ากับ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาหาความสัมพันธ์พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมกับฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด มีความสัมพันธ์ที่ดี (รูป 4-8) มีค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.982



รูปที่ 4-8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH กับปริมาณฟีนอลรวมส่วนสกัดพืชทั้ง 2 ชนิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5
อภิปราย สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการทดลอง

ในการทดลองทำการสกัดสารจากพืชทั้ง 2 ชนิดได้แก่ กระทือป่า และว่านริดสีดวง ส่วนสกัดที่ได้สามารถนำมาทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2549) อนุมูล DPPH เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีสีม่วง และเมื่อสารต้านอนุมูลอิสระให้อิเล็กตรอนและโปรตอนแก่อนุมูล DPPH ทำให้ DPPH ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป จะเกิดสีเหลืองนวล (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549) ในการทดลองนี้พบว่า ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ โดยที่ค่า IC_{50} ของ ส่วนสกัดของกระทือป่าเรียงลำดับดังนี้ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท > ส่วนสกัดย่อยน้ำ > ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ในขณะที่ค่า IC_{50} ของส่วนสกัดของว่านริดสีดวงพบว่า สกัดย่อยเอทิลอะซิเตท > ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน > ส่วนสกัดย่อยน้ำ ในการทดลองยังได้ทดสอบสารต้านออกซิเดชันอีก 2 ชนิด ascorbic acid และ BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 22.943 และ55.457 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

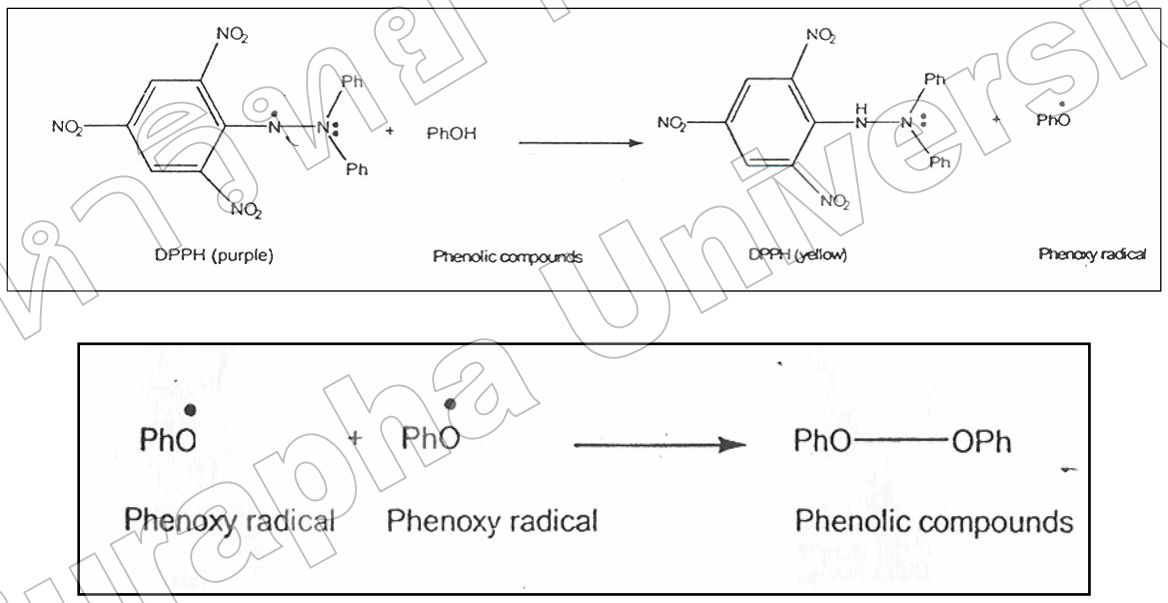
เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนสกัดต่างๆของพืชทั้งสองชนิดพบว่า ส่วนสกัดที่แสดงฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ที่ดีที่สุดของพืชแต่ละชนิด คือ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท ผลที่ได้แสดงถึงการที่ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถละลายสารที่แสดงฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้มากที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของพัชรี คล้ายวัฒนะ (2550) ที่พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของต้นขิงแม่โขงมีฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยน้ำ

ในการทดสอบฤทธิ์การรีดิวซ์ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่ง ascorbic acid เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการรีดิวซ์อย่างแรง (สมทรง เลขะกุล, 2542) เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของลำต้นใต้ดิน กระทือป่า และว่านริดสีดวง พบว่ามีฤทธิ์การรีดิวซ์ที่ต่ำกว่า ascorbic acid ทั้งหมด ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า มีฤทธิ์การรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดย่อยชนิดอื่น และส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวงมีฤทธิ์การรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดย่อยชนิดอื่นเช่นกัน ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ในด้านลำดับในการแสดงฤทธิ์การรีดิวซ์ที่ได้จากพืชทั้งสองชนิด และฤทธิ์การรีดิวซ์แปรผันตรงกับความเข้มข้นของส่วนสกัด

การทดลองสุดท้ายเป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ซึ่งคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้จากกราฟมาตรฐานของ gallic acid โดยมีสมการ $y = 0.3739x + 0.0551$, $R^2=0.998$ ซึ่งในการทดลองพบว่าสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดลำต้นใต้ดินของต้นกระทือป่ามีค่าอยู่ในช่วง 269.75 ถึง 1154.75 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัมโดยปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ เอทิลอะซิเตท, เฮกเซน และน้ำ และส่วนสกัดของว่าน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ริดสีดวงมีมีค่าอยู่ในช่วง 17.85 ถึง 433.5 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ เอทิลอะซิเตท, เฮกเซน และน้ำ และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมกับความสามารถในการกำจัด DPPH มีความสัมพันธ์ที่ดีมี R^2=0.982ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการงานวิจัยของ ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง , 2549; Lu และ Foo, 2000 ; Kim และ Chung, 2002 พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH จะแปรผันตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เกิดจากการให้อิเล็กตรอนและโปรตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล ซึ่งจะได้เป็นสาร DPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป ส่วน phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจับกัน ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหยุดลง (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549) กลไกในการต้านอนุมูล DPPH แสดงได้ดังรูปที่ 5-1



รูปที่ 5-1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล
(ที่มา : ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า ส่วนสกัดลำต้นใต้ดินของกระทือป่าและว่านริดสีดวง มีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ดังนั้นต้นกระทือป่าและว่านริดสีดวง อาจเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระชนิดใหม่เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อาทิ อุตสาหกรรมยารักษาโรค อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5.2 สรุปผลการทดลอง

1. ส่วนสกัดลำต้นใต้ดินของกระทือป่าและว่านริดสีดวง มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ซึ่งแปรผันตรงกับความเข้มข้นของส่วนสกัดทั้งหมดโดยที่ค่า IC_{50} ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า มีค่าเท่ากับ 555.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสกัดย่อยน้ำมีค่า IC_{50} > ความเข้มข้น 1200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนมีค่า IC_{50} > ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า IC_{50} ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง มีค่าเท่ากับ 101.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และ ส่วนสกัดย่อยน้ำโดยค่า IC_{50} เท่ากับ 1772.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ > ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2. ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดของลำต้นใต้ดินของกระทือป่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้น โดยเรียงลำดับดังนี้ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท > ส่วนสกัดย่อยน้ำ > ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และของว่านริดสีดวง โดยเรียงลำดับดังนี้ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท > ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน > ส่วนสกัดย่อยน้ำ

3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของต้นกระทือป่า มีค่าเท่ากับ 269.75, 1154.75 และ -28.5 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของต้นว่านริดสีดวงมีค่าเท่ากับ 433.5 , 22.65 และ 17.85 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ เพิ่มด้วย

2. ควรมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดย่อยต่างๆของพืชแต่ละชนิด ที่เป็นสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บรรณานุกรม

กมลวรรณ นันทเพ็ชร. 2544. ต่อสู้สารต้านอนุมูลอิสระด้วยสารแอนติออกซิแดนท์.อาหารและสุขภาพ

จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล สุนีย์ จันทร์สกาว สุวรรณา เวชอภิกุล และไชยวัฒน์ ไวยสุต. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยและการสกัดของพืชวงศ์*Zingiberaceae* ในประเทศไทย. CD รวบรวมผลงานวิชาการหลังการประชุม (Proceeding) ของการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32, กรุงเทพฯ.

นิติมา วงศ์วัฒนานุกูล สุนีย์ จันทร์สกาว ไชยวัฒน์ ไวยสุต และพิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2549. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชหอมและเครื่องเทศไทย. CD รวบรวม ผลงานวิชาการหลังการประชุม (Proceeding) ของการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32: กรุงเทพฯ

พนิดา กุลประสูติดิลก. 2548. วิธีต้านอนุมูลอิสระในตัวคุณ. กรุงเทพฯ:สุขภาพใจ.

พัชรี คล้ายวัฒนะ. 2550. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นขิงแม่โขง.ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่งคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.82: 76-88.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2542. พจนานุกรมสมุนไพรไทย.พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ:อักษรพิทยา

ศศิธร อุทธตรี. 2549. การต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดเอทานอลจากพืชบางชนิดในวงศ์ Zingiberaceae. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมทรง เลขะกุล. 2541. ชีวเคมีของวิตามิน.พิมพ์ครั้งที่ 2.กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์ศุภวนิชการพิมพ์.

สังวาล สมบูรณ์ สุภาณี พิมพ์สมาน รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา วาสนา ไชยคำ และพรทิพย์ วิสารทานนท์. 2542. การใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืช Zingiberaceae ในการควบคุมแมลงศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวและองค์ประกอบทางเคมี. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

อุดมการณ์ อินทุใส และคณะ.2549.สมุนไพรไทย : ตำรับยา บำบัดโรค บำรุงร่างกาย.พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ : มติชน

โอภา วัชระคุปต์ และคณะ.2550.สารต้านอนุมูลอิสระ.พิมพ์ครั้งที่ 2.กรุงเทพฯ:นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Habsah, M., Amran, M., Mackeen, M.M, Lajis, N.H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Rahman, A.A, Ghafar, Ali A.M.. 2000. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidation activities. J. Ethnopharmacol.72: 403-410.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Kim, Y.C., Chung, S.K. 2002. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. Food Sci. Biotech.11: 407-411.

Lu, Y., Foo, L.Y. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chem.65 : 81-85.

Mau, J.L., Lai, E.Y.C., Wang, Chen, C.C. Chang, C.H. Chyau, C.C. 2003. Composiyion and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. Food Chem.82: 583-591.

Mongkolsilp, S., Pongbupakit, P., Sae-Lee, N. and Sithithaworn, W. 2004. Radical scavenging activity and total phenolic content of medical plants used in primary health care. SWU J Pharm Sci. 9: 32-35.

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Ascorbic-acid-2D-skeletal.png [10 กุมภาพันธ์2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://www.benbest.com/nutrceut/VitaminE.html

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://cheminfo.chemi.muni.cz/kubacek/Metody/EPR/DPPH.gif [20 กุมภาพันธ์ 2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://www.mdidea.com/products/proper/gallic_acid01.gif [20 กุมภาพันธ์2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง www.rdcsrl.com/images/bht.gif [10 กุมภาพันธ์2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง class.fst.ohio-state.edu/fst605/images/BHA.gif โครงสร้าง BHA [10 กุมภาพันธ์ 2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://www.khaolaor.com/news/images/hn_06.jpg[10 กุมภาพันธ์2551]

[Online]. แหล่งเข้าถึง http://picdb.thaimisc.com/9anant/5-78.jpg[10 กุมภาพันธ์2551]

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ในเมทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (M.W.= 394.33)

จาก g / M.W. = CV / 1000

$g = (0.2 \times 10^{-3} \times 10) / 1000$

g = 0.00078 กรัม

ดังนั้นชั่งสารละลาย DPPH 0.00078 กรัม ละลายในเมทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลาย ascorbic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

โดยชั่ง ascorbic acid 0.01 กรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3. เตรียมสารละลาย BHT ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

โดยชั่ง BHT 0.01 กรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

4. เตรียมสารละลาย gallic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

โดยชั่ง gallic acid 0.01 กรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

5. เตรียมสารละลาย 7%sodium carbonate ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

โดยชั่ง sodium carbonate 17.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

6. เตรียมสารละลาย 0.1% iron (III) chloride ($FeCl_3$) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ชั่ง iron (III) chloride 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

7. เตรียมสารละลาย 1% potassium ferricyanide($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่ง potassium ferricyanide 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 400 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

8. เตรียมสารละลาย 10%trichloroacetic acid (CCl_3COOH) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่ง trichloroacetic acid 50 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 400 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

9. เตรียมสารละลาย 0.2 โมลาร์ phosphate buffer (pH=6.6) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

$H_3PO_4 + KOH \longrightarrow KH_2PO_4^- + H_2O$ pKa = 2.1------(1)

$KH_2PO_4^- + KOH \longrightarrow K_2HPO_4^{2-} + H_2O$ pKa = 7.2------(2)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

$$K_2HPO_4^{2-} + KOH \longrightarrow K_3PO_4^{3-} + H_2O \quad pKa = 12.7\text{-----(3)}$$

เพราะฉะนั้น เลือกใช้ pKa = 7.2

จากสูตร $pH = pKa + \log [K_2HPO_4^{2-}]/[KH_2PO_4^{-}]$

$6.6 = 7.2 + \log [K_2HPO_4^{2-}]/[KH_2PO_4^{-}]$

$\log [K_2HPO_4^{2-}]/[KH_2PO_4^{-}] = -0.6$

$\log [KH_2PO_4^{-}]/[K_2HPO_4^{2-}] = 0.6$

$[KH_2PO_4^{-}]/[K_2HPO_4^{2-}] = \text{antilog } 0.6$

$= 10^{0.6}$

$= 398/100$

ในระบบบัฟเฟอร์มี $[KH_2PO_4^{-}] = 398/489 = 0.8$ โมลาร์

$[K_2HPO_4^{2-}] = 100/489 = 0.2$ โมลาร์

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลาย 0.2โมลาร์ phosphate buffer ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะได้

ชั่ง $[KH_2PO_4^{-}]$ = (0.8 กรัมต่อลิตร) x (1000 มิลลิลิตร) x (136.06 กรัมต่อลิตร)

= 108.872 กรัม

ดังนั้นต้องการเตรียม สารละลาย 0.2 โมลาร์=108.872 /5 = 21.7744 g

ชั่ง $[K_2HPO_4^{2-}]$ = (0.2 กรัมต่อลิตร) x (1000 มิลลิลิตร) x (174.18 กรัมต่อลิตร)

= 34.836 กรัม

ดังนั้นต้องการเตรียม สารละลาย 0.2 โมลาร์=34.836 /5 = 6.972 กรัม

ดังนั้นชั่ง potassium dihydrogen phosphate 21.7744 กรัมผสมกับ dipotassium hydrogen phosphate 6.972 กรัม และละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 900 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ด้วย KOH จนได้ pH=6.6 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

การหาค่า IC_{50} ในการกำจัดอนุมูล DPPH

1. การหาค่า IC_{50} ของ ascorbic acid

จากสมการ y = 26.77x - 33.86

แทนค่า y = 50; 50 = 26.77x - 33.86

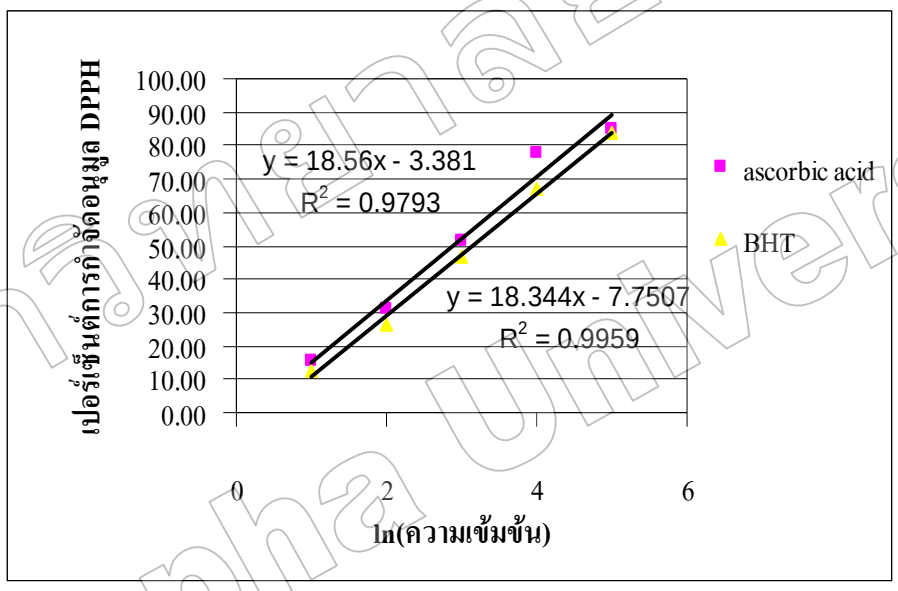
26.77x = 83.86

x = 3.133

x = ln(ความเข้มข้น) , ln=x

ความเข้มข้นสาร = e^x

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร=22.943 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



กราฟค่า IC_{50} ของ ascorbic acid และ ค่า IC_{50} ของ BHT

2. การหาค่า IC_{50} ของ BHT

จากสมการ y = 26.45x - 56.21

แทนค่า y = 50; 50 = 26.45x - 56.21

26.45x = 106.21

x = 4.016

x = ln(ความเข้มข้น) , ln=x

ความเข้มข้นสาร = e^x

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร=55.457 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. การหาค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า

จากสมการ y = 24.67x - 106.1

แทนค่า y = 50; 50 = 24.67x - 106.1

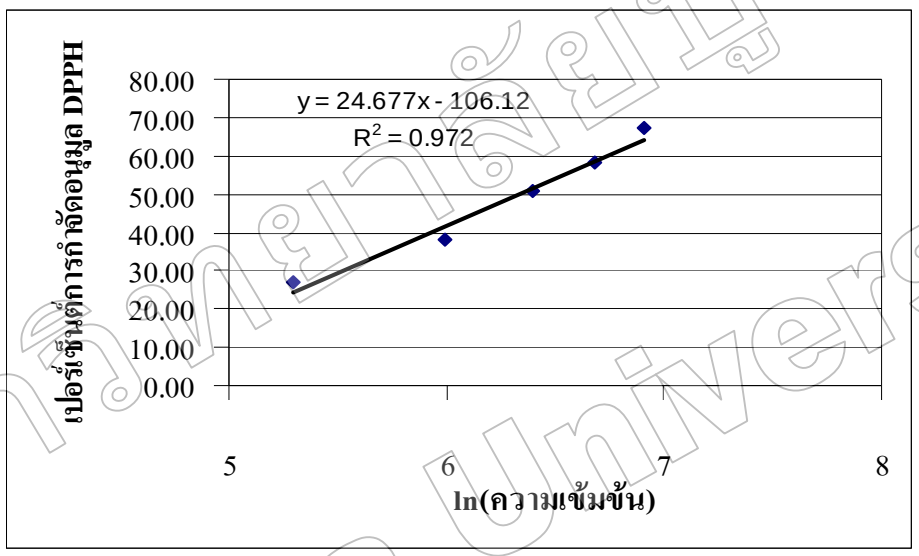
24.67x = 156.1

x = 6.32

x = ln(ความเข้มข้น) , ln=x

ความเข้มข้นสาร = e^x

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร=555.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



กราฟค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า

4. การหาค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเฮกเซนของว่านริดสีดวง

จากสมการ y = 38.35x - 236.7

แทนค่า y = 50; 50 = 38.35x - 236.7

38.35x = 286.7

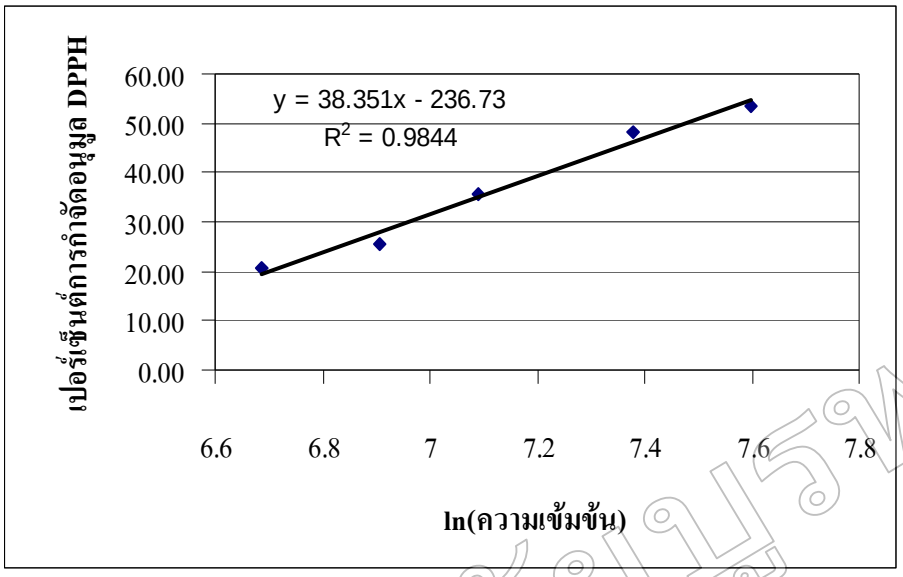
x = 7.48

x = ln(ความเข้มข้น) , ln=x

ความเข้มข้นสาร = e^x

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร=1772.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



กราฟค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเฮกเซนของว่านริดสีดวง

5. การหาค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง

จากสมการ y = 31.11x - 93.87

แทนค่า y = 50; 50=31.11x - 93.87

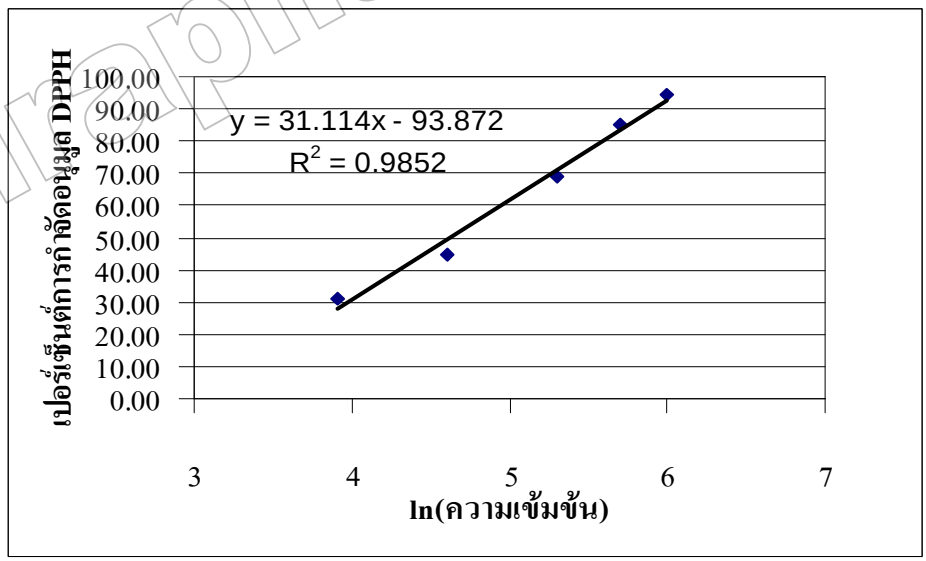
31.11x=143.87

x=4.624

x = ln(ความเข้มข้น) , ln=x

ความเข้มข้นสาร = e^x

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร=101.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

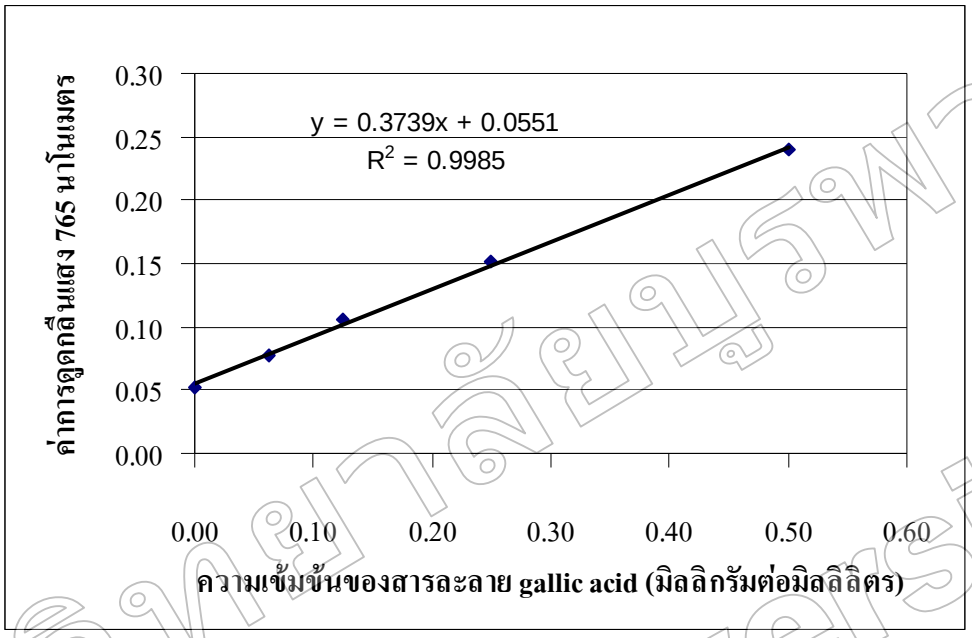


กราฟค่า IC_{50} ของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม



กราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid

จะได้สมการ $y = 0.3739x + 0.0551$, $R^2 = 0.998$

ค่าความเข้มข้นส่วนสกัด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ของส่วนสกัดฉลี่ย
กระทือป่า hexane 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.0585
กระทือป่า ethyl 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.1199
กระทือป่า water 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.0578
ว่านริดสีดวง hexane 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.0954
ว่านริดสีดวง ethyl 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.2278
ว่านริดสีดวง water 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.0508

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดเฮกเซนของว่านริดสีดวง

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.09544

x = (y - 0.0551)/0.3739

x = 0.1079

ในสัดส่วนของเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 0.1079 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 269.75 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

2. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.22782

x = (y - 0.0551)/0.3739

x = 0.4619

ในสัดส่วนของเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 0.4619 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น ปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 1154.75 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

3. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดน้ำของว่านริดสีดวง

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.05082

x = (y - 0.0551)/0.3739

x = -0.0114

ในสัดส่วนของน้ำที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ -0.0114 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น ปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ-28.5 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

4. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดเฮกเซนของกระทือป่า

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.05849

x = (y - 0.0551)/0.3739

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

x = 0.00906

ในสัดส่วนของเฮกเซนที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 0.00906 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น ปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 22.65 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

5. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.11992

x = (y - 0.0551)/0.3739

x = 0.1734

ในสัดส่วนของเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 0.1734 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น ปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 433.5 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

6. การคำนวนปริมาณสารฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดน้ำของกระทือป่า

จากสมการy = 0.3739x + 0.0551

แทนค่า y = 0.05777

x = (y - 0.0551)/0.3739

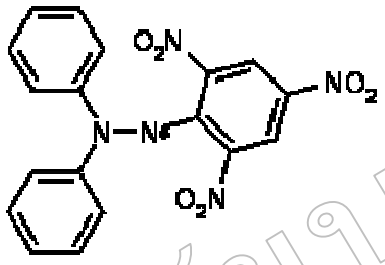
x = 0.00714

ในสัดส่วนของน้ำที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 0.00714 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้น ปริมาณสารฟีนอลรวมเท่ากับ 17.85 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม

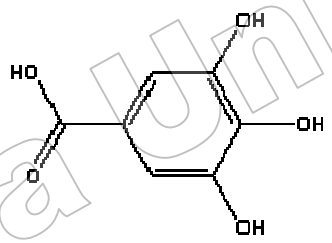
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง
โครงสร้างสาร



รูปที่ ผ-1 โครงสร้าง DPPH

(ที่มา: http://cheminfo.chemi.muni.cz/kubacek/Metody/EPR/DPPH.gif)

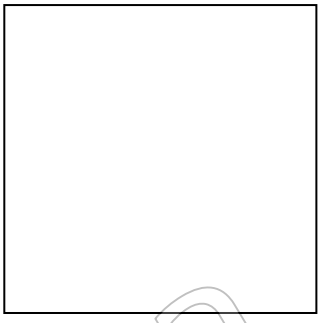


รูปที่ ผ-2 โครงสร้าง gallic acid

(ที่มา: http://www.mdidea.com/products/proper/gallic_acid01.gif)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประวัติย่อของนิสิต



ชื่อ-นามสกุล	นางสาวกันญารัตน์ ภิรมย์มั่น
วันเดือนปีเกิด	21 พฤษภาคม พ.ศ. 2529
การศึกษา	ระดับประถมศึกษา โรงเรียนนพคุณศึกษา
	ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนราชประชาสมาสัย ฝ่ายมัธยม รัชดาภิเษก ในพระบรมราชูปถัมภ์
	ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนราชประชาสมาสัย ฝ่ายมัธยม รัชดาภิเษก ในพระบรมราชูปถัมภ์
เบอร์โทรศัพท์	084-209-3689
กิจกรรมขณะที่กำลังศึกษา	1. กิจกรรมรับน้อง
	2. ปฏิคมของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University