



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

โดย

ดร. ชัชวิน เพชรเลิศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๗
มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

โดย

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข

กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๙

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยผลที่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๗

ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ ผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ได้ให้คำปรึกษาในการทำวิจัยมาตั้งแต่ต้นจนทำให้งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นอกจากนี้ยังต้องขอบคุณนิสิตชั้นปีที่ ๔ ของภาควิชาชีวเคมี และนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ทุกคนที่ร่วมมือร่วมใจกันในการทำวิจัยจนทำให้ได้ผลการวิจัยอันน่าพึงพอใจ ตลอดจนคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้คำแนะนำและคอยช่วยเหลือในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนในโครงการวิจัยนี้

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

หัวหน้าโครงการวิจัย ดร. ชัชวรินทร์ เพชรเลิศ

ผู้วิจัยร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข

บทคัดย่อ

จิก (*Barrington augusta* Kurz.) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lecythidaceae มีสรรพคุณทางยาซึ่งใช้กันมาแต่โบราณในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งในประเทศไทยด้วย โดยพืชที่นำมาศึกษาเป็นพืชที่อยู่ในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยจะศึกษาในส่วนสกัดย่อยต่างๆ ของใบจิกได้แก่ ส่วนสกัดเอทานอล ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดย่อยน้ำ นำมาตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทำการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม นอกจากนี้ยังนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันโดยทำการทดสอบค่าคอนจูเกตต์ไดอิน และ TBARS จากการทดลองพบว่า ผลของฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ชี้ให้เห็นว่า ส่วนสกัดน้ำและเอทิลอะซิเตทของใบจิกมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ดี (ค่า EC_{50} ของส่วนสกัดน้ำและเอทิลอะซิเตทของใบจิก วิตามินซี และบีเอชที เท่ากับ 0.0481 ± 0.001 , 0.0840 ± 0.000 , 0.017 ± 0.001 และ 0.0231 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด ทั้งนี้พบว่าส่วนสกัดย่อยน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุดเท่ากับ 267.588 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด และส่วนสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 22.53 ± 0.70 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด และยังพบว่าส่วนสกัดเอทานอลช่วยยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันทั้งปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (Initiation) และปฏิกิริยาขั้นดำเนินไปของปฏิกิริยา (Propagation) โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะเพิ่มตามความเข้มข้นของสารสกัดน้ำของพืชพื้นบ้าน จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่า พืชพื้นบ้านที่นำมาวิจัยจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ดนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่ดี

Abstract

Different sub-extracts from indigenous plant: Jig *Barrington augusta* Kurz. from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. For this experiment, the antioxidant capacity and phytochemicals were investigated by DPPH scavenging method; reducing power; total phenolic contents; total flavonoid contents. Moreover, the inhibitory effect on the lipid peroxidation with the conjugated diene and TBARS were also determined. The results demonstrated that water and ethyl acetate extracts of Jig showed quite high DPPH scavenging activity. (EC_{50} of water and ethyl acetate extracts, vitamin C and BHT were 0.0481 ± 0.001 , 0.0840 ± 0.000 , 0.017 ± 0.001 และ 0.0231 ± 0.001 mg/ml, respectively). Moreover, we found that ethyl acetate extract presented the highest reducing power. High total phenolic contents of plants extracts were observed especially in water extract (267.588 mg gallic acid equivalent/g extract). Total flavonoid contents of ethanol extract was also found (22.53 ± 0.70 mg quercetin equivalent/g extract). We also found that ethanol extract had a strong inhibitory activity on the conjugated diene at maximum concentration. In addition, ethanol extract could strongly inhibit the malondialdehyde. The percentage of inhibition on the lipid peroxidation apparently increased according to the concentration of extracts. This research can be implied that Jig from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project has remarkable antioxidant activity and also exerts the inhibitory effect against the lipid peroxidation.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	8
บทที่ 3 ผลการวิจัย	16
บทที่ 4 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง	34
รายงานสรุปการเงิน	40
บรรณานุกรม	41
ประวัตินักวิจัย	46

สารบัญญรูป

	หน้า
รูปที่ 3-1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดใบจิก	17
รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดใบจิก	17
รูปที่ 3-3 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัด ย่อยน้ำ	19
รูปที่ 3-4 การหาค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี	20
รูปที่ 3-5 การหาค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายบีเอชที	20
รูปที่ 3-6 ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่ม พร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน	22
รูปที่ 3-7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมัน ตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณ คอนจูเกตดีไดอิน	23
รูปที่ 3-8 ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน	24
รูปที่ 3-9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน	25
รูปที่ 3-10 ปริมาณทีบาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่ 0 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่า ปริมาณทีบาร์	26
รูปที่ 3-11 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดทีบาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัด	27

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
บ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ	
รูปที่ 3-12 ปริมาณทีบาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ต่อปริมาณทีบาร์	28
รูปที่ 3-13 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณทีบาร์	29
รูปที่ 3-14 ผล NMR ของส่วนสกัดต่างๆ ของใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อย เฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัดย่อยน้ำ	30
รูปที่ 3-15 การหาระบบ solvent ที่เหมาะสมของ (A) สกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท จากใบจิก และ (B) ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท	32
รูปที่ 3-16 ผล $^1\text{H-NMR}$ ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทใน subfraction ต่างๆ	33

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 3-1	ปริมาณสารสกัดเอทานอลและส่วนสกัดย่อยต่างๆ และ %yield จากแต่ละส่วนสกัดของใบจิก	16
ตารางที่ 3-2	ค่า EC ₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด สารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิงวิตามินซีและบีเอชที	19
ตารางที่ 3-3	ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดใบจิกที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml	21
ตารางที่ 3-4	ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง	22
ตารางที่ 3-4	ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง	22
ตารางที่ 3-5	ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชหลังจากครบ 72 ชั่วโมง	23
ตารางที่ 3-6	ปริมาณทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง	26
ตารางที่ 3-7	ปริมาณทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของใบจิกเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชหลังจากครบ 72 ชั่วโมง	28

บทที่ 1

บทนำ

1.1 เนื้อหาของเรื่องที่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน

ปัจจุบันประชาชนทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยหันมานิยมใช้สมุนไพรทั้งในแง่เป็นยา อาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพอื่นๆ แม้แต่องค์การอนามัยโลกก็เริ่มที่จะตระหนักถึงความสำคัญของการแพทย์พื้นบ้านของแต่ละประเทศในระบบบริการสาธารณสุข โดยมีการหยิบยกขึ้นพิจารณาตั้งแต่สมัยประชุมสมัชชาอนามัยโลก และมีมติชัดเจนเรื่องการส่งเสริมบทบาทของการแพทย์พื้นบ้าน (Traditional Medicine) ของแต่ละประเทศ อย่างไรก็ตามยังไม่มีกำหนดนโยบายไว้อย่างชัดเจน (Banmonan et al., 1983)

ประเทศไทยนิยาม “สมุนไพร” ว่าหมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา (นโยบายแห่งชาติด้านยา พ.ศ. 2536) ส่วนพ.ร.บ.คุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย (พ.ศ. 2542) นิยามไว้ว่า “สมุนไพร” หมายถึง สัตว์ จุลชีพ ธาตุวัตถุ สารสกัดดั้งเดิมจากพืชหรือสัตว์ที่ใช้ หรือแปรรูป หรือผสม หรือปรุง เป็นยาหรืออาหาร เพื่อการตรวจวินิจฉัย บำบัด รักษา หรือป้องกันโรค หรือเสริมสุขภาพร่างกายของมนุษย์หรือสัตว์ (อรพรรณ มาตังคสมบัติ, 2546) พืชสมุนไพรหลายชนิดมีข้อมูลที่ค่อนข้างชัดเจนซึ่งสามารถสืบค้นได้จากฐานข้อมูลทางยาต่างๆ เช่น German Commission E, WHO monograph, Thai Herbal Pharmacopoeia หรือ National Center for Complementary and Alternative Medicine ซึ่งสมุนไพรในกลุ่มนี้มีข้อมูลทางคลินิกสนับสนุน แต่ก็ยังมีสมุนไพรอยู่อีกมากที่ใช้สืบทอดกันมาตามภูมิปัญญาท้องถิ่นหรือตำรับของหมอชาวบ้านในท้องถิ่นนั้นๆ ที่ให้ผลในการรักษา แต่ยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์หรือทางคลินิกสนับสนุน

พืชสมุนไพรประกอบด้วยสารพฤกษเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ สเตียรอล (sterols) เทอร์ปีน (terpenes) และลิกแนน ไกลโคไซด์ (lignan glycosides) และจากรายงานของ Andarwulan และคณะ (2010) พบว่าในพืชสมุนไพรส่วนใหญ่มีฟลาโวนอยด์อยู่เป็นจำนวนมากซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์

จะเห็นได้ว่ารายงานเกี่ยวกับสารฟลาโวนอยด์ในพืชสมุนไพร เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน ลดความเสี่ยงจากอนุมูลอิสระที่เข้าไปทำลายเซลล์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดต่างๆ มีความสำคัญในการยับยั้งการเกิดมะเร็งตลอดจนโรคเรื้อรังต่างๆ งานวิจัยของ Fuhrman และคณะ(2005) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมว่าสามารถลดการสะสมของคอเลสเตอรอลโดยการกีด oxidized-LDL และการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในเซลล์แมคโครฟาจ นอกจากนี้ Pothitirat และคณะ (2009) ยังพบว่าในเปลือกของพืชบางชนิดยังมีสารแทนนินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อไวรัส HIV และ herpes simplex virus มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีสารประกอบในกลุ่ม xanthone ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย รา และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ที่สำคัญยังช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (human leukemia HL60 cells) โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis และป้องกันการออกซิเดชันของ LDL หรือบางชนิดก็สามารถยับยั้งแอกติวิตี้ของเอนไซม์ myeloperoxidase และมีบทบาทสำคัญในการลดการอักเสบ (Zeraik และคณะ, 2011) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Hossain และ Rahman (2011) ยังพบว่าส่วนสกัดเมทานอลในสมุนไพรบางอย่างยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีในสมุนไพรเหล่านั้น ดังนั้นจึงน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาเพื่อให้เข้าใจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชันหลังจากผ่านกระบวนการย่อยอาหารแล้วของพืชสมุนไพรไทยเพื่อใช้เป็นองค์ความรู้พื้นฐานอันจะเป็นจุดเริ่มต้นที่จะนำไปสู่การบริโภคด้วยความเชื่อมั่นและปรับปรุงผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของพืชที่มีอยู่แล้วในประเทศให้ยั่งยืนต่อไป

1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เป็นสิ่งที่สำคัญหากแต่การศึกษาหาสิ่งที่จะนำมารักษาหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคโดยเฉพาะสารที่ได้รับจากธรรมชาตินั้นน่าจะยังมีความสำคัญมากกว่า ภายใต้ภาวะของอุบัติการณ์ของโรคร้ายต่างๆ ที่มีอยู่ในปัจจุบันโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเรื้อรังอันเกิดจากความไม่สมดุลของสารต่างๆ ภายในร่างกาย รูปแบบการดำรงชีวิตที่เปลี่ยนไป รูปแบบการบริโภคอาหารที่ล้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเหล่านี้แทบทั้งสิ้น

จากการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาพบว่า สารอาหารที่ได้รับความสนใจมากที่สุดและเป็นที่ยอมรับว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง คือ ไขมัน ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง ไขมันไม่เพียงแต่จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญแก่ร่างกายเท่านั้น แต่ยังรวมอยู่เป็นองค์ประกอบในเมมเบรน และทำหน้าที่ควบคุมของเหลวในเมมเบรน ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและพอสโพลีพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ชนิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ หรือ ลิพิดในเลือด และในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา ดังนั้นความเสียหายจะไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะกับเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น แต่จะขยายวงกว้างไปยังองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ อาจทำให้เกิดการตายของเซลล์ การอักเสบ อันจะก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคความเสื่อมต่างๆ ตามมา เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Atherosclerosis) โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคต่อกระดูก เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาหาสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรที่จะมีผลต่อการลดความเสี่ยงอันอาจเกิดขึ้นจากไขมันจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากกระบวนการที่จะนำมาอธิบายให้ชัดเจนนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด มีเพียงสมมติฐานที่ตั้งขึ้นมาเป็นแนวทางเพื่อรอการพิสูจน์ต่อไป

นอกจากลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้ว ในการศึกษาวิจัยนี้ผู้วิจัยยังสนใจที่จะทำการศึกษากลไกของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันภายในเซลล์ โดยเฉพาะความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของกรดนิวคลีอิก จะสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปยังเซลล์ที่เกิดใหม่ บางครั้งอาจแสดงออกมาให้เห็นที่รูปร่างของสิ่งมีชีวิต หรืออาจเปลี่ยนแปลงจนถึงขั้นกลายเป็นมะเร็งในที่สุด ดังนั้นการค้นหาค้นหาสารที่จะมายับยั้งอนุมูลอิสระต่างๆ รวมถึงกลไกการต่อต้านกระบวนการดังกล่าวจึงเป็นจุดเริ่มต้นที่น่าสนใจสำหรับการหยุดยั้งการพัฒนาไปเป็นมะเร็งรวมทั้งโรคเรื้อรังอื่นๆ อันเป็นสาเหตุการตายลำดับต้นๆ ในปัจจุบัน

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พระราชทานพระราชดำริให้สำนักงานมูลนิธิชัยพัฒนาดำเนินการรับโอนที่ดินซึ่งครอบครัวลักคุณะประสิทธิ์ขอพระราชทานน้อมเกล้าฯ ถวายที่ดินจำนวน 14 แปลงเนื้อที่รวม 160 ไร่ 1 งาน 46 ตารางวาตั้งอยู่ที่ตำบลตลกพรหม อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรีเพื่อใช้ประโยชน์ในมูลนิธิชัยพัฒนาโดยได้ดำเนินการจัดทำโครงการพัฒนาป่าชุมชนให้ผู้สนใจเข้ามาศึกษาหาความรู้

เพื่อการอนุรักษ์ และฟื้นฟูสภาพป่าไม้ รวมทั้งสนับสนุนให้ชุมชนมีความเข้าใจและรู้จักใช้ทรัพยากรธรรมชาติให้เกิดประโยชน์อย่างยั่งยืน

จากการศึกษาเก็บข้อมูลเบื้องต้นจากโครงการฯ ดังกล่าว พบว่าในพื้นที่ของโครงการฯ มีพืชสมุนไพรที่หลากหลายอยู่เป็นจำนวนมาก แต่มีปัญหาในเรื่องการขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มารองรับการนำไปใช้ จึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาผลของส่วนสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ที่ได้จากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์เพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนการใช้สมุนไพรพื้นบ้านอันเป็นการสนองแนวพระราชดำริในสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และเพื่อลดการนำเข้ายาและอาหารเสริมสุขภาพจากต่างประเทศ นอกจากนี้อาจได้สารที่จะนำพัฒนาเป็นยาต้นแบบรักษาโรคต่างๆ ต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดพืชสมุนไพร
2. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของพืชสมุนไพร
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของพืชสมุนไพร
4. ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

นำพืชสมุนไพรจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรีมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากส่วนสกัด จากนั้นนำสารที่สกัดได้ทดสอบฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการทำในหลอดทดลอง จากนั้นนำส่วนสกัดย่อยไปแยกให้ได้สารบริสุทธิ์และหาโครงสร้างทางเคมีที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป ทฤษฎี และ/หรือ แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

สมุนไพรไทยหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานของประเทศไทย มีสรรพคุณทางยาหลายด้าน เช่น รักษาผดผื่นคัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ความดัน และโรคหัวใจรักษาอาการ ชัดเบาปัสสาวะพิการ ขับปัสสาวะ ริดสีดวงทวาร แก้กษัย ขับนิ่ว ขับปัสสาวะใช้เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ไขข้อเข็ง และแก้เบาหวานรักษาอาการเส้นตึงหรือนำมาทำเป็นขี้ผึ้งรักษาแผลเรื้อรัง ใบสดตำพอกบริเวณที่เป็นแผล แก้อักเสบ แก้กษัย ริดสีดวงจุมก ขับนิ่วในทางเดินปัสสาวะใบและราก แก้กษัย ขับปัสสาวะ รากสดตำพอกบริเวณแผล (มานิช วามานนท์, เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ, 2540) ถึงแม้ว่าจะเป็นที่ทราบกันดีในกลุ่มแพทย์แผนไทยว่าสมุนไพรไทยมีสรรพคุณต่างๆ มากมาย แต่หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่มีรายงานส่วนใหญ่มักจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการลดน้ำตาล ลดความดัน และการขับปัสสาวะ แต่ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันยังมีค่อนข้างจำกัด ซึ่งทำให้เกิดข้อกังขาได้ว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรพื้นบ้านเป็นประจำเพื่อใช้เป็นยาอายุวัฒนะจะมีผลต่อกระบวนการต่างๆ เหล่านี้หรือไม่ และในกรณีของผู้ป่วยโรคเรื้อรังหรือโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ สมุนไพรจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดกระบวนการดังกล่าวหรือไม่ นอกจากนี้ยังมีคำถามต่อไปว่าสารที่พบในสมุนไพรจะมีฤทธิ์ดังกล่าวหรือไม่ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีซึ่งสารดังกล่าวอาจมีฤทธิ์ในการก่อโรคร้ายอื่นๆ ได้เช่นกัน ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทดสอบสมมติฐานดังกล่าวซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาใช้เพื่อเป็นหลักฐานสนับสนุนถึงความปลอดภัยและเห็นคุณค่าของการใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานและส่งเสริมคุณค่าของผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นสินค้าเพื่อสุขภาพในลำดับต่อไป

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรจะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของพืชสมุนไพร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้จากพืชสมุนไพร และนำข้อมูลที่ได้จัดองค์ความรู้ที่ได้ในรูปแบบสิทธิบัตรได้ ทำให้องค์ความรู้นี้เป็นของประเทศไทย และยังสามารถตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวารสารวิชาการ

เป็นการสร้างชื่อเสียงให้แก่ประเทศไทย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยไปเป็นพื้นฐานและองค์ความรู้ที่สามารถนำไปต่อยอด และผลิตเป็นยาชนิดใหม่ได้

1.6.2 บริการความรู้แก่ประชาชน

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์การต้านยับยั้งปฏิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์ของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพร จะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของสมุนไพร เพื่อส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกและอนุรักษ์พืชสมุนไพรมากขึ้น โดยทำการเผยแพร่ผ่านสื่อต่างๆ เช่นรายการวิทยุเพื่อประชาชน และวารสารต่างๆ รวมทั้งข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปเผยแพร่โดยโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

1.6.3 บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ และนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

สมุนไพรต่างๆ อาจเป็นพืชที่มีศักยภาพต่อการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้ เพราะมีการเจริญเติบโตได้เร็ว เมื่อมีการเก็บเกี่ยว ขึ้นได้ทั่วไปในเขตป่าภาคตะวันออกและใกล้เคียง ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ได้จะเป็นสิ่งยืนยันของประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการนำมาใช้เป็นชา หรือเป็นสมุนไพรในเครื่องสำอาง ส่งเสริมการขยายให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชน ทำให้ผู้ซื้อมีความมั่นใจในผลิตภัณฑ์มากขึ้น และผู้ผลิตสามารถขยายตลาดออกไปสู่วงกว้างมากขึ้น รวมทั้งการนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ทำยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอย่างอื่นได้อีก

นอกจากนี้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์ของส่วนสกัดจากสมุนไพรที่แยกได้อาจเป็นสารชนิดใหม่และมีประสิทธิภาพดีกว่าสารแอนติออกซิแดนท์เดิมในอุตสาหกรรมอาหารและยา หลังจากจดสิทธิบัตรแล้วสามารถให้ข้อมูลแก่ภาคธุรกิจได้แก่ องค์กรเภสัชกรรม หรือ บริษัท ยา เป็นต้น เพื่อนำไปผลิตเป็นสูตรยาในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.6.4 เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมาย

ประชากรทั่วไปของประเทศไทยโดยเฉพาะผู้สูงอายุที่มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคที่เกิดจากความเสื่อม และโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระกันมาก จะสามารถได้ใช้ยาที่มีคุณภาพมากกว่าเดิม และผลข้างเคียงน้อยลง นอกจากนี้ในโครงการวิจัยนี้เมื่อแล้วเสร็จ คาดว่าจะสามารถผลิตนักวิจัยรุ่นใหม่ภายใต้การศึกษาระดับ

บัณฑิตศึกษา จำนวนไม่น้อยกว่า 2 คน และเป็นโครงการวิจัยย่อยแก่นิสิตระดับปริญญาตรีประมาณ 3-4
โครงการ

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัย ทั้งในด้านชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะ
วิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือ
หน่วยงาน บริษัทอุตสาหกรรมยา ในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยา และชุมชน และประชาชนมีหลักฐานทาง
วิทยาศาสตร์รองรับการใช้สมุนไพรต่างๆ

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ชุดเครื่องแก้วและเครื่องมือมาตรฐาน

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (Whatman, ประเทศสหราชอาณาจักร)
2. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 2-20 ไมโครลิตร, 20-200 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร (Gilson, ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส)
3. ไมโครเพลท (Sterilin Limited, ประเทศสหราชอาณาจักร)
4. ตู้อบ (BINDEA, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precsia, ประเทศสมาพันธรัฐสวิสเซอร์แลนด์)
7. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Electrolux, ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน)
8. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hettich ZENTRIFUGEN, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
9. เครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) (GAST Mfg. Corp., ประเทศสหรัฐอเมริกา)
10. เครื่อง rotary vacuum evaporator (EYELA, ประเทศญี่ปุ่น)
11. เครื่องผสมสาร (vortex) (IKA work, ประเทศมาเลเซีย)
12. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท (VERSAMAX, ประเทศแคนาดา)
13. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น 713 pH Meter (Metrohm, ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส)
14. เครื่อง NMR รุ่น AVANCE 400 ยี่ห้อ BRUKER ความถี่ 400 MHz

2.2 สารเคมี

1. Aluminium chloride (Merck, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

2. Ammonia solution (Merck, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
3. Folin-Ciocalteu's reagent (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
4. Gallic acid (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. Hydrochloric acid (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
6. Iron (III) Chloride hexahydrate (MERCK, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
7. L- ascorbic acid (Unilab, ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
8. Magnesium Powder (Lab chem., ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
9. Methyl alcohol (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
10. Octyl alcohol (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
11. Potassium dihydrogen phosphate (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
12. Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) (BIO BASIC., ประเทศแคนาดา)
13. Potassium hydroxide (pellets) (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
14. Quercetin (Sigma, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
15. Sodium carbonate (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
16. Sodium nitrite (Univar, ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
17. Trichloroacetic acid (TCA) (Panreac, สหภาพยุโรป)
18. Zinc (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
19. 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) (Acros organics, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
20. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
21. วุ้นผง (นกยูง, ประเทศไทย)
22. Acetic acid glacial (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
23. Chloroform (CARLO ERBA สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

24. Ethyl alcohol (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
25. Hydrochloric (HCL) (CARLO ERBA, ประเทศฝรั่งเศส)
26. Malondialdehyde (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
27. Methyl Alcohol (CARLO ERBA สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
28. Potassium iodide (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
29. Sodium hydroxide (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
30. Sodium thiosulfate (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
31. สารละลายแป้ง
32. Thiobarbituric acid (TBA) (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
33. Trichloroacetic acid (TCA) (PANCEAC สหภาพยุโรป)
34. น้ำมันพืช
35. Chloroform-d, $CDCl_3$
36. Deuterium oxide, D_2O
37. Methanol-d4, CD_3OD
38. Dimethyl Sulfoxide-d6, DMSO, $(CD_3)_2SO$
39. Acetone-d6

2.2 พืชที่นำมาใช้ในการศึกษา

จากการศึกษาที่ผ่านมา ผู้วิจัยพบว่า สารสกัดจากใบจิก (*Barrington augusta* Kurz.) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lecythidaceae มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ในปีที่ 2 ของการทำวิจัยนี้จึงได้เลือกเอาเฉพาะใบจิกมาทำการศึกษات่อยอดเพื่อนำส่วนสกัดย่อยไปแยกให้ได้สารบริสุทธิ์และหาโครงสร้างทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง

2.3 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำใบจิกมาล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งและปั่นให้ละเอียด แบ่งพืชมาต้มในน้ำเดือดอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยผ้าขาวบางแยกส่วนกากและส่วนน้ำ ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำส่วนน้ำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนใสด้วยกรวยบุชเนอร์ จากนั้นนำไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ นำสารที่ได้แช่ในตู้ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำไป Freeze dry เก็บส่วนสกัดที่ได้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2.4 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ดัดแปลงจากวิธีของปรียานูช อินทร์รอด (2551) โดยทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) โดยเตรียมกรดแกลลิก (gallic acid) ละลายในเมทานอล แล้วนำมาเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) หรือส่วนสกัดพืช ปริมาตร 0.125 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย 7% โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายลงในไมโครเพลท ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท แสดงปริมาณสารฟีนอลรวมจากสมการกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) โดยมีสมการเส้นตรง คือ $y = 1.760 + 0.146x$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.990 แสดงปริมาณฟีนอลรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

2.5 การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ดัดแปลงจากวิธีของ Kim, Jeong และ Lee (2003) โดยสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของเคอร์เซติน โดยละลายเคอร์เซตินในเมทานอล จากนั้นทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตสารละลายมาตรฐานเค

วอร์เซดินหรือสารสกัดพืชปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม 5% โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.2 มิลลิลิตร เพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์เซดิน โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 3.706x + 0.041$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.996 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซดินต่อกรัมของสารสกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

2.6 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

ดัดแปลงจากวิธีของปรียานูช อินทร์รอด (2551) โดยเตรียมสารละลาย DPPH ในเมทานอลที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และสารสกัดพืชที่มีความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นบีบอัดสารสกัดพืช 50 ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) และบีเอชที (butylated hydroxytoluene) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิง ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH} = \frac{A_a - (A_b - A_c)}{A_a} \times 100$$

โดยที่ A_a คือค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุมที่ประกอบด้วยเมทานอลและสารละลาย DPPH

A_b คือค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุมที่ประกอบด้วยตัวอย่างและสารละลาย DPPH

A_c คือค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยตัวอย่างและเมทานอล

ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

จากนั้นวิเคราะห์หาค่า EC_{50} โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงของพืชแต่ละชนิด ดังนี้ ค่า EC_{50} ของใบจิกจากสมการเส้นตรง $y = 0.863x + 13.90$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.904

2.7 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์

ดัดแปลงจากวิธีของ Rao et al. (2010) สร้างกราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยละลายกรดแกลลิกในเมทานอล จากนั้นทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตสารละลายกรดแกลลิก หรือสารสกัดพืช ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2 โมลาร์, pH 6.6) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 1% โพแทสเซียมเพอร์ริกไซยาไนด์ ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสด้วยตู้ควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติม 10% กรดไตรคลอโรอะซิติก ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และเก็บสารละลายส่วนบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.1% เพอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยมีสมการเส้นตรง คือ $y = 7.616x + 0.069$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 แสดงความสามารถในการรีดิวซ์ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

2.8 การทดสอบฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

จากการศึกษาวิจัยจำนวนมากจนเป็นที่ยืนยันว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและภาวะถูกออกซิไดซ์มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคและพัฒนาการของโรค ดังนั้นผลผลิตหรือสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นทวนการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และ

อนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิพิดและทำให้เกิดอนุมูลลิพิด (L[•] หรือ R[•]) อัตราเร็วของปฏิกิริยา และบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับชนิดหรือประเภทของอนุมูลที่ทำปฏิกิริยาและประเภทของลิพิด

2.8.1 การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตต์ไดอิน (Juntachote et al., 2007)

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งส่วนสกัดพีชมาตัวอย่างละ 0.005 0.05 0.5 และ 2.5 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำส่วนสกัดที่ซึ่งมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แบ่งสารละลายใส่หลอดทดลอง 60 ไมโครลิตร เติม 60 เปอร์เซ็นต์ เมธานอล 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 233 นาโนเมตร นำสารละลายพีชบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง นำค่าที่ได้มาคำนวณดังสูตร

$$A = \epsilon BC$$

โดย Conjugated dienes = ไมโครโมลาร์ต่อกรัม

เมื่อ ϵ = ค่าคงที่

A = ค่าการดูดกลืนแสง

B = เส้นผ่านศูนย์กลางคิวเวตต์ (เซนติเมตร)

ส่วนตัวควบคุมเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง

2.8.2 การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (Juntachote et al., 2007)

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งส่วนสกัดพีชมาตัวอย่างละ 0.005 0.05 0.5 และ 2.5 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำส่วนสกัดที่ซึ่งมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แบ่งสารละลายใส่ Eppendorf tube 200 ไมโครลิตร เติม TBA reagent 400 ไมโครลิตร เติม 50 มิลลิโมลาร์ บีเอชที 6 ไมโครลิตร แล้วผสมด้วย vortex นำไปบ่มที่ 95 องศาเซลเซียส

15 นาที แล้วนำไปทำให้เย็นในน้ำแข็ง 30 นาที นำไปเซนทรีฟิวจ์ที่ 3000 rpm 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ แล้วนำไปเซนทรีฟิวจ์ที่ 3000 rpm 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำสารละลายพีชบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง คำนวณค่า TBARS จากกราฟมาตรฐาน (0-250 ไมโครโมลาร์) ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งค่า TBARS ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็นไมโครโมลาร์ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกรัมของตัวอย่าง ส่วนตัวควบคุมเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพีช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง

2.9 การศึกษาคุณลักษณะทางเคมีขององค์ประกอบในสารสกัด

นำส่วนสกัดย่อยไปทำการแยก fraction โดยการทำให้ column chromatography จากนั้นนำไปศึกษาโครงสร้างและคุณลักษณะทางเคมี (elucidation) โดยใช้ Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy, Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS) และ Scanning Electron Microscopy (SEM)

2.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทุกตัวอย่างในแต่ละการวิเคราะห์ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เป็นจำนวน 3 ครั้ง โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean \pm SD) การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA ถูกนำไปใช้กับข้อมูลเพื่อกำหนดความแตกต่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่ $P < 0.05$ ในการวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 13.0 for windows

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

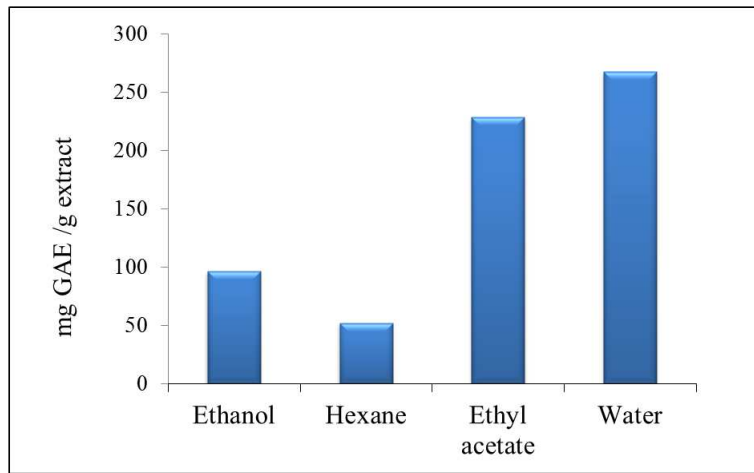
จากการนำใบจิกมา 853.0440 กรัม สกัดด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:10 และนำไประเหยแห้ง โดยจะได้น้ำหนักสารสกัด และคำนวณ %yield ตามตารางที่ 3-1 โดยใบจิกได้น้ำหนักสารสกัด และมี %yield คือ 83.2323 กรัม และ 10.40% ตามลำดับ จากนั้นนำมาแยกเป็นส่วนสกัดย่อยตามความมีขี้ของตัวทำละลาย โดยแบ่งเป็น ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และส่วนสกัดย่อยน้ำ ซึ่งมีน้ำหนักของสารสกัด เท่ากับ 74.004, 27.470 และ 20.400 กรัม ตามลำดับ คิดเป็น %yield เท่ากับ 88.91, 33.00 และ 24.51 ตามลำดับ

ตารางที่ 3-1 ปริมาณสารสกัดเอทานอลและส่วนสกัดย่อยต่างๆ และ %yield จากแต่ละส่วนสกัดของใบจิก

ส่วนสกัด / ส่วนสกัดย่อย	น้ำหนักพืชสด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	%yield
เอทานอล	853.044	83.232	10.40
เฮกเซน	-	74.004	88.91
เอทิลอะซิเตท	-	27.470	33.00
น้ำ	-	20.400	24.51

3.2 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของใบจิก (รูปที่ 3-1) โดยใช้ความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร พบว่า ส่วนสกัดย่อยน้ำของใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 267.588 มิลลิกรัม สมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดหยาบเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 228.350, 96.490 และ 52.098 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

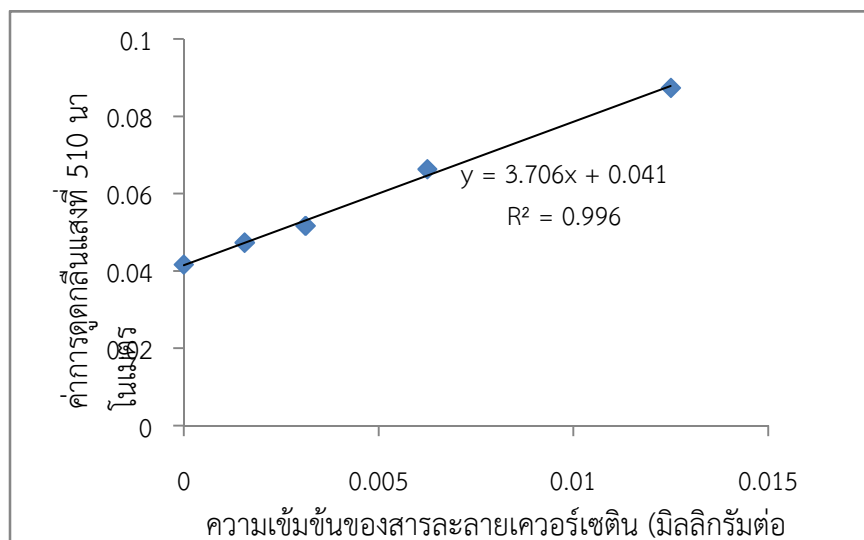


รูปที่ 3-1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดใบจิก

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

3.3 การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า สารสกัดเอทานอลของใบจิกที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 22.53 ± 0.70 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของใบจิกคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซติน (รูปที่ 3-2) สมการกราฟเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 3.706x + 0.041$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.996

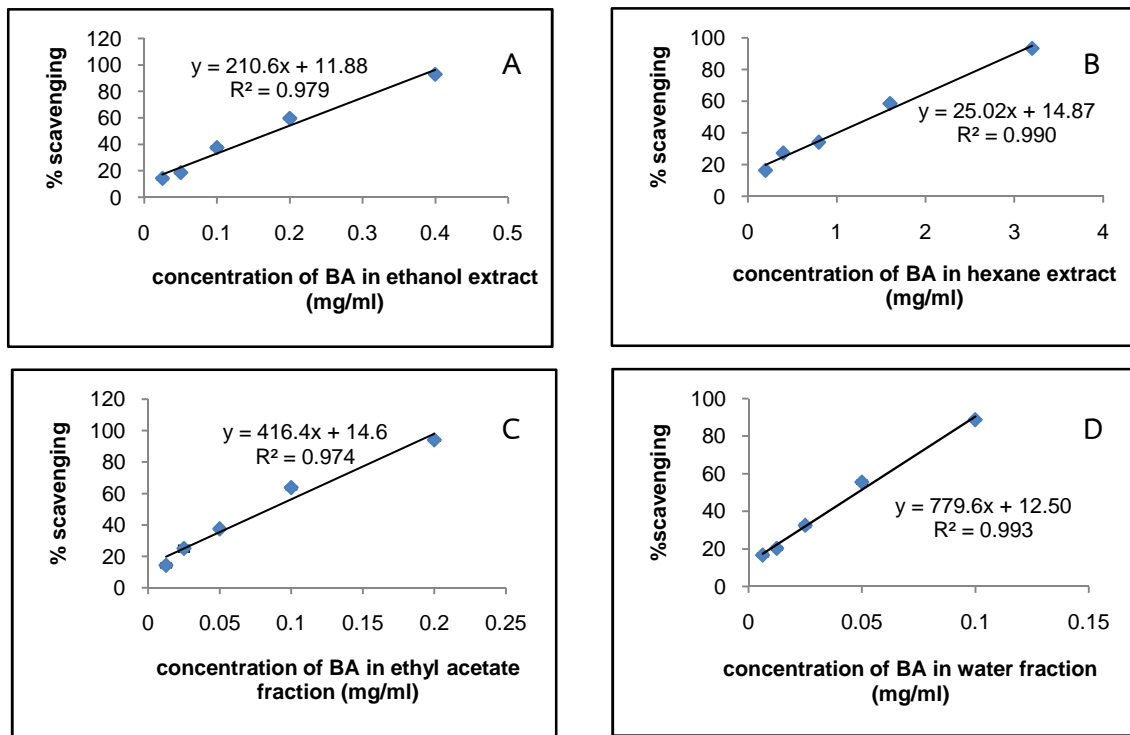


รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบจิก

3.4 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากใบจิกโดยนำสารสกัดใบจิกมา เจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (รูปที่ 3-3) พบว่าฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดใบจิกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด ทั้งนี้พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลอง (0.1-3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดจากใบจิกมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดีมาก สามารถยับยั้งอนุมูล DPPH ได้เกือบ 100% ทั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดโดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.991 และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัด มีค่า R^2 เท่ากับ 0.576

ส่วนค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดใบจิก (ตารางที่ 3-2) พบว่า ส่วนสกัดหยาบเอทานอลของใบจิกมีค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 0.1809 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสกัดย่อยเฮกเซนมีค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 1.4034 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทและน้ำมีค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 0.0846 และ 0.0481 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี (ตารางที่ 3-4 และรูปที่ 3-4) และค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายบีเอชที (ตารางที่ 3-4 และรูปที่ 3-5) ที่ถูกใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิงมีค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 0.0107 และ 0.0231 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

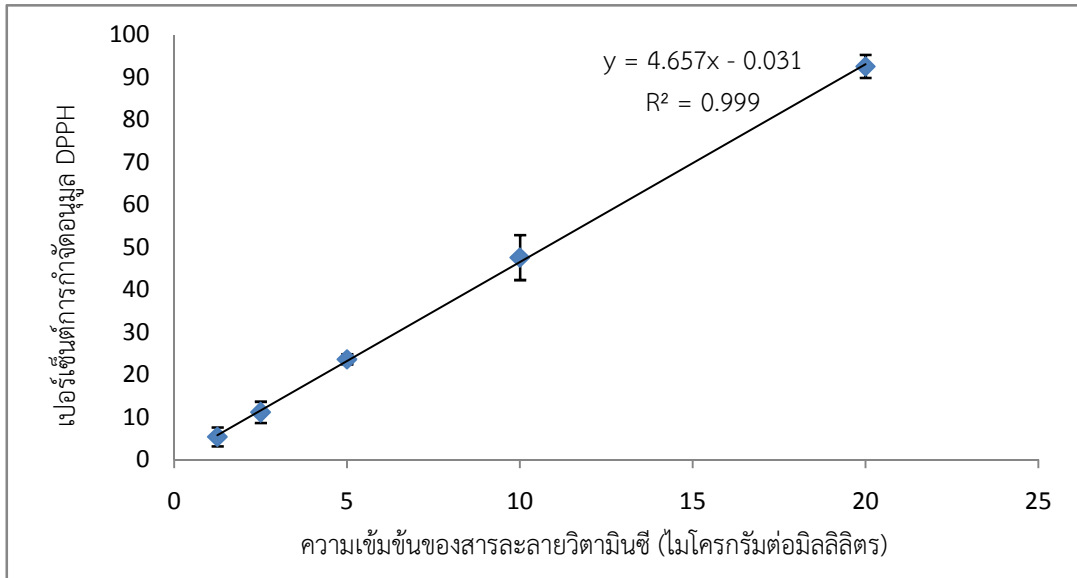


รูปที่ 3-3 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัดย่อยน้ำ

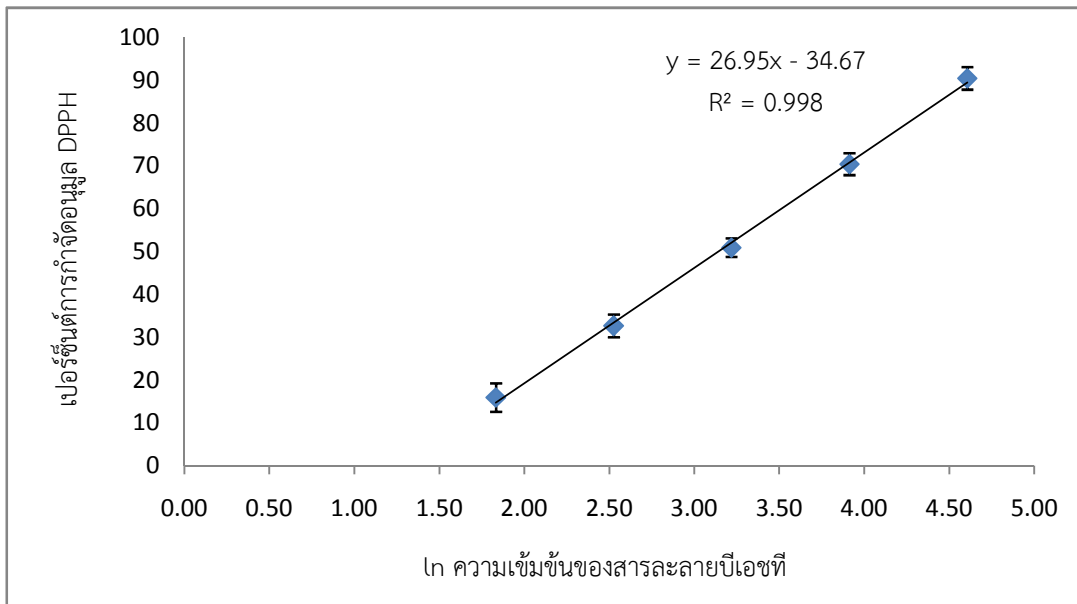
ตารางที่ 3-2 ค่า EC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด สารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิง วิตามินซีและบีเอชที

สารมาตรฐาน/สารสกัดตัวอย่าง	EC ₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
วิตามินซี	0.017±0.001
บีเอชที	0.0231±0.001
ส่วนสกัดเอทานอล	0.181±0.002
ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน	1.403±0.039
ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท	0.084±0.000
ส่วนสกัดย่อยน้ำ	0.049±0.001

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3-4 การหาค่า EC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี



รูปที่ 3-5 การหาค่า EC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายปีเอซที

3.5 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนของสารสกัดใบจิก โดยเลือกความเข้มข้นที่ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-3) พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทมีค่า FRAP มากที่สุดเท่ากับ 503.95 มิลลิกรัมสมมูลของโทรล็อกซ์/สารสกัด 1 กรัม แสดงว่ามีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ ส่วนสกัดย่อยน้ำ (392.84 มิลลิกรัมสมมูลของโทรล็อกซ์)

อกซ์/สารสกัด 1 กรัม) ส่วนสกัดหยาบเอทานอล (260.65 มิลลิกรัมสมมูลของโทรล็อกซ์/สารสกัด 1 กรัม) และ ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (62.59 มิลลิกรัมสมมูลของโทรล็อกซ์/สารสกัด 1 กรัม) ตามลำดับ

ตารางที่ 3-3 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดใบจิกที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml

ส่วนสกัดพืช	FRAP value (mg trolox equivalent/g extract)
ส่วนสกัดหยาบเอทานอล	260.65
ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน	62.59
ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท	503.95
ส่วนสกัดย่อยน้ำ	392.84

3.6 การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตดีไดอิน

จากการทดลองพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เกิดคอนจูเกตดีไดอินเพิ่มขึ้น และในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเกิดคอนจูเกตดีไดอินของส่วนสกัดเอทานอลของใบจิกนั้น เมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทดสอบพบว่าสารสกัดเอทานอลของใบจิกสามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตดีไดอินได้ถึง 56% (รูปที่ 3-6 และ ตารางที่ 3-4) โดยจะเห็นได้จากค่าเริ่มต้นที่ 2.7217 ± 0.1673 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืชในชุดควบคุมลดลงมาเหลือ 1.3733 ± 0.0424 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช

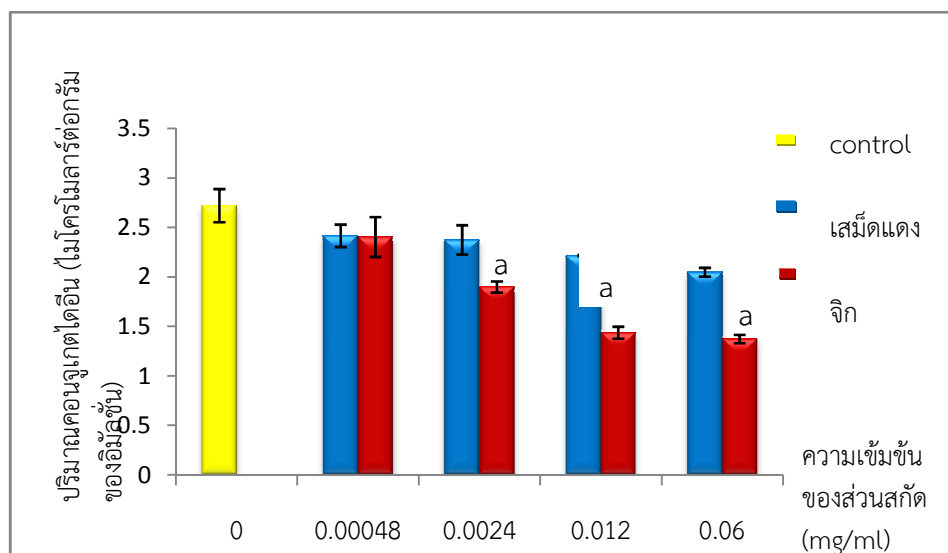
แต่เมื่อบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (โดยเพิ่มจาก 0.0176 ± 0.0055 เป็น 2.6525 ± 0.0318 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช) เมื่อครบ 72 ชั่วโมงแล้วค่อยใส่ส่วนสกัดเอทานอลของใบจิกลงไป พบว่าไม่สามารถลดการเกิดคอนจูเกตดีไดอินได้ (รูปที่ 3-7 และ ตารางที่ 3-5) โดยมีค่าคอนจูเกตดีไดอินเป็น 3.3033 ± 0.0188 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืชซึ่งใกล้เคียงกับชุดควบคุม (2.6525 ± 0.0318 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช)

ตารางที่ 3-4 ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง

ส่วนสกัดพืช	ปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน (ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อ กรัมของน้ำมันพืช)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง คอนจูเกตดีไดอิน
กลุ่มควบคุม	2.7217±0.1673	0
ใบจิก 0.00048 mg/ml	2.4042±0.2015	15.26±5.5985
ใบจิก 0.0024 mg/ml	1.9000±0.0566 ^a	40.03±1.6597 [*]
ใบจิก 0.012 mg/ml	1.4368±0.0610 ^a	54.37±1.7823 ^{**}
ใบจิก 0.06 mg/ml	1.3733±0.0424 ^a	56.25±1.1628 ^{**}

หมายเหตุ: ^a แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{*} ^{**} แสดงถึงความแตกต่างในคอลัมน์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งคอนจูเกตดีไดอิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

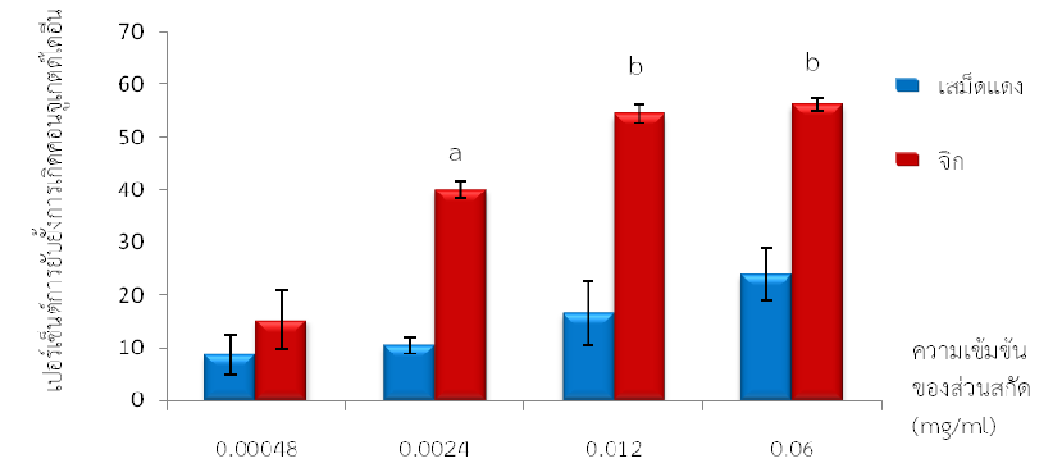


รูปที่ 3-6 ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน

หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสมีดแดง และแตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^a ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสมีดแดง แต่ไม่แตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^a ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสมีดแดง และไม่แตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 3-7 เปอร์เซนต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบมพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน

หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสม็ดแดง และแตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^b ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสม็ดแดง และแตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

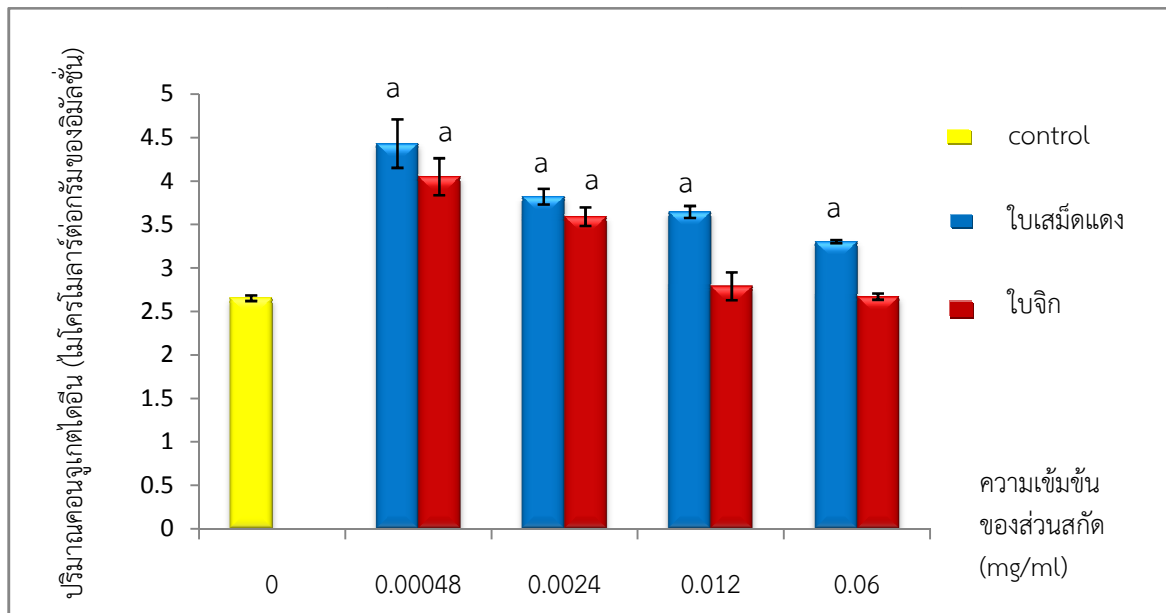
^b ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสม็ดแดง แต่ไม่แตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3-5 ปริมาณคอนจูเกตดีไดอินและเปอร์เซนต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชหลังจากครบ 72 ชั่วโมง

ส่วนสกัดพืช	ปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน (ไมโครโมลาร์คอนจูเกตดีไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช)	เปอร์เซนต์การยับยั้งคอนจูเกตดีไดอิน
กลุ่มควบคุม	2.6525±0.0318	0
ใบจิก 0.00048 mg/ml	4.0500±0.2121 ^a	-53.39±6.0638
ใบจิก 0.0024 mg/ml	3.5908±0.1072 ^a	-35.63±2.7061 [*]
ใบจิก 0.012 mg/ml	2.7900±0.1602	-5.70±4.4551 ^{**}
ใบจิก 0.06 mg/ml	2.6712±0.0361	-0.20±0.8044 ^{**}

หมายเหตุ: ^a แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{*} ^{**} ^{***} แสดงถึงความแตกต่างในคอลัมน์เปอร์เซนต์การยับยั้งคอนจูเกตดีไดอิน (P<0.05)



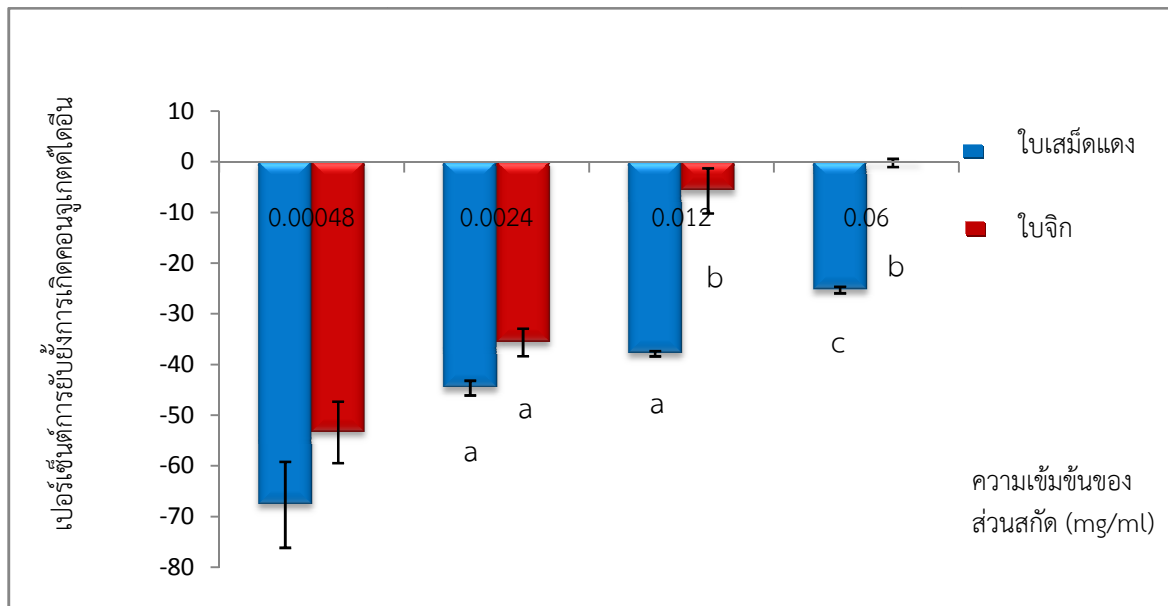
รูปที่ 3-8 ปริมาณคอนจูเกตไดอินของส่วนสกัดพิษพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพิษที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตไดอิน

หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของโบเซมิดแดงและโบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากตัวควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของโบเซมิดแดงและโบจิกไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากโบเซมิดแดงและโบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^a ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของโบเซมิดแดงแตกต่างจากโบจิก แต่ไม่แตกต่างจากโบเซมิดแดงที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^a ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของโบเซมิดแดงแตกต่างจากโบจิก แต่ไม่แตกต่างจากโบเซมิดแดงที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 3-9 เปอร์เซนต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอนจูเกตดีไดอิน

หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของโทเคอเฟอรอลแดงและโทเคอเฟอรอลไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากโทเคอเฟอรอลแดงและโทเคอเฟอรอลที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^a ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของโทเคอเฟอรอลแดงโทเคอเฟอรอลแตกต่างจากโทเคอเฟอรอล แต่ไม่แตกต่างจากโทเคอเฟอรอลแดงที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^b ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของโทเคอเฟอรอลแตกต่างจากโทเคอเฟอรอลแดง และแตกต่างจากโทเคอเฟอรอลที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^c ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของโทเคอเฟอรอลแดงแตกต่างจากโทเคอเฟอรอล และแตกต่างจากโทเคอเฟอรอลแดงที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^d ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของโทเคอเฟอรอลแตกต่างจากโทเคอเฟอรอลแดง และแตกต่างจากโทเคอเฟอรอลที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.7 การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

จากการทดลองพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จะเกิดทีบาร์เพิ่มขึ้น และในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเกิดทีบาร์ของส่วนสกัดเอทานอลของโทเคอเฟอรอลนั้น เมื่อใส่ส่วนสกัดปมไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทดสอบ พบว่าส่วนสกัดเอทานอลของโทเคอเฟอรอลสามารถยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้ถึง 95% (รูปที่ 3-10 และ ตารางที่ 3-6) โดยจะเห็นได้จากค่า

เริ่มต้นที่ 0.0039 ± 0.0002 ไมโครโมลาร์ ในชุดควบคุมลดลงมาเหลือ 0.0002 ± 0.0001 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

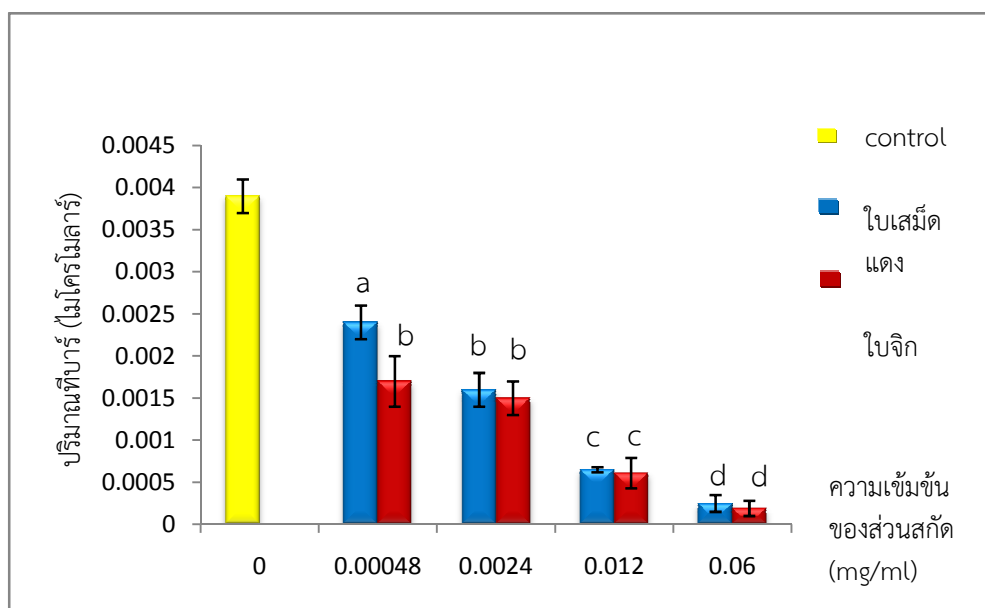
เมื่อป้อนน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาไลพิดเปอร์ออกซิเดชัน (เพิ่มจาก 0.0139 ± 0.0038 เป็น 0.0450 ± 0.0021 ไมโครโมลาร์) เมื่อครบ 72 ชั่วโมงแล้วจึงค่อยใส่ส่วนสกัดเอทานอลของใบจิกลงไป ก็พบว่าสามารถลดการเกิดทีบาร์ได้เช่นกัน (รูปที่ 3-11 และ ตารางที่ 3-7) โดยมีค่าทีบาร์เป็น 0.0042 ± 0.0001 และ 0.0069 ± 0.0005 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุม (0.0450 ± 0.0021 ไมโครโมลาร์)

ตารางที่ 3-6 ปริมาณทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง

ส่วนสกัดพืช	ปริมาณ TBARS (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง TBARS
กลุ่มควบคุม	0.0039 ± 0.0002	0
ใบจิก 0.00048 mg/ml	0.0017 ± 0.0002^b	52.67 ± 4.4334
ใบจิก 0.0024 mg/ml	0.0015 ± 0.0001^b	59.92 ± 3.2273
ใบจิก 0.012 mg/ml	0.0006 ± 0.0001^c	$83.31 \pm 4.0738^*$
ใบจิก 0.06 mg/ml	0.0002 ± 0.0001^d	$94.79 \pm 2.6213^*$

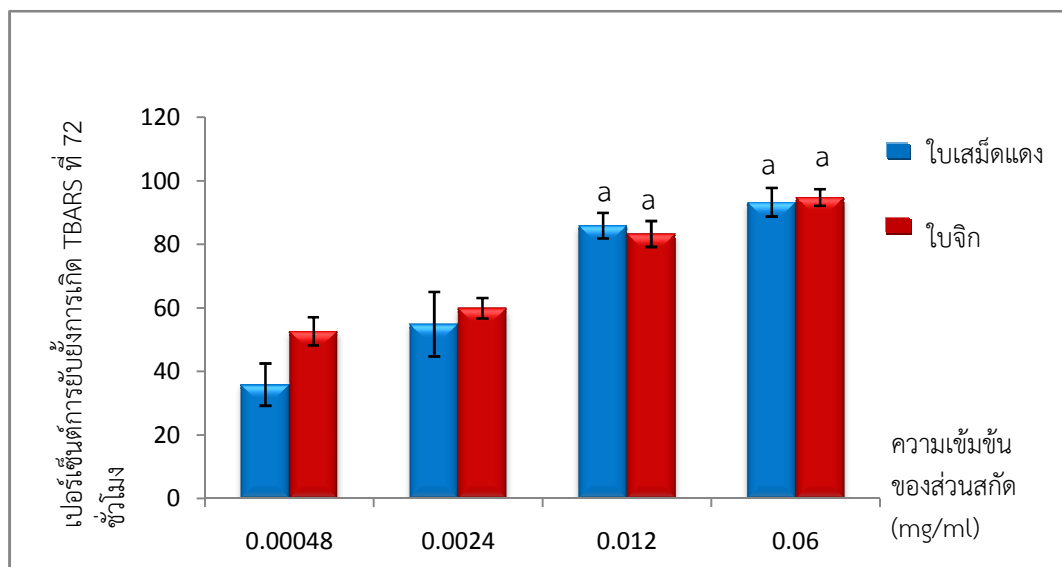
หมายเหตุ: ^{a, b, c, d} แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

* แสดงถึงความแตกต่างในคอลัมน์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 3-10 ปริมาณที่บาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบมพร้อมน้ำมันตั้งแต่ 0 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าปริมาณที่บาร์

- หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของใบเสมีดแดง หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของใบเสมีดแดงแตกต่างกับใบจิก และแตกต่างกับตัวควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
- ^b ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของใบจิก แตกต่างจากใบเสมีดแดง และแตกต่างจากตัวควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
- ^b ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบเสมีดแดง หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากใบเสมีดแดงที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
- ^b ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของใบจิกและใบเสมีดแดงไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
- ^c ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากใบเสมีดแดงและใบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
- ^d ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากใบเสมีดแดงและใบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 3-11 เปอร์เซนต์การยับยั้งการเกิดที่บาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดบมพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

- หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากใบเสมีดแดงและใบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

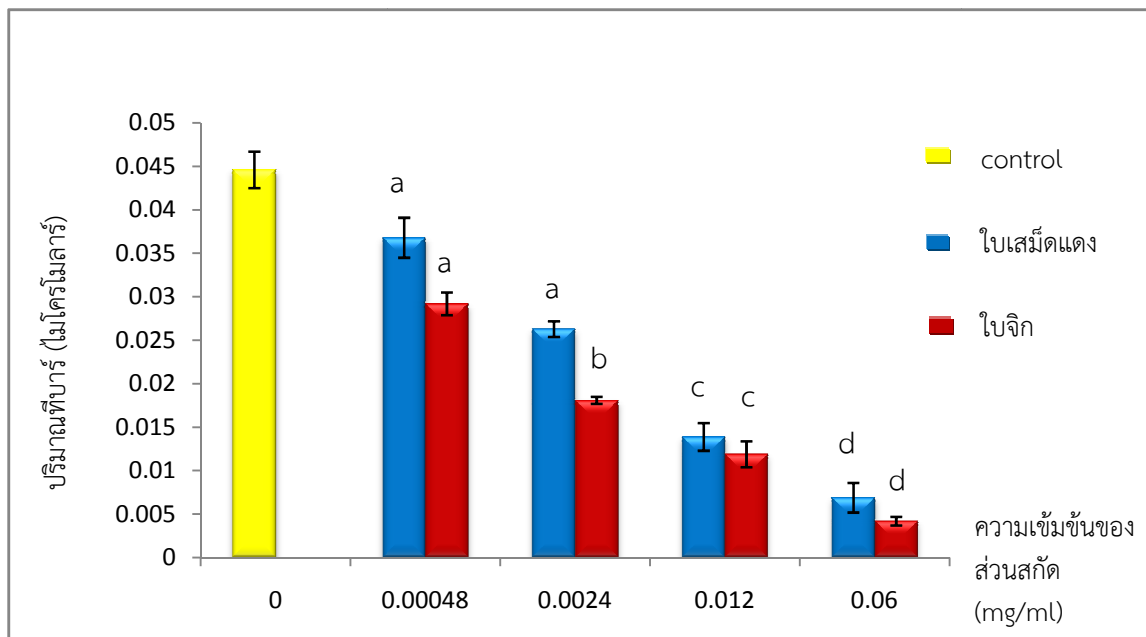
^a ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของไบโसेมิตแดงและไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของไบโसेมิตแดงและไบจิกไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากไบโसेมิตแดงและไบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3-7 ปริมาณทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของส่วนสกัดเอทานอลของไบจิกเมื่อใส่ส่วนสกัดพืช หลังจากครบ 72 ชั่วโมง

ส่วนสกัดพืช	ปริมาณ TBARS (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง TBARS
กลุ่มควบคุม	0.0450±0.0021	0
ไบจิก 0.00048 mg/ml	0.0291±0.0013 ^a	35.9986±5.3113 [*]
ไบจิก 0.0024 mg/ml	0.0181±0.0000 ^b	59.0867±2.1113 ^{**}
ไบจิก 0.012 mg/ml	0.0119±0.0015 ^c	73.0266±4.4518 ^{***}
ไบจิก 0.06 mg/ml	0.0042±0.0001 ^d	90.6238±0.1892 ^{****}

หมายเหตุ: ^{a, b, c, d} แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง (P<0.05)

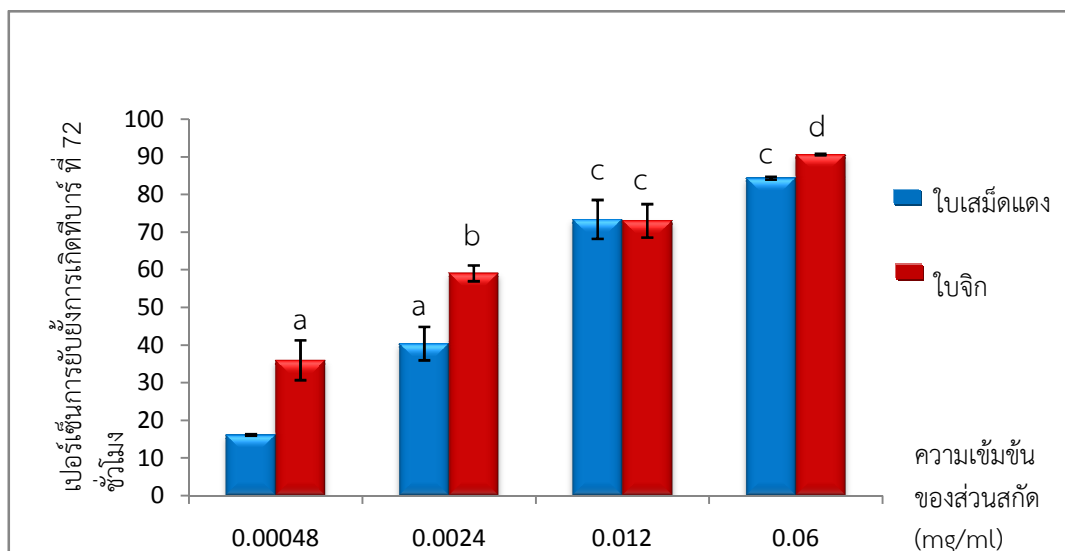
* ** *** **** แสดงถึงความแตกต่างในคอลัมน์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ (P<0.05)



รูปที่ 3-12 ปริมาณทีบาร์ของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ต่อ ปริมาณทีบาร์

หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของไบโसेมิตแดงและไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของไบโसेมิตแดงและไบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกับตัวควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

- ^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบโसेมิดแดง หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบโเสมิดแดงแตกต่างจากไบจิก แต่ไม่แตกต่างจากไบโเสมิดแดง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^b ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบจิกแตกต่างจากไบโเสมิดแดง และแตกต่างจากไบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^c ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของไบโเสมิดแดงและไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของไบโเสมิดแดงและไบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากไบโเสมิดแดงและไบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^d ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของไบโเสมิดแดงและไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของไบโเสมิดแดงและไบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากไบโเสมิดแดงและไบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



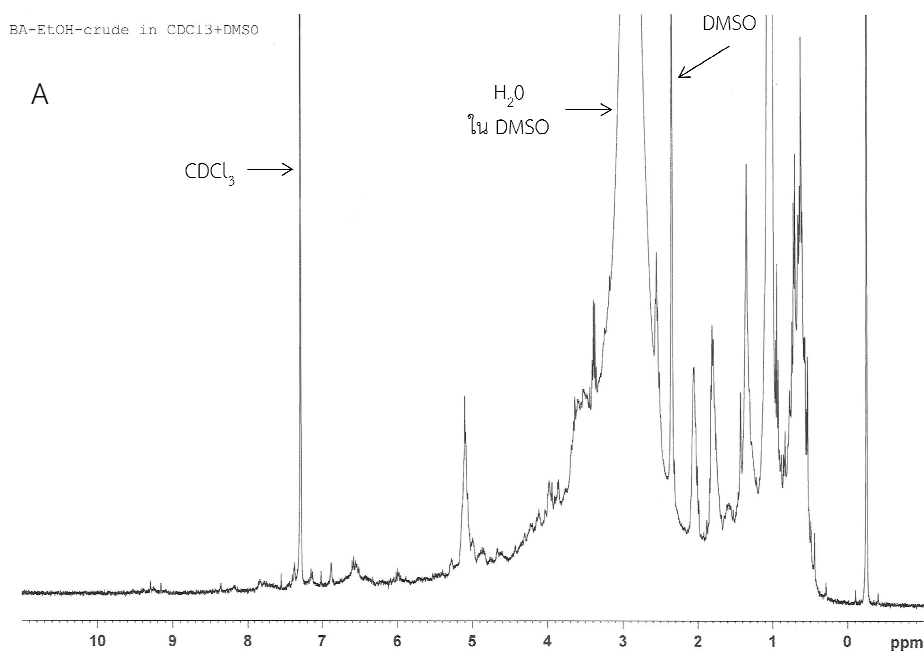
รูปที่ 3-13 เปอร์เซนต์การยับยั้งของส่วนสกัดพืชพื้นบ้านเมื่อใส่ส่วนสกัดพืชที่ 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณที่บาร์

- หมายเหตุ: ^a ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml ของไบจิกและไบโเสมิดแดงแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^a ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบโเสมิดแดง หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบโเสมิดแดงแตกต่างจากไบจิก และแตกต่างจากไบโเสมิดแดง ที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^b ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.0024 mg/ml ของไบจิกแตกต่างจากไบโเสมิดแดง และแตกต่างจากไบจิกที่ความเข้มข้น 0.00048 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

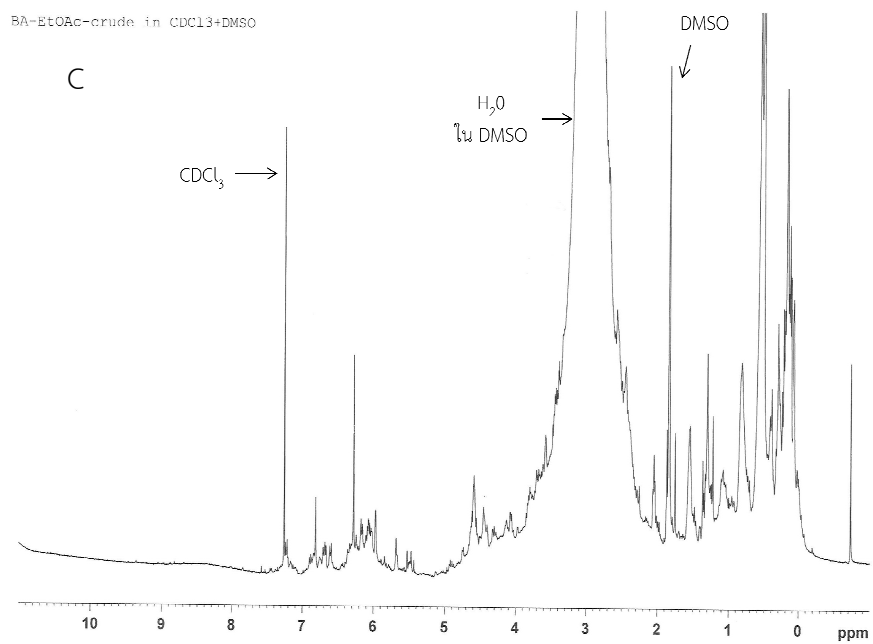
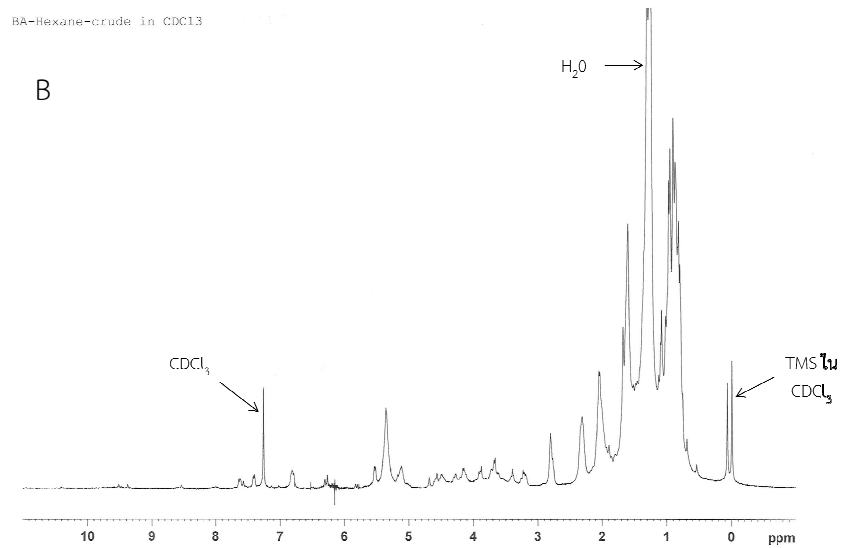
- ^c ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml ของใบเสมีดแดงและใบจิกไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากใบเสมีดแดงและใบจิกที่ความเข้มข้น 0.0024mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^c ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบเสมีดแดง หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบเสมีดแดงแตกต่างจากใบจิก แต่ไม่แตกต่างจากใบเสมีดแดง ที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
- ^d ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบจิก หมายถึง ที่ความเข้มข้น 0.06 mg/ml ของใบจิกแตกต่างจากใบเสมีดแดง และแตกต่างจากใบจิกที่ความเข้มข้น 0.012 mg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.8 การศึกษาโครงสร้างของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในส่วนสกัดย่อย

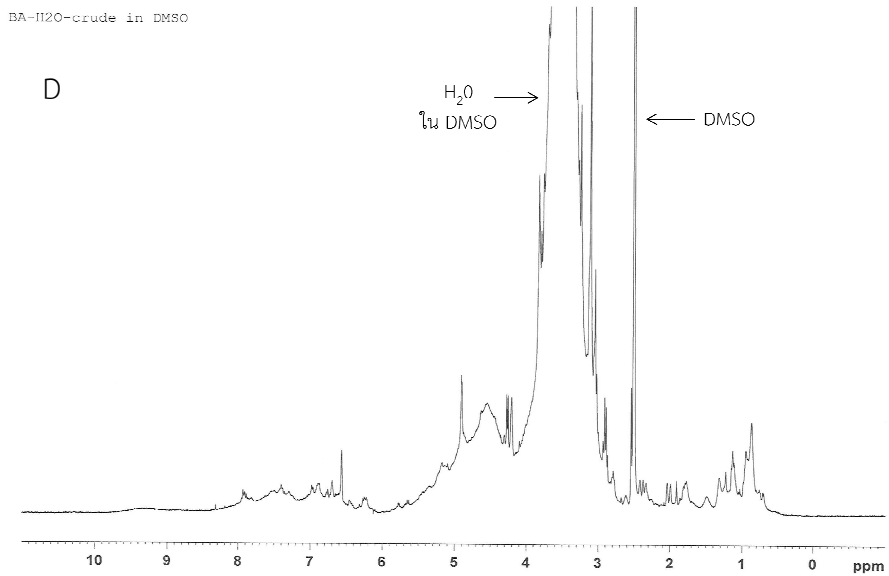
จากการนำส่วนสกัดต่างๆ ของใบจิกไปศึกษาโครงสร้างทางเคมีด้วย NMR spectroscopy พร้อมกับทำการทำ Thin Layer Chromatography (TLC) ควบคู่ไปด้วย ได้ผลดังรูปที่ 3-14 และ 3-15 ประกอบกับผลการทดลองก่อนหน้านี้ที่พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทมี %yield สูงที่สุด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในภาพรวมดีที่สุด จึงได้นำส่วนสกัดย่อยนี้มา subfraction โดยทำ column chromatography ได้ทั้งสิ้น 8 subfractions ซึ่งได้นำไปทำ ¹H-NMR อีกครั้ง ได้ผลดังรูปที่ 3-16



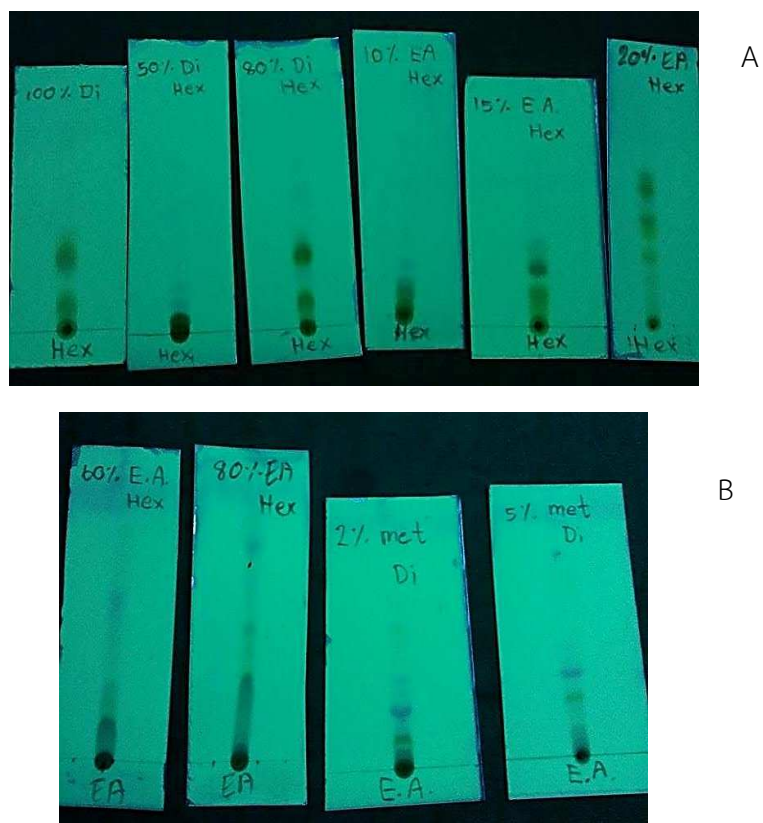
รูปที่ 3-14 ผล NMR ของส่วนสกัดต่างๆ ของใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัดย่อยน้ำ



รูปที่ 3-14 (ต่อ) ผล NMR ของส่วนสกัดต่างๆ ของใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัดย่อยน้ำ



รูปที่ 3-14 (ต่อ) ผล NMR ของส่วนสกัดต่างๆ ของใบจิก (A) ส่วนสกัดเอทานอล (B) ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน (C) ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท และ (D) ส่วนสกัดย่อยน้ำ



รูปที่ 3-15 การหาระบบ solvent ที่เหมาะสมของ (A) สกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทจากใบจิก

และ (B) ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท

บทที่ 4

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

4.1 อภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษานี้ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดใบจิกจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยทำการทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ ทดสอบฤทธิ์ในการต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และฟลาโวนอยด์รวม

การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH นั้น DPPH ถูกใช้เป็นสารทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจาก DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูล อนุมูล DPPH เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีสีม่วง และเมื่อมีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูล DPPH จะได้เป็นสาร diphenylpicrylhydrazyl (DPPH:H) ที่เป็นสารละลายสีเหลืองที่ไม่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระอีกต่อไป (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550) ในการทดลองนี้ใช้สารสกัดพืชในช่วงความเข้มข้น 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ดังรายงานของระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549) กล่าวว่าการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลต่อการต้านอนุมูล DPPH เกิดจากสารประกอบฟีนอลให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH ทำให้อนุมูล DPPH ไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป ส่วนสารประกอบฟีนอลจะกลายเป็น phenoxy radical แล้ว phenoxy radical 2 โมเลกุลจะจับกันเองทำให้ phenoxy radical ไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป และทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหยุดลง และจากผลการทดลองพบว่า ส่วนสกัดย่อยน้ำและเอทิลอะซิเตทของใบจิกมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ ส่วนสกัดหยาบเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน จากงานวิจัยของ (Sofidiya et al., 2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ของพืชสมุนไพรในวงศ์ Sapindaceae 6 ชนิด พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH อยู่ระหว่าง 33.8-99.2% ทั้งนี้จากการทดสอบสถิติ พบว่า ส่วนสกัดย่อยน้ำและเอทิลอะซิเตทมีค่า EC_{50} ไม่แตกต่างกับวิตามินซีและบีเอชที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นอกจากนี้พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH เป็นอย่างดี โดยมีค่า $R^2 =$

0.991 ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH น้อย มีค่า $R^2 = 0.576$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบ

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารตัวอย่างโดยเป็นการทดสอบความสามารถของสารตัวอย่างในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} /Ferric cyanide ไปเป็นรูป Fe^{2+} /Ferrous cyanide และติดตามปริมาณ Fe^{2+} โดยการเกิด Perls Prussian blue ที่ 700 นาโนเมตร (Senevirathne et al., 2006) ซึ่งจากการทดลองก่อนหน้านี้ออกใช้ความเข้มข้นที่ 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบขำมะเสียง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าผักพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี ดังรายงานของ Hussin (2009) พบว่าส่วนสกัดน้ำของใบ ลำต้น และเปลือกของจิกสวน (*Barringtonia racemosa*) ซึ่งอยู่วงศ์เดียวกับจิกมีศักยภาพในการรีดิวซ์สูง ซึ่งจากการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์เป็นอย่างดี โดย $R^2 = 0.950$ ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์ได้น้อยกว่า โดยมีค่า $R^2 = 0.422$ แสดงให้เห็นว่า การที่พืชที่นำมาทดสอบมีความสามารถในการรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์เพียงอย่างเดียว และจากการศึกษานี้พบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ ส่วนสกัดย่อยน้ำ ส่วนสกัดหยาบเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนมีความสามารถนี้น้อยที่สุด แสดงว่า สารที่เป็นองค์ประกอบในส่วนสกัดย่อยเหล่านี้ที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับ Fe^{3+} น่าจะเป็นสารที่ค่อนข้างมีขี้มากกว่าสารในกลุ่มที่ไม่มีขี้

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก พบว่าส่วนสกัดย่อยน้ำและส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุดพอๆ กัน เท่ากับ 267.588 และ 228.350 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ รองลงมา คือ ส่วนสกัดเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ตามลำดับ และจากการคำนวณหาปริมาณฟลาโ

นอยด์รวมที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายควอร์เซตินซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดเอทานอลของใบจิกที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 22.53 ± 0.70 มิลลิกรัมสมมูลของควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด จากงานวิจัยของ Hussin (2009) ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากส่วนของใบ ลำต้น และเปลือกของจิกสวน (*Barringtonia racemosa*) ซึ่งอยู่วงศ์เดียวกับจิก พบว่ามี gallic acid, naringin, flavonoids รวมทั้ง ferulic acid, rutin, kaempferol และ luteolin เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมที่ตรวจพบน่าจะมีสารดังกล่าวอยู่ด้วย

ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ระหว่างออกซิเจนกับลิพิด (lipid) ณ ตำแหน่งพันธะคู่ ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ทำให้เกิดสารที่เหม็นและรสไม่ดีที่เรียกว่า การหืน (rancidity) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) เพราะอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจะกระตุ้นโมเลกุลของกรดไขมันที่เหลือให้เกิดปฏิกิริยาต่อไป ในการศึกษาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในสารสกัดใบจิกจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยทำการทดสอบค่าคอนจูเกตต์ไดอิน และ TBARS

ผู้วิจัยได้ทำการหาค่าคอนจูเกตต์ไดอินจะใช้เป็นดัชนีชี้วัดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยา เนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกดั่งไฮโดรเจนอะตอมออกจากหมู่เมทิลีน ทำให้กลายเป็นอัลคิลเรดิคอลเกิดขึ้น หลังจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นคอนจูเกตต์ไดอินซึ่งเป็นโครงสร้างที่เสถียร จากการทดสอบพบว่า ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งคอนจูเกตต์ไดอินของส่วนสกัดเอทานอลของใบจิก เป็นการทดสอบใน 2 ลักษณะ คือ ใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบ กับเมื่อบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมง เพื่อต้องการดูว่าสารสกัดสามารถป้องกันหรือยับยั้งคอนจูเกตต์ไดอินได้หรือไม่ และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ส่วนสกัดใบจิกที่ใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบ สามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้ ในขณะที่บ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมง พบว่า ส่วนสกัดใบจิกไม่สามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้ ดังนั้นส่วนสกัดใบจิกน่าจะมีฤทธิ์ป้องกันการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินมากกว่ายับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอิน ซึ่งจากงานวิจัยของ Vasankari et al. (1995) ที่พบว่าคอนจูเกตต์ไดอินในซีรัมเพิ่มขึ้นในระหว่างการออกกำลังกาย เนื่องจากคอนจูเกตต์ไดอินและทีบาร์เป็น

ตัวบ่งชี้ของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันต่างระยะกัน โดยคอนจูเกตไดอินเป็นตัวบ่งชี้ของการเกิดปฏิกิริยาในขั้นเริ่มต้น (initiation) ซึ่งเป็นช่วงแรกๆ ของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน จึงทำให้สารต้านออกซิเดชันในร่างกายมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับคอนจูเกตไดอินได้น้อยกว่าที่บาร์ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าระยะเวลาในการใส่ส่วนสกัดมีผลทำให้พืชสามารถยับยั้งเกิดการคอนจูเกตไดอินได้ ทั้งนี้การยับยั้งการเกิดคอนจูเกตไดอินของส่วนสกัดน้ำใบจิกที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งได้ 72% และส่วนสกัดเอทานอลใบจิกและใบเสมีดแดงที่ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งได้ 56% (อาภัสรา ไทยประเสริฐ และยลดา แต่งภูเขียว, 2555)

ค่าทีบาร์วัดเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร ของสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพู โดยเกิดจากสารประกอบอัลดีไฮด์ที่สำคัญคือ malondialdehyde (MDA) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ TBA (thiobarbituric acid) (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550) จากการทดสอบฤทธิ์การลด thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ของส่วนสกัดใบจิกเป็นการทดสอบใน 2 ลักษณะ คือใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบ กับบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมง เพื่อต้องการดูว่าสารสกัดสามารถป้องกันหรือยับยั้งทีบาร์ได้หรือไม่ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบพบว่าส่วนสกัดใบจิกสามารถยับยั้งทีบาร์ได้ และเมื่อบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมง พบว่าส่วนสกัดใบจิกก็สามารถลดการเกิดทีบาร์ได้เช่นกัน ดังนั้นส่วนสกัดใบจิกสามารถป้องกันและยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้ เนื่องจากในขั้น propagation ของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันนั้นสารประกอบฟีนอลจะให้อิเล็กทรอนิกส์จากอะตอมไฮโดรเจนที่วงอะโรมาติกแก่ peroxy radical แล้วทำให้ peroxy radical เปลี่ยนเป็น lipid hydroperoxide ซึ่งแยกออกจากวิถีการเกิด malondialdehyde จึงจะสามารถลดการเกิด malondialdehyde ได้ (Shahidi and Naczki, 2004) อีกทั้งจากงานวิจัยของอาภัสรา ไทยประเสริฐ และยลดา แต่งภูเขียว (2555) พบว่าส่วนสกัดน้ำของใบจิกและเสมีดแดงทำให้ค่าคอนจูเกตไดอินและค่าทีบาร์ลดลง แสดงว่า ส่วนสกัดพืชพื้นบ้านมีฤทธิ์ในการยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันทั้ง 2 ขั้นตอนในการเกิดปฏิกิริยาลงได้ ทั้งนี้พบว่าส่วนสกัดน้ำที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของใบจิกมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 43% แต่ส่วนสกัดเอทานอลของใบจิกที่ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งได้ถึง 95% นอกจากนี้การตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลนั้นใบจิกพบ

สารแซนโทน และแทนนินเป็นองค์ประกอบซึ่งเคยมีรายงานว่าสารแซนโทนนั้นสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ (Madan et al., 2002; Franklin et al., 2009) และจากงานวิจัยของ Rakic et al. (2007) ก็พบว่าสารแทนนินนั้นก็สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้เช่นกัน

จากการศึกษาใบจิกจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี พบว่า เมื่อใส่ส่วนสกัดปมไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบพบว่า ค่าคอนจูเกตดีไดอิน และค่าทีบาร์ลดลง แสดงว่าส่วนสกัดพืชพื้นบ้านมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ทั้ง 2 ขั้นตอน ซึ่งคอนจูเกตดีไดอินเป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ เมื่อเกิดคอนจูเกตดีไดอินน้อยลงก็สามารถลดการเกิดผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (MDA) ได้ แต่เมื่อปมน้ำมันจนเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมง พบว่าไม่ทำให้คอนจูเกตดีไดอินลดลง ในขณะที่ค่าทีบาร์ยังคงลดลง แสดงว่าเมื่อปมสารสกัดหลังจากที่ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเกิดขึ้นแล้ว พืชพื้นบ้านไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในช่วงแรกของปฏิกิริยา แต่สามารถยับยั้งในช่วง propagation ได้

4.2 สรุปผลการวิจัย

1. ทุกส่วนสกัดย่อยของใบจิกในช่วงความเข้มข้น 0.0125-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น โดยเฉพาะส่วนสกัดย่อยน้ำและเอทิลอะซิเตทของใบจิกมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.0481 ± 0.001 และ 0.0840 ± 0.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ ส่วนสกัดเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ซึ่งมีค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 0.181 ± 0.002 และ 1.403 ± 0.039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายวิตามินซีและสารละลายบีเอชที่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.017 ± 0.001 และ 0.0231 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้ฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เป็นผลมาจากการมีสารประกอบฟีนอลชนิดต่างๆ เป็นองค์ประกอบ
2. ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของใบจิกมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ส่วนสกัดย่อยน้ำ ส่วนสกัดหยาบเอทานอล และส่วนสกัดเฮกเซนมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนน้อยที่สุด ซึ่งความสามารถในการรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกับฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH

3. ส่วนสกัดย่อยน้ำของใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 267.588 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม เท่ากับ 228.35 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด สำหรับส่วนสกัดเอทานอล และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมค่อนข้างน้อย (96.49 และ 52.098 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด)
4. ส่วนสกัดหยาบเอทานอลของใบจิกมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากับ 22.53 ± 0.70 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด
5. การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตต์ไดอินของสารสกัดพืช พบว่า เมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกริยานั้นเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบพบว่า สารสกัดเอทานอลของใบจิกสามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้ แต่เมื่อบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมงไม่สามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้
6. การวิเคราะห์ค่าทีบาร์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งส่วนใหญ่คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ซึ่งจะออกซิไดซ์น้ำมันทำให้เกิดกลิ่นหืน เมื่อใส่ส่วนสกัดบ่มไปพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกริยานั้นเมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำมาทดสอบ และเมื่อบ่มน้ำมันจนเกิดปฏิกริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วจึงใส่ส่วนสกัดที่ 72 ชั่วโมงสามารถลดการเกิดทีบาร์ได้เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น
7. จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดต่างๆ ในเบื้องต้นส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบจิก น่าจะเป็นสารประกอบที่มีขั้วมากกว่าสารประกอบที่ไม่มีขั้ว

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการ 2557A10803041

ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน / ผู้วิจัย ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 23 กันยายน 2559

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 31 กันยายน 2557

รายจ่าย

หมวด	รายจ่ายสะสม จากรายงาน ครั้งก่อน	ค่าใช้จ่าย งวดปัจจุบัน	รวมรายจ่าย สะสมจนถึง งวดปัจจุบัน	งบประมาณ รวมทั้งโครงการ	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	30,000.00	30,000.00	60,000.00	60,000.00	0.00
2. ค่าจ้าง	46,000.00	23,000.00	69,000.00	69,000.00	0.00
3. ค่าวัสดุ	27,606.08	140,393.69	167,999.77	138,000.00	-29,999.77
4. ค่าใช้สอย	3,000.00	70,000.00	73,000.00	93,000.00	20,000.00
5. อุดหนุนสถาบัน	20,000.00	20,000.00	40,000.00	40,000.00	0.00
รวม	126,606.08	283,393.69	409,999.77	400,000.00	-9,999.77

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1	180,000 บาท	เมื่อ 27 กุมภาพันธ์ 2557
งวดที่ 2	144,000 บาท	เมื่อ 16 กันยายน 2557
รวม	324,000 บาท	



หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

เจ้าหน้าที่การเงินโครงการงานวิจัย

บรรณานุกรม

- กรรณิการ์ เทพมงคล, กรกนก รุ่งเรืองบุรณะกุล และซ้ชวิน เพชรเลิศ. (2556). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักพื้นบ้านจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 5. วันที่ 4-5 มีนาคม 2556. มหาวิทยาลัยพะเยา.
- เกศศิณี ตรีภูทิวากร และวันเพ็ญ ศักดิ์สิทธิพิทักษ์. (2543). ศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทย. วารสารอาหาร. 30(2): 164-176.
- แก้ว กังสดาลอำไพ. (2546). พิษวิทยาทางอาหารและโภชนาการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท มาลลองคูนซีเอสบี จำกัด.
- คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. (2555). คู่มือการประชุมปฏิบัติการเรื่องเทคนิคในการตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนีภาวะเครียดออกซิเดชัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท นพบุรีการพิมพ์ จำกัด: เชียงใหม่.
- ณรงค์ มูลคำ. (2553). ปลุกผักพื้นบ้าน อาหาร-ยาต้านโรค. บริษัท แซทโพร่ ฟรีนติ้ง จำกัด: กรุงเทพมหานคร. ด้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพร 13 ชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
- ธนาวัฒน์ เพียงศักดิ์, เบญจวรรณ สิงพงษ์, กัญญา เกิดศิริ และภูติท เกิดศิริ. 2012. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชท้องถิ่น. ปริญญาานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.
- ปรานอม ธรรมศิริ. 2555. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยอดองและยอดองเห็ด. งานวิจัยจากสารนิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา เล่มที่ 1.
- ปรียานุช อินทร์รอด. 2551. ฤทธิ์ออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง. ปริญญาานิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อาริจิตรานุสรณ์, อุบล ชาล่อน และปิติ ธวัจจิตต์. (2551). ตำราชีวเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 5. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

- เพ็ญภา ทรัพย์เจริญ. (2542). ผักพื้นบ้านภาคกลาง. องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก : กรุงเทพมหานคร
- ภูมิพิชญ์ สุขาวรรณ. (ม.ป.ป.). พืชสมุนไพรใช้เป็นยา เล่ม 2. โรงพิมพ์พิทยวิสุทธิ์: กรุงเทพมหานคร.
- ไมตรี สุทธิจิตต์. (2555). ความรู้พื้นฐานของออกซิซัน. ใน วรพล เองวานิช. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. บริษัท สมาร์ท โคตดิง แอนด์ เซอร์วิส:เชียงใหม่. หน้า 3-13.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ฉบับที่ 82: 76-88.
- รัตติญา บุญใบ. 2552. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดจากใบขลุ่ย. ปริญญา นิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ลลิตา ธีระสิริ. (2543). ผักพื้นบ้านต้านโรค. (พิมพ์ครั้งที่1). รวมพรรณ: กรุงเทพมหานคร.
- ลัญจกร จันทร์อุดม และจิตบรรจง ตั้งปอง. (2554). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพร 13 ชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช. 30(1): 1-11.
- วินัย ดะห์ลัน. (2550). เอกสารประกอบการบรรยาย “โภชนาการพื้นฐานเพื่อการมีสุขภาพสมบูรณ์สูงสุด”.
- ศศิธร อุทธรี่. 2549. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดเอทานอลของพืชบางชนิดในวงศ์ Zingiberaceae. ปริญญา นิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุพิงศ์ ถิ่นเขาน้อย. (2553). พืชอาหารต้านโรค. พิมพ์ครั้งที่ 1. นีออน บুক มีเดีย: กรุงเทพมหานคร.
- อาภัสรา ไทยประเสริฐ, ยลดา แต่งภูเขียว. 2555. ฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดพืชพื้นบ้านจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี. ปริญญา นิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- อุไร จิรมงคลการ. (2547). ผักพื้นบ้าน เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน): กรุงเทพมหานคร.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง จันทนา บุญรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.

- Behbahani M, Ali AM, Muse R, Mohd NB. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves of *Barringtonia racemosa*. Journal of Medicinal Plants Research. 95-102.
- Boonbai R, Petchlert C. (2013). The effect of *Pluchea indica* Less. Tea on lipid peroxidation occurred during storage. *Proceedings of the 7th Pure and Applied Chemistry International Conference 2013*. January 23-25, 2013. The Tide Resort, Chonburi, Thailand. (Full text).
- Bursal E and Koksal E. (2010). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). Food Research International. 44: 2217-2221.
- Gülen H, Çetinkaya C, Kadioğlu M, Kesici M, Cansev A and Eriş A. (2008), Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature. Journal of Environmental Sciences 2(6): 95-100.
- Hussin NM. (2009). Biological activities of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae) and the quantitative analysis of phenolic acid and flavonoids present in the various bioactive extracts of the species. Master of Science Thesis, the School of Graduate Studies, Universiti Putra Malaysia.
- Juntachote T, Berghofer E, Siebenhandl S, Bauer F (2007). Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. Food Chemistry. 100: 129-135.
- Kim DO, Jeong SW and Lee CY. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry. 81: 321-326.
- Lavanya G, Voravuthikunchai SP and Towatana NH. (2012). Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: A Potent Natural Antioxidant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012: 1-8.

- Madan B, Singh I, Kumar A, Prasad AK, Raj HG, Parmar VS, Ghosh B. (2002). Xanthenes as inhibitors of microsomal lipid peroxidation and TNF- α induced ICAM-1 expression on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). Bioorganic and Medicinal Chemistry. 10: 3431-3436.
- Manimegalai S and Rakimuthu G. (2012). Phytochemical screening of stem of *Couroupita guianensis*. International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research. 11: 4434.
- Peteros NP and Uy MM. (2010). Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 407-414.
- Peteros NP and Uy MM. (2010). Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 407-414.
- Rakic S, Petrovic S, Kukic J, Jadranin M, Tesevic V, Povrenovic D, Marinkovic SS. (2007). Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry. 104: 830-834.
- Rao AS, Reddy SG, Babu PP and Reddy AR. (2010). The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extract from Njavara rice bran. BMC Complementary and Alternative Medicine. 10: 4.
- Senevirathne M, Kim SH, Siriwardhana N, Ha JH, Lee KW and Jeon YJ. (2006). Antioxidant Potential of *Ecklonia cava* on Reactive Oxygen species scavenging, Metal Chelating, Reducing Power and Lipid Peroxidation Inhibition. International of Journal of Food Science and Technology. 12: 27-38.
- Sofidiya MO, Jimoh FO, Aliero AA, Afolayan AJ, Odukoya OA and Familoni OB. (2012). Evaluation of antioxidant and Antibacterial properties of six Sapindaceae members. Journal of Medicinal Plants Research. 1: 154-160.

- Vasankari T, Kujala U, Heinonen O, Kapanen J, Ahotupa M. (1995). Measurement of serum lipid peroxidation during exercise using three different methods: diene conjugation, thiobarbituric acid reactive material and fluorescent chromolipids. Clinica Chimica Acta. 234: 63-69.
- Wetwitayaklung P, Charoenteeraboon J, Limmatvapirat C and Phaechamud T. (2012). Antioxidant Activities of Some Thai and Exotic Fruits Cultivated in Thailand. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 1: 12-20.
- Zuta PC, Simpson BK, Zhao X, and Leclerc L. (2005). The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. Food Chemistry. 10: 129-135.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ ดร. ชัชวิน เพชรเลิศ
Chatchawin Petchlert, Ph.D.
2. หมายเลขประจำตัว 3-1101-02301-25-9
3. ตำแหน่ง อาจารย์
4. หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง ชลบุรี 20131
โทรศัพท์ 038-745-900 ต่อ 3058 E-mail: chatchaw@buu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ.	คุณวุฒิ	สาขาวิชา	สถานศึกษา
2552	Ph.D.	Nutritional Biochemistry	University of Montpellier II, France
2544	วท.ม.	โภชนศาสตร์	มหาวิทยาลัยมหิดล
2538	วท.บ.	ชีวเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ

ชีวเคมีเชิงโภชนาการ พิษวิทยาทางอาหารและโภชนาการ ชีววิทยาของเซลล์

7. ประสบการณ์การทำโครงการวิจัย

Petchlert C., Zhang X.M., Bidel L. and Caporiccio B. (2008). Transport of phenolic compound, quercetin, across Caco-2 cell monolayers: observation by epifluorescence and confocal microscope. Poster Presentation in la Journée de l'Ecole Doctorale SP-SA, Campus SupAgro, Montpellier, France. July 10th, 2008.

Petchlert C., Dhuique-Mayer C., Bidel L and Caporiccio B. (2009). Intracellular characterization of certain phenolic compounds evaluated from their natural fluorescence. Oral Presentation, Proceeding in la Journée de l'Ecole Doctorale SP-SA, Campus SupAgro, Montpellier, France. July 18th, 2009.

Petchlert C., Dhuique-Mayer C., Bidel L. and Caporiccio B. (2009). Autofluorescent visualization of phenolic compound uptake by microscopic and spectroscopic techniques in Caco-2 cell line model. Poster Presentation in The 4th International Conference on Polyphenols and Health, Harrogate International Centre, Yorkshire, UK. December 7th-11th, 2009.

Dhuique-Mayer C., Petchlert C., During A., Caporiccio B., Tourniaire F. and Amiot-Carlin M.J. (2009). Citrus flavanones enhance carotenoid uptake by human intestinal Caco-2 cells. Poster Presentation, Proceeding in 4^{ème} Congrès Montpellier, Le Corum Palais des Congrès, Montpellier, France. December 10th-12th, 2009.

Chatchawin Petchlert, Claudie Dhuique-Mayer, Bertrand Caporiccio, Luc L.P.B. Bidel. (2010). Metabolism determination of hesperidin in the intestinal epithelial Caco-2 cell monolayers evaluated by UV/visible spectroscopy. Abstract (Poster) in 4th Thailand Congress of Nutrition, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. September 13th-15th, 2010.

Rattiya Boonbai, Panudda Simmasut, Ekaruth Srisook, Chatchawin Petchlert, Klaokwan Srisook. (2010). Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of leaf extract of *Pluchea indica* Less. Abstract (Poster) in 4th Thailand Congress of Nutrition, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. September 13th-15th, 2010.

Panudda Simmasut, Rattiya Boonbai, Ekaruth Srisook, Chatchawin Petchlert, Klaokwan Srisook. (2010). Antioxidant activity of herbal tea Indian marsh fleabane. Abstract (Poster) in 4th Thailand Congress of Nutrition, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand. September 13th-15th, 2010.

สุธินี ช้างพลายแก้ว, จันทนา วงษ์ชะอุ่ม, ชัชวิน เพชรเลิศ. ฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดใบชะมวง หลังผ่านกระบวนการย่อยในกระเพาะอาหาร. Poster Presentation ในงานสัปดาห์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ ภาคตะวันออก 17-19 ส.ค. 2554.

- Panukorn Boonsala, Vilawan Payon, Chatchawin Petchlert. Thermal effect on the antioxidant activities of malva nut (*Scaphium affine* (Mast) Pierre) juice. Abstract (Poster) in 5th Thailand Congress of Nutrition, September 5th-7th, 2011. BITEC, Bangna Bangkok. Financial support by the Higher Education Commission, Thailand, 2011.
- Rattiya Boonbai, Chatchawin Petchlert. Inhibitory effect of Indian marsh fleabane tea on the lipid peroxidation. Abstract (Poster) in 5th Thailand Congress of Nutrition, September 5th-7th 2011. BITEC, Bangna, Bangkok.
- Petchlert, C., Insee, A., & Saedkhunthod, S. (2011). *In vitro* digestive effect on antioxidant activity of extracts from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC. leaves. Full proceeding (Poster) in the 1st International Congress on Natural Products. October 17th-18th, 2011 at Khaolak Emerald Beach Resort & Spa, Phang Nga, Thailand. 93-96.
- Boonbai, R., & Petchlert, C. (2011). Inhibitory effect of *Pluchea indica* Less. (Indian marsh fleabane) tea on the lipid peroxidation. Proceedings (Poster) in the 1st International Congress on Natural Products. October 17th-18th, 2011 at Khaolak Emerald Beach Resort & Spa, Phang Nga, Thailand. 106-109.
- Petchlert, C., Ploypo, T., & Visuttirut, R. (2012). Inhibitory effect of extract from *Garcinia cowa* Roxb. ex DC. leaves against lipid peroxidation from streaky pork and lard. Proceedings (Poster) in the 4th Science Research Conference. March 12th-13th, 2012 at Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. 217-221.
- Petchlert, C., Boonsala, P., Payon, V., Kitcharoen, K., & Promsopa, S. (2012). Antioxidant and antimutagenic effects of malva nut (*Scaphium scaphigerum* (G. Don) Guib. & Planch.) juice. Proceedings (Poster) in the 4th International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO4). November 28th-30th, 2012 at Chiang Mai Orchid Hotel, Chiang Mai, Thailand. 364-367.

- Tedsree, K., Tiyyawat, W., Ketaram, K., & Petchlert, C. (2013). Synthesis and mutagenicity of silver nanoparticles with different sizes and shapes. Proceedings (Poster) in Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON2013), January 23rd-25th, 2013 at The Tide Resort and Spa, Chon Buri, Thailand, 757-760.
- Boonbai, R., & Petchlert, C. (2013). The effect of *Pluchea indica* less. tea on lipid peroxidation occurred during storage. Proceedings (Poster) in Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON2013), January 23rd-25th, 2013 at The Tide Resort and Spa, Chon Buri, Thailand, 286-289.
- Petchlert, C., Kaewnoi, R., Siriboot, A., & Suriyapun, O. (2013). Antioxidant capacity of commercial citrus juices from supermarket in Thailand. Proceedings (Poster) in Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON2013), January 23rd-25th, 2013 at The Tide Resort and Spa, Chon Buri, Thailand, 282-285.
- Krisadaporn Polsiri and Chatchawin Petchlert. Simulated human digestion has modified the antioxidant activity of *Pluchea indica* Less. tea. Abstract (Poster) in Pure and Applied Chemistry International Conference 2013 (PACCON2013), January 23rd-25th, 2013 at The Tide Resort and Spa, Chon Buri, Thailand, 1-1.
- Thepmongkon, K., Rungreungburanakul, K., & Petchlert, C. (2013). Antioxidant effect of some edible plants from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. Proceedings (Oral Presentation) of 5th Science Research Conference, 1-5. March 4th-5th, 2013 at University of Payao, Payao, Thailand, BIO5-BIO10.
- Muangpracha, N., Thitisantikhun, C., Kruawan, K., & Petchlert, C. (2013). Antimutagenic and antioxidant capacities of some indigenous sour leave plants. Proceedings (Oral

Presentation) of 5th Science Research Conference, March 4th-5th, 2013 at University of Payao, Payao, Thailand, BIO80-BIO86.

Cholsittapan Asawesna, Wilailuck Leamklang, Chatchawin Petchlert. (2013). Protective effect of herbal extract from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province on hydroxyl radical-induced plasmid DNA strand scission. Abstract (Poster Presentation) 7th Thailand Congress of Nutrition, October 7th-9th, 2013 at BITEC, Bangna, Bangkok, Thailand.

ชัชวีน เพชรเลิศ. (2557).ฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและฤทธิ์ยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ของลูกสำรอง. บทคัดย่อ (นำเสนอแบบโปสเตอร์), การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 2 โดยความร่วมมือของ 70 มหาวิทยาลัย, 22-24 มกราคม 2557 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. 309.

Petchlert, C., Romlee, S., & Kleansom, P. (2014). Antioxidant activity of some commercial spice powders (curry and pa-lo powders) from local markets at Chon Buri province. *Burapha Science Journal*. Special issue, 6th Science Research Conference, March 20-21, 97-103.

Racha Tabthim, Apirudee Apirat, Kalyarat Kruawan, Chatchawin Petchlert. (2014). Antimutagenicity of *Pluchea indica* Less. tea using Ames and Somatic Mutation and Recombination (SMART) Tests. Abstract (Oral Presentation), 6th Science Research Conference, March 20th-21st, 2014 at Burapha University, Chon Buri, Thailand. 133.

Changpraykaew, S., & Petchlert, C. (2014). Antioxidant activity of some fruit juices from local markets at Chon Buri province after *in vitro* digestion. Full proceedings in the 4th International Biochemistry and Molecular Biology Conference 2014. April 2nd-3rd, 2014 at Rama Gardens Hotel & Resort, Bangkok, Thailand. 580-585.

Polsiri, K., & Petchlert, C. (2014). Antioxidant activities of *Pluchea indica* Less. tea after *in vitro* digestion. Full proceedings in the 5th International Conference on Natural

- Products for Health and Beauty (NATPRO 5). May 6th-8th, 2014 at Moevenpick Resort & Spa Karon Beach Phuket, Thailand. 221-225.
- Petchlert, C., Wongla, S., & Phumphinich, J. (2014). Antioxidant capacity of indigenous plant extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province. Proceedings of the 5th International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 5). May 6th-8th, 2014 at Moevenpick Resort & Spa Karon Beach Phuket, Thailand. 183-187.
- Boonbai, R., & Petchlert, C. (2014). Inhibitory effect of *Pluchea indica* Less. tea on the oxidized-LDL. (Abstract) 1st Complementary Treatment for Cancer and Diseases (CTCD 2014). November 5th-7th, 2014 at Holiday Inn Hotel, Chiang Mai, THAILAND.
- Bueraheng, S., Petchlert, C. (2015). Antioxidant activity of ethanol extracts from *Nigella sativa* and *Cuminum cyminum* L. Proeceedings (Oral Presentation) 7th Science Research Conference, March 30th-31st, 2015 at Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. BI-O-027 | Page 1-6.
- Lapanich, S., & Petchlert, C. (2015). Antioxidant activities and total phenolic content of some kinds of honeys. Proeceedings (Oral Presentation) 7th Science Research Conference, March 30th-31st, 2015 at Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. BI-O-026 | Page 1-6.
- Duangkaew, J., & Petchlert, C. (2015). Antioxidant activity of Honey pomegranate and Emerald pomegranate. Proeceedings (Oral Presentation) 7th Science Research Conference, March 30th-31st, 2015 at Naresuan University, Pitsanulok, Thailand. BI-O-025 | Page 1-6.
- Thoobbucha, N., & Petchlert, C. (2015). Free radical scavenging capacity and modulative effect on antioxidant enzyme activity of *Pluchea indica* Less. extract. *Naresuan-Phayao Journal*. 8(2) May-August, 74-79.

- Changpraykaew, S., & Petchlert, C. (2015). Digestive effect on antioxidant activity of three commercial fruit juices. Proceedings (Poster Presentation) Burapha University International Conference 2015, July 10th-12th, 2015 at Bangsaen Heritage Hotel, Chon Buri, Thailand. 1064-1070.
- Leamklang, W., Srisook, E., & Petchlert, C. (2015). Total phenolic content and antioxidant activities from *Barrington augusta* Kurz. Leaf extract. Proceedings of the 7th Biennial Meeting of society for free radical research - Asia at The Empress Chiang Mai, Thailand on Nov 29 - Dec 2, 2015. 34-42.
- Petchlert, C., Tabtim, R., & Apirat, O., & Boonbai, R. (2016). Antimutagenic and anti-oxidized LDL properties of *Pluchea indica* tea. Proceedings of the 6th International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 6). January 21-23, 2016 at Pullman Raja Orchid Hotel Khonkaen, Thailand. 239-244.
- Petnayai, S., Khiansungnoen, A., Senarak, T., Kittivittayawong, P., & Petchlert, C. (2016). Antioxidant activity of ethanol extracts from pigmented rice varieties. Proceedings of 8th Science Research Conference, May 30th-31st, 2016 at University of Phayao, Phayao, Thailand. 537-543.

ผู้วิจัยร่วม

1. ชื่อ ผศ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข
Assistant Professor Ekaruth Srisook, Ph.D.
2. หมายเลขประจำตัว 3-1101-02301-25-9
3. ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เงินเดือน - บาท เวลาที่ใช้ทำวิจัย 8-10 ชั่วโมง : สัปดาห์
4. หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง ชลบุรี 20131
โทรศัพท์ 0-3810-3053 โทรสาร -
E-mail: ekaruth@buu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ.	คุณวุฒิ	สาขาวิชา	สถานศึกษา
2548	Ph.D.	Chemistry	Inha University, Korea
2539	วท.ม.	เคมีอินทรีย์	มหาวิทยาลัยมหิดล
2534	วท.บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล

6. สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ

Natural products, Medicinal Chemistry, Drug discovery, Alternative energy

7. ประสบการณ์การทำโครงการวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย:

Srisook, E. (2014) Synthesis of hydroxymethylfurfural using resin as catalyst in biofuel process เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 520,000.00 บาท

Srisook, E.; Gunbua, V.; Rakbamrung, N. (2013). The investigation of benthic invertebrates and sea water quality around Koh Samet on the case of oil spill in Rayong province เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์. 100,000.00 บาท

Srisook, E.; Srisook, K. (2012) Investigation of bioactive compounds from *Etlingera pavieana* and *Amomum biflorum* เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 603,000.00 บาท

- Srisook, E.; Srisook, K. (2011) Investigation of bioactive compounds from *Etlingera pavieana* and *Amomum biflorum* เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 372,400.00 บาท
- Srisook, E.; Sirion, U. (2011) Synthesis of resin as catalyst in biodiesel production เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 252,000.00 บาท
- Srisook, E.; Srisook, K.; Matchacheep, S. (2008) Investigation of anti-inflammatory agents from medicinal plants from East of Thailand เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 386,300.00 บาท
- Srisook, E.; Suksai, J. (2008) Synthesis of Room Temperature Ionic Liquid เงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 288,300.00 บาท
- Srisook, E. (2007) Synthesis and antioxidant activity of halochalcone เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์. 100,000.00 บาท
- Srisook, E.; Srisook, K. (2005) The synthesis of a series of NAMDA derivatives and its biological activities เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์. 150,000.00 บาท

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

- Srisook, K.; Pornngam, P.; Charoensuk, Y.; Srisook, E. (2010) In vitro anti-oxidant and anti-tyrosinase activities of the rhizomal extracts from *Amomum biflorum* Jack. *Thai Journal of Botany*. 2(1), 143-150.
- Srisook, E.; Makbodee, A.; Karnkla, S. (2006) Synthesis of 3-substitute-p-cresol via 2,5-cyclohexadienone intermediate. *Burapha Science Journal*. 11(2), 3-10.
- Phisit Pouyfung; Aruna Prasopthum; Sarapusit, S.; Srisook, E.; Pornpimol Rongnoparut (2014) Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 2A6 and 2A13 by *Rhinacanthus nasutus* constituents. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 29(1), 75-82.
- Buapool, D.; Mongkol, N.; Chantimal, J.; Roytrakul, S; Srisook, E.; Srisook, K. (2013) Molecular mechanism of anti-inflammatory activity of *Pluchea indica* leaves in macrophages RAW 264.7 and its action in animal models of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*. 146(2), 495-504.
- Pethuan, S.; Duangkaew, P.; Sarapusit, S.; Srisook, E.; Rongnoparut, P. (2012). Inhibition Against Mosquito Cytochrome P450 Enzymes by *Rhinacanthin* -A, -B, and -C Elicits Synergism on Cypermethrin Cytotoxicity in *Spodoptera frugiperda* Cells. *Journal of Medical Entomology*. 49(5), 993-1000.
- Srisook, K.; Buapool, D.; Boonbai, R.; Simmasut, P.; Charoensuk, Y.; Srisook, E. (2012) Antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Pluchea indica* Less. Herbal tea. *Journal of Medicinal Plant Research*. 6(23), 4077-4081.
- Srisook, K.; Mullika Palachot; Nadtaya Mongkol; Srisook, E.; Sarapusit, S. (2011) Anti-inflammatory effect of ethyl acetate extract from *Cissus quadrangularis* Linn may

- be involved with induction of heme oxygenase-1 and suppression of NF-kappa B activation. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3), 1008-1014.
- Srisook, E.; Dae Yoon Chi (2004) The Syntheses of 3-Substituted 4-(Pyridin-2-ylthio)indoles via Leimgruber-Batcho Indole Synthesis *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 25, 895-899.
- Srisook, E.; Silva, G. L.; Gil, R. R.; Cui, B.; Chai, H.; Santisuk, T; Reutrakul, V.; Tuchinda, P.; Sophasan, S.; Sujarit, S. (1997). Novel cytotoxic ring-a seco-cycloartane triterpenes from *Gardenia coronaria* and *G. sootepensis*. *Tetrahedron*, 53, 529-538.
- Srisook, K.; Intasuwan, S.; Watcharanawee, K.; Srisook, E. (2013). Anti-inflammatory activity of compounds isolated from *Clerodendrum inerme* leaves. The 5th Science Research Conference, 11-15.
- Thaisuriwong, S.; Srisook, E. (2013). The effect of chemistry teaching through team game tournament technique by card on the satisfaction and learning retention of students. The 5th Science Research Conference, 76-81.
- Kongniyai, S.; Sirion, U.; Srisook, E. (2012) Biodiesel production from palm oil through transesterification using Merrifield's resin supported acidic ionic liquid as catalysts. The 4th Science Research Conference, 274-277.
- Kongniyai, S.; Srisook, E. (2011). Synthesis of biodiesel from palm oil using ionic liquids as catalysts. *Burapha University National Conference 2011*, 1-13.
- Charoensuk, Y.; Srisook, K.; Srisook, E. (2010) A STUDY ON AN ANTIOXIDANT AND TYROSINASE INHIBITORY PROPERTIES OF LEAF EXTRACT FROM AMOMUM BIFORUM JACK การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 19 “การวิจัยระดับบัณฑิตศึกษากับการแก้ปัญหาวิกฤติชาติ”, 608-616.
- Buapool, D.; Srisook, K.; Srisook, E.; Chantimal, J. (2010) Anti-inflammatory effect of the leaf extract of *Pluchea indica* Less. on lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophage การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 19 “การวิจัยระดับบัณฑิตศึกษากับการแก้ปัญหาวิกฤติชาติ”, 617-625.
- Rattiya Boonbai; Panudda Simmasut; Srisook, E.; Petchlert, C.; Srisook, K. (2010) Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of leaf extract of *Pluchea indica* Less. 4th Thailand Congress of Nutrition, 243-243.
- Panudda Simmasut; Rattiya Boonbai; Srisook, E.; Petchlert, C.; Srisook, K. (2010). Antioxidation activity of herbal tea Indian marsh fleabane. 4th Thailand Congress of Nutrition, 244-244.
- Klaiwattana, P.; Srisook, K.; Srisook, E.; Vuthiphandchai, V.; Neamvonk, J. (2010) CHANGE IN FATTY ACID COMPOSITION IN SPERM FROM FROZEN SEABASS (LATES CALARRIFER) MILT. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 19 “การวิจัยระดับบัณฑิตศึกษากับการแก้ปัญหาวิกฤติชาติ”, 636-644.

- Srisook, E.; Karnkla, S.; Srisook, K. (2006) Synthesis of NAMDA derivatives of nitric oxide reducing agent The 6th National Symposium on Graduate Research, 1-6.
- Booranakit, P.; Srisook, K.; Srisook, E.; Hrimpeng, K. (2014) Bioassay-Guided Isolation, Characterized and Antibacterial Activity of Isolated Compound from Zingiber Mekongense Rhizome. 1st Joint ACS AGFD- ACS ICSCT Symposium Thailand, 185-190.
- Srisook, K.; Nuonnang, N.; Thabthim, Y.; Srisook, E. (2012) A comparative study of antioxidant and anti-tyrosinase activities of rhizomes and leaves of *Etlingera pavieana*. The 4th International Natural Products for Health and Beauty, 1-4.
- Srisook, E.; Palachot, M.; Srisook, K. (2012) In vitro anti-inflammatory effect of *Etlingera pavieana* rhizomes and its compounds in lipopolysaccharide-induced macrophages. The 4th International Natural Products for Health and Beauty, 1-3.
- Charoensuk, Y.; Srisook, K.; Srisook, E.; Kongniyai, S. (2011) Anti-tyrosinase Activity of Extracts and Compound from *Amomum biflorum* Jack. Leaves. The 3rd International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, 201-204.
- Srisook, K.; Srisook, E. (2011) Evaluation of Antioxidant Capacity of Fractions from *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M.Sm. Rhizome. The 3rd International Conference on Natural Products for Health and Beauty, 211-225.
- Charoensuk, Y.; Srisook, K.; Srisook, E. (2011) Inhibitory effect of (E)-but-1-enyl-4-methoxybenzene isolated from leaves of *Amomum bioflorum* jack on nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated macrophages 1st International Congress on Natural Products, 133-135.
- Chantiman, J.; Srisook, E.; Phaonakrop, N.; Jaresitthikunchai, J.; Roytrakul, S.; Srisook, K. (2011) Proteome Analysis of Murine Macrophage Cell in Response to Ethyl 2-acetyl-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) acrylate (EAMA). The 3rd International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, 62-66.
- Chantiman, J.; Srisook, E.; Phaonakrop, N.; Jaresitthikunchai, J.; Roytrakul, S.; Srisook, K. (2011). Proteomic analysis of murine macrophage cell line in responds to lipopolysaccharide. The 6th International Symposium of the Protein Society of Thailand, 167-173.