การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในวงศ์ส้ม

รุ่งนภา คำแพง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
พฤศจิกายน 2560
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา วิทยานิพนธ์ของ รุ่งนภา คำแพง ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ดร.อนันต์ อธิพรชัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา ..... ประธาน

(ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา)

..... กรรมการ

(ดร.อนันต์ อธิพรชัย)

..... กรรมการ

(ดร.ปิยะพร ณ หนองคาย)

..... กรรมการ

(ดร.เบญจวรรณ ชิวปรีชา)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 7 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2560

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ดร.อนันต์ อธิพรชัย อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ชี้แนะแนวทางให้คำแนะนำและช่วยเหลือในทุกปัญหาการวิจัย ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อย่างละเอียดถี่ถ้วน และเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ข้าพเจ้ามีความประทับใจและซาบซึ้งเป็นอย่างมาก จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ คณาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาทุกท่านที่ให้ความรู้ในเนื้อหาเคมี เพื่อให้เป็นนักวิทยาศาสตร์ และครูวิทยาศาสตร์ที่มีความรู้ในทฤษฎี และการปฏิบัติการทดลองทางเคมีเป็นอย่างดี และขอขอบคุณภาควิชาเคมีและศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมี เพื่อทำวิจัยในห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา รวมถึงเพื่อนนิสิตปริญญาโท สาขาเคมีศึกษาทุกคน ที่ช่วยเหลือทุก ๆ เรื่อง และขอขอบคุณโครงการส่งเสริมความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (สสวท.) ที่สนับสนุนด้านทุนการวิจัยในการวิจัยครั้งนี้

รุ่งนภา คำแพง

57920070: สาขาวิชา: เคมีศึกษา; วท.ม. (เคมีศึกษา)
คำสำคัญ: พืชวงศ์ส้ม / ปริมาณฟีนอลิกรวม / ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม / ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ / ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

รุ่งนภา คำแพง : การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในวงศ์ส้ม (CHEMISTRY AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES FROM THREE RUTACEAE PLANTS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อนันต์ อธิพรชัย, Ph.D. 73 หน้า ปี พ.ศ. 2560.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบจากน้ำมันหอมระเหยและส่วนสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 7 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก จากการทดลองพบว่า ส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (78.08±0.25 %) และยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (99.56±0.55 %) ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (45.65±0.50 mgGAE/g) มากที่สุดด้วย ในส่วนผลการทดลองการสกัดพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์นี้ยังพบว่า พืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด นั้นมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่า ๆ กัน (5.57±0.11 ถึง 105.79±5.06 mgGAE/g) โดยส่วนสกัดจากรากของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด จะมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยถึงปานกลาง และจากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์น้อยมาก เมื่อนำทุกส่วนสกัดหยาบของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีพอ ๆ กัน (6.92±0.32 ถึง 96.54±0.25 %) ในส่วนสกัดตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยถึงปานกลาง นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดหยาบของสันโสกในทุก ๆ ตัวทำละลาย ยกเว้นน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีที่สุด (0.32±0.43 ถึง 99.94±0.59 %) และดีกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) อีกด้วย

7920070: MAJOR: CHEMICAL EDUCATION; M. Sc. (CHEMICAL EDUCATION)
KEYWORDS: RUTACEAE / TOTAL PHENOLIC CONTENTS / TOTAL FLAVONOID CONTENTS / ANTIOXIDANT ACTIVITY / ANTI-ALPHA-GLUGOSIDASE ACTIVITY

RUNGNAPHA KUMPANG: CHEMISTRY AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES FROM THREE RUTACEAE PLANTS. ADVISORY COMMITTEE: ANAN ATHIPORNCHAI, Ph.D. 73 P. 2017.

This research studied the total phenolic and flavonoid contents as well as antioxidant activity and evaluated alpha-glucosidase inhibitory activity of essential oil and solvent extracts from three Rutaceae plants including *Clausena harmandiana*, *Clausena guillauminii* and *Clausena excavate*. The solvents used in the extraction were hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, ethanol, methanol and water. The essential oil extract of *C. harmandiana* showed highest antioxidant activity (78.08±0.25 %) and also showed highest alpha-glucosidase inhibitory activity (99.56±0.55 %). From these result related with the total phenolic content of essential oil extract from *C. harmandiana* which showed highest the total phenolic content with the value as 45.65±0.50 mgGAE/g. In addition, the all solvent extracts of three Rutaceae plants showed good the total phenolic content with the value as 5.57±0.11 to 105.79±5.06 mgGAE/g. The root extracts of three *Clausena* plants showed highest total phenolic content in nonpolar solvents. In the other hand, all extracts of these plants showed very low total flavonoid content. All *Clausena* plants extracts showed strong to modulate antioxidant activity with the value as 6.92±0.32 to 96.54±0.25 % in nonpolar solvents. Moreover, all of *C. excavata* extracts except water extract showed highest alpha-glucosidase inhibitory activity with the value as 0.32±0.43 to 99.94±0.59 % and their also showed more active than standard drug acarbose (84.27±0.93 %).

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่

1 บทนำ .....

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับพืชที่ศึกษา..... 4

2.2 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ..... 7

2.3 ความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน..... 8

2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส..... 10

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 11

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 23

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี..... 23

3.2 แผนการดำเนินการวิจัย..... 25

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 26

4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล..... 29

4.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ส้ม..... 29

4.2 การสกัดสารจากพืชวงศ์ส้ม..... 30

4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic content: TPC)..... 39

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	4.4 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid content: TPC).....	45
	4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging.....	49
5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	68
	5.1 สรุปผลการวิจัย.....	68
	5.2 ข้อเสนอแนะ.....	69
บรรณานุกรม.....		70
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....		73

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4-1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพ..... 29

4-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง..... 30

4-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า..... 33

4-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก..... 36

4-5 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบของพืชวงศ์ส้ม..... 39

4-6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง..... 40

4-7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า..... 42

4-8 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก..... 43

4-9 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง..... 46

4-10 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า..... 47

4-11 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก..... 48

4-12 ร้อยละของการฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอคาร์โบส..... 62

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้าดง	4
2-2	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้า	5
2-3	ลักษณะพฤกษศาสตร์ของสันโสก	6
2-4	ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging	8
2-5	ปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	10
3-1	แผนภาพการดำเนินงานวิจัย	25
4-1	แสดงต่อมน้ำมันในใบสดและลักษณะทางกายภาพของส่วนสกัดหยาบ น้ำมันหอมระเหย พืชทั้ง 3 ชนิด	29
4-2	ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของส่องฟ้าดง	32
4-3	ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของส่องฟ้า	35
4-4	ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของสันโสก	38
4-5	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid)	39
4-6	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง	41
4-7	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า	42
4-8	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก	44
4-9	กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซิติน (Quercetin)	45
4-10	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก เคอร์ซิติน และวิตามินซี	49
4-11	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสด ของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด	50
4-12	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้าดง	51
4-13	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้าดง	51
4-14	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้าดง..... 52
4-16 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้าดง..... 53
4-17 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL..... 53
4-18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้า..... 54
4-19 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้า..... 55
4-20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้า..... 55
4-21 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้า..... 56
4-22 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้า..... 56
4-23 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL..... 57
4-24 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของสันโสก..... 58
4-25 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของสันโสก..... 58
4-26 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของสันโสก..... 59
4-27 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของสันโสก..... 59
4-28 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของสันโสก..... 60
4-29 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบของสันโสก ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL..... 60
4-30 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของ
สารละลายมาตรฐานอคาร์โบส..... 62
4-31 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์
ส้มทั้ง 3 ชนิด และสารละลายมาตรฐานอคาร์โบส ที่ความเข้มข้น1.00 mg/mL..... 63
4-32 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของส่องฟ้าดง
ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL..... 64
4-33 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของส่องฟ้า
ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL..... 65
4-34 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของสันโสก
ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL..... 66

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันสมุนไพรได้รับความนิยมอย่างมากในการใช้เพื่อป้องกันและดูแลสุขภาพหรือเพื่อบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เช่น โรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคมะเร็ง โดยการใช้สมุนไพรนั้นอาจจะส่งผลเสียหรือผลข้างเคียงน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน และมีสมุนไพรจำนวนมากที่มีสรรพคุณช่วยลดผลข้างเคียงของโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากการที่ร่างกายมีอนุมูลอิสระมากเกินไป (Joseph et al., 1999) เช่น พืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ซึ่งเป็นพืชวงศ์ใหญ่และมีความหลากหลายทางชีวภาพมาก และพืชวงศ์นี้ยังเป็นที่สนใจนำมาศึกษาค้นหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งและบรรเทาการเกิดโรคต่าง ๆ จำนวนมาก เช่น สมัดน้อย (*Micromelum minutum*) ช่วยรักษาอาการไอ ขับเสมหะและลมทั้งปวง แก้ลมภายในให้กระจาย ขับพยาธิไส้เดือน บำรุงน้ำดี พอกแผล รักษาริดสีดวงจมูกและแผลคุดทะราด เถาเครืองูเห่า (*Toddalia asiatica*) ต้มดื่มแก้ปวดเมื่อยเส้นเอ็น ขับปัสสาวะ แก้พิษโลหิต แก้พิษในข้อและกระดูก โปร่งฟ้า (*Murraya siamensis*) มีรสเฝื่อนเย็น ผสมเป็นยาหยอดตา แก้ตามัว ตาฝ้าฟาง แสบตา และรักษาวัณโรค เป็นต้น นอกจากนี้พืชวงศ์ส้มบางสกุลมีดอกที่มีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์และมีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมน้ำหอม เช่น ดอกแก้ว (*Murraya paniculata*) จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นพืชในวงศ์ส้มนั้นมีประโยชน์ทั้งทางด้านเศรษฐกิจ และเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะโรคเบาหวาน (Diabetic disease) ซึ่งเป็นโรคเรื้อรังที่ในปัจจุบันมีผู้ป่วยสูงอายุเป็นกันอย่างมาก ดังนั้นการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานหรือโรคที่เกิดจากอาการแทรกซ้อนของโรคเบาหวานอันเกิดเนื่องมาจากสารอนุมูลอิสระที่เป็นผลมาจากการมีภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จากสารสกัดหยาบของส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้ม (Rutaceae) โดยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อการพัฒนาพืชสมุนไพรในวงศ์ส้มให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งนำไปสู่การค้นพบยา หรือส่วนประกอบของยาชนิดใหม่ที่ช่วยในการป้องกัน รักษาและดูแลสุขภาพของบุคคลทั่วไปโดยเฉพาะผู้สูงอายุอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil) จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (H) ไดคลอโรมีเทน (D) เอทิลอะซิเตท (EA) อะซิโตน (AC) เอทานอล (E) เมทานอล (M) และน้ำ (W) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ได้แก่ ใบ (L) กิ่ง (T) ลำต้น (ST) เปลือกลำต้น (STB) และราก (R)

2. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง ลำต้น เปลือกลำต้น และราก

3. ศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม กับฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ได้แก่ ใบ กิ่ง ลำต้น เปลือกลำต้น และราก โดยใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ พร้อมทั้งการสกัดน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil) จากส่วนของใบสด โดยใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Water distillation)

2. วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. ทราบถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

2. ทราบถึงฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

3. ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม กับฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย จากส่วนของใบสด และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้มได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก

4. ทราบถึงข้อมูลทางเคมีและทางชีวภาพพื้นฐานของพืชสมุนไพรไทยในวงศ์ส้ม (Rutaceae) เพื่อนำไปสู่การยกระดับและพัฒนาพืชสมุนไพรของไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเพื่อนำไปสู่การค้นพบยาชนิดใหม่ที่ช่วยในการรักษาป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพและภาวะทุพโภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังได้อีกด้วย

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. วงศ์ส้ม (Rutaceae) คือ วงศ์ของพืชที่มีลักษณะของต้นตั้งแต่ไม้ล้มลุก ไม้พุ่ม ไม้เถา ไปจนถึงไม้ต้นขนาดเล็ก บางชนิดมีหนามและมีต่อมน้ำมันหอมระเหย โดยทั่วไปลักษณะดอกแบ่งออกเป็น 4 หรือ 5 ส่วน ปกติจะมีกลิ่นหอม บางสกุลมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของภูมิภาคเขตร้อน เช่น ส้ม มะนาว และมะกรูด เป็นต้น

2. สารสกัดหยาบ (Crude extract) หมายถึง สารสกัดเบื้องต้นจากพืชสมุนไพรที่ยังไม่ผ่านกระบวนการทำให้สารบริสุทธิ์ โดยมีวิธีการสกัดไม่ยุ่งยาก

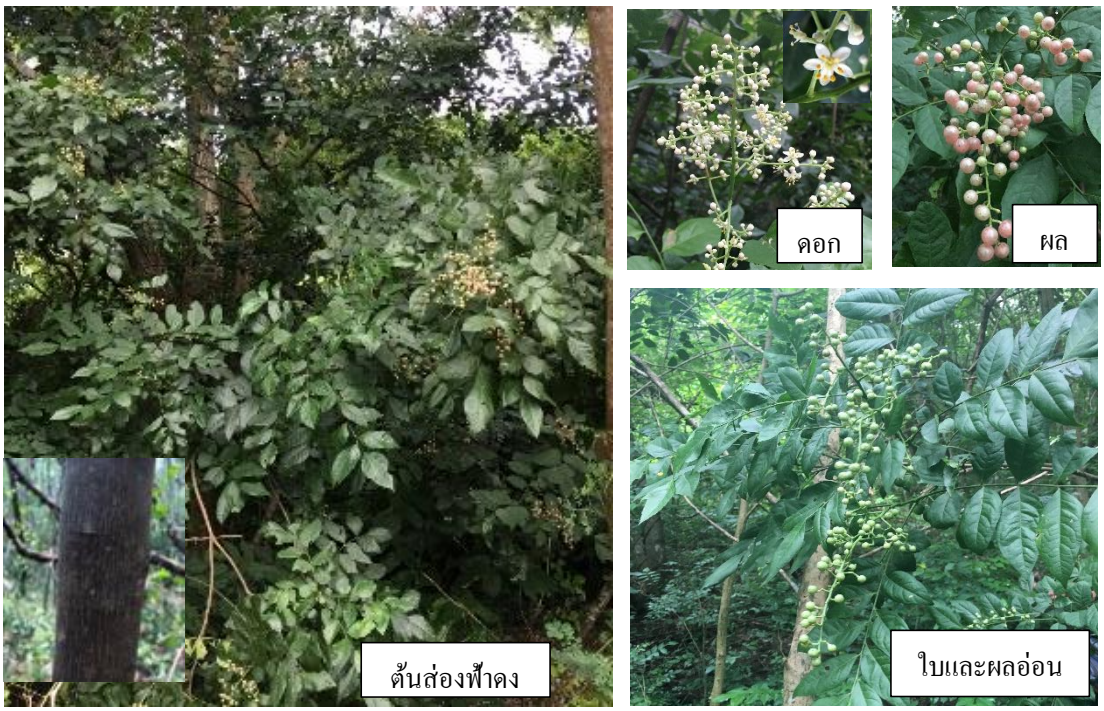
3. ฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activity) คือการวัดความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพ หรือสมบัติทางชีวภาพของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หรือฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด เป็นต้น

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับพืชที่นำมาศึกษา

2.1.1 ส่องฟ้าดง

ส่องฟ้าดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clausena harmandiana* (Pierre) Pierr ex Guillaumin (สำนักงานหอพรรณไม้, 2560) มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น ส่องฟ้า (อุดรธานี) โปร่งฟ้า (ภาคกลาง) สมุยหอม (นครศรีธรรมราช) เหม็น (จันทบุรี)ส่องฟ้าดงเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นสีเขียวอมน้ำตาลเข้ม ไม่มีขน ใบมีลักษณะเป็นรูปแกมไข่ ปลายใบแหลม ผิวใบมันและมีจุดน้ำมันกระจายทั่วทั้งใบ ออกดอกช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤศจิกายน ดอกเป็นช่อตั้งที่ปลายกิ่ง ผลเป็นรูปกลมรี ผลสุกสีชมพูอมขาว ลักษณะผลแก่ค่อนข้างฉ่ำน้ำและมีเมล็ดเดียว เกิดตามป่าดงดิบแล้ง ป่าละเมาะทั่วประเทศ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (อารินี ชัชวาลชลธีระ, 2552)



ภาพที่ 2-1 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้าดง

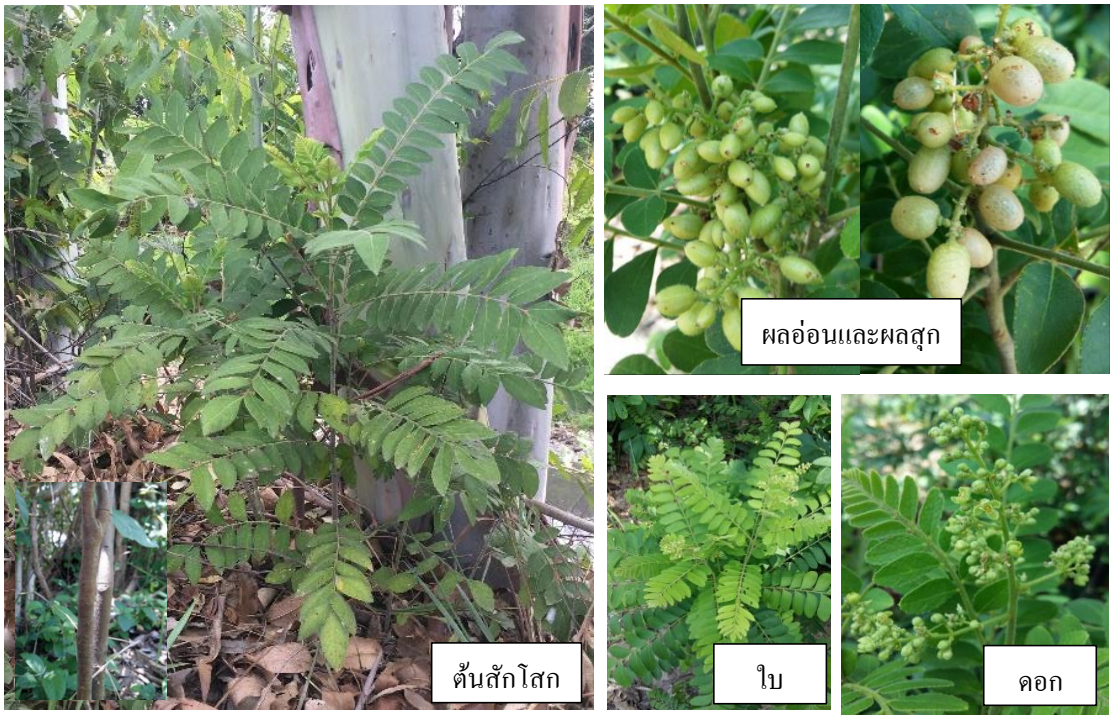
2.1.2 ส่องฟ้า

ส่องฟ้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Clausena guillauminii Tanaka (สำนักงานหอพรรณไม้, 2560) มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูง 20-25 เซนติเมตร ใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับ ใบย่อย มี 3-7 ใบเป็นรูปไข่แกมวงรีขอบขนาน มีกลิ่นหอมเหมือนการบูร เนื่องจากมีจุดน้ำมันกระจายอยู่ทั่วทั้งใบ สังเกตโดยนำใบมาส่องดูกับแสงจะมองเห็นจุดโปร่งแสงเล็ก ๆ กระจายทั่วทั้งใบ ดอกออกเป็นช่อ ที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีขาวแกมเหลือง ผลเป็นรูปกลมรี ผลสุกมีสีชมพูอ่อน ยอดอ่อนรับประทานเป็นผัก ในจังหวัดอุบลราชธานีต้นส่องฟ้าเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน โดยนำรากมาต้มน้ำดื่มใช้เป็นยา แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ในตำรายาไทย ใช้รากแก้เจ็บตา โดยฝนรวมกับรากหมี่ ทาแก้ฝีผสมกับรากเจตพังคี ต้มน้ำดื่ม แก้จุกเสียด หรือผสมกับน้ำนมราชสีห์ รากทับทิม และเดือยไก่ป่า ฝนกับน้ำกิน และทาตัว แก้ไข้ทำมาลา (ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2560)

ภาพที่ 2-2 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของส่องฟ้า

2.1.3 สันโสก

สันโสกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clausena excavata* Burm. f. (สำนักงานหอพรรณไม้, 2560) มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก โดยทั่วไปสูง 2-4 เมตร ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขาและมีขนละเอียดคลุมแทบทุกส่วนของพืช ใบเป็นรูปไข่ปลายแหลม ส่วนดอกจะออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง มีสีเขียวอ่อนถึงขาวอมเหลือง ผลมีเนื้อนอก รูปไข่ เมื่อสุกมีสีชมพูอมแดง พบได้ในป่าทั่วไปในพื้นที่ต่ำ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ยอดอ่อนรับประทานเป็นผัก สันโสกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของชาวเขา โดยนำใบมาตำและพอกแผลแก้อาการอักเสบ ที่เกิดจากไฟ น้ำร้อนลวก ในพม่านำมาใช้แก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ในจีนน้ำต้มจากใบถือเป็นยาบำรุง ยาสมาน และยาขับระดู ส่วนชาวไทยใหญ่ใช้รากมาต้มกินเป็นยาบำรุงกำลัง นอกจากนี้เปลือกลำต้นชาวบ้านได้นำมาใช้เป็นยาแก้ไข้ หืด ไอ ส่วนผลนำมาใช้เป็นยาถ่าย ขับเสมหะ ขับลม ฟอกโลหิต (สุธรรม อารีกุล, 2552)



ภาพที่ 2-3 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของสันโสก

2.2 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

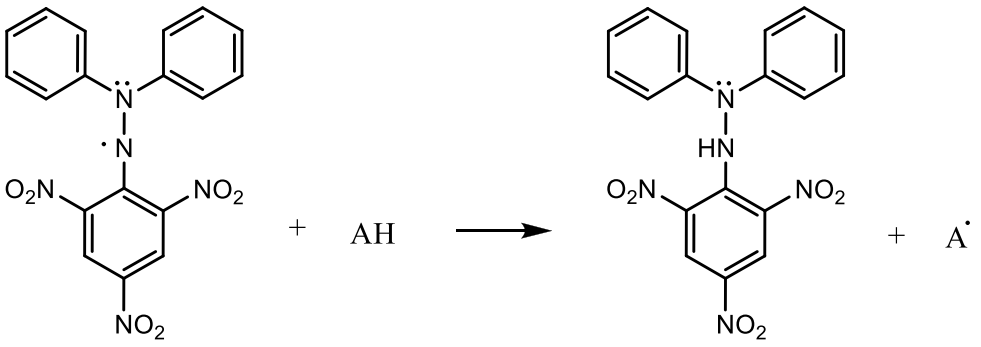
อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่รอบนอกของอะตอมหรือไอออนหรือโมเลกุล ซึ่งเป็นลักษณะที่ทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระไม่เสถียร และมีอายุสั้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้อนุมูลอิสระมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลต่าง ๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ เช่น อนุมูลไฮดรอกซี (hydroxyl radical) อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical) อนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) อนุมูลแอลคอกซี (alkoxy radical) อนุมูลไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide radical) เป็นต้น ปัจจัยที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระมีทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เช่น ปัจจัยที่เกิดอนุมูลอิสระภายในร่างกาย เช่น การหายใจ การเผาผลาญอาหาร การออกกำลังกาย และความเครียด ส่วนปัจจัยทำให้เกิดอนุมูลอิสระจากแหล่งภายนอกร่างกาย เช่นสารกันบูด ยาฆ่าแมลง แสงอัตราไวโอเลต และมลพิษต่าง ๆ ปกติแล้วร่างกายคนเราจะมีระบบป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระโดยสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกายได้เอง แต่ร่างกายคนเราจะมีข้อจำกัด หากอายุมากขึ้นหรือข้อจำกัดของร่างกายแต่ละคนที่มีระบบในการสร้างอนุมูลอิสระและทำลายอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุล กล่าวคือระบบการเกิดอนุมูลอิสระมีมากกว่าระบบการทำลายอนุมูลอิสระ จึงมีความจำเป็นที่ร่างกายควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเช่นกัน (อธิป ลิขิตลิลิต, 2557)

ความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ ส่งผลให้มีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุล ภาวะนี้ส่งผลให้ร่างกายเกิดโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น ภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนาและมีความยืดหยุ่นน้อยลง เนื่องจากการสะสมไขมันที่ผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดตีบตันเกิดภาวะขาดเลือดชั่วขณะที่สมอง และหัวใจ โรคซึ่งเกี่ยวกับการเสื่อมของประสาท โรคภูมิแพ้และโรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมองและไขสันหลังอักเสบอันเนื่องมาจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง โรคตับอักเสบ โรคข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต้อกระจก แผลเปื่อย อนุมูลอิสระ มีส่วนร่วมในโรคที่เกี่ยวกับปอดหลายโรค เช่น โรคปอดที่เกิดจากการสูดใยหิน ไนโตรเจนออกไซด์ โอโซน ยากำจัดวัชพืช คาร์บอนเตตระคลอไรด์หรือยารักษาโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกาย เซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น ในกระบวนการอักเสบ เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ เช่น โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล พบได้ในพืชทั่วไป โดยพบมากในน้ำมันปาล์ม วิตามินซีหรือกรดแอสคอบิก และแคโรทีนอยด์ ซึ่งพบได้ในผักและผลไม้ต่าง ๆ รวมถึงสารกลุ่ม

โพลีฟีนอลิก (polyphenolics) ซึ่งมี 3 กลุ่ม คือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) และฟีนอลิก (phenolic) โดยในปัจจุบัน พบว่าสารในกลุ่มโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ที่เป็นความสนใจของนักวิจัยในการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (ศิริธร ศิริอมรพรรณ, 2557)

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้สารต้านอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ดี มีสีม่วง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในระยะเวลาที่กำหนด เมื่อ DPPH· รับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนเป็น DPPH-H ซึ่งไม่มีสี หรือจะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลง และไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 2.4 และค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีม่วงจางลง) บ่งบอกได้ถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, 2558)



ภาพที่ 2-4 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

2.3. ความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน

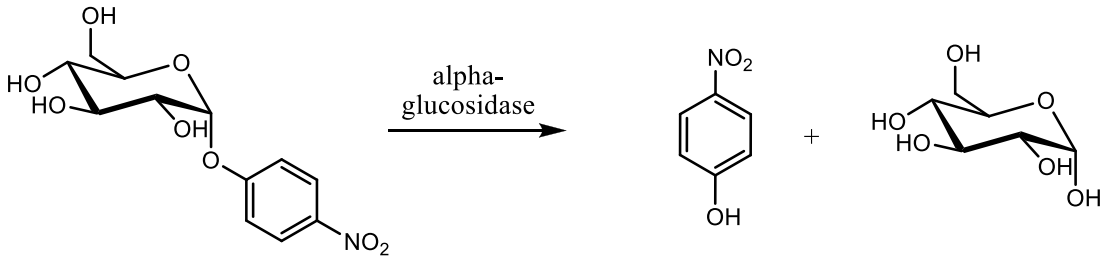
เบาหวาน (Diabetes) เป็นโรคเรื้อรังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากร่างกายมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ ซึ่งเกิดจากความปกติของร่างกายในการสร้างอินซูลินในตับอ่อนหรือการทำงานของอินซูลิน ที่ไม่สามารถนำน้ำตาลส่วนเกินเข้าสู่เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายเพื่อใช้เป็นพลังงาน เป็นเหตุให้น้ำตาลตกค้างในเลือดสูงกว่าปกติ โรคเบาหวานเกิดได้กับทุกเพศทุกวัย

แต่จะพบได้มากกับผู้สูงอายุ ในปัจจุบันโรคเบาหวานที่พบมี 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 หรือโรคเบาหวานชนิดต้องพึ่งอินซูลิน มักพบในเด็กหรือคนที่มีอายุน้อย มีลักษณะที่ตับอ่อนในร่างกายไม่สามารถสร้างอินซูลินได้หรือมีการสร้างอินซูลินที่น้อยมาก ทำให้น้ำตาลในเลือดสูง ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดนี้มักมีรูปร่างผอม การรักษาจำเป็นต้องฉีดอินซูลินเข้าไปทดแทน ส่วนโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือโรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน มักพบได้ในผู้ที่มีอายุมาก และคนที่มีรูปร่างอ้วน ซึ่งเป็นชนิดของโรคเบาหวานที่พบมากที่สุด มีลักษณะที่ตับอ่อนในร่างกายยังสามารถสร้างอินซูลินได้แต่อินซูลินไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติเนื่องจากเซลล์เนื้อเยื่อไม่เอื้อให้อินซูลินทำงานได้ ที่เรียกว่า เซลล์ดื้อต่ออินซูลิน เป็นผลจากพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงขาดการออกกำลังกาย จึงทำให้มีน้ำตาลที่เหลือใช้ค้างอยู่ในกระแสเลือด นอกจากนี้สิ่งที่น่ากลัวสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานคือการเกิดโรคแทรกซ้อนโรค อาทิ โรคแทรกซ้อนทางระบบสายตา โรคไตวาย โรคหัวใจ โรคอัมพาต โรคแทรกซ้อนทางผิวหนัง เป็นผลจากหลอดเลือดเสื่อมที่เกิดจากการอุดตันของไขมันที่ผนังหลอดเลือด ทำให้เลือดไม่สามารถไหลไปเลี้ยงเซลล์ของอวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกายได้ ทำให้เซลล์ของอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายเกิดภาวะขาดเลือด ส่งผลให้ร่างกายขาดสารอาหาร ขาดออกซิเจน ทำให้อวัยวะนั้นๆ เสียหาย ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนดังกล่าว (วิไล อ่อนศิลา, 2555)

การควบคุมโรคเบาหวานหมายถึงการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติ ซึ่งคนปกติควรมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดอยู่ที่ 70 – 120 มิลลิกรัม/เดซิลิตร แต่ต้องไม่เกิน 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร วิธีการตรวจสอบหาเบาหวานในทางการแพทย์ คือ การตรวจเลือดเพื่อดูปริมาณน้ำตาลในเลือด โดยดูค่าน้ำตาลสะสมที่เกาะในเม็ดเลือดแดงหรือที่เรียกว่า ฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1C) หากมีค่า HbA1C เกินหรือเท่ากับ 6.5% ถือว่าเป็นเบาหวาน ในปัจจุบันยาที่ใช้รักษาโรคเบาหวานมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น ยาในกลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylurea) ยาในกลุ่มนี้จะไปกระตุ้นให้ตับอ่อนสร้างอินซูลินออกมามาก ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ผู้ใช้ยากลุ่มนี้อาจมีผลข้างเคียง ทำให้ท้องไส้ปั่นปวน หรือมีอาการทางผิวหนัง ยารักษาโรคอีกตัวคือยาอคาร์โบส (acarbose) หรือไกลเซ็ต (glyset) ในทางวิชาการจะเรียกว่า ยากลุ่มยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (alpha–glucosidase inhibitors) ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์ป้องกันไม่ให้เอนไซม์ในลำไส้ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นกลูโคส แต่ปล่อยให้แบคทีเรียในลำไส้ส่วนล่างย่อยคาร์โบไฮเดรตในภายหลัง ซึ่งทำให้กลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดช้าลง และยับยั้งไม่ให้น้ำตาลในเลือดขึ้นสูงหลังอาหาร ผลข้างเคียง เนื่องจากยากลุ่มนี้ปล่อยให้แบคทีเรียในทางเดินอาหารส่วนล่างย่อยคาร์โบไฮเดรต จึงทำให้เกิดลมในท้อง ท้องอืด ท้องร่วง และปัญหาทางเดินอาหารอื่นๆ (สุณี ธนาเลิศกุล, 2552)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Alpha-glucosidase)

เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) พบในสิ่งมีชีวิตของร่างกายในบริเวณผนังเซลล์ของลำไส้ มีหน้าที่ย่อยสลายแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ฉะนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลในกระแสเลือดลดลง และชะลอการดูดซึมของกลูโคสที่จะเข้าสู่กระแสเลือดได้ ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้ยาอคาร์โบส และพืชสมุนไพรในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรนั้น มีหลักการคือเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์กับ *p*-nitrophenyl-α-*D*-glucopyranoside (PNPG) เมื่อเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเข้าทำปฏิกิริยากับ PNPG จะได้น้ำตาลกลูโคส และสาร *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายใสสีเหลือง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 2.5 หากผลการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงมาก แสดงว่าเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสามารถทำงานได้อย่างประสิทธิภาพ แต่ถ้าการทดลองให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อย แสดงว่าเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสไม่สามารถทำงานได้อย่างเป็นปกติ นั่นคือเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงานด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร (Rungprom, 2009)



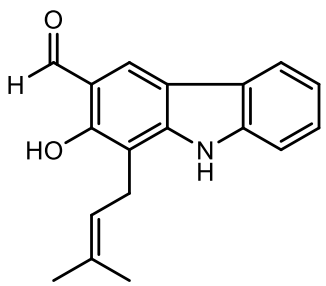
PNPG *p*-nitrophenol (yellow; 405 nm) glucose

ภาพที่ 2-5 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

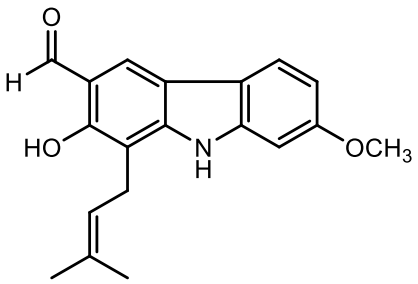
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ ต้นส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*)

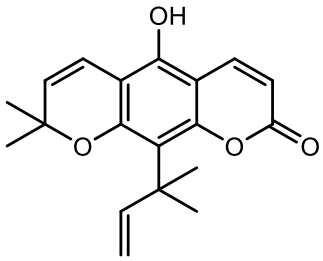
Noipha et al. (2010) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากส่องฟ้าดง พบสารที่มีรายงานแล้วในกลุ่มคาร์บาโซลอัลคาลอยด์และคูมาริน 12 สาร สารที่แยกได้ทั้งหมดนำไปทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ (L6 Myotubes) พบว่า heptaphylline และ 7-methoxyheptaphylline สามารถกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังพบว่า nordentatin แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวาน 2 ชนิดคือ p38 mitogen-activated protein kinases และ phosphatidylinositol 3-kinase อีกด้วย



Heptaphylline

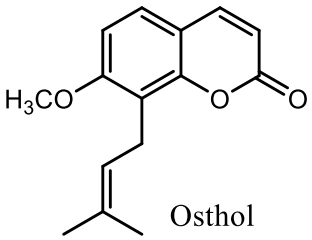


7-Methoxyheptaphylline

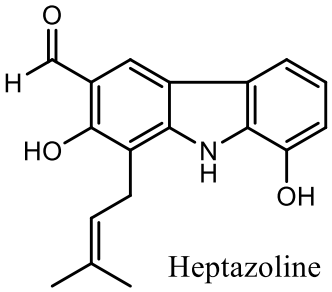


Nordentatin

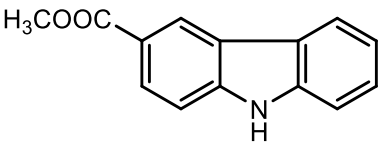
Thongthoom et al. (2010) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง พบสารที่รายงานแล้ว 10 สาร คือ osthol, methyl carbazole-3-carboxylate, mukonal, heptazoline, 7-methoxymukonol, glycosinine, clausine-C, clauszoline-K, clausine-V และ docosyl ferulate และนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCl-H187) มะเร็งในช่องปาก (KB) และมะเร็งเต้านม (MCF7) พบว่า heptazoline แสดงฤทธิ์ความมีพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดที่ดีด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.63 μg/mL นอกจากนี้ยังพบว่าสาร 7-methoxymukonal มีความเป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งช่องปาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 2.21 และ 1.74 μg/mL ตามลำดับ และยังพบว่าสาร mukonal และ heptazoline มีฤทธิ์ปานกลางในความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม รวมถึงสาร clauszoline-K แสดงความเป็นพิษที่ปานกลางต่อเซลล์มะเร็งปอดและมะเร็งช่องปาก และนอกจากนี้ยังพบว่าสาร mukonal และ 7-methoxymukonal มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.27 และ 2.94 μg/mL ตามลำดับ



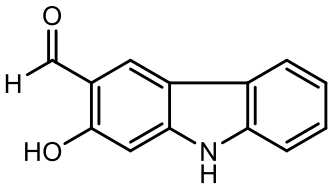
Osthol



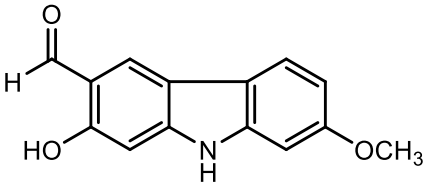
Heptazoline



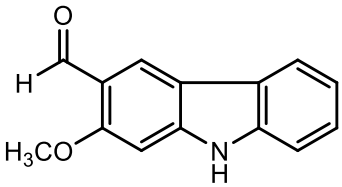
Methyl carbazole-3-carboxylate



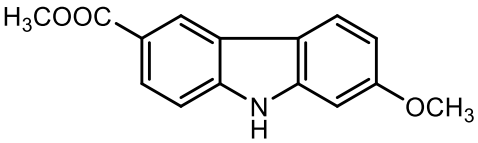
Mukonol



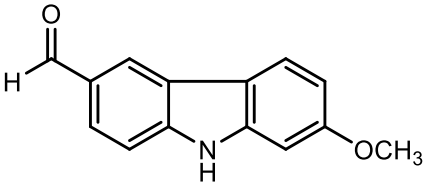
7-Methoxymukonol



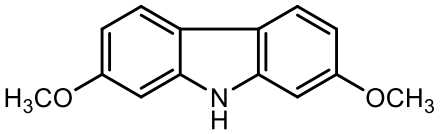
Glycosinine



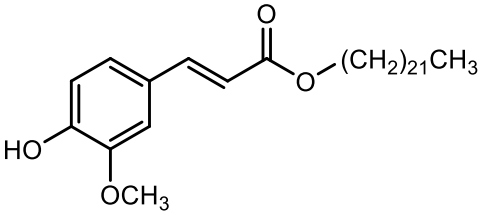
Clausine-C



Clauszoline-K

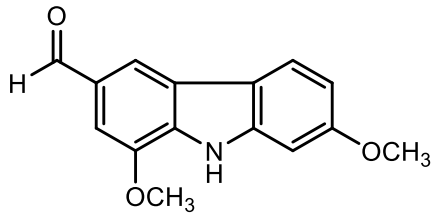


Clausine-V

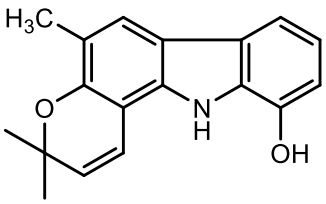


Docosyl ferulate

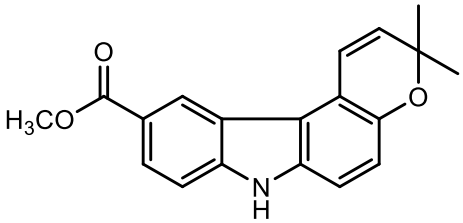
Songsiang et al. (2011) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง พบสารใหม่ในกลุ่มคาร์บาโซลอัลคาลอยด์ 4 สาร คือ claurailas A-D และสารที่เคยมีรายงานมาแล้วอีก 15 สาร สารที่แยกได้ทั้งหมดนำไปทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดและมะเร็งช่องปาก พบว่าสาร heptaphylline และ 7-methoxyheptaphylline มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ1.3 ถึง 2.7 μM ยิ่งไปกว่านั้น 7-methoxyheptaphylline ไม่แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero cells) อีกด้วย



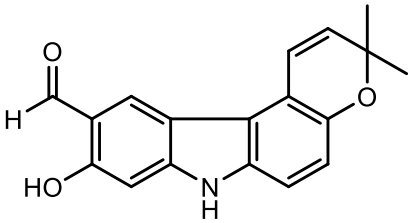
Clauraila A



Clauraila B

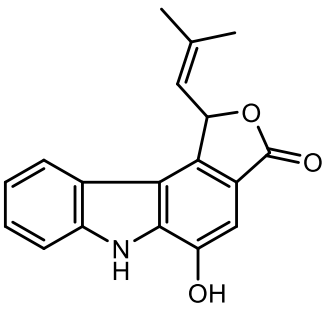


Clauraila C

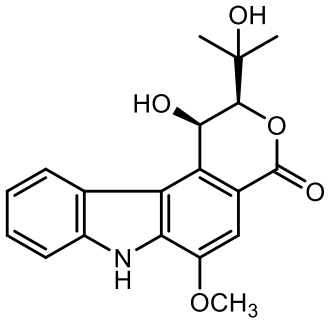


Clauraila D

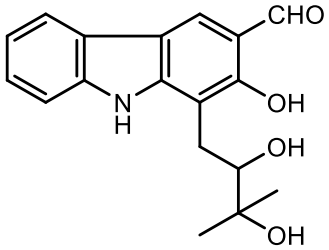
Maneerat et al. (2012) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของส่องฟ้าดง พบสารใหม่ในกลุ่มคาบาร์โซลอัลคาลอยด์ 3 สาร คือ harmandianamines A–C และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 15 สาร นอกจากนี้ยังนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Escherichia coli* TISIR 780, *Salmonella* typhimurium TISTR 292, *Staphylococus aureua* TISTR 1466 และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) SK1 พบว่าสาร clausamine B แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) SK1 มีค่า MIC เท่ากับ 0.25 μg/mL เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน vancomycin (มีค่า MIC เท่ากับ 1 μg/mL) ในขณะเดียวกัน clausine F และ clausamine A แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวอีกด้วย



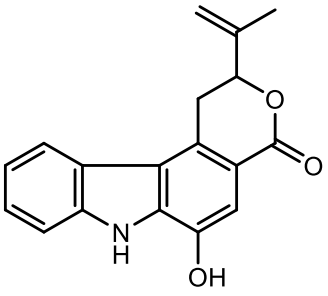
Harmandianamine A



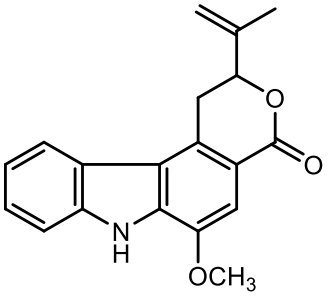
Harmandianamine B



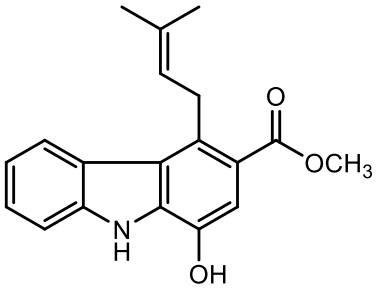
Harmandianamine C



Clausamine A

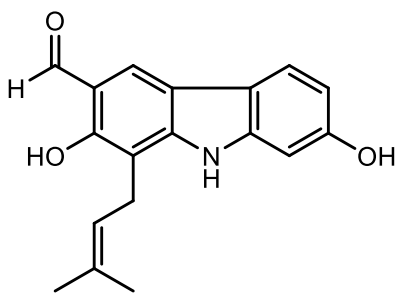


Clausamine B

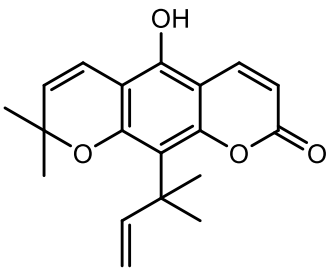


Clausine F

Songsiang et al. (2012) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง พบสารที่มีรายงานมาแล้วในกลุ่มคาร์บาโซลอีก 9 สาร และสารในกลุ่มคูมารินอีก 3 สาร นอกจากนี้ได้นำสารที่แยกได้ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ วิธีการปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid peroxidation) รวมทั้งทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี 2 ชนิดคือ KKU-OCA17 และ KKU-214 พบว่าสาร 7-hydroxyheptaphylline และ nordentatin ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี lipid peroxidation มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.95 และ 2.90 µM ตามลำดับ และออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 56.82 และ 29.3 µM ตามลำดับ และสารทั้ง 2 ยังแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้ง 2 ชนิดได้อีกด้วย

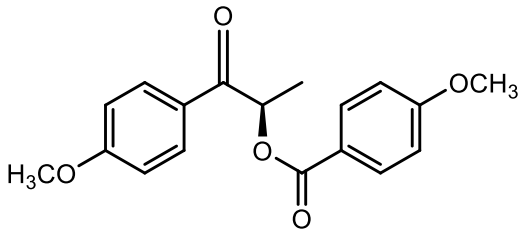


7-Hydroxyheptaphylline

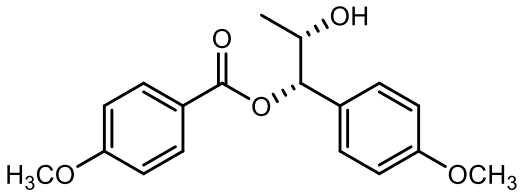


Nordentatin

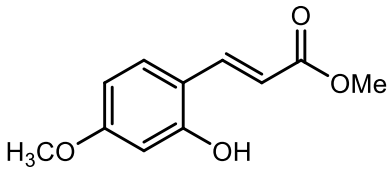
Maneerat et al. (2013) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลของส่องฟ้าดง พบสารใหม่ 1 สารคือ harmandianone ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ phenylpropanoid และสารที่มีรายงานแล้วอีก 4 สาร คือ verimol B, (*E*)-3-Z2-hydroxy-4-methoxy-phenyl)propanoate, (*E*)-methyl *p*-coumarate และ (*E*)-5-methoxy-2-(prop-1-enyl)phenol นอกจากนี้ยังนำสารที่แยกได้ไปศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* SK1, *S. aureus* TISTR 1466 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ที่อ่อน มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 64 ถึง 128 μg/mL



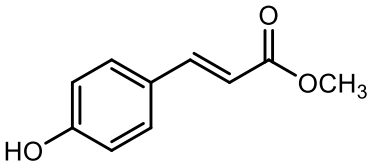
Harmandianone



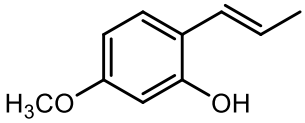
Verimol B



(*E*)-3-(2-Hydroxy-4-methoxy-phenyl)propanoate

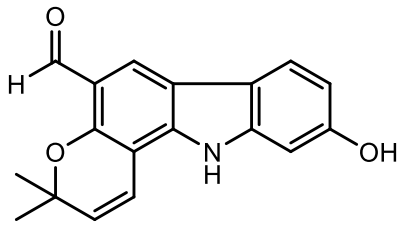


(*E*)-Methyl *p*-coumarate

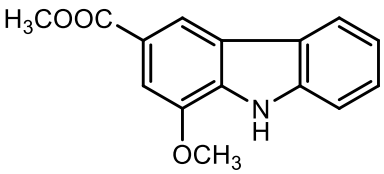


(*E*)-5-Methoxy-2-(prop-1-enyl)phenol

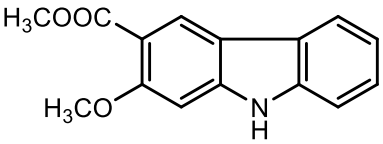
Sriphana et al. (2013) รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากรากของส่องฟ้าดง พบสารใหม่ในกลุ่มคาร์บาโซลอัลคาลอยด์ คือ clauraila E และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 8 สาร คือ clauraila E, mukonine, clausine L, clausine H, mukonidine, clausine K, *N*- methylswietenidine B, dictamnine และ zapoterin สารที่แยกได้ทั้งหมดนำไปศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Pythium insidiosum* พบว่าสาร clausine L clausine K *N*-methylswietenidine B และ zapoterine สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. insidiosum* จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารที่แยกได้สามารถนำไปพัฒนาในการผลิตยาต้านจุลินทรีย์และเชื้อรา



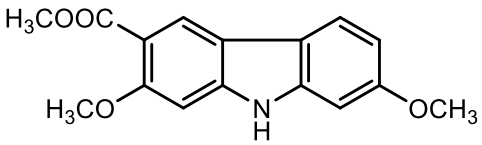
Clauraila E



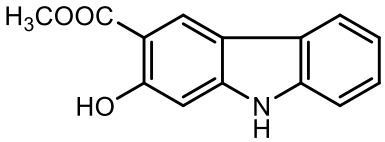
Mukonine



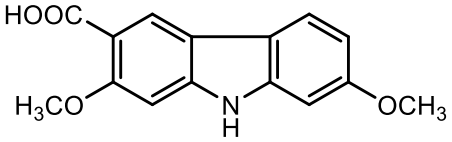
Clausine L



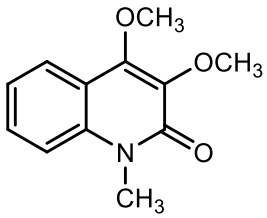
Clausine H



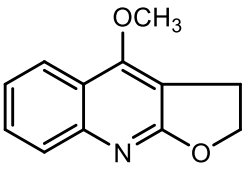
Mukonidine



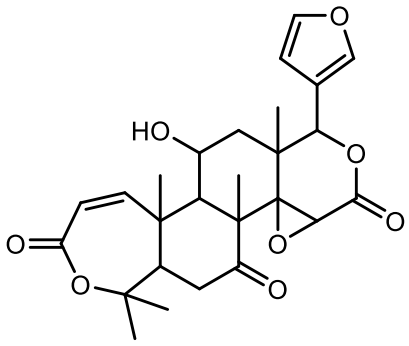
Clausine K



N-Methylswitenidine B



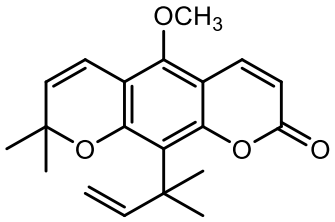
Dictamnine



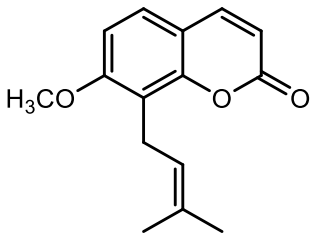
Zapoterin

2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ ต้นส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*)

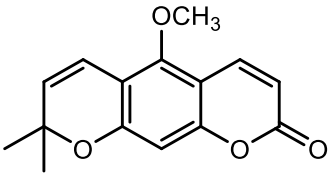
Nakamura et al. (2009) รายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกรากของต้นส่องฟ้า พบสารใหม่ 2 สาร คือ osthol และ xanthoxyletin และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 3 สาร คือ poncitrin , heptaphylline และ 7-methoxyheptaphylline สารที่แยกได้นำไปศึกษาฤทธิ์ต้านการอับเสบต่อการแสดงออกในเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) โดยการติดตาม lipopolysaccharide (LPS) และ ไนตริกออกไซด์ (NO) ในเซลล์แมคโครฟาจ ของหนูสายพันธ์ RAW 264.7 พบว่า poncitrin มีฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกในเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase ที่ความเข้มข้น 10 μM และพบว่า xanthoxyletin ก่อให้เกิดการแสดงออกของ iNOS ส่งผลให้มีการผลิตไนตริกออกไซด์ และการแสดงออกของโปรตีน TNF-α (TNF-α) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ที่คาดว่าน่าจะแสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบได้



Poncitrin

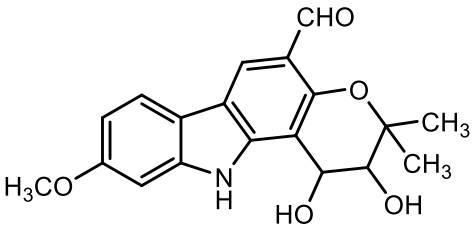


Osthol

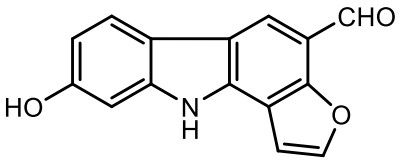


Xanthoxyletin

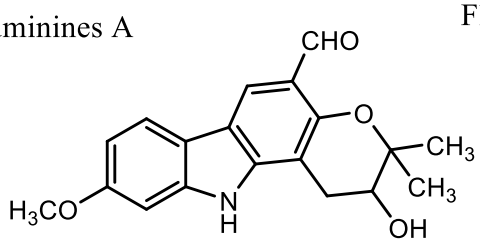
Auranwiwat et al. (2014) รายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีจากรากส่องฟ้า พบสารใหม่ในกลุ่มคาร์บาโซลอัลคาร์ลอยด์ 2 สาร คือ guillauminines A และ guillauminines B และสารที่มีรายงานมาแล้วอีก 16 สาร นำสารที่แยกได้ไปศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด และมะเร็งในช่องปาก ฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าสาร fluroclausine A และ 7- methoxyheptaphylline มีความเป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งปอด ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 7.44 และ 9.51 μg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้สาร fluroclausine A มีฤทธิ์เป็นพิษที่สูงต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 1.35 μg/mL และยังพบว่าสาร mukonol ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ นอกจากนี้สาร mukonol, 7-methoxymokomol และ cluariala D มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.03 3.46 และ 3.41 μg/mL ตามลำดับ รวมทั้ง fluroclausine A และ 7-methoxyheptaphylline มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่อ่อน ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 25 μg/mL ที่เท่ากัน



Guillauminines A



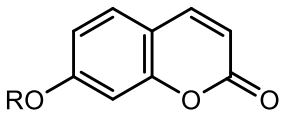
Fluroclausine A



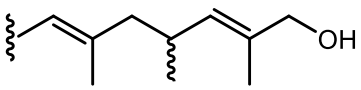
Guillauminines B

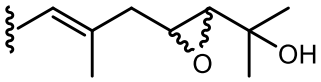
2.5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ ต้นสันโสก (*Clausena excavata*)

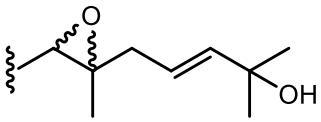
Thuy et al. (1999) รายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีจากใบสันโสก พบสารใหม่ในกลุ่มคูมาริน 13 สาร คือ excavatins A-M และยังพบสารในกลุ่มลิโมนอยด์ที่รายงานมาแล้วอีกด้วย โครงสร้างที่แยกได้ทั้งหมดพิสูจน์และยืนยันด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโคปี

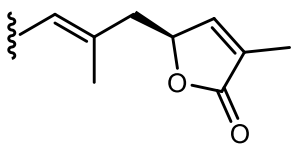


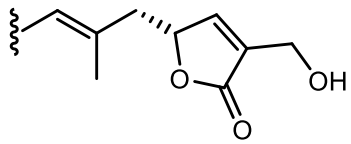
Excavatins

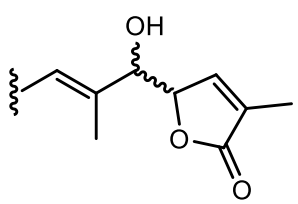
A: R= 

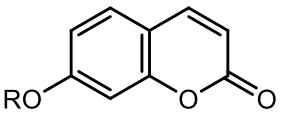
B: R= 

C: R= 

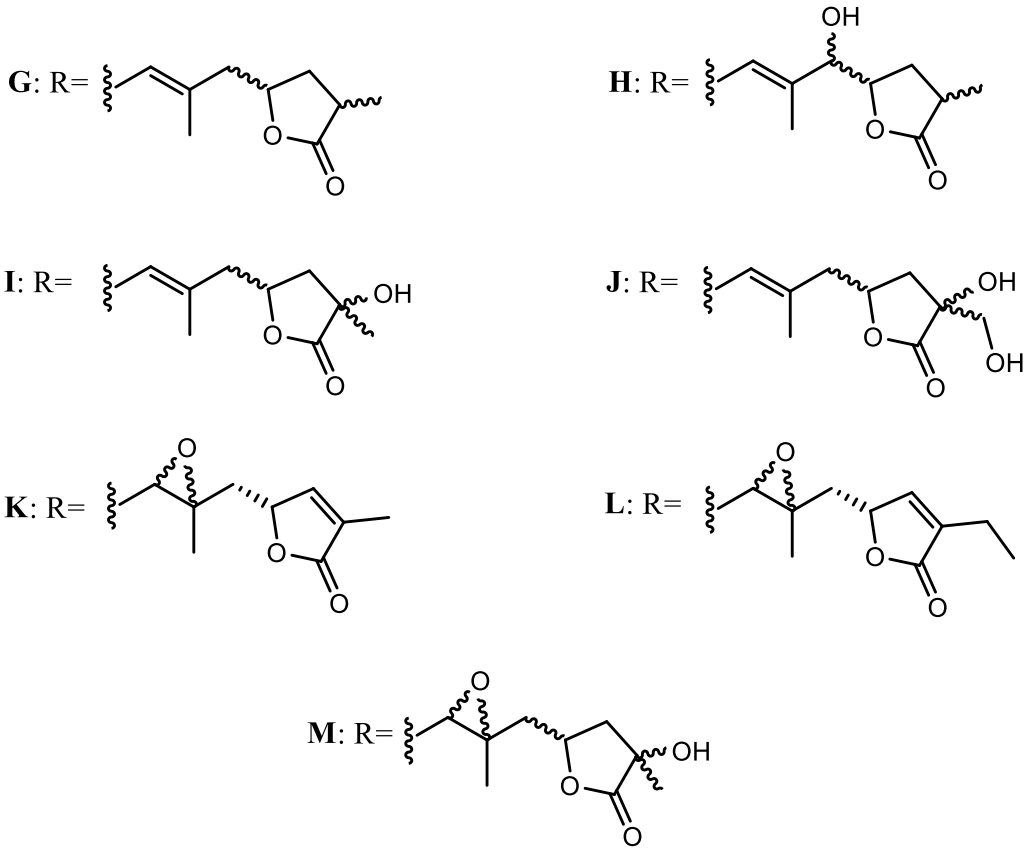
D: R= 

E: R= 

F: R= 

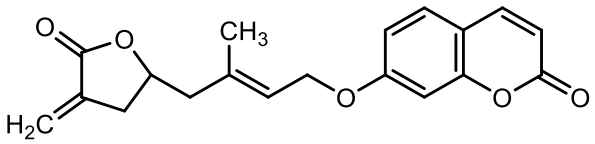


Excavatins



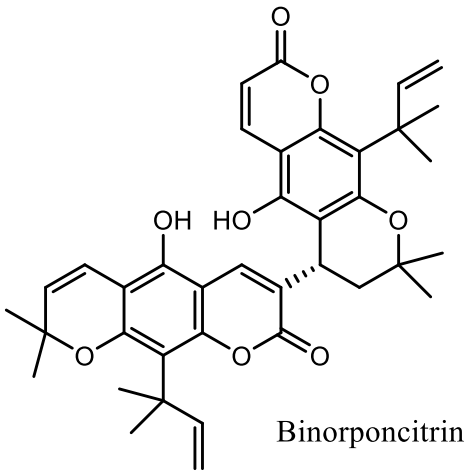
Rahman et al. (2002) รายงานการทดสอบฤทธิ์ลดอาการปวดของส่วนสกัดเอทานอลจากใบต้นสันโสก พบว่าเมื่อให้สารสกัดเอทานอลจากใบสันโสกกับหนูทดลองปริมาณ 125.25 และ 500 mg/kg ของน้ำหนักหนู พบว่าสารสกัดดังกล่าวจากใบสันโสกแสดงฤทธิ์ลดอาการปวดในหนูได้ดี เมื่อเทียบกับยาแก้ปวดมาตรฐาน คือ acethylsalicylic acid (ASA)

Kumar et al. (2012) รายงานผลการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อราจากใบสันโสก พบสารใหม่ในกลุ่มคูมาริน มีชื่อว่า excavarin-A ที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา 15 สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในพืชและในมนุษย์ ได้แก่ *Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Cryptococcus curvatus, Filobasiella neoformans, Mucor circinelloides, Trichosporon cutaneum, Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia eragrostidis, Fusarium oxysporum, Lasiodiplodia theobromae, Rhizoctonia solani, Rhizoctonia solani, Rhizopus stolonifer* และ *Candida tropicalis* และมีฤทธิ์ดีกว่ายามาตรฐานอีกด้วย

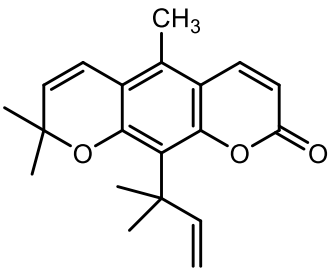


excavarin-A

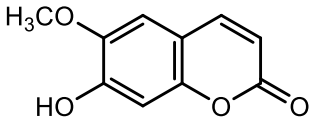
Sripisut et al. (2012) รายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีจากรากของสันโสก พบสารในกลุ่มคูมาริน 6 สาร คือ binorponcitrin, xanthoxyletin, dentatin, nordentatin, clausenidin และ scopoetin และสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ 12 สาร คือ dictamine, clausine D, clausine F, murrayafoline A, murrayanine, clauszoline I, 2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole, 3-formyl-2,7- dimethoxy carbazole, clauszoline J, clausine H, murrayacine และ heptaphylline และนำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ความมีพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งช่องปาก เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งปอด พบว่า nordentatin, murrayanine และ heptaphylline แสดงฤทธิ์เป็นพิ ษต่อเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 5.95, 3.76 และ 5.26 µg/mL ตามลำดับ



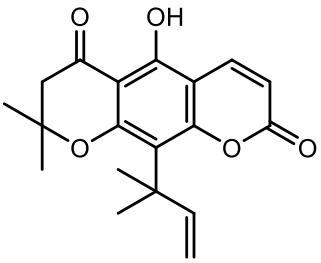
Binorponcitrin



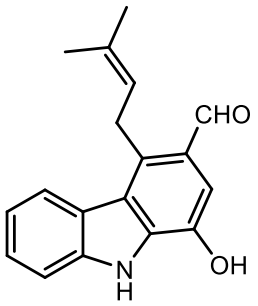
Dentatin



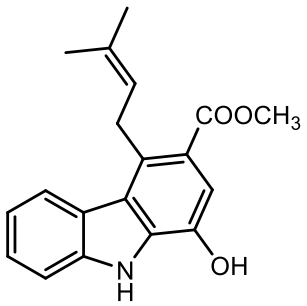
Scopoletin



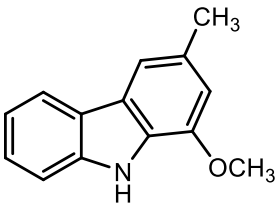
Clausenidin



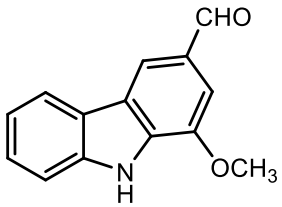
Clausine D



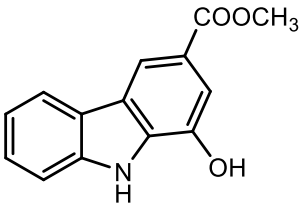
Clausine F



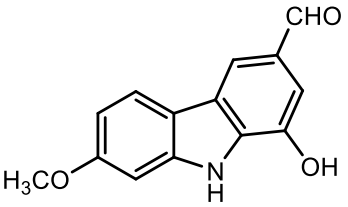
Murrayafoline A



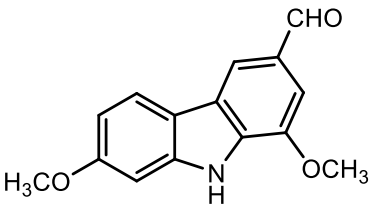
Murrayanine



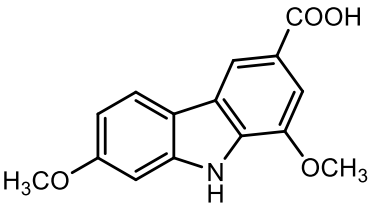
Clauszoline I



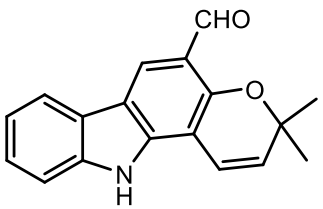
2-hydroxy-3-formyl-7-methoxycarbazole



3-formyl-2,7-dimethoxycarbazole



Clauszoline J



Murrayacine

จากการศึกษาและค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องข้างต้น พบว่าพืชวงศ์ส้มทั้งสามชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก มีรายงานการศึกษาองศ์ประกอบเคมีมากพอควร ซึ่งสารส่วนใหญ่ที่พบเป็นสารกลุ่มคาร์บาโซลอัลคาลอยด์และคูมาริน อีกทั้งมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในมนุษย์ แต่ยังไม่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น เพิ่มเติม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ขององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าว โดยวิธีการสกัดตัวอย่างโดยใช้การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความมีขั้วแตกต่างกัน 7 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากรายงานวิจัยดังกล่าวนั้นจะทำให้ทราบถึงข้อมูลทางเคมีและทางชีวภาพพื้นฐานของพืชสมุนไพรไทยวงศ์ส้มที่หาได้ง่าย และนำไปสู่การยกระดับและพัฒนาพืชสมุนไพรของไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งเพื่อนำไปสู่การค้นพบยาชนิดใหม่ ที่ช่วยในการรักษา ป้องกัน และลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพและภาวะทุพโภชนาการที่นำไปสู่การเจ็บป่วยเรื้อรังได้อีกด้วย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

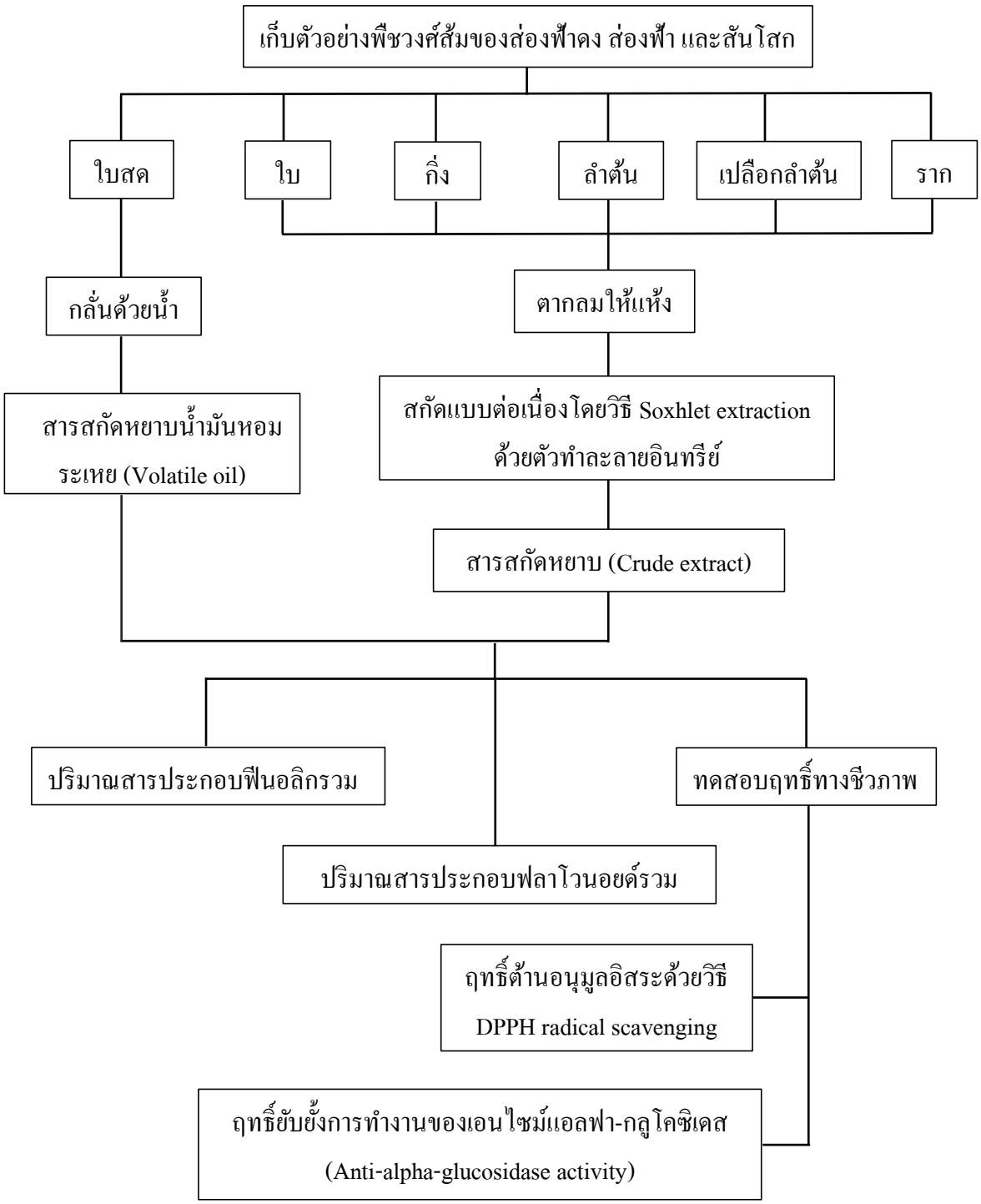
3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) บริษัท Buchi รุ่น V – 700
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Mettler รุ่น AE200
3. เครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America)
4. เครื่องอังไอน้ำ (Water Bath) บริษัท Heto DT Hetrotherm
5. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) บริษัท Wisemix รุ่น VM-10
6. เครื่องดูดจ่ายสารละลายปิเปต (Micropipette)
7. บีกเกอร์ (Beaker)
8. กระบอกตวง (Graduated Cylinder)
9. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
10. กรวยกรองแก้ว (Glass funnel)
11. กรวยสกัด (Separatory funnel)
12. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
13. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
14. ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (Vial bottom)
15. แท่งแก้วค้นสาร (Striring rod)
16. หลอดหยด (Dropper)
17. ไมโครปิเปตทิป (Micropepette tip)
18. กระดาษฟอยด์ (Foil)
19. ช้อนตักสาร (Spatula)
20. สามขา (Tripod)
21. ผ้าขาวบาง สำลี

3.1.2 สารเคมี

1. น้ำกลั่น (Distilled water)
2. เฮกเซน (Hexane, C_6H_{12})
3. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane, CH_2Cl_2)
4. เอทิลอะซิเตท (Ethylacetate, $C_4H_8O_2$)
5. อะซิโตน (C_3H_6O)
6. เอทานอล (Ethanol, CH_3CH_2OH)
7. เมทานอล (Methanol, CH_3OH)
8. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
9. กรดแกลลิก (Gallic acid)
10. วิตามินซี (Ascorbic acid)
11. เคอร์ซิติน (Quercetin)
12. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์(Dimethyl Sulfoxide : DMSO)
13. โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3)
14. อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (Aluminium trichloride, $AlCl_3$)
15. monobasic sodium phosphate ($NaH_2PO_4.2H_2O$)
16. dibasic sodium phosphate ($Na_2HPO_4.7H_2O$)
17. น้ำยาทดสอบ ฟอลิน-ซิโอคัลโต (Folin-Ciocalteu reagent)
18. เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase enzyme)
19. *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyrannoside (PNPG)

3.2 แผนการดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 3-1 แผนภาพการดำเนินงานวิจัย

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเก็บตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม (Rutaceae) ที่ใช้ในการศึกษามี 3 ชนิดคือ

1. ส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ (L) กิ่ง (T) เปลือกลำต้น (STB) ลำต้น (ST) และราก (R) เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลวังสมบูรณ์ อำเภอวังสมบูรณ์ จังหวัดสระแก้ว

2. ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลสำโรงตาเจ็น อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ

3. สันโสก (*Clausena excavate*) โดยเก็บตัวอย่างพืชแยกเป็นส่วนต่าง ๆ 5 ส่วน ได้แก่ ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก เก็บช่วงเดือนพฤศจิกายน 2558 ถึงเดือนมีนาคม 2559 จากตำบลสำโรงตาเจ็น อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ

พืชทั้ง 3 ชนิด ได้รับการตรวจสอบชื่อทางวิทยาศาสตร์โดยสำนักหอพรรณไม้ ฝ่ายอนุกรมวิธานพืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

3.3.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ส้ม โดยนำตัวอย่างใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น และนำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (250 กรัม) แล้วนำตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด ไปกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Water distillation) นำของเหลวที่กลั่นออกมาได้มาสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนโดยใช้กรวยสกัด (Separatory funnel) นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil, VO) ชั่งน้ำหนัก คำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) และ เก็บสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของพืชทั้ง 3 ชนิดไว้ที่อุณหภูมิ 4 ºC เพื่อทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3.3.3 การเตรียมสารสกัดหยาบของพืชในวงศ์ส้ม โดยนำตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ของพืชในวงศ์ส้ม (Rutaceae) ทั้ง 3 ชนิด (ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก) ประกอบด้วยชนิดละ 5 ส่วน (ใบ กิ่ง ลำต้น เปลือกลำต้น และราก) ทำความสะอาดและตากให้แห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 200 กรัม แล้วนำตัวอย่างแต่ละส่วนมาสกัดแบบต่อเนื่องโดยวิธี Soxhlet extraction สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายอินทรีย์ที่สกัดได้แต่ละส่วนไประเหยให้แห้ง ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน

ภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 ºC ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกันประกอบด้วย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และ น้ำ นำสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของแต่ละตัวทำละลายอินทรีย์ ไปชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่างที่ได้ คำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) และเก็บสารสกัดหยาบดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิ 4 ºC เพื่อทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.3.4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic, Skerget, and Knez (2007) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก หรือ สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที และทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เป็น Blank นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่าง โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE/g dried extract)

3.3.5 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC) ด้วยวิธี Aluminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (1994) โดยใช้สารเคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน หรือ สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2% $AlCl_3$ ในเมทานอล ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เป็น Blank นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน รายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE/g dried extract)

3.3.6 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

1. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, and Mendez (2002) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เคอร์ซิติน (Quercetin) และวิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.3125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย 0.15 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตร [(A-B)/A]×100 เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

2. ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-alpha-glucosidase activity)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui, Yoshimoto, Oki, and Osajima (1996) โดยใช้อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน การทดสอบทำได้โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลายบัฟเฟอร์ (Sodium phosphate buffer, pH 6.8) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 120 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (U/mL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyrannoside (PNPG) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EPOCH 2 microplate reader (BioTek, America) และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (% α-glucosidase inhibition) จากสูตร [(A-B)/A]×100 เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ส้ม

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบของส่องฟ้าดง (*Clausena harmandiana*) ส่องฟ้า (*Clausena guillauminii*) และสันโสก (*Clausena excavate*) ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ และเมื่อระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil, VO) ที่มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย ร้อยละผลผลิต (% yield) และลักษณะต่าง ๆ ทางกายภาพ ดังตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพ

สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่องฟ้าดง	0.19	0.07	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีกลิ่นหอม
ส่องฟ้า	3.19	1.28	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีกลิ่นหอม
สันโสก	0.07	0.03	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อนและมีกลิ่นหอม

จากตารางที่ 4-1 พบว่า สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้า (1.28 %) มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด และมีกลิ่นหอมที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะใบของส่องฟ้าที่มีต่อมน้ำมันกระจายทั่วทั้งใบมากกว่าส่องฟ้าดง และสันโสก

ภาพที่ 4-1 แสดงต่อมน้ำมันในใบสดและลักษณะทางกายภาพของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยพืชทั้ง 3 ชนิด

4.2 การสกัดสารจากพืชวงศ์ส้ม

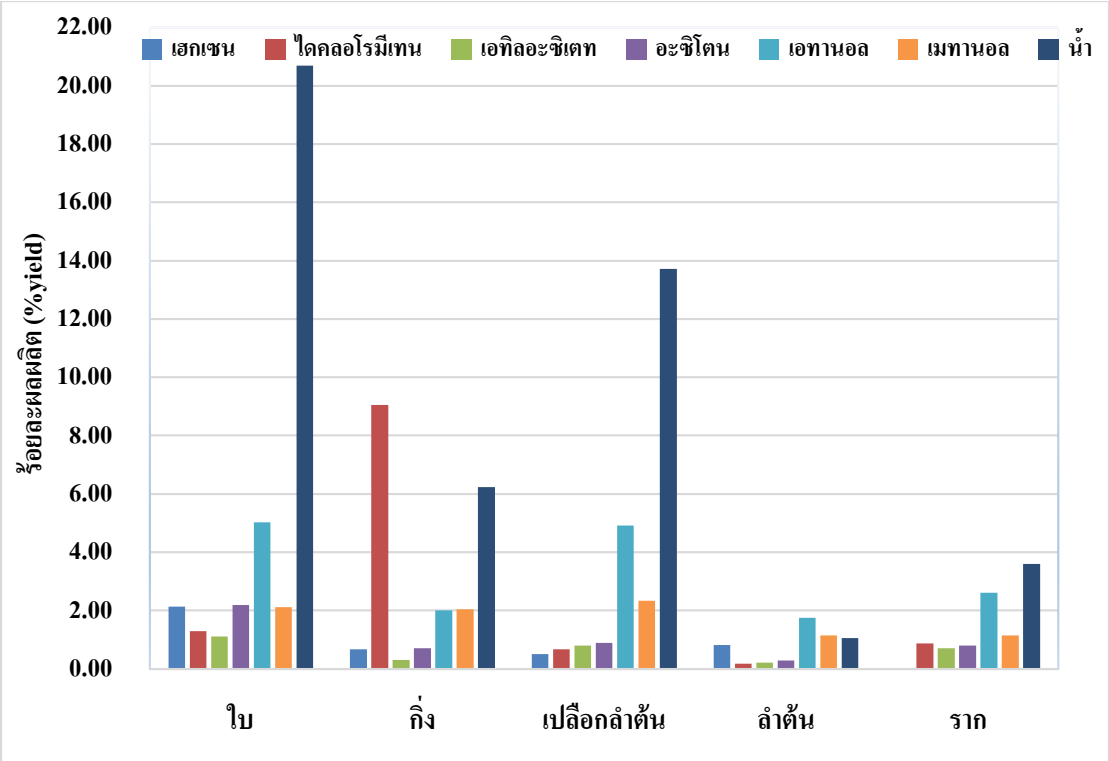
จากการสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกัน 7 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และ น้ำ และเมื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออก จะได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) ที่มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบ ร้อยละผลผลิต และลักษณะต่าง ๆ ทางกายภาพ ดังตารางที่ 4-2–4-4 และภาพที่ 4-2–4-4

ตารางที่ 4-2 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบ จากส่องฟ้าดง	**ร้อยละผลผลิต (% yield)**	**ลักษณะของสารสกัดที่ได้**
สารสกัดหยาบจากใบ		
เฮกเซน	2.14	ของแข็ง สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	1.30	ของแข็ง สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	1.11	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
อะซิโตน	2.19	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียว
เอทานอล	5.03	ของเหลวข้นหนืด สีดำอมเขียว
เมทานอล	2.11	ของเหลวสีน้ำตาลแดงและมีของแข็งสีดำปนอยู่
น้ำ	20.69	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
สารสกัดหยาบจากกิ่ง		
เฮกเซน	0.67	ของแข็งสีดำและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	9.06	ของแข็งสีดำและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	0.31	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.70	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมน้ำตาล
เอทานอล	2.00	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.03	ของเหลวสีน้ำตาลดำและมีผลึกรูปเข็ม
น้ำ	6.24	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้มอมเขียว

ตารางที่ 4-2 (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง	ร้อยละผลผลิต (% yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
สารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น		
เฮกเซน	0.50	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
ไดคลอโรมีเทน	0.68	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
เอทิลอะซิเตท	0.80	ของแข็งสีดำ
อะซิโตน	0.88	ของแข็งสีดำ
เอทานอล	4.91	ของเหลวสีน้ำตาลดำและมีของแข็งสีดำปนอยู่
เมทานอล	2.34	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	13.71	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
สารสกัดหยาบจากลำต้น		
เฮกเซน	0.81	ของเหลวหนืด คล้ายไขมัน สีน้ำตาลอ่อน
ไดคลอโรมีเทน	0.18	ของแข็งสีน้ำตาลแดงและมีผลึกรูปเข็ม
เอทิลอะซิเตท	0.22	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำและมีผลึกรูปเข็ม
อะซิโตน	0.28	ของแข็งสีน้ำตาล
เอทานอล	1.76	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	1.15	ของแข็งสีน้ำตาล
น้ำ	1.05	ของแข็งสีน้ำตาล
สารสกัดหยาบจากราก		
เฮกเซน	0.02	ของเหลวหนืดสีดำอมน้ำตาล
ไดคลอโรมีเทน	0.88	ของแข็งสีดำ
เอทิลอะซิเตท	0.71	ของแข็งสีดำแดง
อะซิโตน	0.80	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำและของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.61	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	1.14	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
น้ำ	3.59	ของแข็งสีน้ำตาลแดง



ภาพที่ 4-2 ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของส่องฟ้าดง

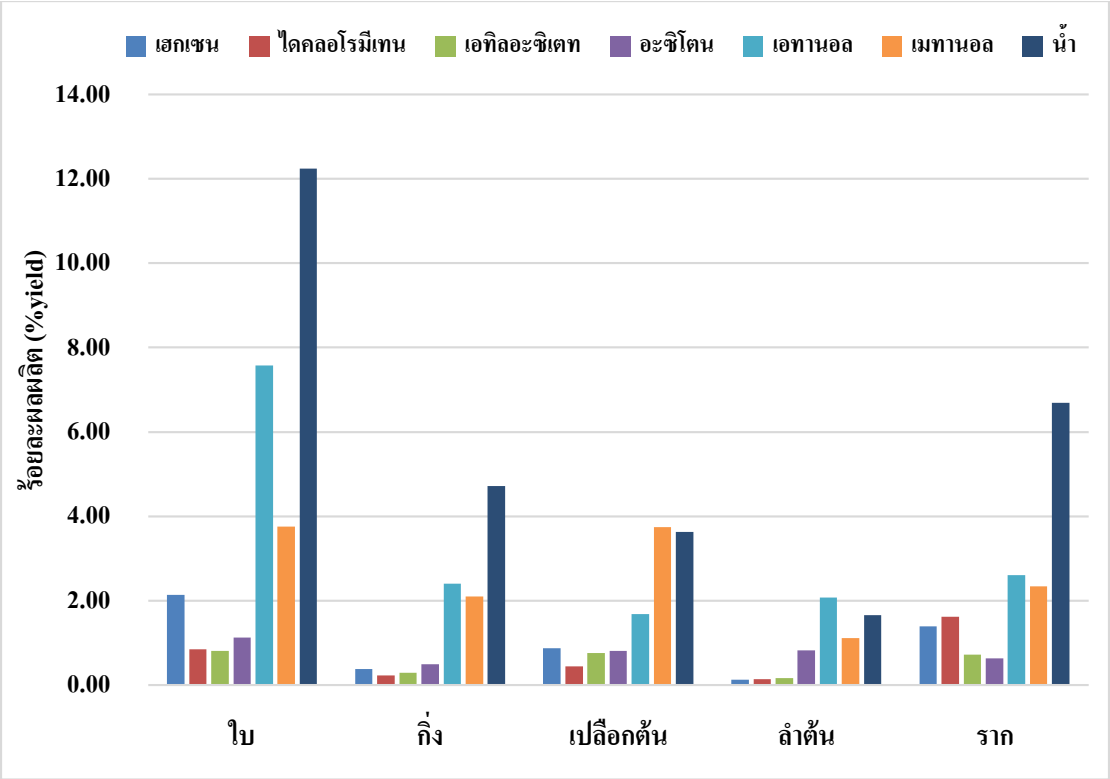
จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 4-2 และภาพที่ 4-2 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ จากใบ (20.69 %) และเปลือกลำต้น (13.71 %) และส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (9.06 %) จากกิ่ง มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ มีร้อยละผลผลิตเท่า ๆ กัน และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดงพบว่า ใบมีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือเปลือกลำต้นและกิ่ง ตามลำดับ ส่วนรากและลำต้น มีร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด

ตารางที่ 4-3 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	**ร้อยละผลผลิต (% yield)**	**ลักษณะของสารสกัดที่ได้**
สารสกัดหยาบจากใบ		
เฮกเซน	2.14	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	0.84	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.80	ของแข็งสีน้ำตาลอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	1.12	ของแข็งสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายไข
เอทานอล	7.58	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	3.76	ของแข็งสีน้ำตาลดำ ของแข็งสีขาว และมีผลึก
น้ำ	12.25	ของแข็งสีน้ำตาลและของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
สารสกัดหยาบจากกิ่ง		
เฮกเซน	0.38	ของแข็งสีน้ำตาลเหลืองอมเขียว
ไดคลอโรมีเทน	0.23	ของแข็งสีดำ มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.29	ของแข็งสีดำ มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.49	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลและมีของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.40	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.10	ของแข็งเป็นผลึกใสสีน้ำตาลรูปสีเหลี่ยม
น้ำ	4.71	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
สารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น		
เฮกเซน	0.87	ของแข็งสีดำแดง มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.43	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.76	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.80	เป็นผลึกสีน้ำตาล และมีของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เอทานอล	1.67	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	3.74	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	3.63	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

ตารางที่ 4-3 (ต่อ)

สารสกัดหยาบจากส่องฟ้า	ร้อยละผลผลิต (% yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
สารสกัดหยาบจากลำต้น		
เฮกเซน	0.13	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.14	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.16	ของแข็งสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.82	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลและมีของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.07	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	1.11	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
น้ำ	1.66	ของแข็งสีน้ำตาลแดง มีลักษณะคล้ายไข
สารสกัดหยาบจากราก		
เฮกเซน	1.39	ของแข็งสีน้ำตาล วาว มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	1.62	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทิลอะซิเตท	0.72	ของแข็งสีน้ำตาลแดง วาว มีลักษณะคล้ายไข
อะซิโตน	0.63	ของแข็งสีน้ำตาลดำ วาว
เอทานอล	2.60	ของเหลวสีน้ำตาล
เมทานอล	2.34	ของเหลวสีน้ำตาลและมีของแข็งสีดำปนอยู่
น้ำ	6.69	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล



ภาพที่ 4-3 ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของส่องฟ้า

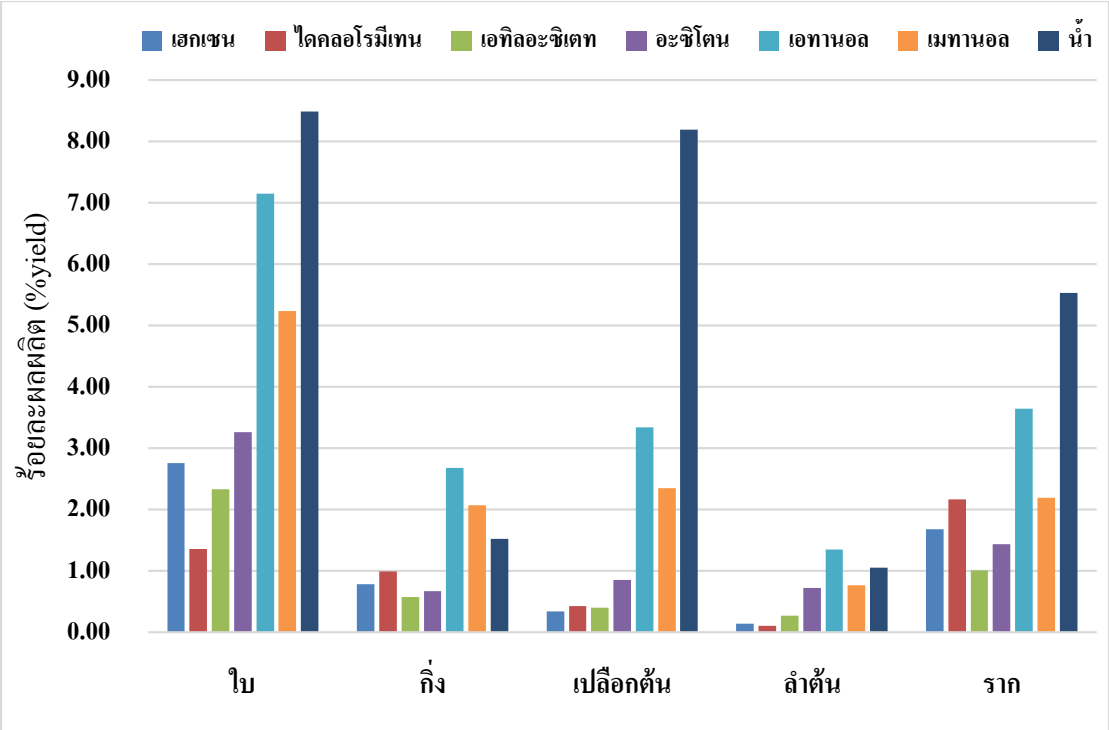
จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-3 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ (12.25 %) และส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (7.58 %) จากใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (น้ำ เมทานอล และเอทานอล) มีร้อยละผลผลิตที่สูง และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และกิ่ง มีร้อยละผลผลิตเท่า ๆ กัน และส่วนสกัดจากส่วนลำต้นมีร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด

ตารางที่ 4-4 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก

สารสกัดหยาบจากสันโสก	**ร้อยละผลผลิต (% yield)**	**ลักษณะของสารสกัดที่ได้**
สารสกัดหยาบจากใบ		
เฮกเซน	2.76	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	1.35	ของแข็งสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทิลอะซิเตท	2.33	ของแข็งสีดำอมเขียวคล้ายไขและมีกลิ่นหอม
อะซิโตน	3.26	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมเขียวและมีกลิ่นหอม
เอทานอล	7.14	ของเหลวหนืดสีแดงและมีของแข็งสีน้ำตาลแดง
เมทานอล	5.24	ของเหลวข้นหนืดสีดำอมเขียว
น้ำ	8.49	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลแดงและวาว
สารสกัดหยาบจากกิ่ง		
เฮกเซน	0.78	ของแข็งสีเขียวอมเหลืองและมีกลิ่นหอม
ไดคลอโรมีเทน	0.99	ของแข็งสีดำอมเขียว
เอทิลอะซิเตท	0.57	ของแข็งสีดำอมเขียว
อะซิโตน	0.66	ของแข็งสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	2.68	ของแข็งเป็นผลึกใสรูปเข็มสีน้ำตาล
เมทานอล	2.07	ของแข็งเป็นผลึกใสรูปเข็มสีน้ำตาล
น้ำ	1.52	ของแข็งสีน้ำตาลแดง และมีผลึกใสสีน้ำตาล
สารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น		
เฮกเซน	0.34	ของแข็งสีดำแดง มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.42	ของแข็งสีดำอมเขียว มีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.40	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	0.85	ผลึกสีน้ำตาล และมีของเหลวหนืดสีน้ำตาล
เอทานอล	3.34	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.35	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	8.19	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ

ตารางที่ 4-4 (ต่อ)

สารสกัดหยาบ จากสันโสก	**ร้อยละผลผลิต (% yield)**	**ลักษณะของสารสกัดที่ได้**
สารสกัดหยาบจากลำต้น		
เฮกเซน	0.14	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อนมีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	0.10	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อนมีลักษณะคล้ายไข
เอทิลอะซิเตท	0.27	ของแข็งสีน้ำตาลดำและมีของแข็งสีขาวปนอยู่
อะซิโตน	0.72	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	1.35	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
เมทานอล	0.77	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล
น้ำ	1.05	ของแข็งสีน้ำตาลดำมีลักษณะคล้ายไข
สารสกัดหยาบจากราก		
เฮกเซน	1.68	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะคล้ายไข
ไดคลอโรมีเทน	2.17	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
เอทิลอะซิเตท	1.01	ของแข็งสีดำอมน้ำตาล
อะซิโตน	1.44	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เอทานอล	3.64	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
เมทานอล	2.19	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
น้ำ	5.53	ของเหลวข้นหนืดสีดำ



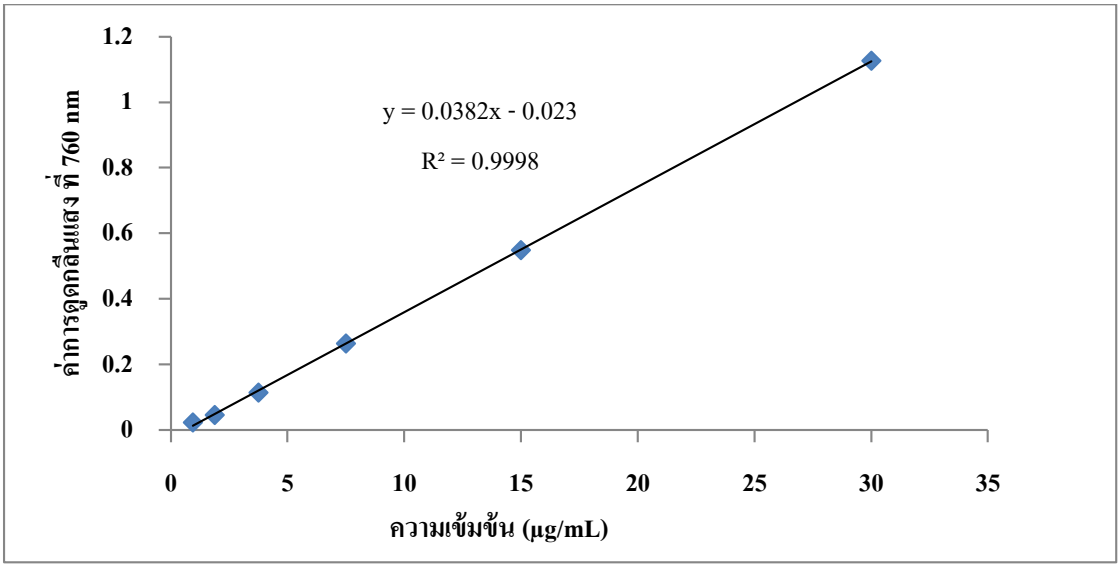
ภาพที่ 4-4 ร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด ของสันโสก

จากผลการสกัดสารจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ดังตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-4 ของส่วนสกัดหยาบจากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำ จากใบ (8.49 %) และเปลือกลำต้น (8.19 %) มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในชั้นตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (น้ำ เมทานอล และเอทานอล) มีร้อยละผลผลิตที่สูง และจากการเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่าส่วนใบ มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น และราก เปลือกลำต้น มีร้อยละผลผลิตเท่า ๆ กัน ในขณะที่ส่วนสกัดจากส่วนกิ่งและลำต้นมีร้อยละผลผลิตน้อยกว่า

จากผลการสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำจากใบของส่องฟ้าดง มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด นอกจากนี้ร้อยละผลผลิตของส่วนสกัดหยาบทั้งหมด ขึ้นกับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากให้ค่าร้อยละผลผลิตที่สูง และนอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตรวม ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่องฟ้าดงมีร้อยละผลผลิตรวมสูงที่สุด ส่วนสันโสกและส่องฟ้า มีร้อยละผลผลิตรวมเท่า ๆ กัน

4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colormetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic Skerget และKnez (2007) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ดังภาพที่ 4-5



ภาพที่ 4-5 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid)

จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (y = 0.0382x – 0.023) สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก รวมถึงส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนต่าง ๆ ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 4-5 – 4-8 และภาพที่ 4-6 – 4-8 โดยรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารแห้ง 1 กรัม (mgGAE/g)

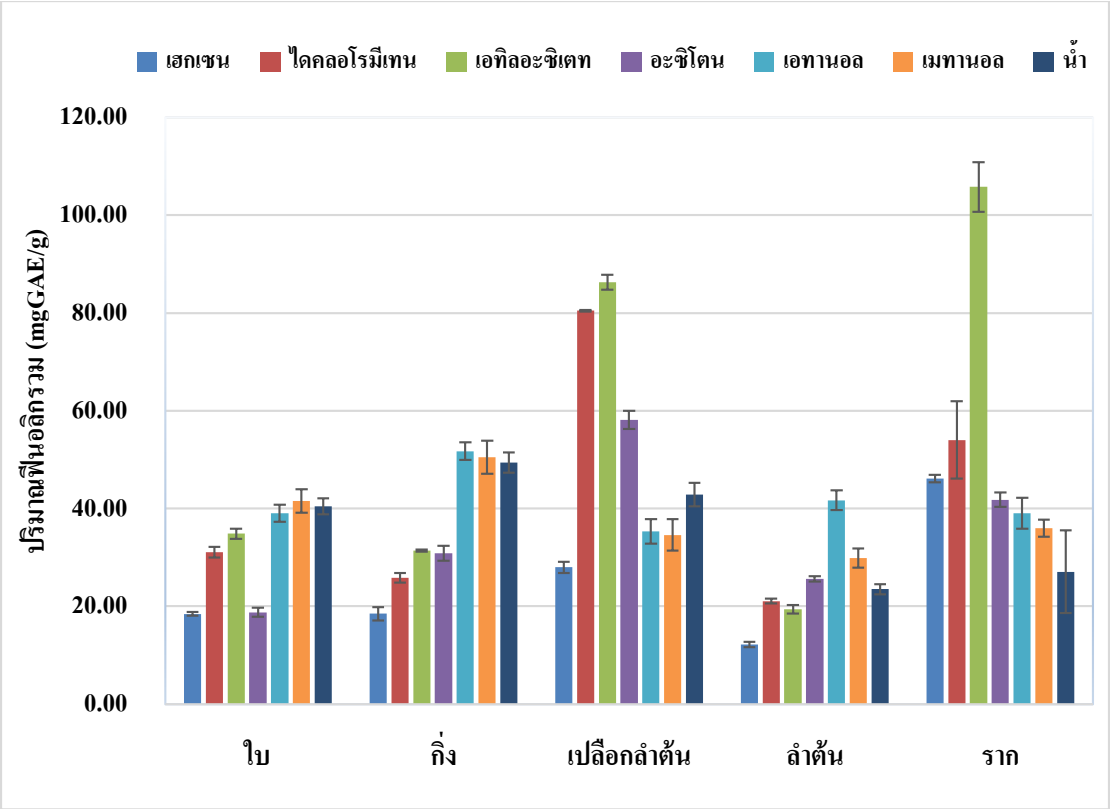
ตารางที่ 4-5 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบของพืชวงศ์ส้ม

สารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหย	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)
ส่องฟ้าดง	45.65±0.50
ส่องฟ้า	12.79±5.35
สันโสก	40.75±2.06

จากผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 4-5 ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากส่องฟ้าดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (45.65±0.50 mgGAE/g) รองลงมาได้แก่ สันโสก (40.75±2.06 mgGAE/g) และส่องฟ้า (12.79±5.35 mgGAE/g) ตามลำดับ

ตารางที่ 4-6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบ	**ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)**				
ส่องฟ้าดง	**ใบ**	**กิ่ง**	**เปลือกลำต้น**	**ลำต้น**	**ราก**
เฮกเซน	18.45±0.39	18.50±1.38	27.98±1.15	12.20±0.59	46.13±0.73
ไดคลอโรมีเทน	31.08±1.08	25.85±0.94	80.49±0.16	21.08±0.52	54.03±7.93
เอทิลอะซิเตท	34.87±1.05	31.43±0.20	86.32±1.54	19.39±0.85	105.79±5.06
อะซิโตน	18.80±0.93	30.84±1.54	58.17±1.84	25.60±0.55	41.82±1.48
เอทานอล	39.04±1.74	51.71±1.79	35.36±2.48	41.71±2.04	39.02±3.19
เมทานอล	41.55±2.43	50.52±3.36	34.61±3.18	29.86±1.94	36.00±1.77
น้ำ	40.47±1.66	49.42±2.04	42.84±2.43	23.51±1.02	27.07±8.43

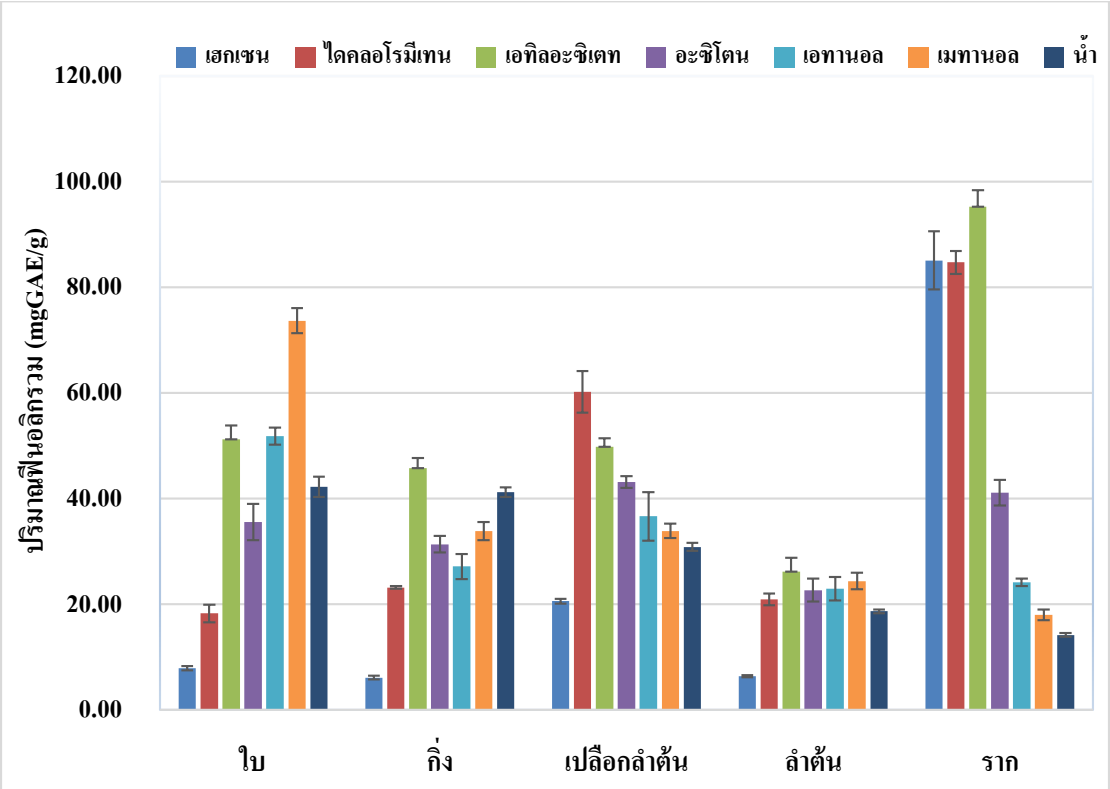


ภาพที่ 4-6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-6 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากราก (105.79±5.06 mgGAE/g) และเปลือกลำต้น (86.32±1.54 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง พบว่ารากและเปลือกลำต้นให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ใบ กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่า ๆ กัน

ตารางที่ 4-7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)				
ส่องฟ้า	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	7.87±0.41	6.11±0.36	20.59±0.43	6.39±0.16	85.06±5.51
ไดคลอโรมีเทน	18.27±1.65	23.18±0.24	60.21±3.92	20.92±1.07	84.71±2.20
เอทิลอะซิเตท	51.24±2.59	45.76±1.97	49.81±1.57	26.16±2.62	88.69±3.10
อะซิโตน	35.6±3.44	31.34±1.57	43.14±1.13	22.69±2.15	41.12±2.41
เอทานอล	51.82±1.64	27.14±2.33	36.67±4.59	22.95±2.25	24.15±0.74
เมทานอล	73.68±2.41	33.84±1.69	33.86±1.37	24.38±1.57	18.01±0.99
น้ำ	42.23±1.93	41.22±0.95	30.87±0.80	18.66±0.39	14.21±0.32

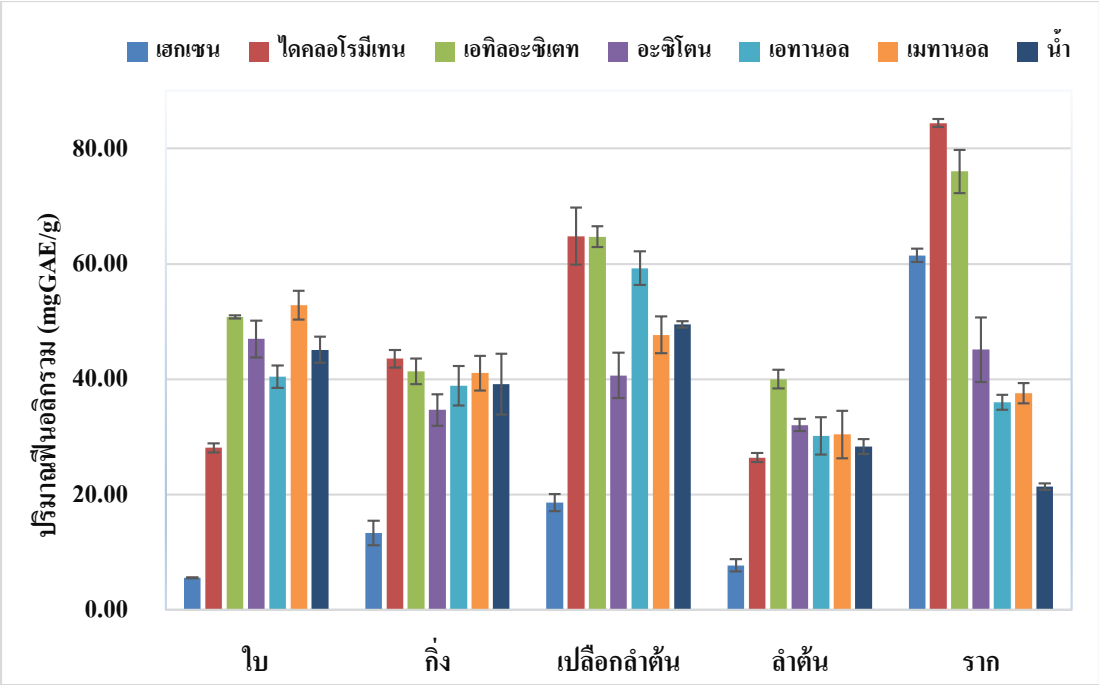


ภาพที่ 4-7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 4-7 และภาพที่ 4-7 ของส่วนสกัดหยาบจากรากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท (88.69±3.10 mgGAE/g) เฮกเซน (85.06±5.51 mgGAE/g) และไดคลอโรมีเทน (84.71±2.20 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า พบว่ารากให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ใบ เปลือกลำต้น กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่า ๆ กัน

ตารางที่ 4-8 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก

สารสกัดหยาบ	**ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)**				
สันโสก	**ใบ**	**กิ่ง**	**เปลือกลำต้น**	**ลำต้น**	**ราก**
เฮกเซน	5.57±0.11	13.37±2.13	18.66±1.48	7.73±1.08	61.47±1.15
ไดคลอโรมีเทน	28.12±0.76	43.56±1.54	64.82±4.94	26.42±0.76	84.43±0.71
เอทิลอะซิเตท	50.79±0.28	41.38±2.26	64.71±1.82	40.02±1.60	76.02±3.71
อะซิโตน	46.98±3.20	34.68±2.75	40.68±3.96	32.08±1.07	45.15±5.60
เอทานอล	40.47±1.95	38.85±3.43	59.27±2.92	30.19±3.24	36.04±1.29
เมทานอล	52.84±2.53	41.06±2.99	47.70±3.22	30.42±4.08	37.57±1.76
น้ำ	45.10±2.26	39.16±5.27	49.53±0.57	28.32±1.29	21.40±0.52



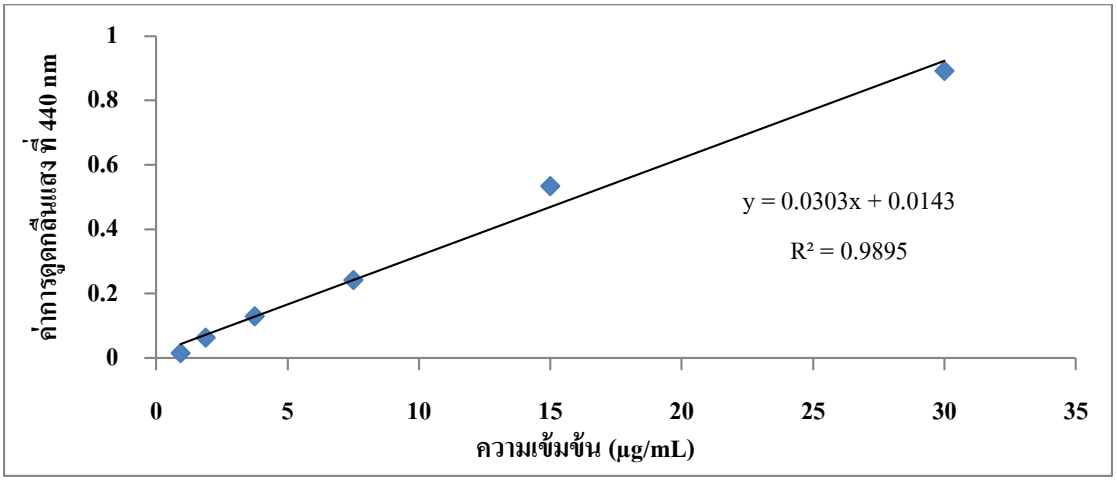
ภาพที่ 4-8 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมดังตารางที่ 4-8 และภาพที่ 4-8 ของส่วนสกัดหยาบจากรากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (84.43±0.71 mgGAE/g) เอทิลอะซิเตท (76.02±3.71 mgGAE/g) แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่ารากและเปลือกลำต้นให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ใบ กิ่ง และลำต้นจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่า ๆ กัน

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืช 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทจากรากของส่องฟ้าดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด ของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนต่าง ๆ พบว่าส่วนราก เปลือกลำต้น ใบ และกิ่ง ของพืชทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงเท่า ๆ กัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของพืชทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่น ๆ

4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content : TFC)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธีการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ($AlCl_3$) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat และLegret (1994) โดยใช้สารเคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐานพบว่าได้กราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ดังภาพที่ 4-9



ภาพที่ 4-9 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซิติน (Quercetin)

จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน (y = 0.0303x – 0.0143) สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบดังตารางที่ 4-5 ของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟลาโวนอยด์ และจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 4-9–4-11 โดยรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน ต่อน้ำหนักสารแห้ง 1 กรัม (mgQE/g)

ตารางที่ 4-9 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
ส่องฟ้าดง	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	NF[a]	10.28±0.01	0.25±0.17	NF[a]	1.37±1.23
ไดคลอโรมีเทน	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]	2.61±0.84
เอทิลอะซิเตท	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]	1.06±0.78
อะซิโตน	NF[a]	0.27±0.54	1.40±0.54	0.03±0.06	2.26±0.42
เอทานอล	NF[a]	0.23±0.14	0.04±0.14	NF[a]	0.46±0.12
เมทานอล	0.33±0.02	0.04±0.42	NF[a]	NF[a]	0.11±0.17
น้ำ	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]

NF[a] คือ ไม่พบสารดังกล่าว

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 4-9 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (10.28±0.01 mgQE/g) จากกิ่ง แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทุกชนิดมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยมาก และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนกิ่งและรากมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่า ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ และส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น ใบและลำต้น มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอ ๆ กัน

ตารางที่ 4-10 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
ส่องฟ้า	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	0.51±0.24	NF[a]	0.07±1.63	1.01±0.61	2.95±0.11
ไดคลอโรมีเทน	2.41±0.75	0.71±0.72	0.48±0.59	0.69±0.41	4.54±0.51
เอทิลอะซิเตท	1.41±0.11	9.59±0.48	1.24±1.07	0.57±0.48	1.22±0.50
อะซิโตน	1.76±0.03	6.58±0.66	1.85±1.03	0.01±0.05	0.25±0.65
เอทานอล	14.91±0.58	4.70±0.26	0.42±0.12	NF[a]	NF[a]
เมทานอล	14.99±1.53	5.67±0.28	0.28±0.22	NF[a]	NF[a]
น้ำ	3.67±0.20	0.50±0.19	NF[a]	NF[a]	NF[a]

NF[a] คือ ไม่พบสารดังกล่าว

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 4-10 ของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (14.99±1.53 mgQE/g) และเอทานอล (14.91±0.58 mgQE/g) จากใบ แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบและกิ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่า ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ และส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้น รากและลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอ ๆ กัน

ตารางที่ 4-11 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)				
สันโสก	ใบ	กิ่ง	เปลือกลำต้น	ลำต้น	ราก
เฮกเซน	NF[a]	NF[a]	NF[a]	1.21±0.07	2.72±0.05
ไดคลอโรมีเทน	NF[a]	NF[a]	NF[a]	NF[a]	0.99±0.16
เอทิลอะซิเตท	6.17±3.54	0.32±0.50	2.85±1.07	0.55±0.56	1.08±0.61
อะซิโตน	10.35±0.46	1.71±0.25	0.34±0.33	0.18±0.12	0.02±1.34
เอทานอล	11.67±0.85	0.69±0.10	0.33±0.29	NF[a]	NF[a]
เมทานอล	12.08±1.13	0.66±0.13	NF[a]	0.03±0.03	NF[a]
น้ำ	0.41±0.48	0.40±0.15	NF[a]	NF[a]	NF[a]

NF[a] คือ ไม่พบสารดังกล่าว

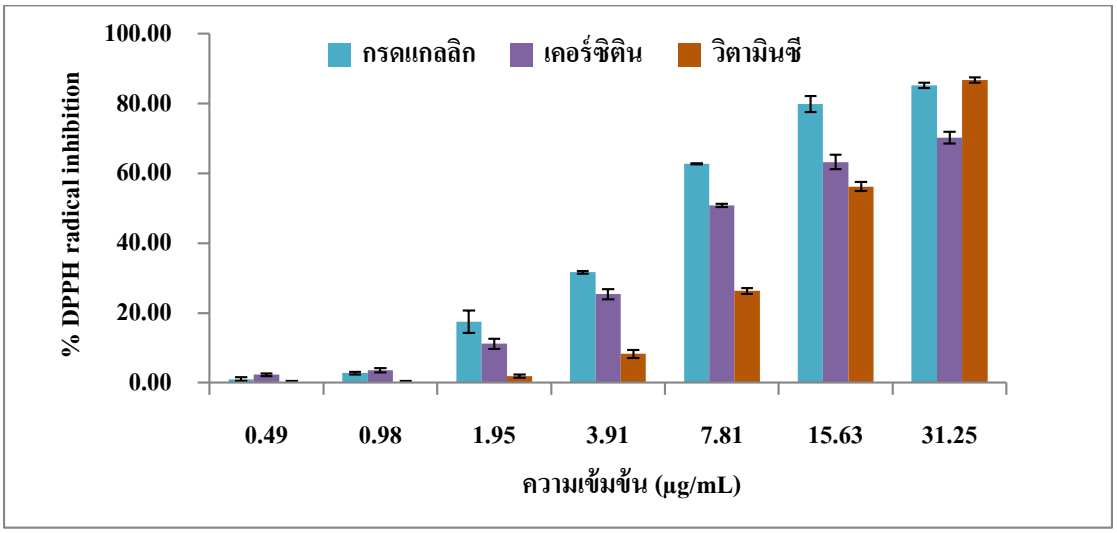
จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดังตารางที่ 4-11 ของส่วนสกัดหยาบจากสันโสก พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (12.08±1.13 mgQE/g) เอทานอล (11.67±0.85 mgQE/g) และอะซิโตน (10.35±0.46 mgQE/g) จากใบ แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่าส่วนใบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอ ๆ กัน

จากผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากส่วนต่าง ๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่องฟ้า (0.07±1.63 ถึง 14.99±1.53 mgQE/g) แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ สันโสก (0.02±1.34 ถึง 12.08±1.13 mgQE/g) และ ส่องฟ้าดง (0.03±0.06 ถึง 10.28±0.01 mgQE/g) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วมากถึงปานกลาง มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง และจากการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนต่าง ๆ พบว่าส่วนใบและกิ่ง ของสันโสก

มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ส่วนสกัดจากส่วนอื่น ๆ เช่น ราก เปลือกลำต้น และลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยพอ ๆ กัน

4.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

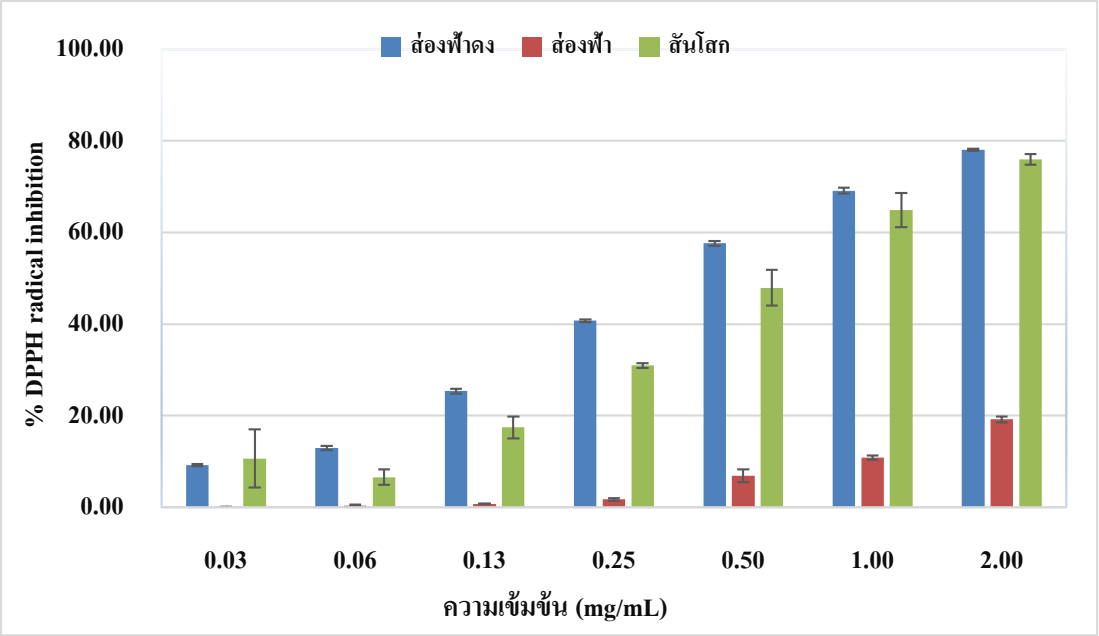
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Braca, Sortino, Politi, Morelli, and Mendez (2002) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เคอร์ซิติน (Quercetin) และวิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ได้ผลการทดลองแสดงเป็นค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ดังภาพที่ 4-10



ภาพที่ 4-10 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก เคอร์ซิติน และวิตามินซี

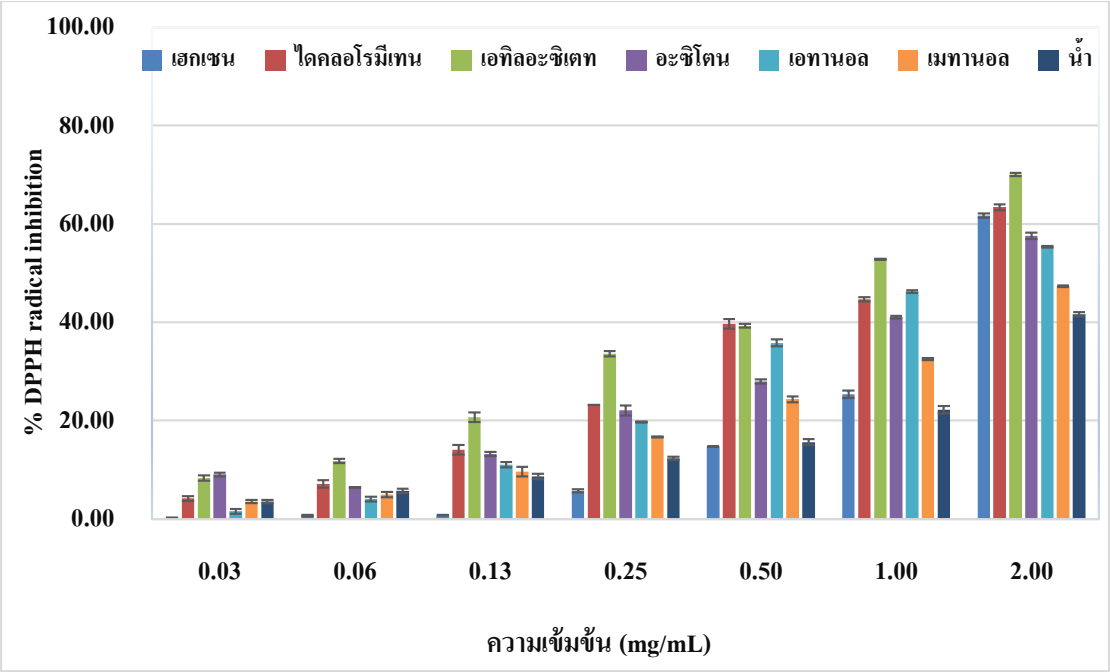
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังภาพที่ 4-10 ของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก เคอร์ซิติน และวิตามินซี พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 15.63 µg/mL สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (79.85±2.32 µg/mL) รองลงมาได้แก่ เคอร์ซิติน (63.23±2.03 µg/mL) และ วิตามินซี (56.19±1.33 µg/mL) ตามลำดับ จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดและสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ด้วยวิธีการทดลอง

เช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐาน โดยรายงานผลด้วยค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากการทดสอบได้ผลดังภาพที่ 4-11 – 4-29

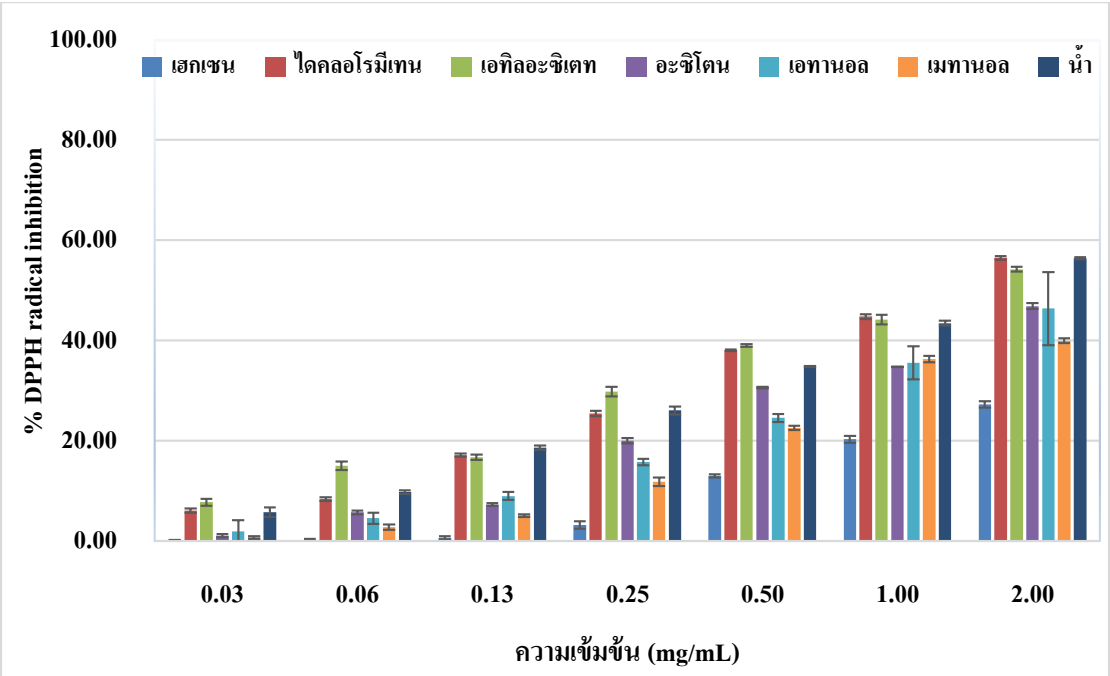


ภาพที่ 4-11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด

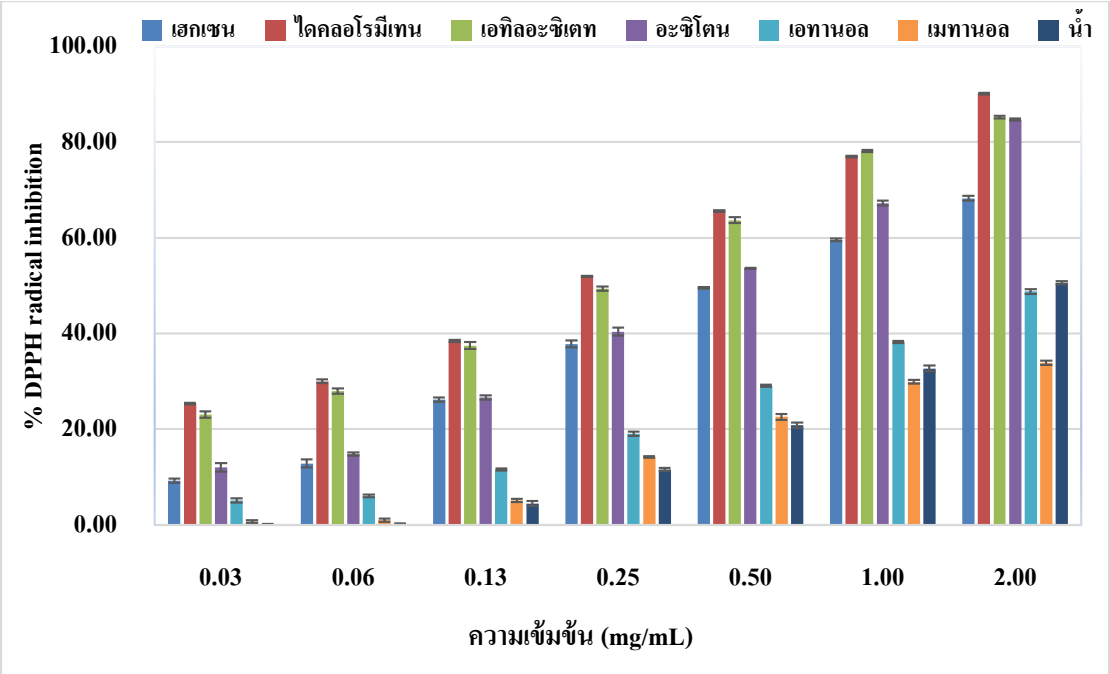
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด ดังภาพที่ 4-10 พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (78.08±0.25 %) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า สันโสก (75.99±1.15 %) และส่องฟ้า (19.18±0.67 %) ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมที่น้ำมันหอมระเหยจากส่องฟ้าดง พบปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมาคือ สันโสก และส่องฟ้าตามลำดับ ดังตารางที่ 4-5



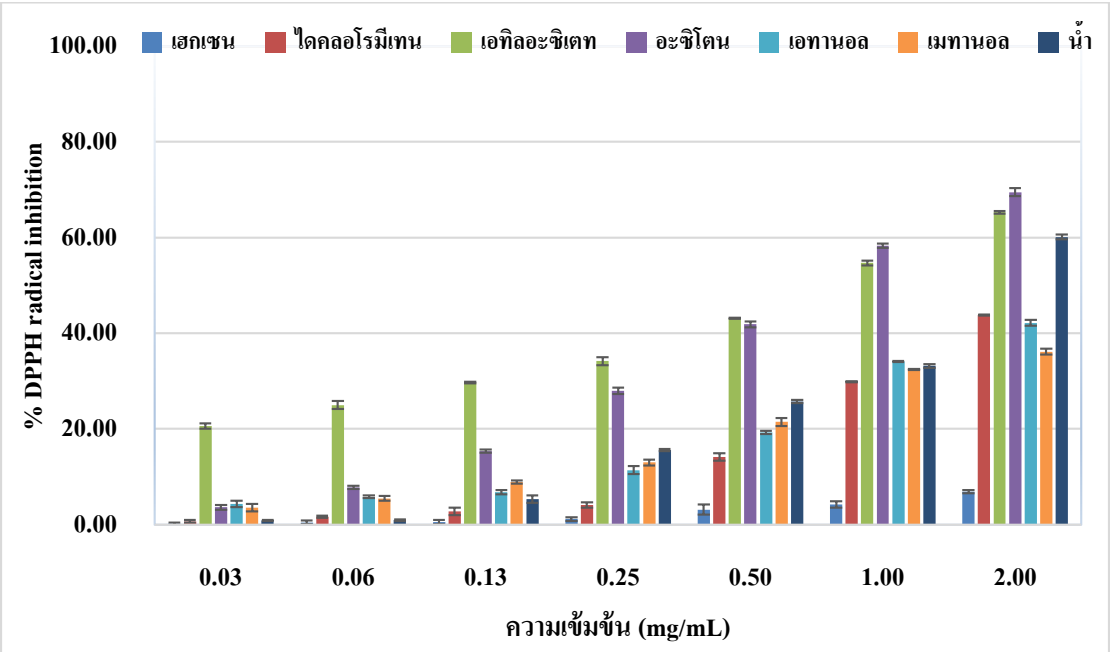
ภาพที่ 4-12 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้าดง



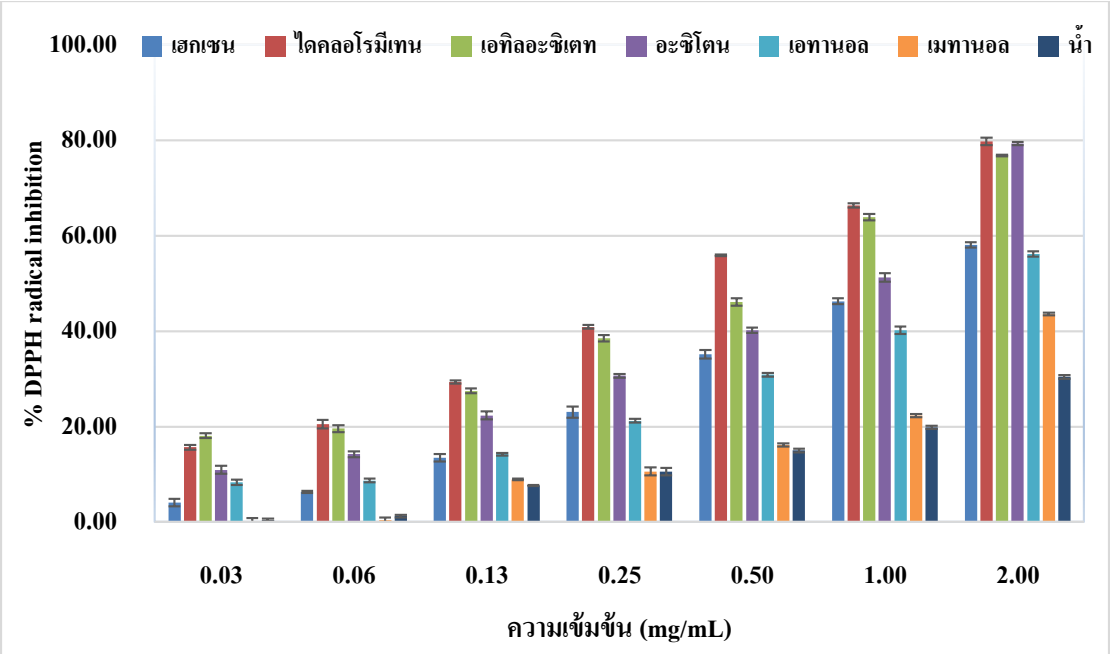
ภาพที่ 4-13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้าดง



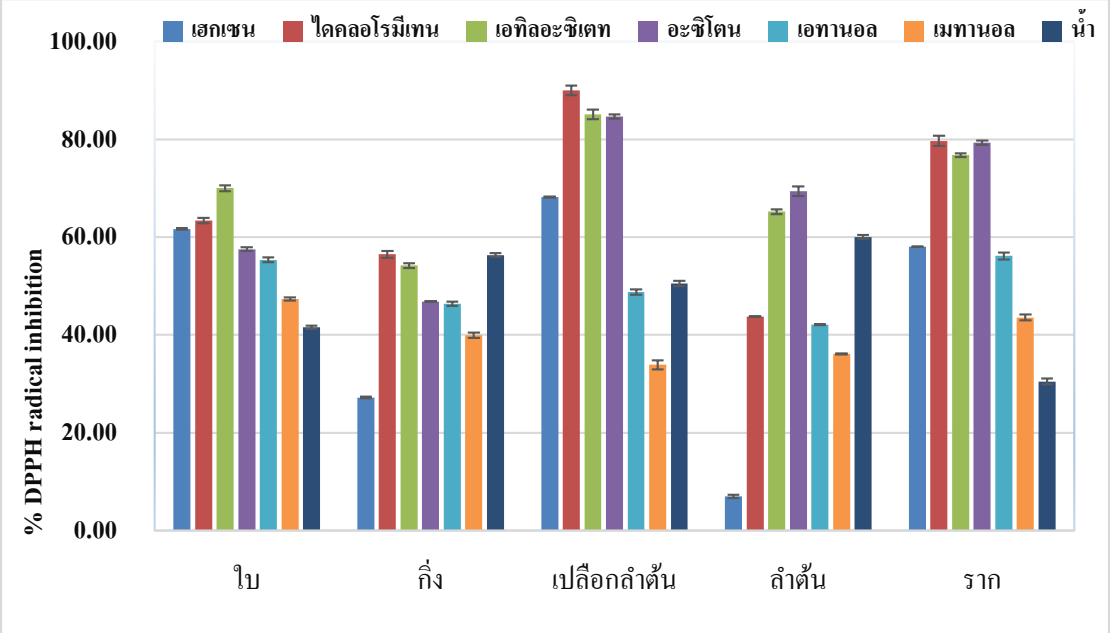
ภาพที่ 4-14 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง



ภาพที่ 4-15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้าดง

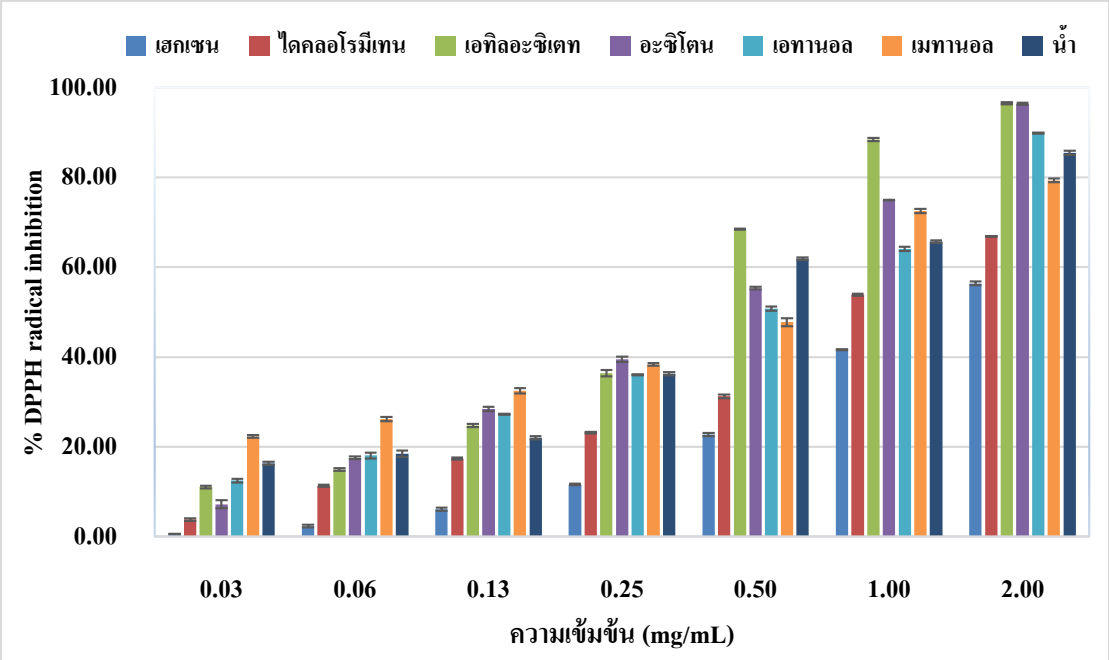


ภาพที่ 4-16 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้าดง

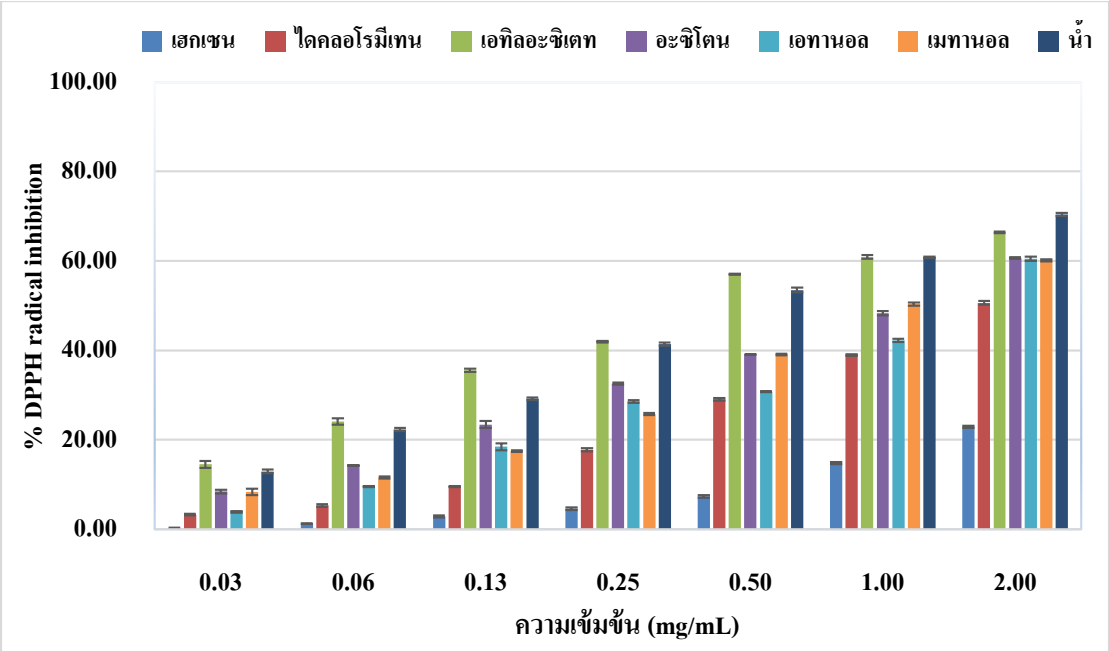


ภาพที่ 4-17 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้าดง ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL

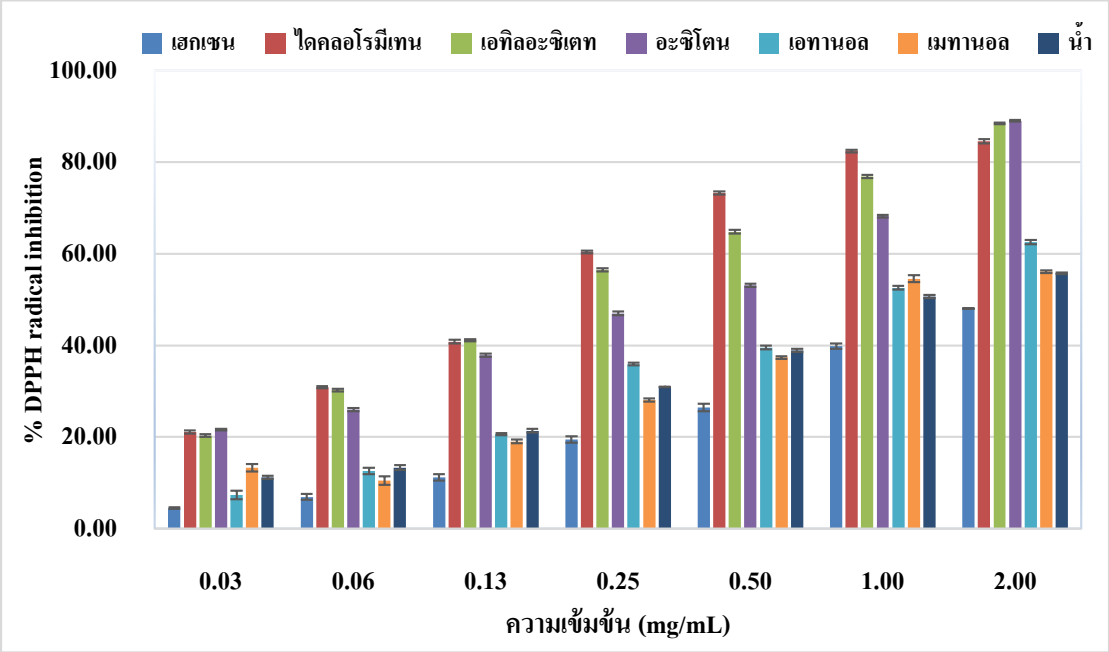
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังภาพที่ 4-17 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (90.06±0.18 %) เอทิลอะซิเตท (85.20±0.27 %) และอะซิโตน (84.72±0.21 %) จากเปลือกลำต้น มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลาง มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี และจากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของส่องฟ้าดง พบว่าส่วนเปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ส่วนสกัดส่วนอื่น ๆ เช่น ใบ ลำต้น และกิ่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน



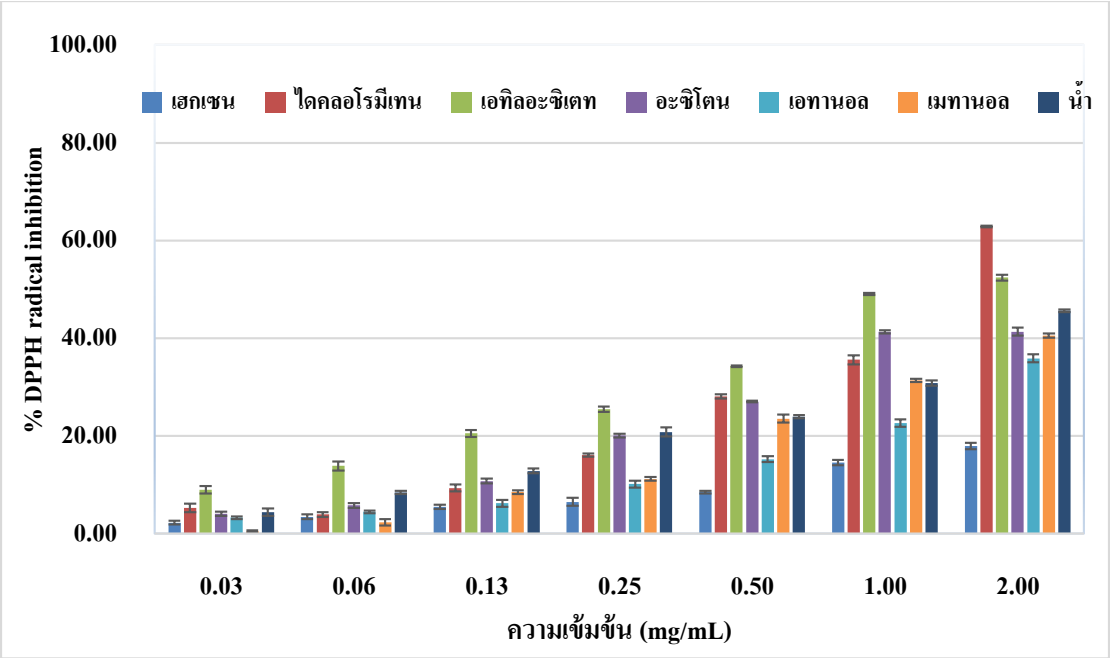
ภาพที่ 4-18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของส่องฟ้า



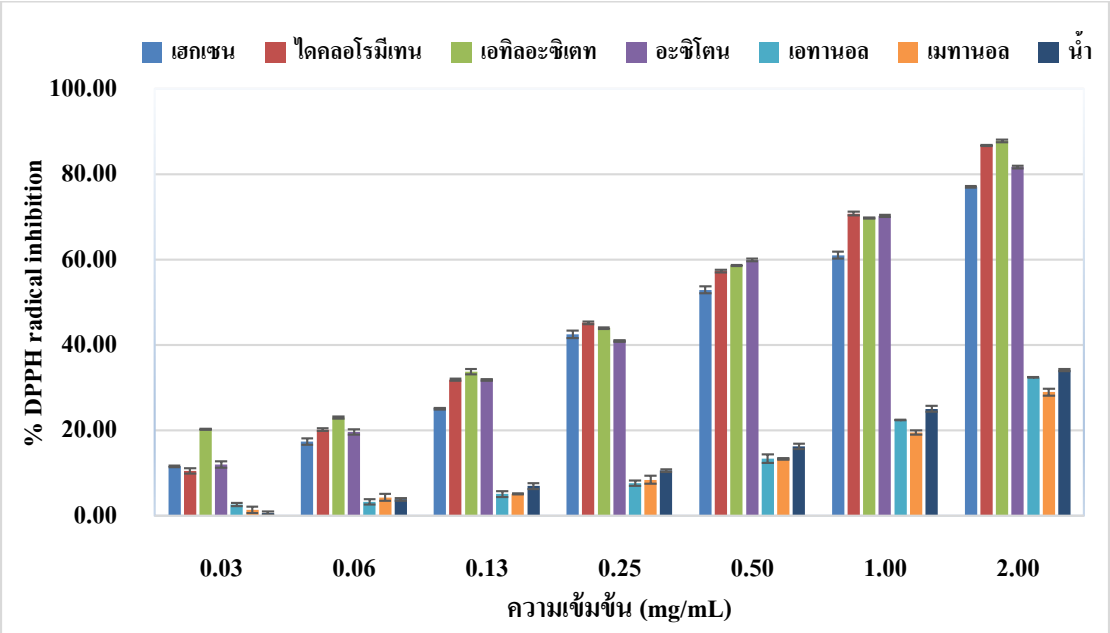
ภาพที่ 4-19 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของส่องฟ้า



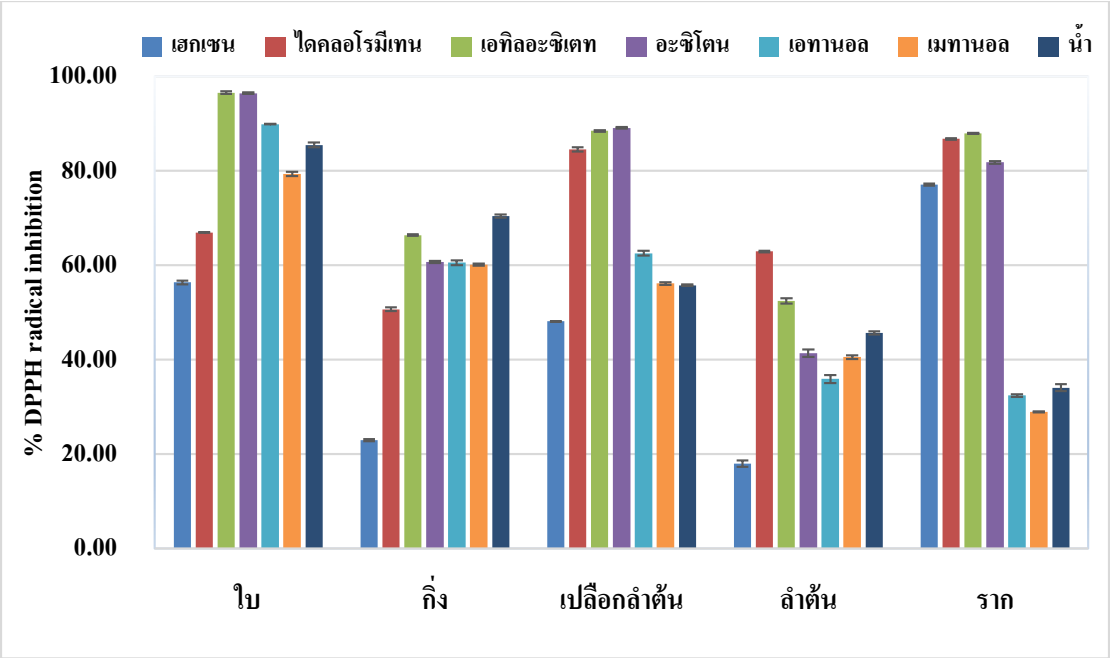
ภาพที่ 4-20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้า



ภาพที่ 4-21 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของส่องฟ้า

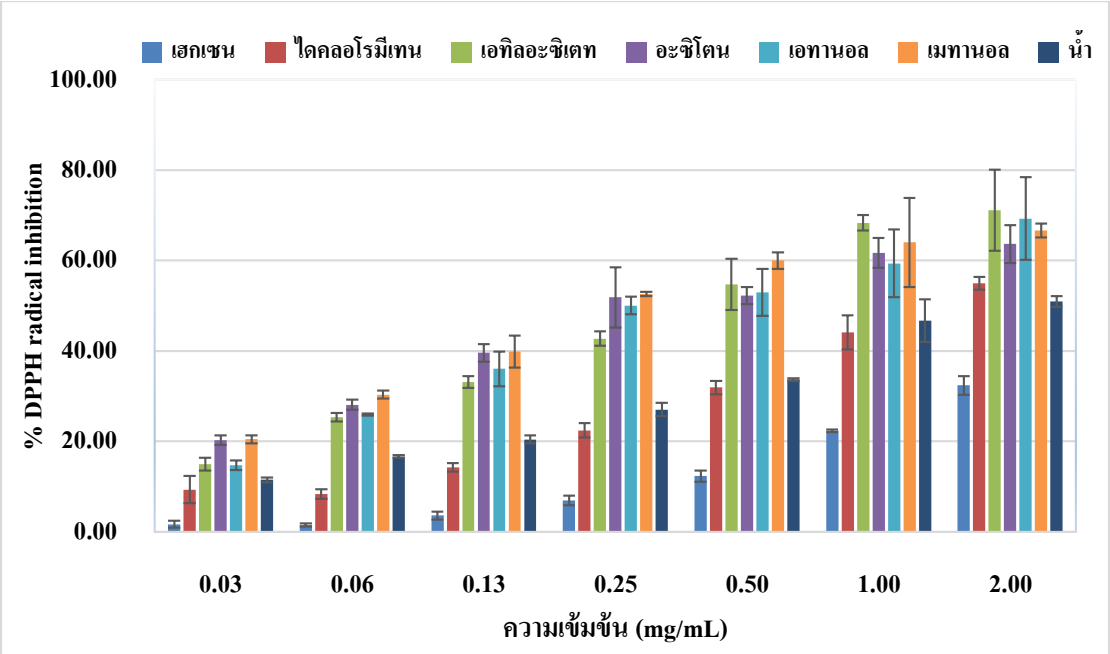


ภาพที่ 4-22 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของส่องฟ้า

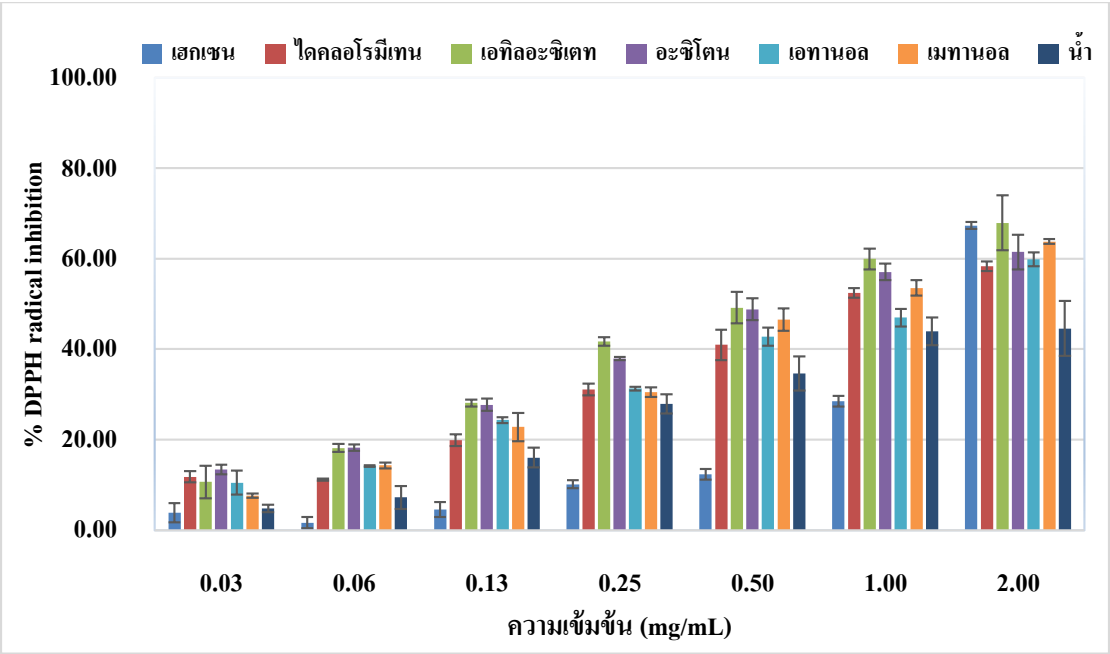


ภาพที่ 4-23 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่องฟ้า ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL

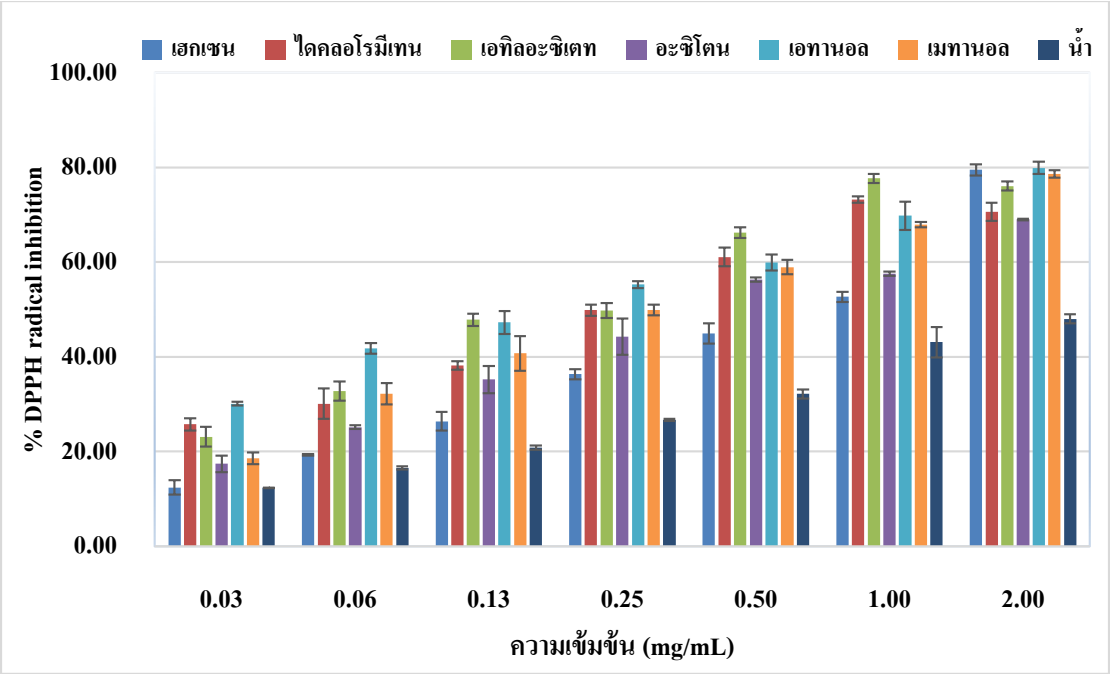
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังภาพที่ 4-23 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของส่องฟ้า พบว่าที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตท (96.54±0.25 %) อะซิโตน (96.39±0.18 %) และเอทานอล (89.86±0.07 %) จากใบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางของพืชในส่วนเปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 88.44±0.19 ถึง 77.04±0.26 % และในส่วนของใบพบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางถึงสูงจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีเช่นกัน นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า พบว่าส่วนใบ เปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าส่วนสกัดส่วนอื่น ๆ เช่น ลำต้น และกิ่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน



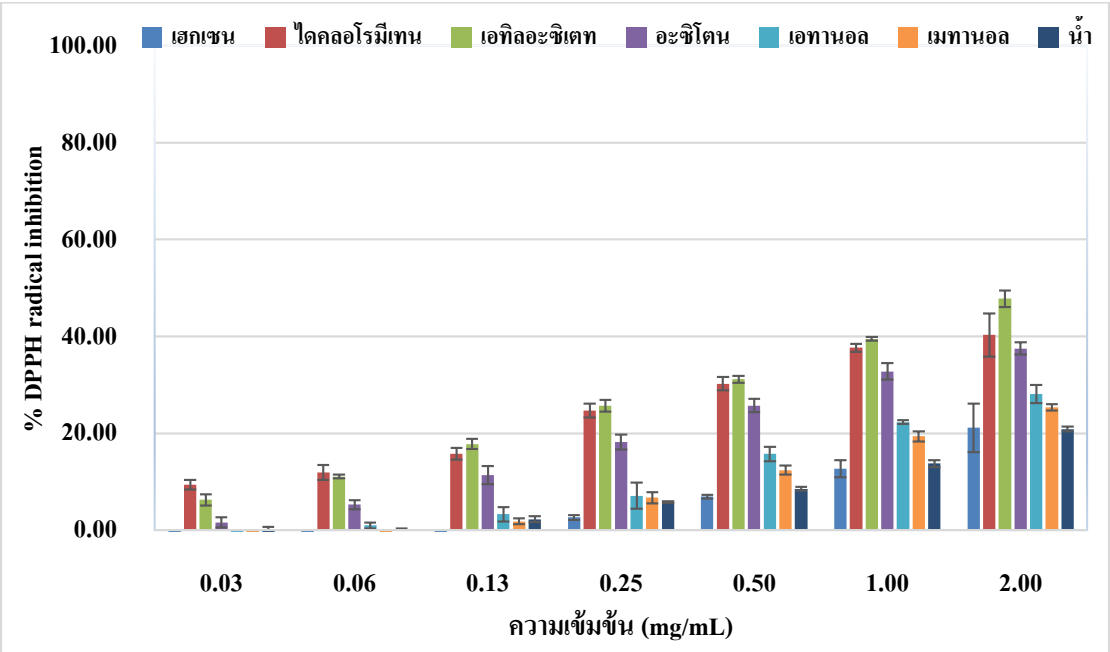
ภาพที่ 4-24 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบของสันโสก



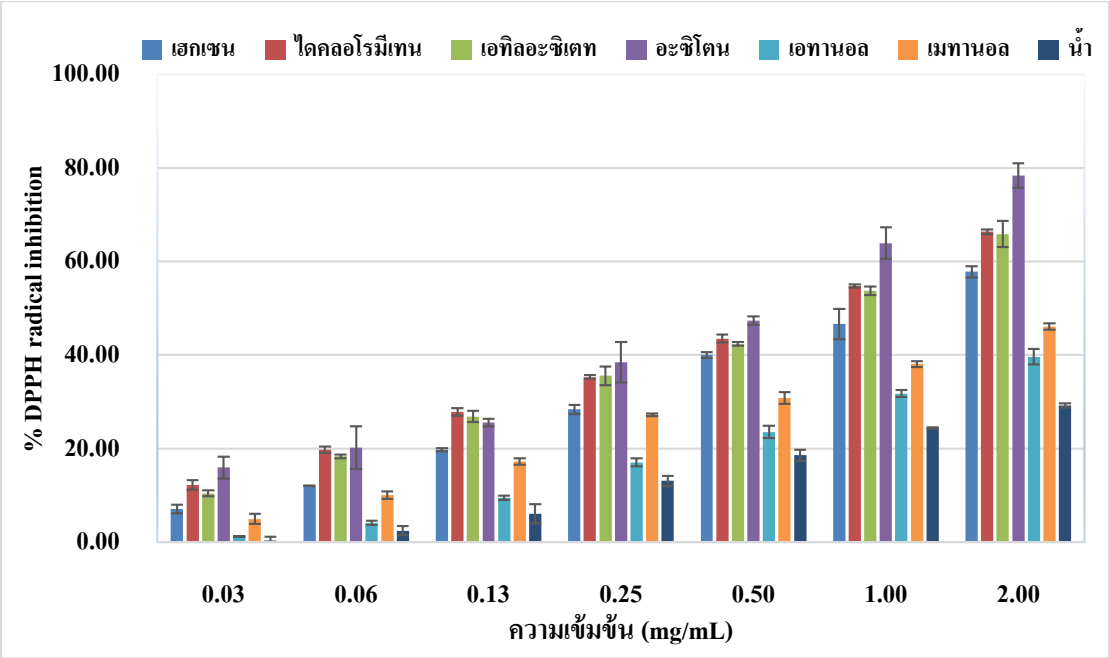
ภาพที่ 4-25 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากกิ่งของสันโสก



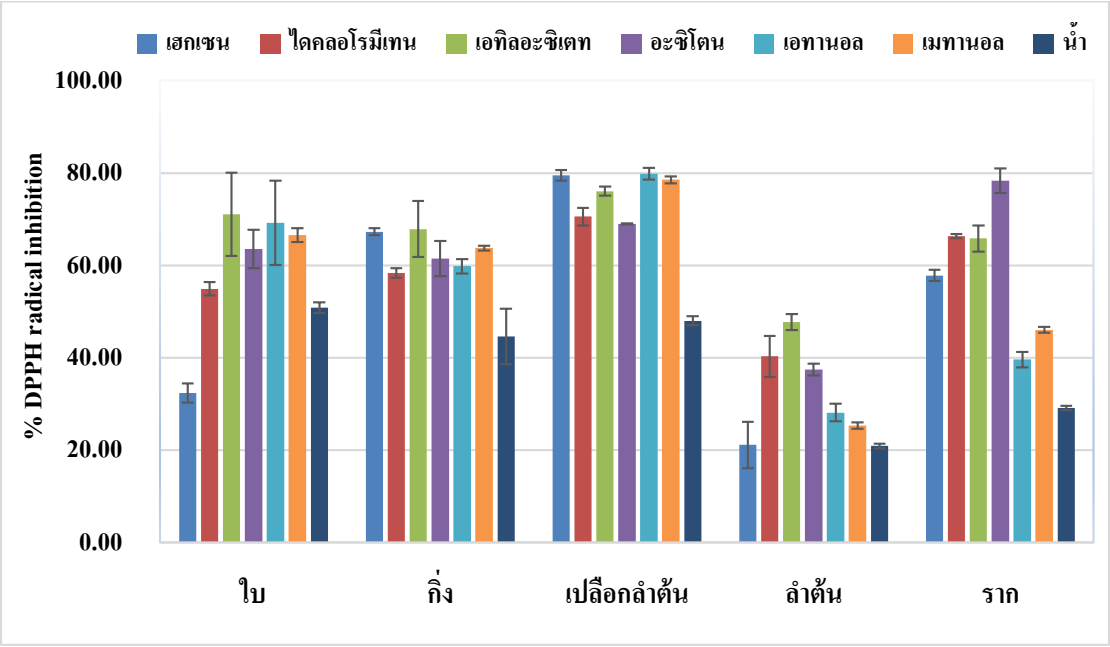
ภาพที่ 4-26 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของสันโสก



ภาพที่ 4-27 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากลำต้นของสันโสก



ภาพที่ 4-28 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากรากของสักโสก



ภาพที่ 4-29 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบของสันโสก ที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังภาพที่ 4-29 ของส่วนสกัดหยาบจากใบ กิ่ง เปลือกต้น ลำต้น และรากของสันโสก พบว่าที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (79.91±1.30 %) เฮกเซน (79.50±1.16 %) และเมทานอล (78.61±0.76 %) จากเปลือกลำต้น มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ และจากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่าส่วน เปลือกลำต้น กิ่ง ใบ และราก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเท่า ๆ กัน สำหรับส่วนสกัดในส่วนลำต้น จะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่น้อยกว่ามาก

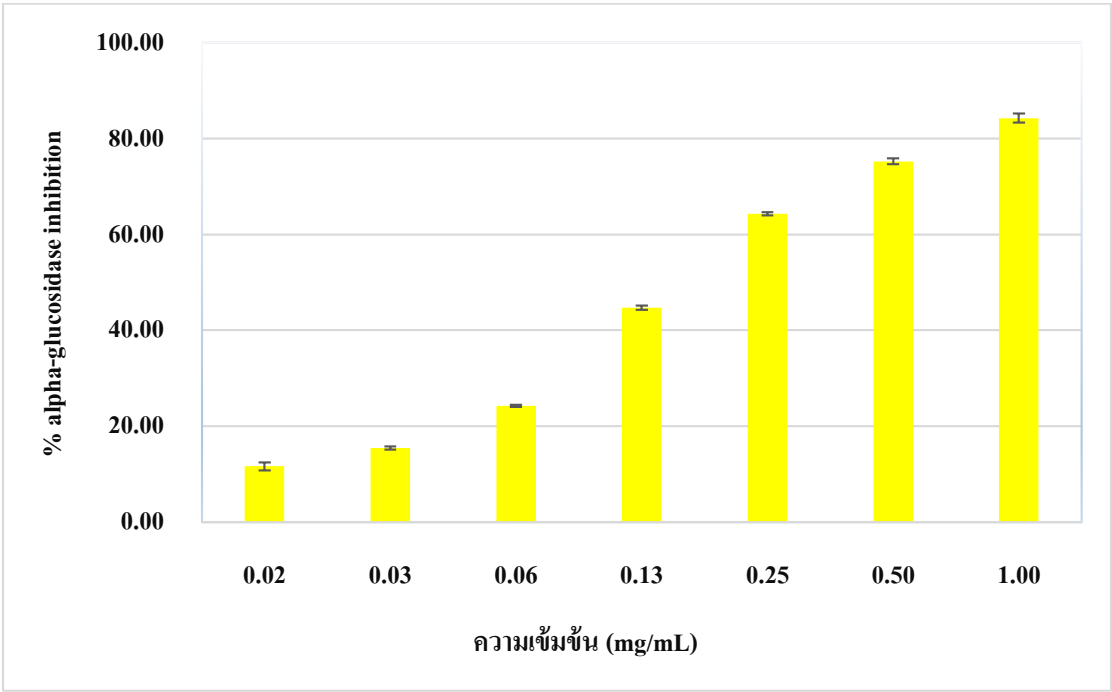
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การหาปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด ของพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก พบว่าพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีพอ ๆ กัน โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี และนอกจากนี้พบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของพืชทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนอื่น ๆ ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด ในส่วนลำต้นที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด แสดงว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

4.6 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti-alpha-glucosidase assay)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ด้วยวิธี *p*-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui, Yoshimoto, Oki, and Osajima (1996) โดยใช้อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของอคาร์โบสที่ใช้เป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 2 mg/mL ได้ผลการทดลองแสดงเป็นค่าร้อยละของฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4-30

ตารางที่ 4.12 ร้อยละของการฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอคาร์โบส

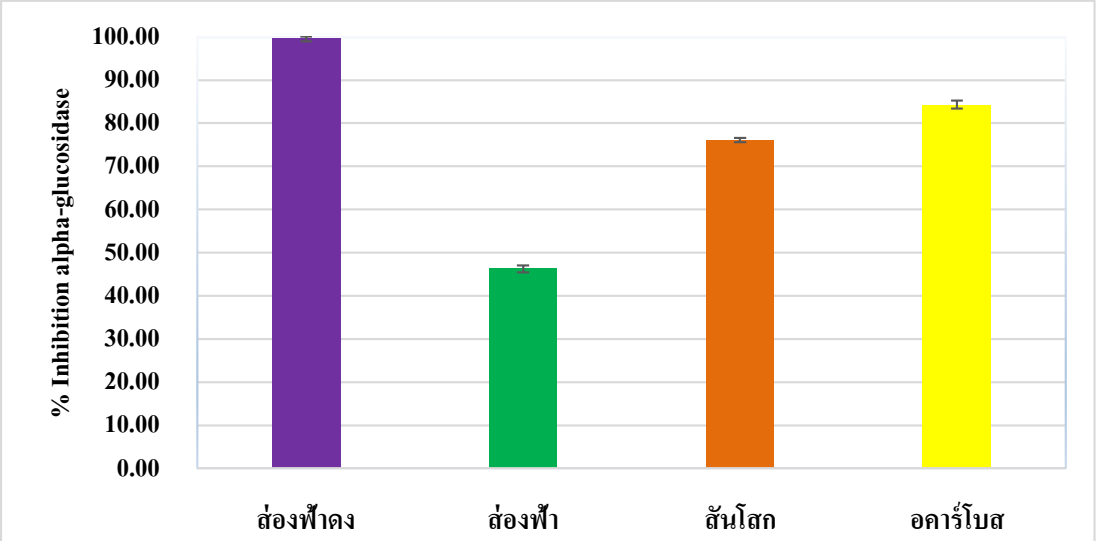
ความเข้มข้น (mg/ml)	ร้อยละของการฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (% alpha-glucosidase inhibition) ของสารมาตรฐานอคาร์โบส
0.02	11.61±0.86
0.03	15.43±0.38
0.06	24.26±0.20
0.13	44.70±0.43
0.25	64.32±0.32
0.50	75.24±0.63
1.00	84.27±0.93



ภาพที่ 4-30 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของสารละลายมาตรฐานอคาร์โบส

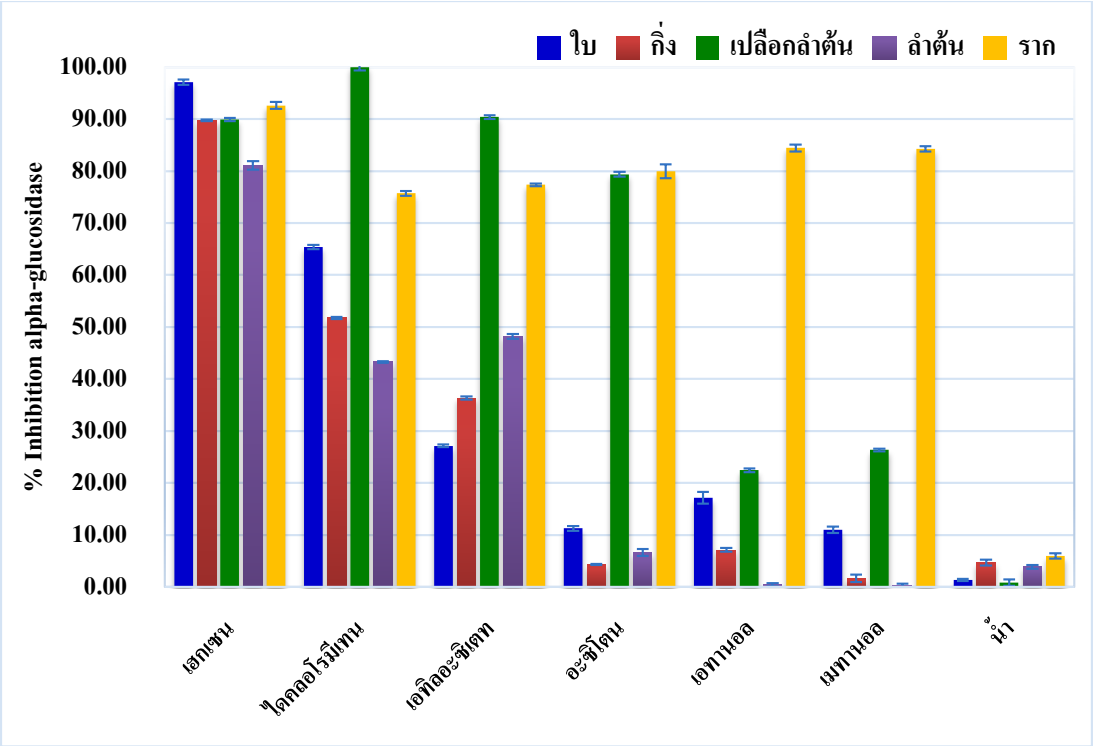
จากผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส ดังตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-30 พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 84.27 ±0.93 ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสด และสารสกัดหยาบในตัวทำละลายอินทรีย์ 7 ชนิด จากส่วนใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ลำต้น และราก ของพืชทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับสารมาตรฐาน โดยรายงานด้วยค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส จากการทดสอบได้ผลดังภาพที่ 4-31–4-34



ภาพที่ 4-31 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด และสารละลายมาตรฐานอคาร์โบสที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

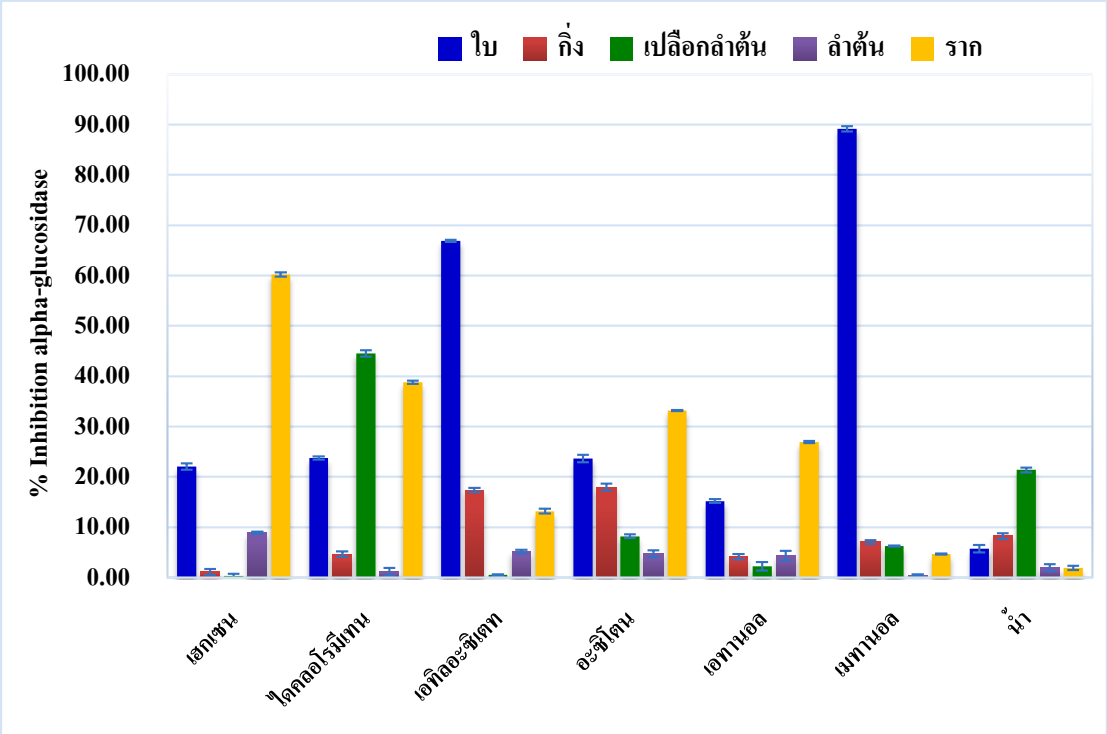
จากผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชทั้ง 3 ชนิด ดังภาพที่ 4-31 พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยของส่องฟ้าดง (99.56±0.55 %) แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ดีกว่าสันโสก (76.09±0.50 %) และส่องฟ้า (46.23±0.82 %) และพบว่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่องฟ้าดงมีค่ามากกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน



ภาพที่ 4-32 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของส่องฟ้าดง ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังภาพที่ 4-32 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้าดง พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (99.94±0.59 %) จากเปลือกลำต้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ส่วนสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากใบ (97.10±0.53 %) และราก (92.61±0.69 %) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดีที่สุด ที่มีค่าอยู่ในช่วง 81.08±0.84 ถึง 97.10±0.53 % และพบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางของพืชในส่วนเปลือกลำต้นมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่สูง (79.38±0.50 ถึง 99.94±0.59 %) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดหยาบจากรากแทบทุกตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ดีเท่า ๆ กัน มีค่าอยู่ในช่วง 75.73±0.46 ถึง 92.61±0.69 % ยกเว้นตัวทำละลายที่เป็นน้ำมีฤทธิ์การยับยั้งน้อย และยังพบอีกว่าสารสกัดหยาบชั้นน้ำจากทุกส่วนของพืชที่ศึกษามีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่น้อยที่สุด นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-

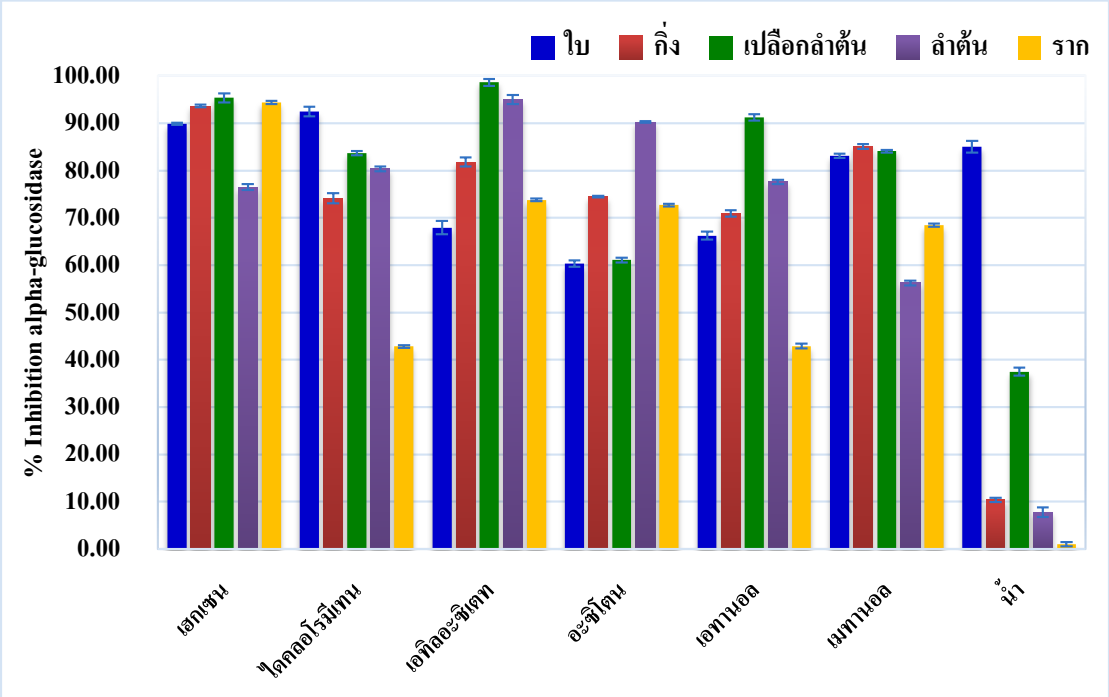
กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของส่องฟ้าดง พบว่าส่วน เปลือกลำต้น และราก มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีเท่า ๆ กัน สำหรับส่วนสกัดในส่วน ใบ กิ่ง และลำต้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่า ๆ กัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบของส่องฟ้าดงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยมีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL



ภาพที่ 4-33 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของส่องฟ้า ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังภาพที่ 4-33 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของส่องฟ้า พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (89.16±0.53 %) จากใบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุดและสูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.98 %) รองลงมาคือส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตทจากใบ (66.87±0.23 %) นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ไม่ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้เมื่อทำการ

เปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆของส่องฟ้า พบว่าใบและราก มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่สูงเมื่อเทียบกับส่วนเปลือกลำต้นและกิ่ง สำหรับส่วนลำต้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส น้อยที่สุด



ภาพที่ 4-34 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบของสันโสก ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ดังภาพที่ 4-34 ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ของส่วนสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นในชั้นเอทิลอะซิเตท (98.65±0.74 %) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่สุดที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากส่วนเปลือกลำต้น (95.39±0.98 %) และสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากส่วนราก (94.39±0.33 %) ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด พบว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงมาก มีประสิทธิภาพในการการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ดี และสูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) และจากการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของสันโสก พบว่าแทบทุกส่วนมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีเท่า ๆ กัน

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง (99.94±0.59 %) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (80.49±0.16 mgGAE/g) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (90.06±0.18 %) ที่พบสูงที่สุดเช่นเดียวกัน และพบว่าทุก ๆ ตัวทำละลายของส่วนสกัดจากสันโสกมีประสิทธิในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าส่องฟ้าดง และส่องฟ้า ตามลำดับ นอกจากนี้ทุก ๆ ส่วนสกัดจากสันโสกยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสดีกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบสอีกด้วย

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากใบสดของพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิด คือ ส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก พบว่าที่ความเข้มข้น 2.00 mg/mL ส่องฟ้าดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (78.08±0.25 %) ได้ดีกว่าสันโสกและส่องฟ้า และที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL ส่องฟ้าดงมีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (99.56±0.55 %) ได้ดีกว่าสันโสกและส่องฟ้าเช่นเดียวกัน และพบว่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่องฟ้าดงมีค่ามากกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส (84.27±0.93 %) และปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ชนิด นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าส่วนสกัดหยาบจากส่วนใบในชั้นเอทิลอะซิเตตและอะซิโตน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด (96.54±0.25 % และ 96.39±0.18 % ตามลำดับ) และพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกลำต้นในชั้นไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเช่นเดียวกัน (96.54±0.25 %) นอกจากนี้ยังพบว่าพืชวงศ์ส้มทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีพอ ๆ กัน โดยในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยถึงปานกลางจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี สำหรับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทนจากเปลือกลำต้นของส่องฟ้าดง (99.94±0.59 %) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ดีที่สุด และมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (80.49±0.16 mgGAE/g) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (90.06±0.18 %) ที่พบสูงที่สุดเช่นเดียวกัน และพบว่าส่วนสกัดหยาบจากสันโสกแทบทุกส่วนและทุกตัวทำละลายอินทรีย์มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีกว่าส่องฟ้าดงและส่องฟ้า

จากข้อมูลการวิจัยดังกล่าวทำให้ทราบว่าส่องฟ้าดง ส่องฟ้า และสันโสก ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ส้มที่พบในประเทศไทยนั้นสามารถนำมาใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดจากอนุมูลอิสระได้และเป็นการยกระดับพืชสมุนไพรของไทยให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของส่วนสกัดหยาบน้ำมันหอมระเหยและส่วนสกัดหยาบของพืชวงศ์ส้ม เพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์สู่การค้นพบยา หรือส่วนประกอบของยาที่จะสามารถนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ

2. ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน หากต้องการนำไปใช้เพื่อพัฒนาเป็นยาในการรักษา หรือแปรรูปเป็นชาชงเพื่อลดน้ำตาลในเลือด ควรทดสอบความเป็นพิษ (Toxicity) เพิ่มเติม

บรรณานุกรม

ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2560). *สมัดน้อย*. เข้าถึงได้จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=114.

เต็ม สมิตินันทน์. (2557). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม 2557*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

ตุลา ทองทุม. (2552). *การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารจากรากส่องฟ้าและฤทธิ์ทางชีวภาพ*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมีอินทรีย์, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ฝ่ายอนุกรมวิธานพืช สำนักงานหอพรรณไม้. (2560, 22 พฤษภาคม 2560). *แจ้งผลการตรวจสอบชนิดพันธุ์พืช*. ใบนัดรับผลการตรวจสอบชนิดพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ.

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. (2558). *ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ 2.ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม 2558* . ชลบุรี.

วิไล อ่อนศิลา. (2555). *เบาใจไม่เป็นเบาหวาน*. กรุงเทพฯ: พิมพ์ดีการพิมพ์.

ศิริธร ศิริอมรพรรณ. (2557). *สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สุณี ธนาเลิศกุล. (2552). *หยุดยั้งและควบคุมเบาหวาน*. กรุงเทพฯ: รีดเดอร์ส ไดเจสท์.

สุธรรม อารีกุล. (2552). *องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของประเทศ เล่ม 1-3*. เชียงใหม่: มูลนิธิโครงการหลวง.

อธิป ลิขิตลิลิต. (2557). *อนุมูลอิสระ : แหล่งกำเนิดและการเกิดโรค*. กรุงเทพฯ: พี. เอ. ลิฟวิ่ง.

อารีนี ชัชวาลชลธีระ. (2552). *ผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากส่องฟ้าดงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เพาะแยกได้จากสัตว์*. ขอนแก่น: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น .

โอภา วัชระคุปต์. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ*. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrate, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d' un extrait de propolis et indentification des principaux constituants. *J. de Phamacie de Belgique*, *49*, 462-468.

Auranwiwat, C., Laphookhieo, S., Trisuwan, K., G. Pyne, S., & Ritthiwigrom, T. (2014) Carbazole alkaloids and coumarins from the roots of *Clausena guillauminii*. *Phytochemistry Letters*, *9*, 113-116.

Braca, A., He, X., Zhou, S., Luo, A., He, T., & Chun, Z. (2009). Antioxidant activity of Flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, *79*(3), 379-381.

Kumar, R., Saha, A., & Saha, D. (2012). A new antifungal coumarin from *Clausena excavata*. *Fitoterapia*, *83*, 230-233.

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

Maneerat, W., Phakhodee, W., Ritthiwigrom, T., Cheenpracha, S., Promgool, T., Yossathera, K., Deachathai, S., & Laphookhieo, S. (2012). Antibacterial carbazole alkaloids from *Clausena harmandiana* twigs. *Fitoterapia*, *83*, 1110-1114.

Maneerat, W., Phakhodee, W., Ritthiwigrom, T., Cheenpracha, S., Promgool, T., Yossathera, K., Deachathai, S., & Laphookhieo, S. (2013). Phenylpropanoid derivatives from *Clausena harmandiana* fruits. *Phytochemistry Letters*, *6*, 18-20.

Matsui, T., Yoshimoto, C., Osajima, K., Oki, T., & Osajima, Y. (1996). In vitro survey of alpha-glucosidase inhibitory food components. *Journal Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *60*(12), 2019-2022.

Meragelman, K. M., McKee, T. C., & Boyd, M. R. (2000). Siamenol, a New Carbazole Alkaloid from *Murraya siamensis*. *Journal of Natural Products*, *63*, 427-428.

Nakamura, T., Kodama, N., Arai, Y., Kumamota, T., Higuchi, Y., Chaichantipyuth, C., Ishikawa,T., Ueno, K., & Yano, S. (2009). Inhibitory effect of oxycoumarins isolated from the Thai medicinal plant *Clausena guillauminii* on the inflammation mediators, iNOS, TNF-α, and COX-2 expression in mouse macrophage RAW 264.7. *Journal of Natural Medicines*, *63*, 21-27.

Noipha, K., Thongthoom, T., Songsiang, U., Boonyarat, C., & Yenjai, C. (2010). Carbazoles and coumarins from *Clausena harmandiana* stimulate glucose uptake in L6 myotubes. *Diabetes Researchand Clinical Practice*, *90*, 67-71.

Rahman, M. T., Alimuzzaman, M., Shilpi, J. A., & Hossain, M. F. (2002). Antinociceptive activity of *Clausena excavata* leaves. *Fitoterapia*, *73*, 701-703.

Rungprom, W., Siripornvisal, S., & Lianthong, S. (2009). α-Glucosidase Inhibitor from *Moringa oleifera* Lamk. *Agricultural Sci. J*, *40*(3), 49-52.

Songsiang, U., Thongthoom, T., Boonyarat, C., & Yenjai, C. (2011). Claurailas A-D, Cytotoxic Carbazole Alkaloids from the Roots of *Clausena harmandiana*. *Journal of Natural Products*, *74*, 208-212.

Songsiang, U., Thongthoom, T., Zeekpudsa, P., Kukongviriyapan, V., Boonyarat, C., Wangboonskul, J., & Yenjai, C. (2012). Antioxidant activity and cytotoxicity against cholangiocarcinoma of carbazoles and coumarins from *Clausena harmandiana*. *ScienceAsia, 38,* 75-81.

Sriphana, U., & Thongsri, Y. (2013). Clauraila E from the roots of *Clausena harmandiana* and antifungal activity against *Pythium insidiosum*. *Archives of Pharmacal Research*, *36*, 1078–1083.

Sripisut, T., Cheenpracha, S., Ritthiwigrom, T., Uma Prawat, U., & Laphookhieo1, S. (2012). Chemical Constituents from the Roots of *Clausena excavata* and Their Cytotoxicity. *Records of Natural Products*, *6*(4), 386-389.

Thi Thuy, T., Ripperger, H., Porzel, A., Van Sung, T., & Adam, G. (1999). Counlarins, limonoids and an alkaloid from *Clausena excavate*. *Phytochemistry*, *52*, 511-516.

Thongthoom, T., Songsiang, U., Phaosiri, C., & Yenjai, C. (2010). Biological Activity of Chemical Constituents from *Clausena harmandiana*. *Archives of Pharmacal Research*, *33*(5), 675-680.