

ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์
และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า

ชมัษฎพร รอดกลิ่น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีศึกษา

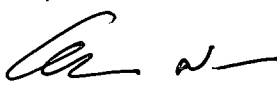
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

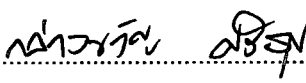
สิงหาคม 2559

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

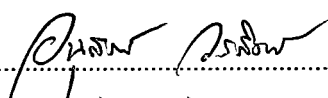
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ชมัยพร รอดกลิ่น ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

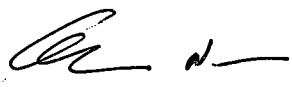
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

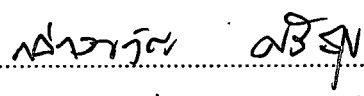

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)

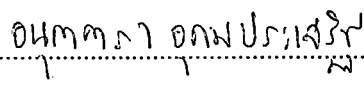

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. กล่าวขวัญ ศรีสุข)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

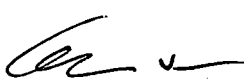

..... ประธาน
(ดร. อนุสรณ์ วรสิงห์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กล่าวขวัญ ศรีสุข)


..... กรรมการ
(ดร. อนุตตรา อุดมประเสริฐ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษาของมหาวิทยาลัยบูรพา


..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 30 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2559

การวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนการศึกษา
โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์
จากสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ระดับปริญญาโท ปีการศึกษา 2556

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดีด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร. เอกรัฐ ศรีสุข อาจารย์
ที่ปรึกษาหลัก รศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่
ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วน และเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา
ผู้วิจัยมีความรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ที่สนับสนุน
ทุนการศึกษา และทุนวิจัยตลอดหลักสูตร

ขอขอบพระคุณ ดร. เบญจวรรณ ชิวปริษา อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา ที่ช่วยพิสูจน์
เอกลักษณ์ของสั้มซ่า และอาจารย์ประจำภาควิชาเคมี อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี เจ้าหน้าที่ประจำ
ภาควิชา พี่ เพื่อน น้องนิสิตปริญญาโท ภาควิชาเคมี น้องในห้องปฏิบัติการชีวเคมี
และนางสาวเพชรรัตน์ ไสว ที่อำนวยความสะดวกและคำปรึกษาต่าง ๆ เป็นอย่างดี ทำให้
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการ ท่านรองผู้อำนวยการ คณะครูในกลุ่มสาระการเรียนรู้
วิทยาศาสตร์ และคณะครูในโรงเรียนสุราษฎร์พิทยา ทุกคน ที่เห็นความสำคัญของการศึกษาต่อ
ส่งเสริมสนับสนุน และกำลังใจ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อเอี่ยม รอดกลิ่น คุณแม่ชนิดยา รอดกลิ่น พี่ ๆ ญาติ ๆ และ
เพื่อน ๆ ทุกคนที่ทำให้กำลังใจ และสนับสนุนผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูคุณเวทิตาแต่
บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา
และประสบความสำเร็จมาจนตราบนานเท่านานนี้

ชมัษฎพร รอดกลิ่น

56920128: สาขาวิชา: เคมีศึกษา; วท.ม. (เคมีศึกษา)

คำสำคัญ: ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก/ สารฟลาโวนอยด์/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ ส้มซ่า

ชмыพร รอดกลิ่น: ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า (EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF DIFFERENT PARTS OF *Citrus aurantium* L.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: เอกรัฐ ศรีสุข, Ph.D., กล่าวขวัญ ศรีสุข, Ph.D. 125 หน้า. ปี พ.ศ. 2559.

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับผลของสภาวะในการสกัดสารจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่า ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทดสอบด้วยวิธีที่แตกต่างกันสามวิธี ได้แก่ การกำจัดอนุมูล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการกัลดไอออนของโลหะ ในสารสกัดจากส่วนของส้มซ่า ที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส สารละลายเอทานอล 40%, 70% และ 95% พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลมีฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์ สูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และกิ่งของส้มซ่า ส่วนสกัดจากเปลือกผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และกิ่งของส้มซ่า ในขณะที่ส่วนสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากกิ่ง และเปลือกผลของส้มซ่า ส่วนสกัดจากเปลือกผล และใบที่สกัดโดยการต้มในน้ำเดือด และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดัน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนสกัดในสภาวะการสกัดอื่น ๆ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ในระดับ ปานกลาง และระดับสูง ตามลำดับผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การค้นพบครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ ที่อาจจะนำไปใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และใช้เป็นเครื่องสำอาง

56920128: MAJOR: CHEMISTRY EDUCATION; M.Sc. (CHEMISTRY EDUCATION)

KEYWORD: TOTAL PHENOLIC/ FLAVONOID/ ANTIOXIDANT/ *Citrus aurantium* L.

CHAMAIPORN RODGLIN: EFFECTS OF EXTRACTION CONDITIONS ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF DIFFERENT PARTS OF *Citrus aurantium* L. ADVISORY COMMITTEE: EKARUTH SRISOOK, Ph.D., KLAOKWAN SRISOOK, Ph.D. 125 P. 2016

This research study was aimed to determine the effect of extraction conditions on total phenolic and flavonoid content and antioxidant activities of different parts of *Citrus aurantium* L. The antioxidant activity assay include 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, reducing power and metal chelating activity. The peels, leaves, and branches of citrus were extracted with water (autoclave 121 °C), water (100 °C), ethanol 40%, 70% and 95%, respectively. The peel extracts exhibited superior total phenolic content, DPPH radical scavenging activity and reducing power than that leaf and branch extracts. In contrast, total flavonoid content effect of leaves extracts was higher than that peel and branch extracts. The water (100 °C) extract of peels and leaves and the water (autoclave 121 °C) extract of branches with the highest DPPH radical scavenging activity. Total phenolic content showed averagely positive relationship on the DPPH radical scavenging activity. In addition total phenolic content also showed high positive correlations with reducing power. These result suggest that the peels, leaves and branches of *Citrus aurantium* L. are sources of antioxidant which might have potential for dietary supplement and cosmetics.

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | จ |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ฅ |
| สารบัญภาพ..... | ญ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.3 สมมติฐานการวิจัย..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... | 2 |
| 1.5 ขอบเขตของงานวิจัย..... | 3 |
| 1.6 กรอบแนวคิดการวิจัย..... | 4 |
| 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 5 |
| 2.1 อนุมูลอิสระ..... | 5 |
| 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ..... | 9 |
| 2.3 วิธีการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ..... | 14 |
| 2.4 สัมซ่า..... | 15 |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสัมซ่า..... | 18 |
| 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 21 |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 23 |
| 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี..... | 23 |
| 3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย..... | 25 |
| 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล..... | 30 |
| 4.1 การสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของสัมซ่า..... | 30 |
| 4.2 ผลการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดต่าง ๆ ของสัมซ่า..... | 32 |

สารบัญ (ต่อ)

| บทที่ | หน้า |
|---|------|
| 4.3 ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า..... | 34 |
| 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า..... | 36 |
| 4.5 ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า..... | 38 |
| 4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า..... | 40 |
| 4.7 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณ สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากส้มซ่า | 42 |
| 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... | 45 |
| 5.1 สรุปผลการทดลอง..... | 45 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ..... | 45 |
| บรรณานุกรม..... | 46 |
| ภาคผนวก..... | 51 |
| ภาคผนวก ก..... | 52 |
| ภาคผนวก ข..... | 57 |
| ภาคผนวก ค..... | 66 |
| ภาคผนวก ง..... | 75 |
| ภาคผนวก จ..... | 92 |
| ภาคผนวก ฉ..... | 101 |
| ภาคผนวก ช..... | 118 |
| ประวัติย่อของผู้วิจัย..... | 125 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|----------|--|
| 4-1 | น้ำหนักของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... 31 |
| 4-2 | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... 33 |
| 4-3 | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... 35 |
| 4-4 | ค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... 37 |
| 4-5 | ความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... 39 |
| 4-6 | ค่า IC_{50} ของการคีเลทไอออนของโลหะของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า.... 41 |
| 4-7 | ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ รวมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากส้มซ่า..... 44 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | หน้า |
|---|------|
| 2-1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี..... | 9 |
| 2-2 โครงสร้างของกลูตาไทโอน..... | 10 |
| 2-3 โครงสร้างของกลูตาไทโอนไดซัลไฟด์..... | 10 |
| 2-4 การต้านอนุมูลอิสระของกลูตาไทโอน..... | 11 |
| 2-5 สารต้านอนุมูลอิสระใน ผักผลไม้ และสมุนไพร..... | 12 |
| 2-6 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์..... | 13 |
| 2-7 สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในผักผลไม้..... | 13 |
| 2-8 ปฏิกิริยาของ DPPH radicals..... | 14 |
| 2-9 ต้นส้มซ่า..... | 16 |
| 2-10กิ่งส้มซ่า..... | 16 |
| 2-11ใบส้มซ่า..... | 17 |
| 2-12ดอกส้มซ่า..... | 17 |
| 2-13ผลส้มซ่า..... | 18 |
| 4-1 ร้อยละน้ำหนักแห้งของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่า..... | 32 |
| 4-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... | 34 |
| 4-3 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... | 36 |
| 4-4 ค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... | 38 |
| 4-5 ความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า..... | 40 |
| 4-6 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของการกีดไล่ออนของโลหะของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่ง ของส้มซ่า..... | 42 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

คนไทยเสียชีวิตด้วยโรคไม่ติดต่อกว่าเพิ่มขึ้น จากการรายงานขององค์การอนามัยโลกในคนไทยช่วงอายุเฉลี่ย 30-70 ปีเสียชีวิตด้วยโรคไม่ติดต่อ ร้อยละ 71 ของผู้เสียชีวิตทั้งหมด และเสียชีวิตด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคทางเดินหายใจเรื้อรัง โรคเบาหวาน และโรคไม่ติดต่ออื่น ๆ (World Health Organization, 2014) สาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคไม่ติดต่อกว่าเหล่านี้คืออนุมูลอิสระ (Free radical) อนุมูลอิสระเป็น โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่นอกของอะตอมหรือโมเลกุล เป็น โมเลกุลที่ไม่เสถียร มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี มักเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่อยู่รอบข้างได้ ทำให้เกิดความผิดปกติของร่างกายและก่อให้เกิดโรครุนแรง (Ames, Shigenaga, & Hagen, 1993) โดยปกติอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในร่างกายเราได้แต่ก็มีการกำจัดอนุมูลอิสระอย่างสมดุล เมื่อร่างกายของเราได้รับอนุมูลอิสระจากภายนอกในร่างกายมากขึ้น เช่น จากการกินอาหารประเภทแป้ง ย่าง หรือการทอดโดยใช้น้ำมันซ้ำหลาย ๆ ครั้ง มลภาวะจากสิ่งแวดล้อม คาร์บอนมอนอกไซด์ ควันพิษ รังสีเอ็กซ์ และยูวี ทำให้ร่างกายไม่สามารถ กำจัดอนุมูลอิสระได้อย่างสมดุลจึงทำให้มีอนุมูลอิสระในร่างกายมากจนทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ (ประสงค์, 2553)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้สารอนุมูลอิสระมีจำนวนน้อยลง ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระได้ (โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง, 2550) ดังนั้นคนในปัจจุบันสนใจที่จะบริโภคอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ หรือใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีส่วนผสมของสารต้านอนุมูลอิสระอย่างแพร่หลาย นักวิจัยพยายามที่จะศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้ เป็นส่วนผสมของยา อาหาร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อตอบสนองความต้องการของคนยุคใหม่มากขึ้น

ส้มซ่าเป็นพืชที่ใช้นำมาใช้ในการประกอบอาหาร โดยใช้น้ำส้มซ่าแทนมะนาว และนำเปลือกมาปรุงแต่งกลิ่นของอาหาร เมื่อเร็ว ๆ นี้มีรายงานการวิจัยพบว่าน้ำมันหอมระเหย และสาร

สกัดเมทานอล (methanol) จากเปลือกผล ใบ ดอก เมล็ด รวมทั้งน้ำของส้มซ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Sarrou, Chatzopoulou, Theriou, and Therios (2013), Benamrouche and Madani (2013), Moulehi, Bourgou, Ourghemmi, and Tounsi (2012) และ Barreca, Bellocco, Caristi, Leuzzi, and Gattuso (2011) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาผลของสภาวะการสกัดสารจากส้มซ่า ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากส่วนของใบ เปลือกผล และกิ่งของส้มซ่า ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์มาสกัดด้วยทำละลายน้ำ และเอทานอล (ethanol) เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อให้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รองรับการนำส้มซ่าไปใช้ประโยชน์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสภาวะการสกัดสารจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในสารสกัดจากส่วนของส้มซ่า ที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

1.3 สมมติฐานการวิจัย

สภาวะในการการสกัดสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่ามีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์

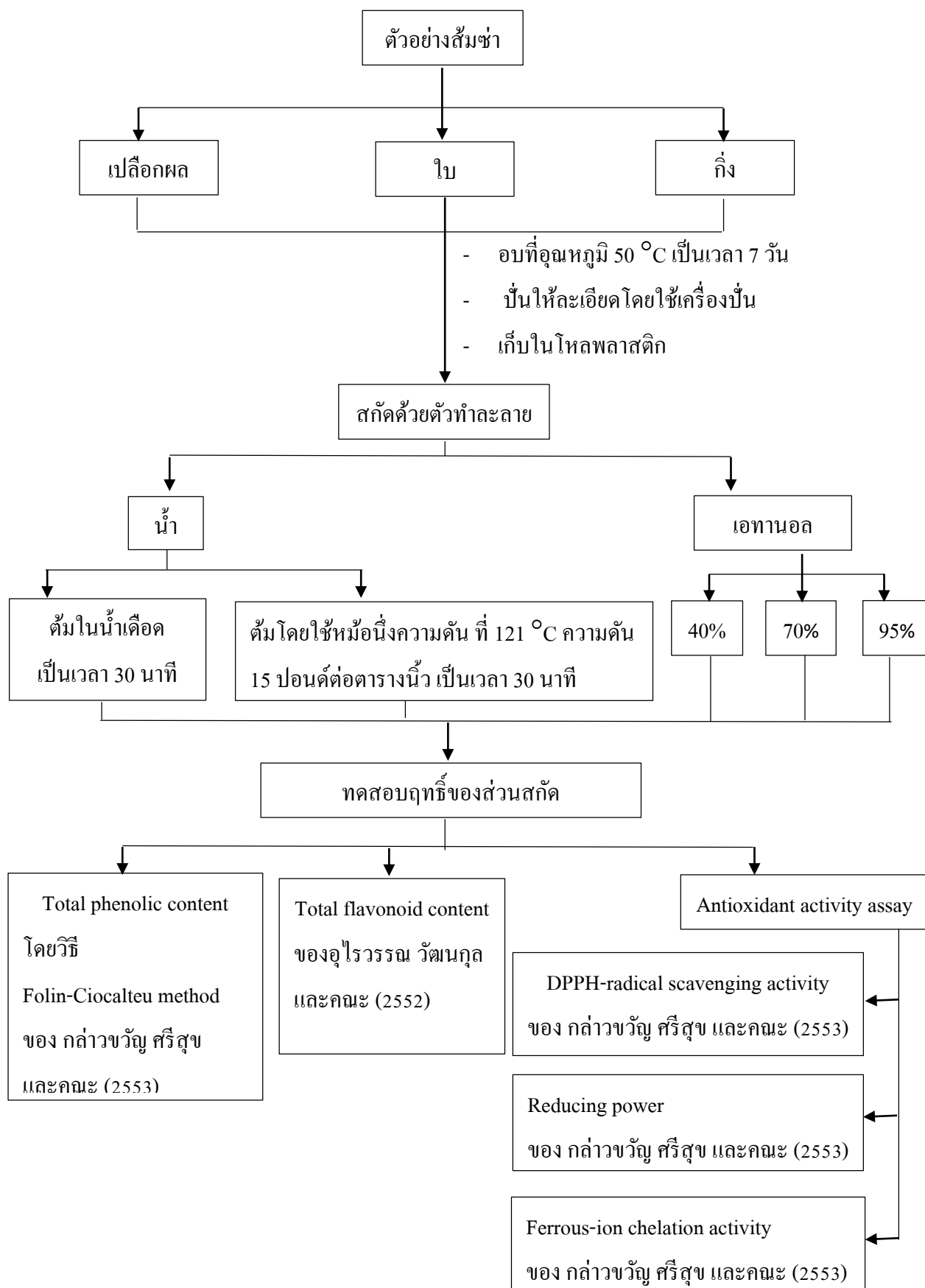
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ปรับปรุงข้อมูลเกี่ยวกับสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่าในข้อมูลทางวิชาการ
2. นำข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการสกัด และเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารของส้มซ่าเพื่อนำมาใช้เป็นอาหาร หรือยา

1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

เก็บตัวอย่างของเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าเก็บจาก หมู่ที่ 5 ตำบลคลองปาง อำเภอรัญญา จังหวัดตรัง นำตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น สกัดสารจากส่วนของใบ เปลือกผล กิ่งของส้มซ่าโดยต้มในน้ำเดือดที่ 100 °C ต้มโดยใช้หม้อนิ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 °C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 30 นาที และแช่ในเอทานอล 40%, 70% และ 95% เป็นเวลา 9 วัน จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตัวอย่าง 3 วิธี คือ ความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing power) ฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH (DPPH radical scavenging activity) และการคีเลตเฟอรัสไอออน (ferrous-ion chelating activity) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดโดยวิธี Folin Ciocalteu และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนของเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

1.6 กรอบแนวคิดการวิจัย



บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ (free radical)

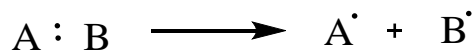
โอบา วัชรคุปต์ และคณะ (2550) กล่าวว่า อนุมูลอิสระคือ อะตอม โมเลกุล หรือ สารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดอนุมูลอิสระมีทั้งอนุมูลที่มีสถานะเป็น กลางทางไฟฟ้า และ อนุมูลที่มีสถานะเป็นประจุทางไฟฟ้าทั้งที่เป็นประจุบวก และประจุลบ มี สัญลักษณ์ทางเคมี คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวจะแสดงด้วยจุดบนสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A^\cdot อนุมูล A^- และอนุมูล A^+ เมื่อเปรียบเทียบความว่องไวของอนุมูลอิสระพบว่าอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนัก โมเลกุลต่ำจะมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจาก อิเล็กตรอนเดี่ยวไม่เสถียรและจะพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ๆ ทำให้อนุมูลอิสระมี คุณสมบัติเฉพาะคือ มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นสูง

2.1.1 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระ

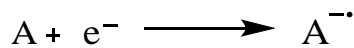
โอบา วัชรคุปต์ และคณะ (2550) กล่าวถึงกลไกการเกิดอนุมูลอิสระว่ามี 3 แบบ ดังนี้

2.1.1.1 การแตกของพันธะ โควาเลนต์แบบ โฮโมไลซิสสารที่แตกตัวได้จะมี อิเล็กตรอนเดี่ยว

ดังสมการ



2.1.1.2 การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า ดังสมการ



2.1.1.3 การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า ดังสมการ



2.1.2 อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในกระบวนการทางชีววิทยา

อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในกระบวนการทางชีววิทยา มี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มี ออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive oxygen species, ROS) เช่น Superoxide, Superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), Hydroxyl ($\cdot OH$), Hydroperoxyl (HO_2^\cdot), Peroxyl (RO_2^\cdot), Alkoxy (RO^\cdot),

Carbonate (CO_3^{2-}) และ Carbon dioxide (CO_2) และกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive nitrogen species, RNS) เช่น Nitric oxide (NO), Nitrogen dioxide (NO_2)

2.1.3 การเกิดอนุมูลอิสระในระบบสิ่งมีชีวิต

อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้ภายในสิ่งมีชีวิตโดยเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

2.1.3.1 ความผิดปกติของระบบการทำงานของไมโทคอนเดรีย (mitochondria)

ไมโทคอนเดรียเป็นแหล่งสร้างพลังงาน ATP ให้กับเซลล์ โดยมี adenine nucleotide translocase (ANT) ทำหน้าที่ขนส่ง ATP ออกจากไมโทคอนเดรีย และขนส่ง ADP เข้าสู่ไมโทคอนเดรียทำให้อิเล็กตรอนบางส่วนเกิดการหลุดออกมาเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

2.1.3.2 กระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism)

อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนนอกจากเกิดภายในไมโทคอนเดรียแล้วยังเกิดได้ภายนอกไมโทคอนเดรียโดยเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารต่าง ๆ โดยเอนไซม์ (enzyme) เช่น กระบวนการเมตาบอลิซึมของ Xanthine และ Hypoxanthine โดยเอนไซม์ Xanthine oxidase เกิดเป็นกรดยูริก เป็นต้น

2.1.3.3 กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท (Excitatory amino- acids)

กรดอะมิโนบางชนิดที่มีอยู่ในร่างกาย เช่น กรดกลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก หากมีปริมาณมาก ๆ อาจก่อให้เกิดปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น เช่น แคลเซียมไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างไนตริกออกไซด์เมื่อมีปริมาณของไนตริกออกไซด์เพิ่มมากขึ้นและเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเกิดเป็นเปอร์ออกซิไนไตรท์ และสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อโดยการเติมหมู่นาไนไตรท์ให้กับกรดอะมิโนไทโรซีน และเกิดเป็นอนุมูลไฮดรอกซีซึ่งเป็นพิษร้ายแรงกว่าอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์

2.1.3.4 เมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท

โดพามีนเป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่งในสมอง ในสภาวะปกติร่างกายมีการควบคุมปริมาณของโดพามีนให้เหมาะสม แต่หากร่างกายอยู่ในภาวะที่มีออกซิเจนต่ำหรือภาวะขาดเลือด จะมีปริมาณของโดพามีนเพิ่มขึ้น เมื่อโดพามีนถูกออกซิไดซ์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น

2.1.3.5 สารพิษทำลายเซลล์ประสาท (Neurotoxin)

สารพิษที่ทำลายเซลล์ประสาทในสมองมีหลายตัวแต่ตัวหนึ่งที่น่าสนใจคือ สาร 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro pyridine (MPTP) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ผลิตโดพามีน MPTP ไม่สามารถผ่านเข้าสู่สมองของมนุษย์ได้โดยตรงแต่ MPTP จะถูกเมทโบไลต์โดยเอนไซม์ โมโนเอมีน-บี เกิดเป็น MPP⁺ สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ประสาทด้วยกลไกพิเศษ ซึ่งมีผลทำให้เกิด อนุโมลอิสระจำนวนมาก

2.1.3.6 ภาวะขาดเลือด (Inchemia /Reperfusion, I/R)

ไมโทคอนเดรียเป็นจุดเริ่มต้นของภาวะขาดเลือดเฉพาะที่เนื่องจากไมโทคอนเดรียทำหน้าที่สร้างพลังงานให้กับเซลล์ทำให้การควบคุมปริมาณไอออนที่ผ่านเข้าออกเซลล์ที่ต้องใช้พลังงาน ATP ทำงานผิดปกติทำให้ โพแทสเซียมและแมกนีเซียมออกจากเซลล์และ โซเดียม และ แคลเซียมเข้าสู่เซลล์เมื่อในเซลล์มีปริมาณของแคลเซียมเพิ่มมากขึ้นไปกระตุ้นเอนไซม์โปรตีนเอส ให้เปลี่ยนแปลงเอนไซม์แซนทีนดีไฮโดรจิเนสไปเป็นเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ในภาวะที่ขาดเลือดชั่วขณะเซลล์ไม่ตายเมื่อมีเลือดกลับมาเลี้ยงเซลล์ใหม่ทำให้ไฮโปแซนทีนเปลี่ยนเป็นแซนทีน และเกิดเป็นกรดยูริก และเมื่อมีออกซิเจนเข้ามาร่วมปฏิกิริยาแซนทีนหรือไฮโปแซนทีนอาจถูก กระตุ้นและเกิดเป็นอนุมูลซูปเปอร์ออกไซด์และเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่เกิดเป็นอนุมูลอิสระอื่น ๆ ต่อไป

2.1.3.7 ภาวะช็อกและการอักเสบ

การเกิดภาวะช็อกในระบบไหลเวียนของเลือดทั้งหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำมีการตอบสนองต่อสารสื่อประสาทหรือยาที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดเกร็งกล้ามเนื้อหัวใจ จึงทำงานผิดปกติ มีการรายงานเกี่ยวกับเปอร์ออกซิไนไทรทที่สามารถทำให้คนเกิดอาการเดียวกับ ภาวะช็อก คือ เซลล์บุหลอดเลือดหัวใจทำงานผิดปกติ หลอดเลือดมีการตอบสนองลดลง เกิดอาการ หัวใจล้มเหลว การเกิดภาวะช็อกไตไตชานซึ่งเกิดจากกระบวนการอักเสบถูกกระตุ้นให้เกิดอนุมูล อิสระซูปเปอร์ออกไซด์ เมื่อทำปฏิกิริยากับไนตริกออกไซด์จะเกิดเป็นสารพิษเปอร์ออกซิไนไทรท ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดอาการเช่นเดียวกับภาวะช็อก นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นที่ บริเวณใดบริเวณนั้นจะเกิดการอักเสบทำให้อวัยวะเกิดความเสียหายเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

จะเห็นได้ว่าอนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้เองภายในร่างกายเราหากร่างกาย ได้รับการกระตุ้นจากปัจจัยภายนอกเช่น การเกิดภาวะเครียด การได้รับสารพิษจากสิ่งแวดล้อม ควันจากท่อไอเสียรถ ควันจากโรงงาน ควันบุหรี่ สารเคมีที่เกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวัน สารพิษ

ตกค้างจากอาหารและยา การได้รับแสงแดด การได้รับรังสีเอกซ์ อาจก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มขึ้น (โรสวันซ์ พิริยะสมบุญรุ, 2553)

2.1.4 อันตรายจากอนุมูลอิสระ (ริตา เกียร์ และโรเบิร์ต วูดเวิร์ด, 2551)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายมีกลไกการกำจัดอย่างสมดุลจะไม่ก่อให้เกิดโทษกับร่างกายแต่เมื่อร่างกายไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้หมดทำให้มีอนุมูลอิสระในร่างกายมากขึ้นก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพดังนี้

1. ความแก่
2. โรคหัวใจ
3. โรคมะเร็ง
4. ความเสื่อมทางพันธุกรรม
5. โรคปอด
6. ประสาทถูกทำลายเกิดโรคสมองฝ่อหรืออัลไซเมอร์
7. ภูมิคุ้มกันต่ำลง
8. โรคที่เกิดการอักเสบชนิดต่าง ๆ เช่นข้ออักเสบ
9. หลอดเลือดแดงตีตันหรืออุดตัน

2.1.5 การป้องกันอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

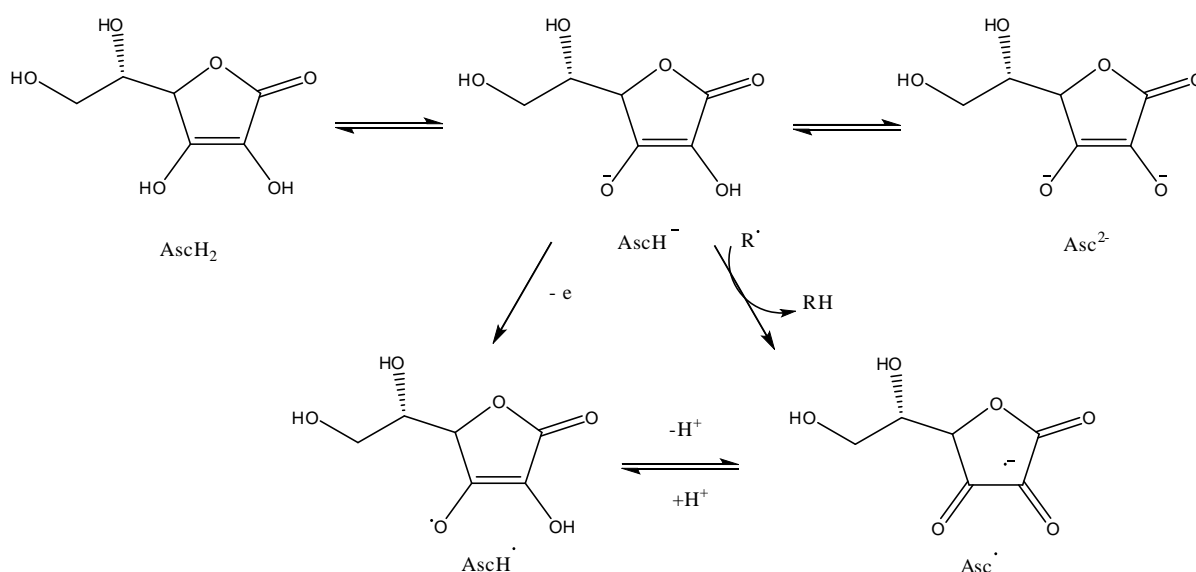
อนุมูลอิสระไม่ได้ก่อให้เกิดโทษกับร่างกายเพียงอย่างเดียว อนุมูลอิสระบางชนิดมีประโยชน์ในการ ส่งสัญญาณต่อเซลล์ อนุมูลอิสระมีฤทธิ์ต่อการทำงานของเซลล์หรืออวัยวะ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายหากมีมากขึ้นร่างกายจะมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระอย่างสมดุลอยู่แล้ว โดยจะขอยกตัวอย่างกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระ คือ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) ซึ่งมีอยู่ในร่างกายของเราและทำหน้าที่กำจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ให้เกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกกำจัดต่อโดยเอนไซม์คะตาเลสเกิดเป็นน้ำกับแก๊สออกซิเจน เอนไซม์คะตาเลส (CAT) มีอยู่ในเพอรอกซิโซม (peroxisome) ทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำกับแก๊สออกซิเจนจึงสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ และเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกลูตาไทโอน (GSH) เกิดเป็น กลูตาไทโอนไดซัลไฟด์ (GSSG) และน้ำ เป็นต้น แต่ถ้าในร่างกายของเรามีอนุมูลอิสระมากจนไม่สามารถกำจัดได้อย่างสมดุลอาจก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ เราจึงจำเป็นต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (โภกา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วทำให้อนุมูลอิสระหมดไปหรือหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติได้แก่ กรดยูริก วิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบตาแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิก เช่น สารฟลาโวนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดมีโครงสร้างและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันดังนี้

2.2.1 วิตามินซี

วิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์หรืออวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซีทำงานสัมพันธ์กับวิตามินอี คือเปลี่ยนวิตามินอีที่อยู่ในรูปอนุมูลให้เป็นวิตามินอี วิตามินซีมีโครงสร้างดังภาพ 2-1 วิตามินซีคือแอสคอร์บิก (AscH_2) จะเห็นว่าวิตามินซีมีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ วิตามินซีที่อยู่ในร่างกายส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป AscH^- เมื่อเกิดการต้านอนุมูลอิสระ AscH^- จะให้อิเล็กตรอนและอยู่ในรูป อนุมูลแอสคอร์เบต ($\text{Asc}^{\cdot-}$) ซึ่งให้ไฮโดรเจนและอิเล็กตรอน 1 ตัวกับอนุมูลอิสระ R^{\cdot} เกิดเป็น RH และ $\text{Asc}^{\cdot-}$ ซึ่งมีความว่องไวในปฏิกิริยาค่า ดังภาพที่ 2-1



ภาพที่ 2-1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี

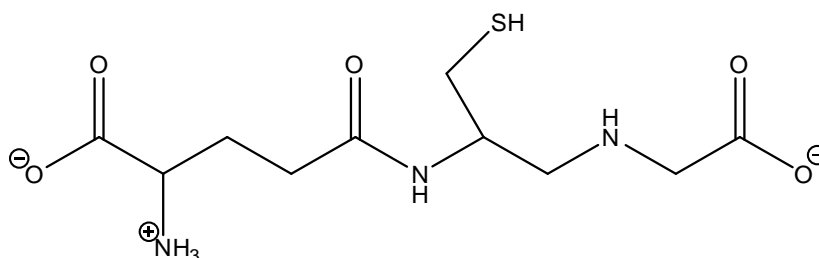
2.2.2 วิตามินอี

วิตามินอีเป็นวิตามินที่ละลายในไขมันวิตามินอีจึงมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระที่เชื่อมเซลล์เนื่องจากมีไขมันเป็นองค์ประกอบโดยวิตามินอีมีหลายไอโซเมอร์แต่

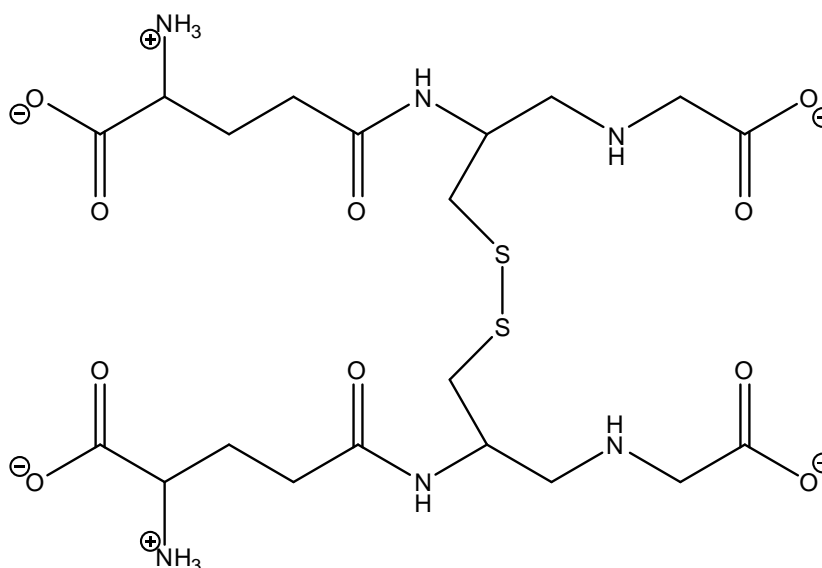
ไอโซเมอร์ที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ คือ α -Tocopherol โดยจะป้องกันไม่ให้เกิด ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันวิตามินอี (T-OH) จะให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลลิพิด (R \cdot) เกิดเป็นอนุมูลวิตามินอี (T-O \cdot) และถูกรีดิวซ์โดยวิตามินซีเกิดเป็นวิตามินอี สามารถต้านอนุมูลอิสระได้อีก

2.2.3 กลูตาไทโอน (GSH)

กลูตาไทโอนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีหมู่ไทออล กลูตาไทโอนมีโครงสร้าง เป็นเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 3 ตัวคือ Glutamate Cysteine Glycine เป็นองค์ประกอบ ในร่างกายคน มี กลูตาไทโอน 2 แบบ คือ กลูตาไทโอน (GSH) ดังภาพที่ 2-2 และกลูตาไทโอนไดซัลไฟด์ (GSSG) ดังภาพที่ 2-3

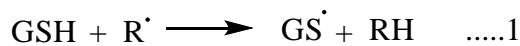


ภาพที่ 2-2 โครงสร้างของกลูตาไทโอน



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างของกลูตาไทโอนไดซัลไฟด์

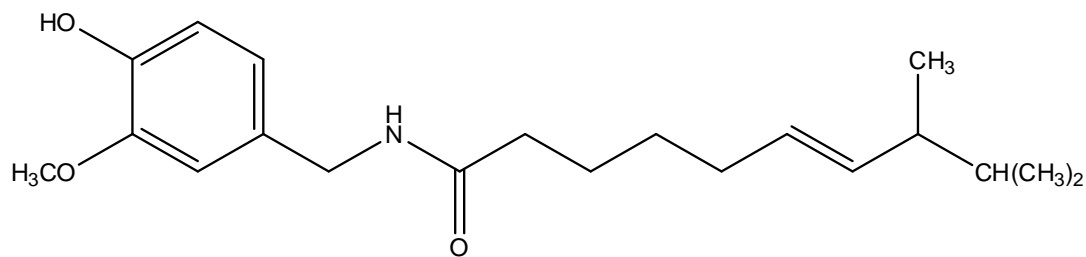
การต้านอนุมูลอิสระของกลูตาไทโอน (GSH) คือการให้อิเล็กตรอนเดียวกับอนุมูลอิสระ และเปลี่ยนเป็นอนุมูลไทอล (GS[•]) จากนั้นเกิดการรวมตัวกันเป็นกลูตาไทโอนไดซัลไฟด์ (GSSG) ดังภาพที่ 2-4



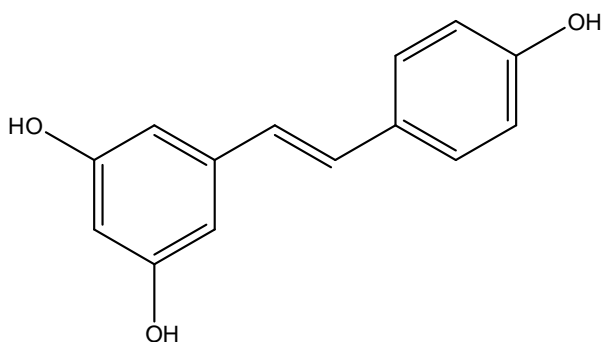
ภาพที่ 2-4 การต้านอนุมูลอิสระของกลูตาไทโอน

2.2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

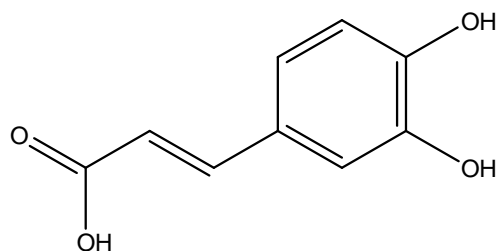
สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็น secondary metabolites ที่มีโครงสร้างประกอบด้วย วงอะโรมาติก (aromatic ring) และมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นหมูแทนที่อย่างน้อย 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลิกมีหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เทนินิน (tannins) และลิกนิน (lignin) สารฟีนอลส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical) โดยสารฟีนอลสามารถให้ ไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนเดียวกับอนุมูลอิสระ เกิดอนุมูลอิสระที่เสถียรเนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวสามารถเคลื่อนที่เข้ามาในวงอะโรมาติกได้ นอกจากนี้ สารในกลุ่ม โพลีฟีนอล (polyphenol) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล ติดกัน 2 หมู่ สามารถกีดกันไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ทำให้ความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาลดลง จึงไม่สามารถไปเร่งปฏิกิริยาเฟนตัน (fenton reaction) ได้ จากการทดลองในหลอดทดลองสารโพลีฟีนอลส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบได้ในผักผลไม้ เช่น เรสเวอราทรอล (Resveratrol) พบในไวน์แดง กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) พบในกาแฟ และแคปไซซิน (capsaicin) พบในพริก ดังภาพที่ 2-5



สาร Capsaicin ในพริก



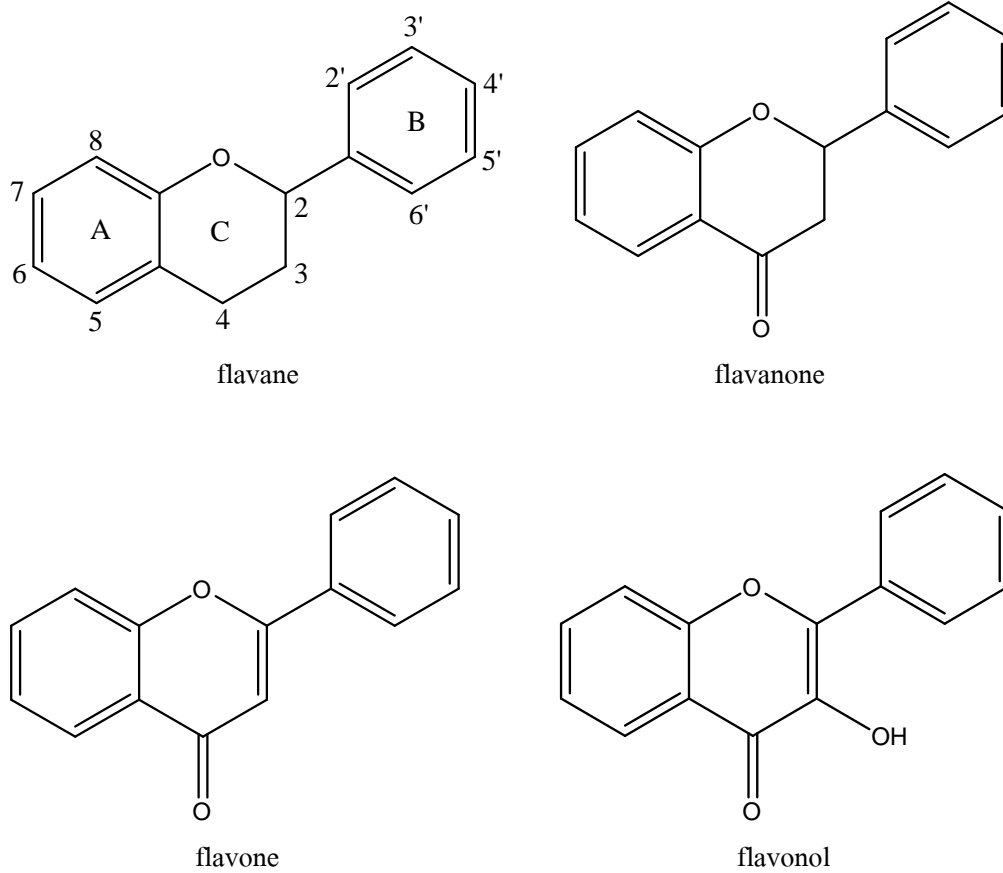
สาร Resveratrol ในไวน์แดง



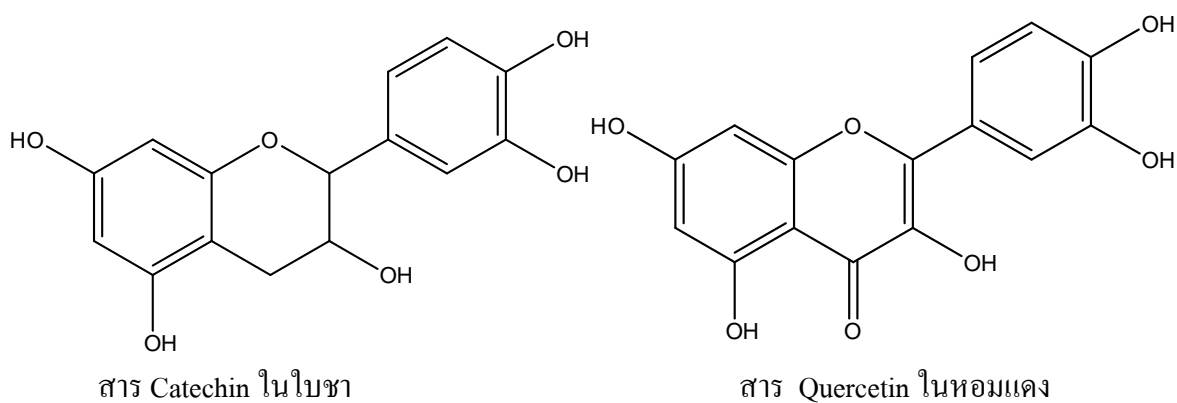
สาร Caffeic acid ในกาแฟ

ภาพที่ 2-5 สารต้านอนุมูลอิสระใน ผักผลไม้ และสมุนไพร

สารโพลีฟีนอลในกลุ่มของฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavane) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม จัดเรียงเป็นวง 3 วงดังภาพที่ 2-6 ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลาย ๆ กลุ่ม เนื่องจากชนิดของหมู่แทนที่บนวงซี ทำให้ได้โครงสร้างหลักของ ฟลาโวนอยด์หลายชนิด เช่น ฟลาเวน (flavane) ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาโวน (flavone) และ ฟลาโวนอล (flavonol) มีโครงสร้าง ดังภาพที่ 2-6 เมื่อโครงสร้างหลักข้างต้นถูกแทนที่ด้วย หมู่ไฮดรอกซี หมู่เมทอกซี และน้ำตาลต่าง ๆ ได้ ฟลาโวนอยด์หลากหลายชนิดสามารถพบได้ใบผักผลไม้ เช่น เควอร์เซติน (quercetin) พบมากในหอมแดง และการ์เตชิน (catechin) พบมากในใบชาเขียว มีโครงสร้างดังภาพที่ 2-7 (Halliwell & Gutteridge, 2007)



ภาพที่ 2-6 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ (Halliwell & Gutteridge, 2007)

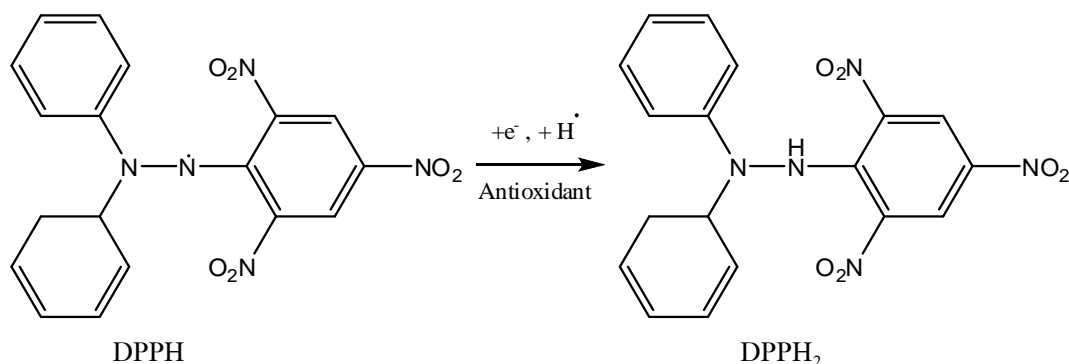


ภาพที่ 2-7 สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในผักผลไม้ (Halliwell & Gutteridge, 2007)

2.3 วิธีการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 วิธีการทดสอบสารต้านอนุมูล DPPH

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (Hatano et al., 1989) DPPH[•] เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ได้รับอิเล็กตรอนเดี่ยว หรือ ไฮโดรเจนจากสารต้านอนุมูลอิสระเกิดเป็น DPPH₂ ดังภาพที่ 2-11



ภาพที่ 2-8 ปฏิกริยาของ DPPH radicals (Guo et al., 2015)

DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีสีม่วง เมื่อเปลี่ยนเป็น DPPH₂ จะมีสีเหลือง หรือไม่ก็มีสีถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% inhibition = \left[\frac{A_{517 \text{ control}} - A_{517 \text{ test sample}}}{A_{517 \text{ control}}} \right] \times 100$$

2.3.2 วิธีการทดสอบ Reducing power (Benamrouche & Madani, 2013)

Reducing power เป็นวิธีการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารที่ต้องการศึกษา ทำให้ Ferric ion (Fe³⁺) เกิดปฏิกิริยา Reduction เปลี่ยนเป็น Ferrous ion (Fe²⁺) ซึ่งมีสีฟ้าเขียว สามารถวิเคราะห์ได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์หากสารตัวอย่างมีค่าการดูดกลืนแสงสูงขึ้นแสดงว่ามี Reducing power มากขึ้น

2.3.3 วิธีการทดสอบสารคีเลทโลหะ (Ebrahimzadeh, Pourmorad, & Bekhradnia, 2008)

การทดสอบสารคีเลทโลหะของสารสกัดโดย Fe^{2+} เกิดสารเชิงซ้อนกับเฟอร์โรซีน จะมีสีแดงซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร เมื่อสารสกัดเข้าไปเกิดสารเชิงซ้อนกับ Fe^{2+} แทนเฟอร์โรซีนสีแดงจะจางลง ผลการวิเคราะห์หากสารสกัดมีความสามารถในการคีเลทโลหะสูงขึ้นค่าการดูดกลืนแสงจะลดลง

2.3.4 วิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (เพชรรุ่ง เทพทอง, จิตพิสุทธิจันทร์ทองอ่อน, อรณิ ประจวบจินดา, ศรีโสภา เรืองหนู, และ อรุณพร อิฐรัตน์, 2012)

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม นิยมใช้วิธีของ Folin Ciocalteu Method โดยนำสารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ เมื่อทำปฏิกิริยากับโมลิบดีนัมซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็น +6 โมลิบดีนัมรับอิเล็กตรอนจากสารประกอบฟีนอลิก ทำให้เกิดโมลิบดีนัมซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็น +5 ซึ่งมีสีน้ำเงินจะสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

2.3.5 วิธีการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (Chavan, Gaikwad, Kshirsagar, & Dixit, 2013)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์เป็นวิธีการวิเคราะห์สี โดยการนำสารมาทำปฏิกิริยากับอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) โดยอะลูมิเนียมคลอไรด์จะเกิดสารเชิงซ้อนกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ที่เป็นหมู่คีโตน และ หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 หรือตำแหน่งที่ 5 ของ flavones และ flavonols นอกจากนี้ อะลูมิเนียมคลอไรด์สามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับ orthodihydroxyl groups ของวง A หรือ วง B ของ flavonoids (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002) สามารถวิเคราะห์ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ได้โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Rutin จะรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ Rutin ต่อกรัมของน้ำหนัสด

2.4 ส้มซ่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ของส้มซ่า คือ *Citrus aurantium* L. อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีชื่อสามัญว่า Sour orange, Bitter orange, Bigarade, Seville orange ชื่ออื่น ๆ กะเหรี่ยงที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนเรียก ซาอ้อ ส่วนจังหวัดตรังเรียกว่า ส้มจังกระ ลักษณะของต้นส้มซ่า เป็นไม้ยืนต้นสูงประมาณ

3-10 เมตร ดังภาพที่ 2-6 บริเวณกิ่งมีหนามแหลมสั้นตามกิ่ง ดังภาพที่ 2-7



ภาพที่ 2-9 ต้นส้มซ่า



ภาพที่ 2-10 กิ่งส้มซ่า

ใบเป็นใบเดี่ยว ลักษณะของใบเป็นรูปรี ก้านใบมีปีกแคบ ๆ ขนาดใบกว้าง 4-6 เซนติเมตร ยาว 8-12 เซนติเมตร ดังภาพที่ 2-8 ลักษณะของดอก ดอกเดี่ยวหรือออกดอกเป็นช่อตาม ซอกใบ ดอกขนาดเล็ก สีขาว มีกลีบดอก 4-5 กลีบ ตรงกลางดอกมีเกสรเพศผู้หลายเส้น ดังภาพที่ 2-9 ผลกลมเกลี้ยง ผิวหนาและขรุขระ เปลือกหนาคลายเปลือกมะกรูด ดังภาพที่ 2-10 เนื้อในสีขาว คล้ายส้มโอ รสเปรี้ยวหวานเล็กน้อย ภายในมีเมล็ดหลายเมล็ด (เศรษฐมนันตร์ กาญจนกุล, 2553) ส้มซ่าจะออกดอกและออกผลปีละ 1 ครั้ง



ภาพที่ 2-11 ใบส้มซ่า



ภาพที่ 2-12 ดอกส้มซ่า



ภาพที่ 2-13 ผลส้มซ่า

คุณประโยชน์ทางยา สถาบันแพทย์แผนไทยได้กล่าวถึงส่วนของส้มซ่าที่จะนำมาใช้เป็นยาได้แก่ส่วนของผิวลูกนำมาใช้ทำยาหอมแก้ลมวิงเวียน หน้ามืดตาลาย แก้ก้องอืด ท้องเฟ้อ น้ำในลูกกัดฟอกเสมหะ แก้ไอ ฟอกโลหิต และใบนำมาใช้รักษาโรคผิวหนัง

คุณประโยชน์ด้านอื่น ๆ ใช้ผิวเปลือกของผลส้มซ่ามาหั่นเป็นฝอยโรยใส่หมี่กรอบช่วยให้กลิ่นหอมน่ารับประทาน และน้ำในลูกใช้ปรุงอาหารแทนมะนาว

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับส้มซ่า

Sarrou, Chatzopoulou, Theriou, and Therios (2013) ศึกษาเกี่ยวกับการองค์ประกอบและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนของเปลือกผล ใบอ่อน ใบแก่และดอก ของส้มซ่า *Citrus aurantium* L. โดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าสารองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืชแตกต่างกัน เปลือกผลของส้มซ่า มีสารองค์ประกอบหลักได้แก่ limonene, myrcene, linalool, β -pinene และ α -pinene ในดอก มี linalool, β -pinene, limonene, trans- β -ocimene และ E-farnesol เป็นองค์ประกอบหลัก ใบแก่และใบอ่อนมีสารองค์ประกอบหลักเหมือนกันคือ linalool, α -terpineol, geranyl acetate, neryl acetate และ trans- β -ocimene ใบแก่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าดอก ใบอ่อนและเปลือกผล

Benamrouche and Madani (2013) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกผลและใบของส้มสองสายพันธุ์คือ *Citrus sinensis* และ *Citrus aurantium* L. ที่ปลูกในประเทศ Algeria โดยสุ่มตัวอย่างมาจาก 7 เมือง ได้แก่ Washington, Thomson, Sanguinellii, Double fine, Portugaise, Jaffa และ Bigarade นำมาสกัดโดยใช้เมทานอลกับน้ำในอัตราส่วน 4: 1 จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี คือ reducing power, bleaching of β -carotene และ DPPH radical พบว่าตัวอย่างของเปลือกผลและใบที่เก็บจากเมือง Bigarade มีปริมาณประกอบฟีนอลิก และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยตัวอย่างจากเมือง Bigarade และ Washington ในใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในเปลือกผล ส่วนเมืองอื่น ๆ เปลือกผลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบ

Moulehi, Bourgou, Ourghemmi, and Tounsi (2012) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดสามระยะ คือ เมล็ดของผลส้มสีเขียว สีเหลือง และสีส้ม ของส้มสองสายพันธุ์คือส้มแมนดาริน *Citrus reticulata* และส้มซ่า *Citrus aurantium* สกัดโดยใช้เมทานอล พบว่าเมล็ดของ ส้มแมนดารินที่มีสีเขียว และสีเหลืองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุด ส่วนเมล็ดของส้มซ่าที่มีผลสีเหลืองมีปริมาณแทนนิน สูงที่สุด และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิก พบว่า ส้มแมนดารินมีสารองค์ประกอบ 16 ชนิด แบ่งเป็นสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด คือ Epigallocatechin, Catechin, Rutin, Naringin, Hesperidin, Quercetin, Amentoflavone และ Flavone สารในกลุ่ม Phenolic acids 8 ชนิด ได้แก่ Gallic acid, Caffeic acid, Chlorogenic acid, Vanillic acid, Syringic acid, Ferulic acid, Rosmarinic acid, และ trans-2-Hydroxycinnamic acid ส่วนสารองค์ประกอบในเมล็ดของส้มซ่า มีสารองค์ประกอบ 18 ชนิด แบ่งเป็นสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ 11 ชนิด ได้แก่ Epigallocatechin, Naringin, Hesperidin, Neohesperidin, Naphthorecinol, Apigenin, Quercetin, Resorcinol, Catechin, Rutin, และ Kaempferol เป็นสารในกลุ่ม Phenolic acids 6 ชนิด ได้แก่ Gallic acid, Vanillic acid, Syringic acid, Rosmarinic acid, p-Coumaric acid, และ trans-2-Hydroxycinnamic acid และเป็นสาร Coumarin และยังพบว่าเมล็ดของส้มซ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส้มแมนดาริน

Barreca, Bellocco, Caristi, Leuzzi, and Gattuso (2011) ได้ศึกษาสารองค์ประกอบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มซ่า โดยใช้วิธี reverse-phase LC-DAD-ESI-MS-MS พบว่ามีสารองค์ประกอบ 14 ชนิด เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ 13 ชนิด ได้แก่ Lucenin-2, Vicenin-2, Lucenin-2,4'-methyl ether, Rhoifolin 4'-glucoside, Narirutin 4'-glucoside, Eriocitrin, Neoeriocitrin,

Narirutin, Rhoifolin, Naringin, Neohesperidin, Melitidin, และ Brutieridin เป็นสารกลุ่ม Furocoumarins 1 ตัว คือ Epoxybergamottin และยังพบว่าน้ำส้มซ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ถึง 48% เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH-radical scavenging activity และ 75% เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS-radical scavenging activity เนื่องจากมีสารฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบจึงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

Park et al. (2014) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในปอดของ สารฟลาโวนอยด์ที่สกัดจากเปลือกผลส้มซ่าของเกาหลีโดยใช้ เมทานอล และเอทิลอะซิเตตในการ สกัดสารประกอบฟลาโวนอยด์จากเปลือกผลส้มซ่าและนำไปหารสารองค์ประกอบโดยใช้ HPLC-MS/MS จากนั้นทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในปอดในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง พบว่าผลการทดลองในหลอดทดลองแสดงให้เห็นว่าสารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ยับยั้ง การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยทำให้เซลล์ตาย ส่วนผลการทดลองในหนูทดลองโดย เทียบเคียงจากการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนแสดงให้เห็นว่าปริมาณ โปรตีนในหนูที่ได้รับสาร ฟลาโวนอยด์ลดลงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสารฟลาโวนอยด์การทดลองนี้สนับสนุนว่าสารฟลาโวนอยด์ ที่สกัดจากเปลือกผลของส้มซ่าสามารถนำไปใช้ในการทดสอบกับเซลล์มะเร็งในปอดของมนุษย์ ต่อไป

Kang et al. (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบในหนูทดลองของสารฟลาโวนอยด์ที่ สกัดจากเปลือกส้มซ่าของเกาหลีมีส่วนประกอบหลักเป็น Naringin, Hesperidin, และ Nobilitin และยังพบว่าสารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase-2 และ เอนไซม์ inducible nitric oxide synthase โดยขัดขวางการทำงานของ nuclear factor-kappa B และ mitogen-activated protein kinase ในเซลล์ macrophages

Abdelqader, Qarallaha, Ramamnehb, and Das (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ด้านตัวเต็มวัยของ พยาธิไส้เดือนในสัตว์ปีก *Ascaridia galli* ของส่วนสกัดในเอทานอลของเปลือกผลส้มซ่าโดย ทดลองในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองพบว่าส่วนสกัดในเอทานอลของเปลือกผลส้มซ่ามีฤทธิ์ใน การต้านพยาธิไส้เดือนในสัตว์ปีก *Ascaridia galli*

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Wang, Chen, and Lu (2014) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดแพคตินจากเปลือกส้ม *Citrus reticulata* และกากแอปเปิ้ล โดยใช้อุณหภูมิที่สกัดต่างกันคือ สกัดสารจากเปลือกแอปเปิ้ลที่อุณหภูมิ 130, 150, 170 °C และเปลือกส้มที่อุณหภูมิ 100, 120, 140 °C โดยใช้หม้อนึ่งความดัน จากนั้นศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าเปลือกส้มที่สกัดที่อุณหภูมิ 120 °C มีปริมาณแพคตินสูงที่สุดคือ 21.95% ส่วนกากของแอปเปิ้ลที่สกัดที่อุณหภูมิ 150 °C มีปริมาณแพคติน 16.68% ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบโดยวิธี DPPH Assay ของสารสกัดเมื่อสารสกัดมีความเข้มข้นสูงกว่า 4.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า 60% ทุกตัวอย่าง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบโดยวิธี ABTS Assay ของสารสกัดเมื่อสารสกัดมีความเข้มข้นสูงกว่า 4.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า 80% ทุกตัวอย่าง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดของสารสกัดจากแอปเปิ้ล คือ 99.65% เป็นแอปเปิ้ลที่สกัดที่อุณหภูมิ 130 °C ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดของสารสกัดจากเปลือกส้ม คือ 98.49% เป็นเปลือกส้มที่สกัดที่อุณหภูมิ 100 °C

Lou, Lai, Hsu, and Ho (2014) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของตัวทำละลายในการสกัดสารจากเนื้อและเปลือกผลของส้มจี๊ด *Citrus mitis Blanco* ต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้น้ำที่อุณหภูมิ (80°C, 90°C, และ 100°C) เอทานอลเข้มข้น (50%, 60%, 70%, 80%, และ 95%) เมทานอล และเอทิลอะซิเตด พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของเปลือกส้มจี๊ดสูงกว่าเนื้อของส้มจี๊ด ยกเว้นปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดในน้ำร้อน เมื่อพิสูจน์หาสารองค์ประกอบในส่วนสกัดโดยใช้ HPLC พบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ ดังนี้ 3',5'-di-C- β -glucopyranosylphloretin (DGPP), naringin, hesperidin, nobiletin, tangeretin, และ diosmin โดยพบ DGPP ในปริมาณสูงที่สุด และยังพบว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำร้อนมี DGPP สูงกว่าส่วนสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์ สาร nobiletin และ tangeretin พบเฉพาะในส่วนสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม และ DGPP ที่พบในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90°C มีปริมาณสูงที่สุด ส่วนสกัดน้ำ และเอทิลอะซิเตด มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าส่วนสกัดเอทานอล และเมทานอล ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ในขณะที่ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ปฎิวิทย์ ลอยพิมาย, ทิพวรรณ ผาสกุล และราตรี มงคลไทย (2554) ได้ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata*) ส้มโอ (*Citrus maxima Merr.*) กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*

Linn.) มะไฟ (*Baccaurea ramiflora* Lour.) แตงโม (*Citrullus vulgaris*) สับปะรด (*Ananas comosus* Merr.) แคนตาลูป (*Cucumis melo* var.) มะละกอ (*Carica papaya* L.) มะม่วงดิบ และมะม่วงสุก (*Mangifera indica* L.) ที่สกัดโดยใช้เอทานอล พบว่าเปลือกมะม่วงดิบและมะม่วงสุก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สูงสุดซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่มีค่าสูงเช่นกัน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องแก้ว

1. กระบอกตวง (Cylinder ขนาด 10, 100, 500 มิลลิลิตร)
2. กรวยกรอง (Glass funnel)
3. กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
4. ขวดแก้วเล็ก (Vial)
5. ขวดก้นกลม (Round-bottomed flask ขนาด 250 มิลลิลิตร)
6. ขวดฉีดน้ำกลั่น (Wash bottle)
7. ขวดฝาเกลียว (Laboratory bottle ขนาด 500 มิลลิลิตร)
8. ขวดรูปกรวย (Erlenmeyer flask ขนาด 100, 250 มิลลิลิตร)
9. ช้อนตักสาร (Spatula)
10. บีกเกอร์ (Beaker ขนาด 100, 250, 500 มิลลิลิตร)
11. ไมโครปิเปต (Micropipette ขนาด 200, 100 ไมโครลิตร และ 5 มิลลิลิตร)
12. หลอดหยด (Dropper)
13. Suction flask ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.1.2 เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง (Balance PM 6100, AE200)
2. เครื่องปั่น (Electric blender, HR2001 Phillip, ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge, Velp, ประเทศสาธารณรัฐอิตาลี)
4. เตาอบ (Oven, 14D 78532 Binder, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, WAC-60 Daihan Scientific, ประเทศเกาหลี)
6. Freeze dryer DK-3450 (Scanvac, ประเทศราชอาณาจักรเดนมาร์ก)
7. Hot plate
8. Microplate spectrophotometer (LioPette)

9. Rotary evaporator R-200 (Buchi, ประเทศสมาพันธรัฐสวิส)

3.1.3 สารเคมี

1. กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
2. กรดไตรคลอโรอะซิติก (CCl_3COOH , Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
3. เควอร์เซติน (Quercetin, Sigma-lddrich, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
4. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 , Carlo erba reagent, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2 , Univar, ประเทศออสเตรเลีย)
6. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4 , AR Grade, BDH chemical, ประเทศอังกฤษ)
7. โพแทสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ (Potassium ferricyanide, analytical grade, Univar, ประเทศออสเตรเลีย)
8. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4 , Riedel-de Haen AG, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
9. เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Fisher Chemical, ประเทศสหราชอาณาจักร)
10. เฟอร์โรซีน (Ferrocene, Sigma-aldrich, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
11. เฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4 , AR grade, Qrec, ประเทศนิวซีแลนด์)
12. เมทานอล (CH_3OH , ACS grade, Honeywell, ประเทศเกาหลี)
13. อะลูมิเนียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
14. เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, commercial grade)
15. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, For R&D use only, Aldrich chemistry, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
16. Folin-Ciocalteu reagent (FCR, Carlo Erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
17. Ethylene diamine tetraacetic acid disodium salt ($\text{EDTA} \cdot 2\text{Na}$, AR grede, Carlo Erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของส้มซ่าโดย ดร. เบญจวรรณ ชิวปรีชา อาจารย์ประจำ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพา

1.1 เปลือกผลของส้มซ่า

เก็บตัวอย่างผลของส้มซ่า เมื่อวันที่ 9 พฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ช่วงเวลา 10.00-
11.00 น. ณ หมู่ที่ 5 ต. คลองปาง อ. รัชฎา จ.ตรัง ตั้งอยู่ที่ 7°58'05.2"N 99°38'53.8"E 7.968120,
99.648285 ได้ผลส้มซ่าสดประมาณ 10 กิโลกรัม

1.2 ใบและกิ่งของส้มซ่า

เก็บตัวอย่างใบและกิ่งของส้มซ่า เมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2558 ช่วงเวลา
10.00-11.00 น. ณ หมู่ที่ 5 ต. คลองปาง อ. รัชฎา จ.ตรัง ตั้งอยู่ที่ 7°58'05.2"N 99°38'53.8"E
7.968120, 99.648285 ใบส้มซ่าสดประมาณ 2.3 กิโลกรัม กิ่งส้มซ่าสดประมาณ 1 กิโลกรัม

2. การเตรียมตัวอย่างจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า

นำส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่ามาล้างทำความสะอาดผึ่งลมให้แห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ
50 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำส่วนของเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่าที่ผ่านการอบแล้วมาปั่นให้
ละเอียดโดยด้วยเครื่องปั่นเก็บในโพลีพลาสติกปิดสนิท

3. สกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า (Lou, Lin, Hsu, Chiu, & Ho, 2014)

3.1 สกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า

โดยใช้น้ำหนักของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่าในหน่วยกรัมต่อปริมาตรของตัวทำ
ละลายในหน่วยมิลลิลิตรด้วยอัตราส่วน 1: 10 โดยต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที และต้มโดยใช้
หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง นำสารที่
สกัดได้ใส่ในขวดกั้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary
evaporator ที่อุณหภูมิ 50 °C เก็บสารสกัดในขวดที่อุณหภูมิ 4 °C จนกระทั่งนำมาวิเคราะห์

3.2 สกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า

โดยใช้น้ำหนักของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่าในหน่วยกรัมต่อปริมาตรของตัวทำ
ละลายในหน่วยมิลลิลิตรด้วยอัตราส่วน 1: 10 โดยใช้เอทานอล (ethanol) 40%, 70% และ 95% แชนท์

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 วัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำสารที่สกัดได้ใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 °C เก็บสารสกัดในขวดที่อุณหภูมิ 4 °C จนกระทั่งนำมาวิเคราะห์

4. การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมทดสอบตามวิธีของ กล่าวขวัญ ศรีสุข และคณะ (2553) และเปรียบเทียบกับกรดแกลลิก (gallic acid) โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิกในเมทานอล (methanol) และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ปฏิบัติจะเริ่มจากการเติมสารละลายกรดแกลลิก หรือส่วนสกัดในเมทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1.25 มิลลิตร และน้ำกลั่น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นปิเปตสาร ผสม ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมไมโครเพลท นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณปริมาณสารประกอบ ฟีนอลรวมจากสมการของกราฟมาตรฐานของแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลในรูปแบบ มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

5. การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทำตามวิธีของ อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ (2552) เปรียบเทียบกับเคอร์เซติน (Quercetin) โดยเตรียมสารละลายเคอร์เซตินในเมทานอล และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปฏิบัติเริ่มจากการนำสารละลาย เคอร์เซติน หรือส่วนสกัดที่ละลายในเมทานอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) เข้มข้น 5% โดยมวลต่อ ปริมาตร ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) เข้มข้น 10 % โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำกลั่น 2.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิเปตสารผสม ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

ใส่ในหลุมไมโครเพลท นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในรูปมิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

6. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

6.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ DPPH-radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ทำตามวิธีของ กล่าวขวัญ ศรีสุข และคณะ (2553) โดยใช้สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และส่วนสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ปิเปตสารใส่ในไมโครเพลท ดังนี้ หลุม $A_{control}$ ปิเปต เมทานอล 50 ไมโครลิตร และ DPPH 100 ไมโครลิตร หลุม A_{sample} ปิเปต ส่วนสกัด 50 ไมโครลิตร และในเมทานอล 100 ไมโครลิตร หลุม A_{blank} ปิเปต ส่วนสกัด 50 ไมโครลิตร และเมทานอล 100 ไมโครลิตรผสมแต่ละหลุมให้เข้ากันนำไปบ่มในห้องมืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้เกลติกเป็นตัวควบคุมแบบบวค คำนวณเปอร์เซ็นต์ การกำจัดอนุมูล DPPH ดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH} = \left[\frac{A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})}{A_{control}} \right] \times 100$$

โดย $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม ที่ประกอบด้วยเมทานอลและสารละลาย DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ประกอบด้วย ส่วนสกัดและสารละลาย DPPH

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม ที่ประกอบด้วย ส่วนสกัดและเมทานอล จากนั้นคำนวณหา IC_{50} จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง เปอร์เซ็นต์การกำจัด

อนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัด ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

6.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ reducing power

ความสามารถในการรีดิวซ์โดยทำตามวิธีของกล่าวขวัญ ศรีสุข และคณะ (2553) เปรียบเทียบกับกรดแกลลิกโดยการนำสารละลายของส่วนสกัดเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ pH 6.6 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ริกไซยาไนด์ ($K_3Fe(CN)_6$) เข้มข้น 1% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลายกรดไทรคลอโรอะซิติก (CCl_3COOH) เข้มข้น 10% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น ปิเปิดสารละลายส่วนบน ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิเปิดสารผสมปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมไมโครเพลท จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบ ไมโครเพลท คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐานของแกลลิก โดยสร้างจากการนำสารละลายกรดแกลลิกในเมทานอลที่ความเข้มข้น 0, 0.00625, 0.0125, 0.0125, 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับส่วนสกัด แสดงค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในรูปมิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

6.3 การทดสอบความสามารถในการคีเลทโลหะ

การทดสอบความสามารถในการคีเลทโลหะเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) เป็นการทดสอบทำตามวิธีของ กล่าวขวัญ ศรีสุข และคณะ (2553) มี EDTA เป็นตัวควบคุมแบบบวก และเตรียมสารละลาย EDTA ในน้ำ และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปฏิบัติการเริ่มจากการเติมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมสารละลาย EDTA หรือส่วนสกัดในเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมสารละลายเฟอร์โรซีน (Ferrozine) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการคีเลทโลหะจากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกีดเลทโลหะ} = \left[\frac{A_{control} - (A_{sample} - A_{blank})}{A_{control}} \right] \times 100$$

โดย $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม ที่ประกอบด้วยน้ำกลั่นหรือเมทานอล เฟอร์ริสคลอไรด์ และเฟอร์โรซีน

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม ที่ประกอบด้วย สารละลาย EDTA หรือส่วนสกัดเฟอร์ริสคลอไรด์ และเฟอร์โรซีน

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม ที่ประกอบด้วย สารละลาย EDTA หรือส่วนสกัดเฟอร์ริสคลอไรด์ และน้ำกลั่น

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง เปอร์เซ็นต์การกีดเลทโลหะกับความเข้มข้นของสารสกัด ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

7. การวิเคราะห์ผล

แสดงข้อมูลที่ได้ในรูปค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน และการทดลองแต่ละครั้งทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาทดสอบความแปรปรวนโดยใช้ one-way ANOVA ($P < 0.05$)

บทที่ 4

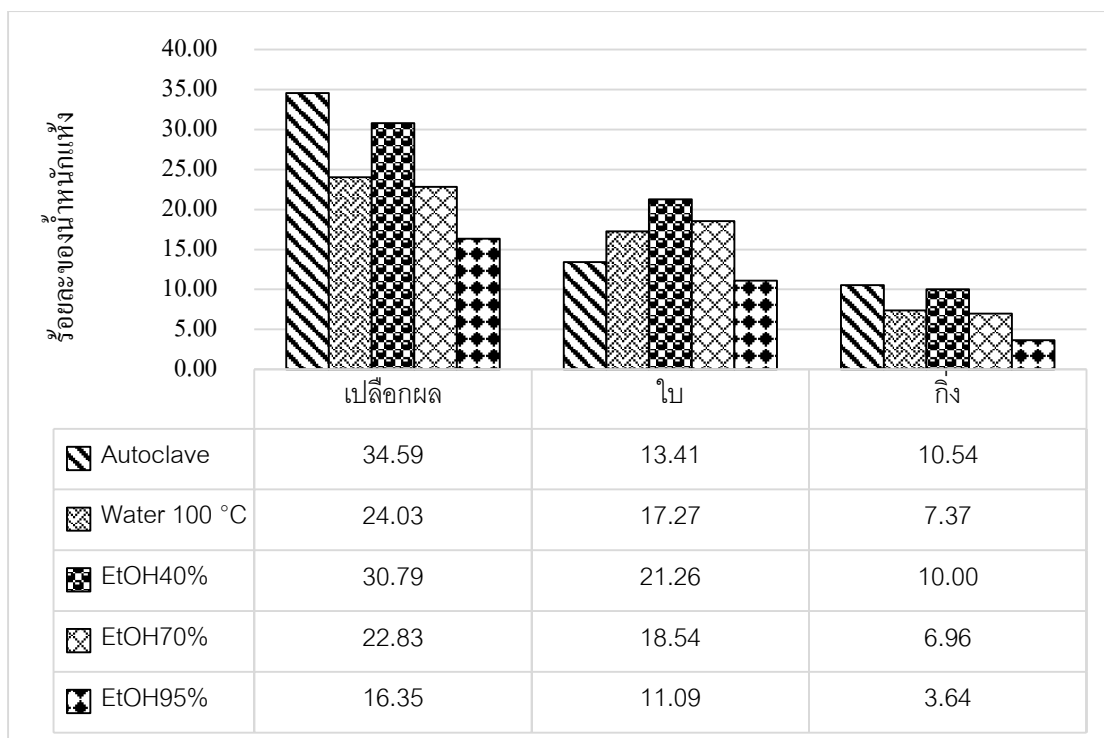
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของส้มซ่า

การสกัดสารจากส่วนของเปลือกผลของส้มซ่าด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 100 °C เอทานอล 40% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% จาก น้ำหนักแห้ง 20 กรัม พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลมีร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และส่วนสกัดจากกิ่ง แสดงดัง ภาพที่ 4-1 เปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C มีค่าร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น มีค่าเท่ากับ 6.92 กรัม หรือ ร้อยละ 34.59 ส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วย เอทานอล 40% มีร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงกว่าการสกัด ด้วยตัวทำละลายอื่น มีค่าเท่ากับ 4.25 กรัม หรือร้อยละ 21.26 และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดย ใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C มีค่าร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย อื่น มีค่าเท่ากับ 2.11 กรัม หรือร้อยละ 10.54 แสดงดังตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 น้ำหนักของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบบึงของส้มซ่า

| ส้มซ่า | วิธีการสกัด | น้ำหนักสาร (g) | ร้อยละของน้ำหนักแห้ง |
|----------|-------------------------|----------------|----------------------|
| เปลือกผล | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 6.92 | 34.59 |
| | น้ำที่ 100 °C | 4.81 | 24.03 |
| | เอทานอล 40% | 6.16 | 30.79 |
| | เอทานอล 70% | 4.57 | 22.83 |
| | เอทานอล 95% | 3.27 | 16.35 |
| ใบ | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 2.68 | 13.41 |
| | น้ำที่ 100 °C | 3.45 | 17.27 |
| | เอทานอล 40% | 4.25 | 21.26 |
| | เอทานอล 70% | 3.71 | 18.54 |
| | เอทานอล 95% | 2.22 | 11.09 |
| กิ่ง | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 2.11 | 10.54 |
| | น้ำที่ 100 °C | 1.47 | 7.37 |
| | เอทานอล 40% | 2.00 | 10.00 |
| | เอทานอล 70% | 1.39 | 6.96 |
| | เอทานอล 95% | 0.73 | 3.64 |



หมายเหตุ: EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-1 ร้อยละน้ำหนักแห้งของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่า

4.2 ผลการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า

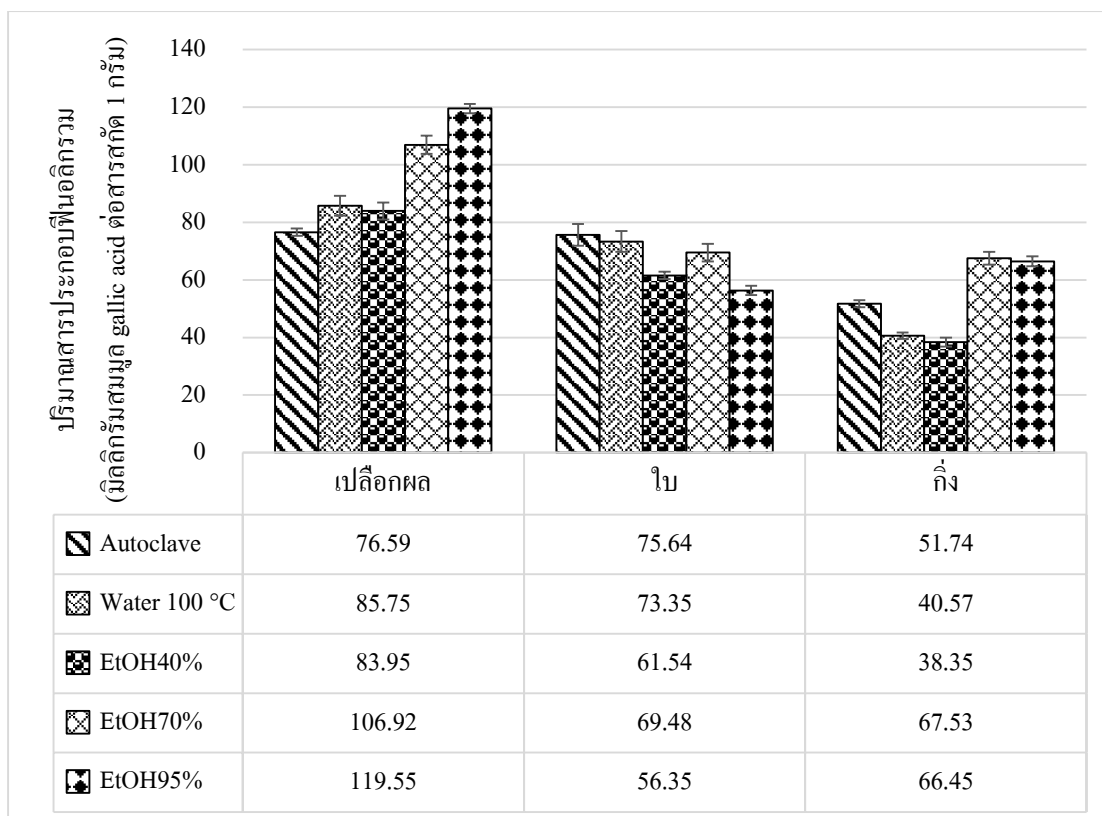
จากการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่า พบว่าส่วนสกัดแต่ละส่วนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดัง ตารางที่ 4-2 โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และส่วนสกัดจากกิ่ง ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Benamrouche and Madani (2013) ซึ่งได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผล และ ใบของส้มพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงของส่วนสกัดจากเปลือกผลสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ ในขณะที่ Li, Smith, and Hossain (2006) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นเอทานอลในการสกัดสารจากเปลือกของมะนาว ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 72%-85% ซึ่งแตกต่างจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลของส้มซ่า คือส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% สูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ผลการศึกษาในครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lou, Lai, Hsu, and Ho (2016) ที่

ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในส่วนสกัดจากเปลือกผล และส่วนสกัดจากเนื้อผลของส้มของเมืองจิน โดยใช้ตัวทำละลายน้ำที่ 80, 90, และ 100 °C และตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 50, 60, 70, 80, และ 95% พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดที่สกัดด้วยน้ำ ที่ 80 °C สูงกว่าส่วนสกัดที่สกัดจากด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำห้อนึ่งความดัน ที่ 121 °C มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าส่วนสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95% แสดงดัง ภาพที่ 4-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคำนวณได้จากสมการ $y = 2.6241x + 0.067$ มีค่า $R^2 = 0.9992$

ตารางที่ 4-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

| วิธีการสกัด | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม) | | |
|--------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| | เปลือกผล | ใบ | กิ่ง |
| น้ำ Autoclave ที่ 121 °C | 76.59 ± 1.30 ^{d,A} | 75.64 ± 3.80 ^{a,A} | 51.74 ± 1.20 ^{b,B} |
| น้ำที่ 100 °C | 85.75 ± 3.44 ^{c,A} | 73.35 ± 3.65 ^{a,B} | 40.57 ± 1.10 ^{c,C} |
| เอทานอล 40% | 83.95 ± 2.94 ^{c,A} | 61.54 ± 1.27 ^{b,B} | 38.35 ± 1.55 ^{c,C} |
| เอทานอล 70% | 106.92 ± 3.17 ^{b,A} | 69.48 ± 3.07 ^{a,B} | 67.53 ± 2.26 ^{a,B} |
| เอทานอล 95% | 119.55 ± 1.61 ^{a,A} | 56.35 ± 1.61 ^{c,C} | 66.45 ± 1.72 ^{a,B} |

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ การประมาณค่าข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดย a, b, c, d และ e หมายถึงข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วน A, B และ C หมายถึงข้อมูลในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



หมายเหตุ EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

4.3 ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า

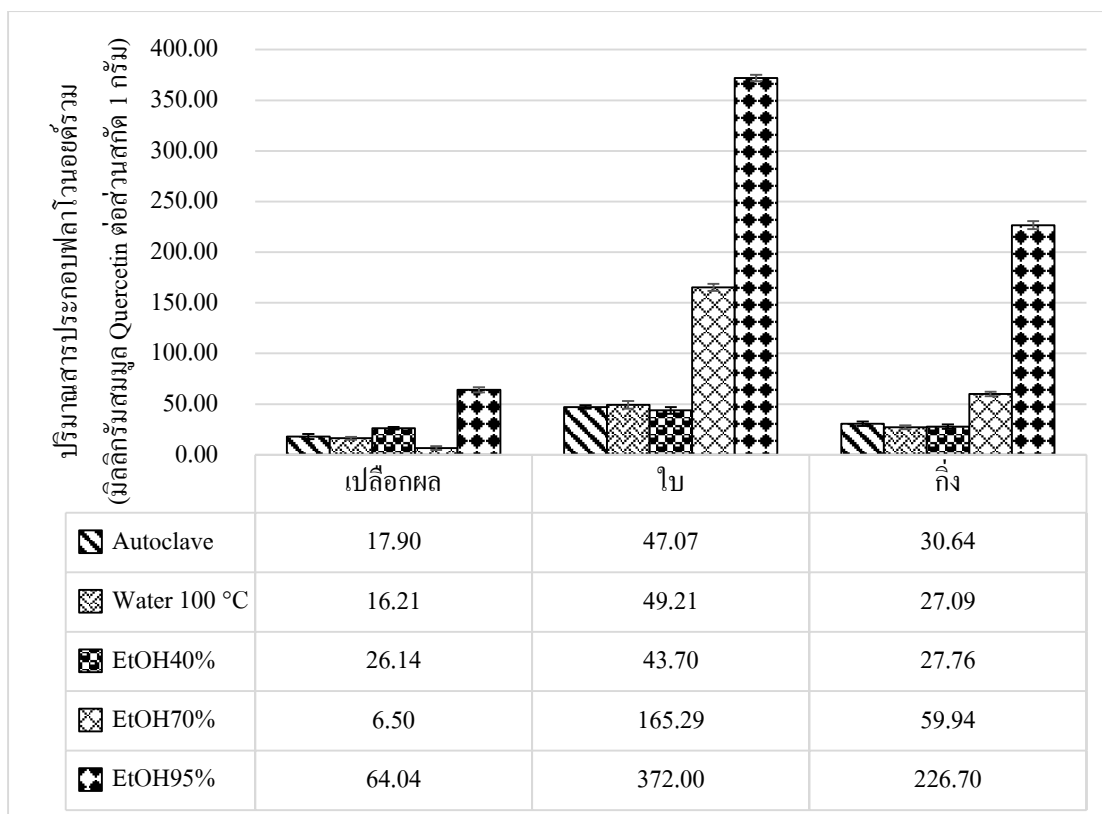
การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของ ส้มซ่า พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดแต่ละส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4-3 ส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผล และส่วนสกัดจากกิ่ง ส่วนสกัดจากใบ เปลือกผล และกิ่ง ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ แสดงดังภาพที่ 4-3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Karimi, Oskoueian, Hendra, Oskoueian, and Jaafar (2012) ที่ศึกษาผลของตัวทำละลายเอทานอล น้ำ และ เมทานอล ในการสกัดสารจากดอกส้มซ่าต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าส่วนสกัดจากดอกส้มซ่าที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากดอกส้มซ่าที่สกัดด้วยน้ำ และเมทานอล

แต่ผลการทดลองไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lou, Hsu, and Ho (2014) ที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมทั้งสกัดจากเปลือกส้มจี๊ดโดยใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80, 90, 100 °C และเอทานอล 50% เอทานอล 60%, เอทานอล 70%, เอทานอล 80% และเอทานอล 95% พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกส้มจี๊ดที่สกัดด้วยน้ำ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากการศึกษาของ Benamrouche and Madani (2013) ที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส้ม 2 สายพันธุ์จาก 7 เมืองของประเทศแอลจีเรีย พบว่าส้มทั้ง 2 สายพันธุ์จากทั้ง 7 เมือง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยให้คำอธิบายว่า ปริมาณสารองค์ประกอบในส้มเกิดจากหลายปัจจัย ได้แก่ สิ่งแวดล้อมที่ปลูก การเก็บรักษาตัวอย่างส้มก่อนสกัด อายุของผลที่เก็บ และพันธุกรรมของส้ม การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมคำนวณได้จากสมการ $y = 0.1813x + 0.0394$ มีค่า $R^2 = 0.9988$

ตารางที่ 4-3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

| วิธีการสกัด | ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูล quecetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม) | | |
|--------------------------|--|------------------------------|------------------------------|
| | เปลือกผล | ใบ | กิ่ง |
| น้ำ Autoclave ที่ 121 °C | 17.90 ± 2.61 ^{c,C} | 47.07 ± 1.75 ^{c,A} | 30.64 ± 2.22 ^{c,B} |
| น้ำที่ 100 °C | 16.21 ± 1.40 ^{c,C} | 49.21 ± 3.83 ^{c,A} | 27.09 ± 1.77 ^{c,B} |
| เอทานอล 40% | 26.14 ± 1.16 ^{b,B} | 43.70 ± 3.42 ^{c,A} | 27.76 ± 2.12 ^{c,B} |
| เอทานอล 70% | 6.50 ± 1.84 ^{d,C} | 165.29 ± 3.51 ^{b,A} | 59.94 ± 2.30 ^{b,B} |
| เอทานอล 95% | 64.04 ± 2.54 ^{a,C} | 372.00 ± 3.13 ^{a,A} | 226.70 ± 3.99 ^{a,B} |

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ การประมาณค่าข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดย a, b, c, d และ e หมายถึงข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วน A, B และ C หมายถึงข้อมูลในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



หมายเหตุ EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-3 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า

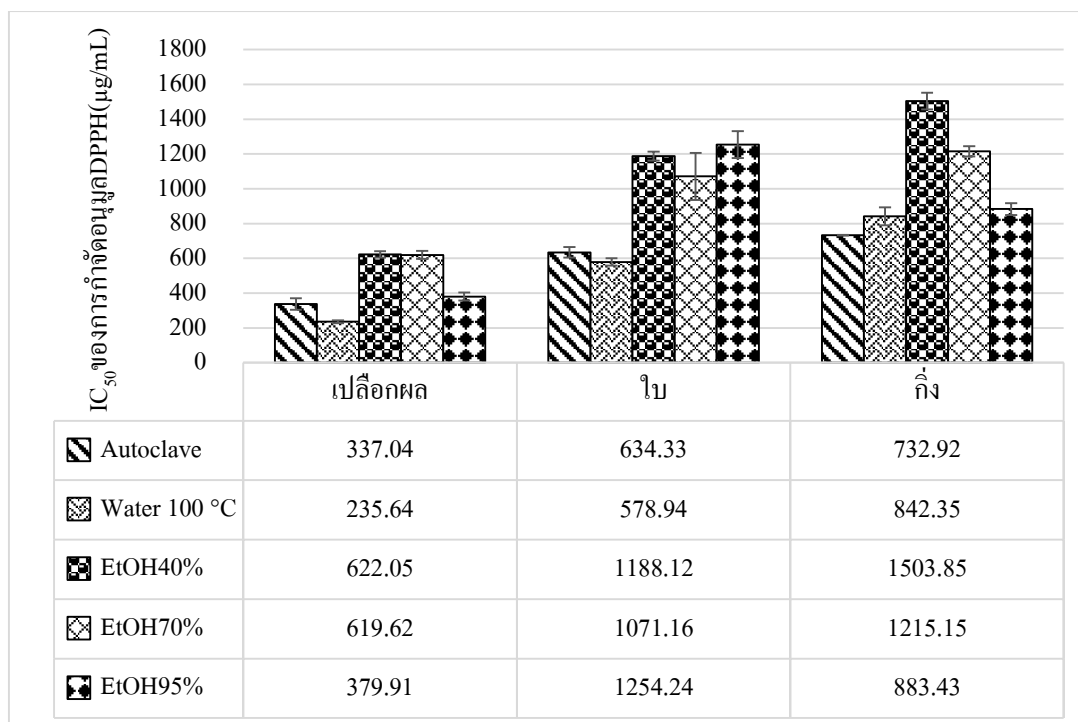
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า พบว่าทุกส่วนมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดแต่ละส่วนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4-4 ส่วนสกัดของเปลือกผลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดโดยวิธีเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benamrouche and Madani (2013) ที่พบว่าเปลือกผลส้มซ่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบ ส่วนสกัดจากเปลือกผลของส้มซ่าที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ต่ำกว่าการรายงานของ Karoui and Marzouk (2013) ที่สกัดสารจากเปลือกของส้มซ่าโดยใช้ตัวทำละลายผสมของอีเทอร์กับเพนเทนในอัตราส่วน 1: 1 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร พบว่ามีค่า IC_{50} ของฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ

190 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดัน ที่ 121 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ แสดงคังภาพที่ 4-4 ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lou, Lai, Hsu, and Ho (2014) ที่รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากส่วนสกัดของเปลือก และส่วนสกัดจากเนื้อของส้มจี๊ด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำอุณหภูมิที่ 80, 90, 100 °C และเอทานอล 50% เอทานอล 60%, เอทานอล 70%, เอทานอล 80% และเอทานอล 95% พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลของส้มจี๊ดที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ โดยส่วนสกัดจากเปลือกผลของ ส้มจี๊ดที่สกัดด้วย น้ำที่ 80 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน แกลลิก มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 9.03 ± 0.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4-4 ค่า IC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

| วิธีการสกัด | IC ₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH (µg/mL) | | |
|--------------------------|---|---------------------------------|--------------------------------|
| | เปลือกผล | ใบ | กิ่ง |
| น้ำ Autoclave ที่ 121 °C | 337.04 ± 33.69 ^{b,A} | 634.33 ± 30.82 ^{a,B} | 732.92 ± 1.99 ^{a,C} |
| น้ำที่ 100 °C | 235.64 ± 8.29 ^{a,A} | 578.94 ± 20.72 ^{a,B} | 842.35 ± 51.59 ^{b,C} |
| เอทานอล 40% | 622.05 ± 18.51 ^{c,A} | 1188.12 ± 25.42 ^{b,B} | 1503.85 ± 47.96 ^{d,C} |
| เอทานอล 70% | 619.62 ± 23.59 ^{c,A} | 1071.16 ± 135.76 ^{b,B} | 1215.15 ± 29.83 ^{c,B} |
| เอทานอล 95% | 379.91 ± 23.14 ^{b,A} | 1254.24 ± 77.37 ^{b,C} | 883.43 ± 33.61 ^{b,B} |

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ การประมาณค่าข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดย a, b, c, d และ e หมายถึงข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วน A, B และ C หมายถึงข้อมูลในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)



หมายเหตุ EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-4 ค่า IC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

4.5 ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า

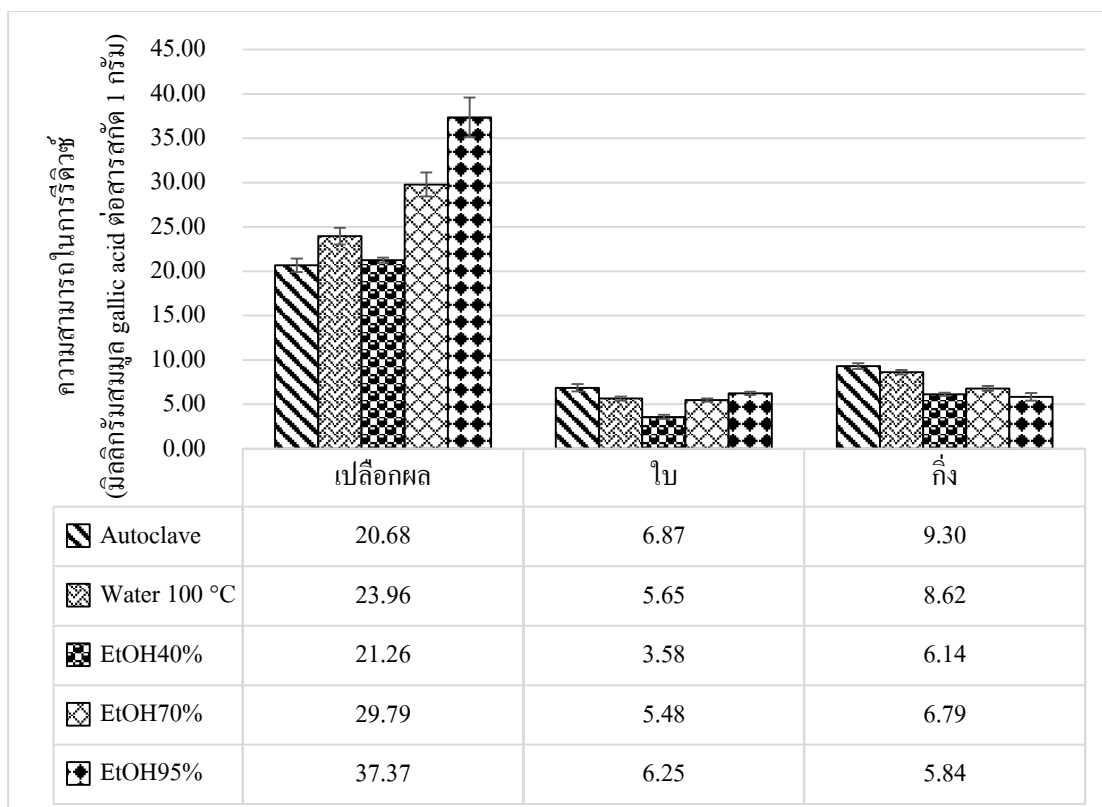
การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สามารถวิเคราะห์โดยใช้เฟอร์ริกคลอไรด์ โดยสารเชิงซ้อนของเฟอร์ริกไซยาไนด์ ถูกเปลี่ยนให้เป็น เฟอร์รัสไอออน ถ้าความเข้มข้นของ เฟอร์รัสไอออนสูงขึ้นแสดงว่ามีในการความสามารถรีดิวซ์สูงขึ้นด้วย สารองค์ประกอบบางชนิด ออกฤทธิ์ โดยการให้อิเล็กตรอนทำให้ปฏิกิริยาถูกโคของอนุมูลอิสระที่ลดลง Mathew, Shajie, Wadhwa, Murthy, Murthy, and Rashmi (2013) การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วน สกัดจากเปลือกผล ใบ กิ่ง ของส้มซ่าพบว่าส่วนสกัดแต่ละส่วนมีความสามารถในการรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4-5 ส่วนสกัดจากเปลือกผลของส้มซ่ามี ความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และส่วนสกัดจากกิ่ง ที่สกัดด้วยวิธีเดียวกัน ซึ่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Benamrouche and Madani (2013) ที่รายงานว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลมี ความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดจากใบ ส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ส่วน

สกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 °C มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C แสดงดังภาพที่ 4-5 การหาความสามารถในการรีดิวซ์คำนวณได้จากสมการ $y = 8.2496x + 0.0695$ มีค่า $R^2 = 0.9994$

ตารางที่ 4-5 ความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

| วิธีการสกัด | ความสามารถในการรีดิวซ์ (มิลลิกรัม gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม) | | |
|--------------------------|--|----------------------------|----------------------------|
| | เปลือกผล | ใบ | กิ่ง |
| น้ำ Autoclave ที่ 121 °C | 20.68 ± 0.76 ^{d,A} | 6.87 ± 0.41 ^{a,C} | 9.30 ± 0.33 ^{a,B} |
| น้ำที่ 100 °C | 23.96 ± 0.93 ^{c,A} | 5.65 ± 0.23 ^{b,C} | 8.62 ± 0.24 ^{b,B} |
| เอทานอล 40% | 21.26 ± 0.29 ^{d,A} | 3.58 ± 0.23 ^{c,C} | 6.14 ± 0.19 ^{d,B} |
| เอทานอล 70% | 29.79 ± 1.35 ^{b,A} | 5.48 ± 0.17 ^{b,C} | 6.79 ± 0.27 ^{c,B} |
| เอทานอล 95% | 37.37 ± 2.24 ^{a,A} | 6.25 ± 0.17 ^{a,B} | 5.84 ± 0.44 ^{d,B} |

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ การประมาณค่าข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดย a, b, c, d และ e หมายถึงข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วน A, B และ C หมายถึงข้อมูลในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



หมายเหตุ EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-5 ความสามารถในการรีดิวซ์ ของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของส้มซ่า

4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะของส่วนสกัดต่าง ๆ ของส้มซ่า

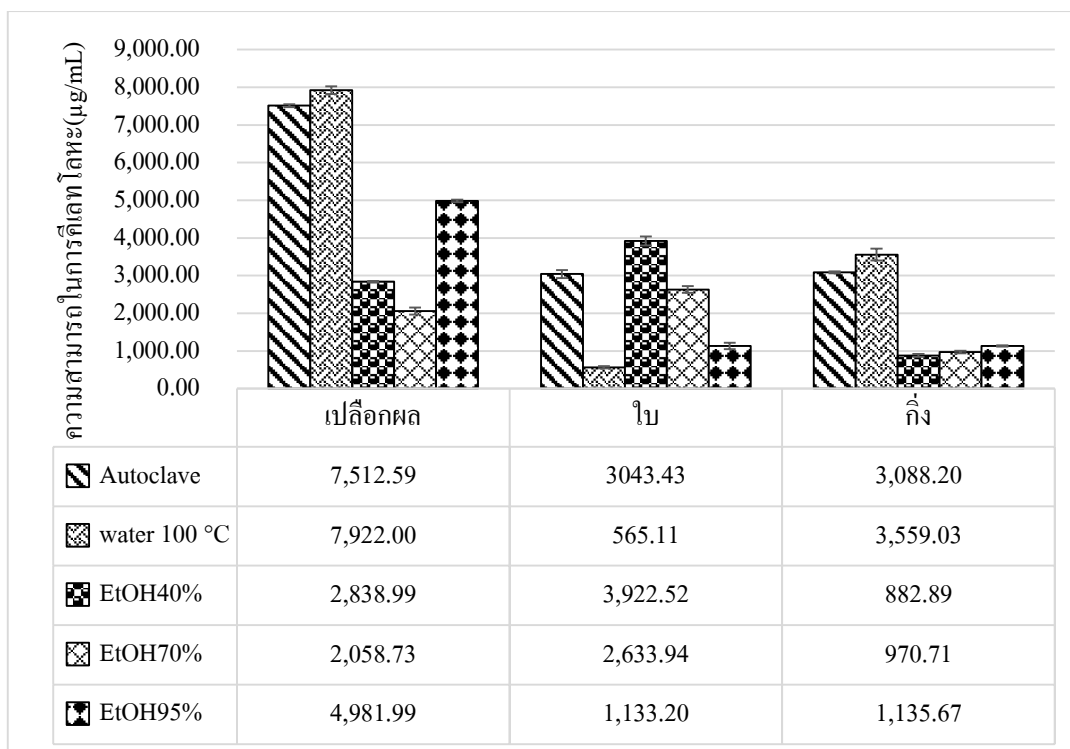
การทดสอบความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับผู้ ที่สนใจเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารกลุ่มนี้ไปช่วยลดความเข้มข้นของโลหะ ทรานซิชั่นซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน Nair, Panneerselvam, and Gopi (2012) จาก การศึกษาความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะพบว่าส่วนสกัดทุกส่วนของส้มซ่ามีความสามารถ ในการคีเลทไอออนของโลหะ แสดงดังตารางที่ 4-6 ส่วนสกัดแต่ละส่วนมีความสามารถในการ คีเลทไอออนของโลหะได้แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยส่วนสกัดจากใบที่สกัด ด้วยน้ำที่ 100 °C มีความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะสูงกว่าส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วย ตัวทำละลายอื่น ๆ ส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีความสามารถในการคีเลท ไอออนของโลหะสูงที่สุด และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีความสามารถในการ คีเลทไอออนของโลหะสูงกว่าส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ แสดงดังภาพที่ 4-6

ในขณะที่สารละลายมาตรฐาน EDTA มีความสามารถในการ คีเลทไอออนของโลหะซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.19 ± 0.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4-6 ค่า IC_{50} ของการคีเลทไอออนของโลหะของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ กิ่งของ ส้มซ่า

| วิธีการสกัด | IC_{50} ของการคีเลทไอออนของโลหะ ($\mu\text{g/mL}$) | | |
|---|--|-----------------------------|-----------------------------|
| | เปลือกผล | ใบ | กิ่ง |
| น้ำ Autoclave ที่ 121°C | $7,512.59 \pm 41.46^{d,B}$ | $3043.43 \pm 104.96^{d,A}$ | $3,088.20 \pm 28.55^{d,A}$ |
| น้ำที่ 100°C | $7,922.00 \pm 101.92^{e,C}$ | $565.11 \pm 29.73^{a,A}$ | $3,559.03 \pm 155.14^{e,B}$ |
| เอทานอล 40% | $2,838.99 \pm 19.49^{b,B}$ | $3,922.52 \pm 116.71^{c,C}$ | $882.89 \pm 40.04^{a,A}$ |
| เอทานอล 70% | $2,058.73 \pm 94.33^{a,B}$ | $2,633.94 \pm 88.53^{c,C}$ | $970.71 \pm 31.59^{b,A}$ |
| เอทานอล 95% | $4,981.99 \pm 35.45^{c,B}$ | $1,133.20 \pm 85.76^{b,A}$ | $1,135.67 \pm 16.19^{c,A}$ |

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองจำนวน 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ การประมาณค่าข้อมูลใช้ one-way ANOVA โดย a, b, c, d และ e หมายถึงข้อมูลในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วน A, B และ C หมายถึงข้อมูลในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



หมายเหตุ EtOH คือ เอทานอล

ภาพที่ 4-6 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของการกีดกันไอออนของโลหะของส่วนสกัดจาก เปลือกผล ใบ และ กิ่งของส้มซ่า

4.7 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากส้มซ่า

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้กราฟความสัมพันธ์ของเพียร์สัน Ramful, Bahorun, Bourdon, Tarnus, and Aruoma (2010) พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ในระดับปานกลาง และสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์ระดับสูง ด้วยค่า R เท่ากับ 0.5606 และ 0.8358 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-7 กล่าวคือเมื่อส่วนสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ก็จะสูงด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lou et al. (2016) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกสามารถให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูล DPPH ได้ง่ายจึงทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูง Benamrouche and Madani (2013) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ก็ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ

สารประกอบ ฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบในส่วนสกัดแต่ละชนิดด้วย Su, Shyu, and Chien (2008) จะเห็นได้ว่าส่วนสกัดจากเปลือกผลของส้มซ่าที่สกัดด้วยเอทานอล 70% มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกสูงแต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ดีทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารที่เป็นองค์ประกอบไม่ใช่สารที่ ออกฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสัมพันธ์ทางลบกับความสามารถใน การคีเลตไอออนของโลหะในระดับต่ำมากๆ ด้วยค่า R เท่ากับ -0.2782 เมื่อพิจารณาผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าในเปลือกผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงแต่มีความสามารถในการคีเลต ไอออนของโลหะได้น้อยกว่า ใบซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำกว่าแต่มีความสามารถในการ คีเลตไอออนของโลหะได้สูง ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Su, Shyu, and Chien (2008) พบว่าส่วนสกัดจากสมุนไพรตระกูลส้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงแต่มีความสามารถ ในการคีเลตไอออนของโลหะต่ำ กลไกการคีเลตไอออนของโลหะเกิดจากสารไปจับกับโลหะเกิด เป็นสารเชิงซ้อน ทำให้โลหะจึงไม่สามารถไปเร่งให้เกิดปฏิกิริยา Fenton ได้ ดังนั้นการที่เปลือกผล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงแต่อาจไม่ใช่สารกลุ่มที่ออกฤทธิ์เกี่ยวกับการคีเลตไอออนของ โลหะ ส่วนความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อมีความสัมพันธ์ทางลบกับ ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ในระดับต่ำด้วยค่า R เท่ากับ -0.3669 และ -0.3499 ตามลำดับ เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ของสารฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับหมู่แทนที่ตรง ตำแหน่งวง B ถ้าหมู่แทนที่เป็นสารประเภทฟีนอล หรือเมทอกซีฟีนอล ก็จะส่งผลให้มีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระน้อย Barreca et al. (2011) แต่สัมพันธ์ทางบวกกับความสามารถในการคีเลตไอออน ของโลหะในระดับต่ำมากๆ ด้วยค่า R เท่ากับ 0.2586 แสดงว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบใน ส่วนสกัดของส้มซ่าอาจไม่ใช่สารในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4-7 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบ
ฟลาโวนอยด์รวม ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากส้มซ่า

| วิธีการทดสอบ | ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) | |
|----------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| | ปริมาณสารประกอบ | ปริมาณสารประกอบ |
| | ฟีนอลิกรวม | ฟลาโวนอยด์รวม |
| ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH | 0.5606 | -0.3669 |
| ความสามารถในการรีดิวซ์ | 0.8358 | -0.3499 |
| ความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะ | -0.2782 | 0.2586 |

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. ส่วนสกัดของเปลือกผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ ร้อยละของน้ำหนักแห้งสูงกว่าส่วนสกัดจากใบ และกิ่ง ส่วนสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์สูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผล และกิ่งของส้มซ่า

2. การสกัดสารจากเปลือกผล และใบของส้มซ่าโดยใช้น้ำเดือด และการสกัดสารจากกิ่ง ของส้มซ่าโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความสามารถในการกำจัด อนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ในระดับปานกลาง และสูงตามลำดับ แต่มี ความสัมพันธ์ทางลบกับความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะในระดับต่ำ ส่วนปริมาณ สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์ทางลบกับความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ในระดับต่ำ แต่มีความสัมพันธ์ทางบวกกับความสามารถในการ คีเลตไอออนของโลหะในระดับต่ำมาก ๆ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาองค์ประกอบที่เป็นสารบริสุทธิ์จากส่วนสกัดจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของ ส้มซ่า และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์

2. ควรศึกษาวิธีการทำให้แห้งของเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าโดยการเปลี่ยน อุณหภูมิที่อบ หรือตากแห้งแบบธรรมชาติที่มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของส้มซ่า

บรรณานุกรม

- กล่าวขวัญ ศรีสุข, ปรีดาพรรณ สาลี, เขวลักษณ์ เจริญสุข และเอกรัฐ ศรีสุข. (2553). ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดจากเหง้าของว่านสาวหลง. *วารสารพฤกษศาสตร์ไทย*, 2(ฉบับพิเศษ), 143-150.
- ปฎิวิทย์ ลอยพิมาย, ทิววรรณ ผาสกุล, และราตรี มงคลไทย. (2554). เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 42(2)(ฉบับพิเศษ), 385-388.
- ประสงค์ เทียนบุญ. (2553). บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. *วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ*, 4(2), 69-76.
- เพชรรุ่ง เทพทอง, จิตพิสุทธิ์ จันทร์ทองอ่อน, อรณิ ประจวบจินดา, ศรีโสภา เรืองหนู และอรุณพร อีฐรัตน์. (2012). การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดชั้นเอทานอล ของขิง พริกไทยดำ และดีปลี. ใน *การประชุมเครือข่ายวิชาการบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 1*. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- ริตา เกียร์ และโรเบิร์ต วูดเวิร์ด. (2551). *อาหารขจัดอนุมูลอิสระ* (พิสิฐ วงศ์วัฒน์, แปล). กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน.
- โรสวันซ์ พิริยะสมบุญชู. (2553). *อาหารต้านอนุมูลอิสระ Antioxidant ต้วงการโรคร้าย ปังจัยความเลื่อม*. กรุงเทพฯ: feel good.
- เศรษฐมนันต์ กาญจนกุล. (2553). *ร้อยพรรณพฤกษา พรรณไม้หายาก*. กรุงเทพฯ: เศรษฐศิลป์.
- สิทธิณี กิตติสิทโธ (ผู้ดำเนินรายการ). (2010). *สมุนไพรไทยน่ารู้* (วีดิทัศน์). กรุงเทพฯ: กรมการแพทย์แผนไทย.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล, วัฒนา วัฒนกุล, ชีรวุฒิ เลิศสุทธิชาวาล และพีรพงษ์ พึ่งแย้ม. (2552). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดพืชป่าชายเลน บริเวณหาดราชมงคล จังหวัดตรัง. ใน *การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19 ประจำปี 2552*. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: นิเวศมิตรการพิมพ์.

- Abdelqader, A., Qarallaha, B., Ramamnehb, D. A., & Das, G. (2012). Anthelmintic effects of citrus peels ethanolic extracts against *Ascaridia galli*. *Veterinary Parasitology*, *188*, 78-84.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*, 7915-7922.
- Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U., & Gattuso, G. (2011). Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl)glycosyl flavanones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice. *Food Chemistry*, *124*, 576-582.
- Benamrouchea, L. L., & Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, *50*, 723-730.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182.
- Chavan, J. J., Gaikwad, N. B., Kshirsagar, P. R., & Dixit, G. (2013). Total phenolics, flavonoids and antioxidant properties of three *Ceropegia* species from Western Ghats of India. *South African Journal of Botany*, *88*, 273-277.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A. R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *Journal of Biotechnology*, *7*(18), 3188-3192.
- Guo, M., Ma, Y., Wang, C., Liu, H., Li, Q., & Fei, M. (2015). Synthesis, anti-oxidant activity, and biodegradability of a novel recombinant polysaccharide derived from chitosan and lactose. *Carbohydrate Polymers*, *118*, 218-223.
- Halliwel, B. & Gutteridge. (2007). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). Oxford Clarendon: Oxford University.

- Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y., Yasukara, T., & Yoshida, T. (1989). Effects of the interaction of tannins with co-existing substances VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 2, 2'-diphenylpicrylhydrazyl. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2016–2021.
- Kang, S. R., Park, K. I., Park, H. S., Lee, D. H., Kim, J. A., Nagappan, A., Kim, E. H., Lee, W. S., Shin, S. C., Park, M. K., Han, D. Y., & Kim, G. S. (2011). Anti-inflammatory effect of flavonoids isolated from Korea *Citrus aurantium* L. on lipopolysaccharide-induced mouse macrophage RAW 264.7 cells by blocking of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signalling pathways. *Food Chemistry*, 129, 1721-1728.
- Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., Oskoueian, A., & Jaarar, H. Z. (2012). Phenolic Compounds Characterization and Biological Activities of *Citrus aurantium* Bloom. *Molecules*, 17, 1203-1218.
- Karoui, I. J. & Marzouk, B. (2013). Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities. *Hindawi Publishing Corporation*, 2013, 345-415.
- Li, B. B., Smith, B., & Hossian, M. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48, 182-188.
- Lou, N. S., Lai, C. Y., Hsu, S. Y., & Ho, T. C. (2014). Flavonoid compositions and antioxidant activity of calamondin extracts prepared using different solvents. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 290-295.
- Lou, N. S., Lai, C. Y., Hsu, S. Y., & Ho, T. C. (2016). Phenolic content, antioxidant activity and effective compounds of kumquat extracted by different solvents. *Food Chemistry*, 197, 1-6.
- Lou, S. N., Lin, Y. S., Hsu, Y. S., Chin, E., & Ho, C. H. (2014). Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. *Food Chemistry*, 161, 246-253.

- Mathew, B., Shajie, D., Wadhwa, N., Murthy, K., Murthy, K., & Rashmi, M. (2013). Comparative antioxidant efficacy of *Citrus limonum* pulp and peel e An in vitro study. *Drug Invention Today*, 5, 296-301.
- Moraesa, T. M., Kushimaa, H., Moleiroa, F. C., Santosa, R. C., Rochaa, L. R., Marquesb, M. O., Vilegasc, W., & Limaa, C. A. (2009). Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions*, 180, 499–505.
- Moulehi, I., Bourgou, S., Ourghemmi, I., & Tounsi, M. S. (2012). Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulate Blanco*) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. *Industrial Crops and Products*, 39, 74-80.
- Nair, V. D., Panneerselvam, R., & Gopi, R. (2012). Studies on methanolic extract of Rauvolfia species from Southern Western Ghats of India – In vitro antioxidant properties, characterisation of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, 39, 17-25.
- Park, K. I., Park, H. S., Kim, M. K., Hong, G. E., Nagappan, A., Lee, H. J., Yumnam, S., Lee, W. S., Won, C. K., Shin, S. C., & Kim, G. S. (2014). Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit Non-Small Cell Lung Cancer growth in vivo and in vitro. *Journal of Functional Food*, 7, 287-297.
- Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., & Aruoma, O. (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278, 75-87.
- Rawsona, N. E., Hob, C. T., & Lic, S. (2014). Efficacious anti-cancer property of flavonoids from citrus peels. *Food Science and Human Wellness*, 3, 104-109.
- Sanchez-Moreno, C., Jimenez-Escoria, A., & Saura-Calixto, J. (2000). Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research*, 20, 941-953.

- Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Theriou, K. D., & Therios, I. (2013). Volatile Constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. *Molecules*, *18*, 10639-10647.
- Su, M. S., Shyu, Y. T., & Chien, P. J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chemistry*, *111*, 892-896.
- Wang, X., Chen, W., & Lu, X. (2014). Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcriticalwater. *Food Hydrocolloids*, *38*, 129-137.
- World Health Organization. (2014). *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2014*. เข้าถึงข้อมูลได้จาก <http://www.who.int/global-coordination-mechanism/publications/ncds-country-profiles-eng.pdf>

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
(M.W. = 394.33)

$$\text{จากสูตร } g/M.W. = CV/1000$$

$$g = (0.2 \times 10^{-3} \times 20 \times 394.33) / 1000$$

$$g = 0.0016 \text{ g}$$

ชั่ง DPPH 0.0016 กรัม ละลายในเมทานอล 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์ เก็บให้พ้นแสง ควรเตรียมใหม่ทุกวัน

2. การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ในสารละลายกรดแกลลิก 1 มิลลิลิตร มีกรดแกลลิก 1 มิลลิกรัม

ถ้าสารละลายกรดแกลลิก 10 มิลลิลิตร มีกรดแกลลิก = $(1 \times 10) / 1$

$$= 10 \text{ มิลลิกรัม}$$

ชั่งกรดแกลลิก 10 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์ ตีฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

3. การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 7 % โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 100 มิลลิลิตร มีโซเดียมคาร์บอเนต 7 กรัม

ถ้าสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 500 มิลลิลิตร มีโซเดียมคาร์บอเนต = $(7 \times 500) / 100$

$$= 35 \text{ กรัม}$$

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 35 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร ตีฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม

4. การเตรียมสารละลายเคอร์เซตินเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ในสารละลายเคอร์เซติน 1 มิลลิลิตร มีเคอร์เซติน 1 มิลลิกรัม

ถ้าสารละลายเคอร์เซติน 10 มิลลิลิตร มีเคอร์เซติน = $(1 \times 10) / 1$

$$= 10 \text{ มิลลิกรัม}$$

ชั่งเคอร์เซติน 10 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์ ตีฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

5. การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ เข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

ในสารละลายโซเดียมไนไตรท์ 100 มิลลิลิตร มีโซเดียมไนไตรท์ 5 กรัม

ในสารละลายโซเดียมไนไตรท์ 20 มิลลิลิตร มีโซเดียมไนไตรท์ = $(20 \times 5) / 100$

$$= 1 \text{ กรัม}$$

ชั่งโซเดียมไนไตรท์ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์
ติดฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

6. การเตรียมสารละลายอลูมิเนียมไตรคลอไรด์ เข้มข้น 10% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

ในสารละลายอลูมิเนียมไตรคลอไรด์ 100 มิลลิลิตร มีอลูมิเนียมไตรคลอไรด์ 10 กรัม

ในสารละลายอลูมิเนียมไตรคลอไรด์ 20 มิลลิลิตร มีอลูมิเนียมไตรคลอไรด์

$$= (20 \times 10) / 100$$

$$= 2 \text{ กรัม}$$

ชั่งอลูมิเนียมไตรคลอไรด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่าง
สมบูรณ์ ติดฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

7. สารละลายเฟอรัสซัลเฟต เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ 20 มิลลิลิตร (M.W. = 278.02)

$$\text{จากสูตร } g/M.W. = CV/1000$$

$$g = (2 \times 10^{-3} \times 20 \times 278.02) / 1000$$

$$g = 0.01 \text{ g}$$

ชั่งเฟอรัสซัลเฟต 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์
ติดฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

8. เตรียมสารละลายเฟอโรซีน เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (M.W. = 492.46)

$$\text{จากสูตร } g/M.W. = CV/1000$$

$$g = (5 \times 10^{-3} \times 10 \times 492.46) / 1000$$

$$g = 0.025 \text{ g}$$

ชั่งเฟอรัสซัลเฟต 0.025 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์
ติดฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

9. การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอริกซายาไนด์ เข้มข้น 1% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ในสารละลายโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ 100 มิลลิลิตร มี
โพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ 1 กรัม

ในสารละลายโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ 500 มิลลิลิตร
มีโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ $= (500 \times 1) / 100$
 $= 5$ กรัม

ซึ่งโพแทสเซียมเฟอริกไซยาไนด์ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500
มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร ตีคนลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม

10. การเตรียมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก เข้มข้น 10% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 500
มิลลิลิตร

ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 100 มิลลิลิตร มีกรดไตรคลอโรอะซิติก 10 กรัม
ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 500 มิลลิลิตร มีกรดไตรคลอโรอะซิติก
 $= (500 \times 10) / 100$
 $= 50$ กรัม

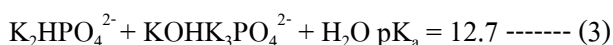
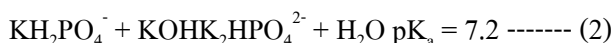
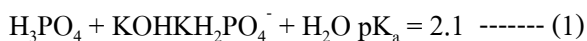
ซึ่งกรดไตรคลอโรอะซิติก 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร
ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร ตีคนลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม

11. การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ เข้มข้น 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ในสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 100 มิลลิลิตร มีเฟอริกคลอไรด์ละลายอยู่ 0.1 กรัม
ถ้าสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 250 มิลลิลิตร มีเฟอริกคลอไรด์ $= (250 \times 0.1) / 100$
 $= 0.25$ กรัม

ซึ่งเฟอริกคลอไรด์ 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตรด้วย
น้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร ตีคนลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม

12. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (pH=6.6) ปริมาตร 1000
มิลลิลิตร



เพราะฉะนั้น เลือกใช้ $\text{pK}_a = 7.2$

$$\text{จากสูตร } \text{pH} = \text{pK}_a + \log \left[\frac{[\text{K}_2\text{HPO}_4]}{[\text{KH}_2\text{PO}_4]} \right]$$

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

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

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

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

$$= 10^{0.6}$$

$$= 398/100$$

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

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

ดังนั้นในการเตรียมสารละลาย โปแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์

(pH=6.6) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

จะได้

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

$$= 108.872 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นต้องเตรียมสารละลาย 0.2 โมลาร์ = $108.872/5 = 21.7744$ กรัม

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

$$= 34.836 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นต้องเตรียม สารละลาย 0.2 โมลาร์ = $34.836/5 = 6.972$ กรัม

ดังนั้นชั่ง โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 21.774 กรัม ผสมกับ โปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 6.972 กรัม และละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 900 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ด้วยสารละลายโปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ จนได้ pH = 6.6 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

13. เตรียมสารละลาย EDTA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จาก $EDTA \cdot 2H_2O$ ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (M.W. = 336.24)

$$\text{จากสูตร } g / M.W. = CV / 1000$$

$$g = ((0.1 \times 10^{-3}) \times 50 \times 336.24) / 1000$$

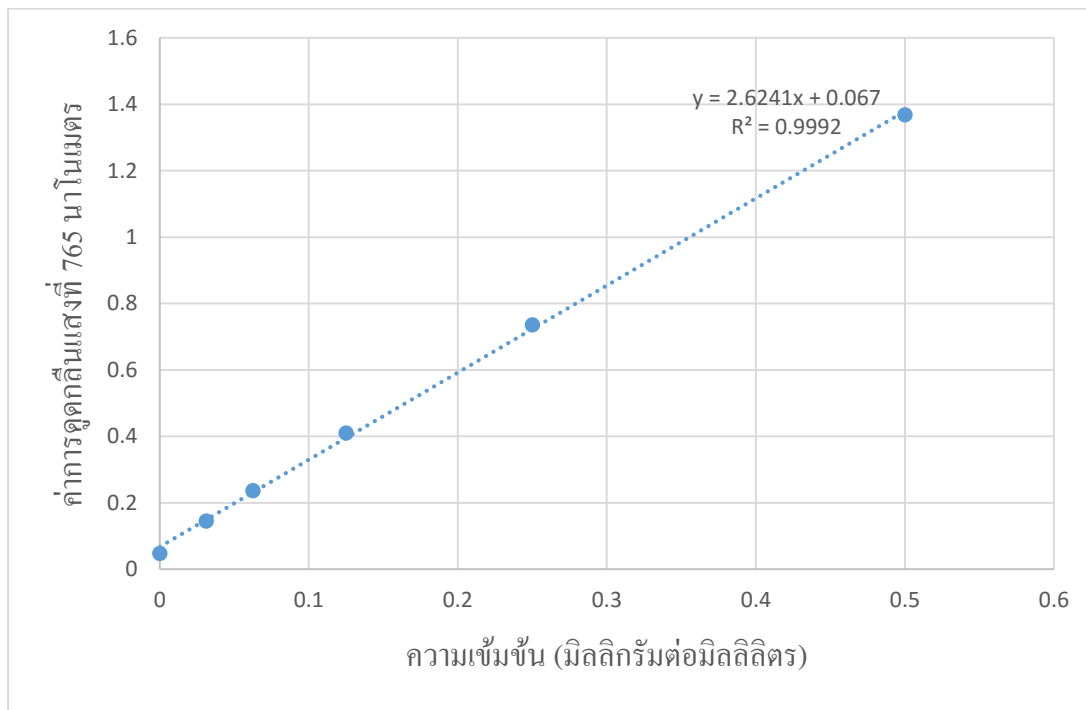
$$g = 0.0016 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นชั่งสาร $EDTA \cdot 2H_2O$ 0.0016 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตรเขย่าให้ละลายอย่างสมบูรณ์ ตีฉลาก ระบุชนิด และวันที่เตรียม เก็บให้พ้นแสง

ภาคผนวก ข

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

1. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



ภาพภาคผนวก ข-1 กราฟมาตรฐานของ Gallic acid

ตารางภาคผนวก ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณ
สารประกอบฟีนอลิกรวม

| พืช | วิธีสกัด | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร | | |
|----------|-------------------------|----------------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| เปลือกผล | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.2705 | 0.2641 | 0.2693 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.3024 | 0.2866 | 0.2870 |
| | เอทานอล40% | 0.2957 | 0.2805 | 0.2857 |
| | เอทานอล70% | 0.3426 | 0.3430 | 0.3572 |
| | เอทานอล95% | 0.3764 | 0.3809 | 0.3848 |
| ใบ | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.2763 | 0.2635 | 0.2566 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.2701 | 0.2568 | 0.2515 |
| | เอทานอล40% | 0.2322 | 0.2277 | 0.2257 |
| | เอทานอล70% | 0.2547 | 0.2532 | 0.2401 |
| | เอทานอล95% | 0.2103 | 0.2155 | 0.2187 |
| กิ่ง | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.2064 | 0.2007 | 0.2012 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.1708 | 0.1731 | 0.1765 |
| | เอทานอล 40% | 0.1723 | 0.1646 | 0.1661 |
| | เอทานอล 70% | 0.2377 | 0.2456 | 0.2493 |
| | เอทานอล 95% | 0.2370 | 0.2460 | 0.2411 |

1. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2705, \quad 0.2705 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2035$$

$$x = 0.0776$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดัน 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0776 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 77.60 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

2. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.3024, \quad 0.3024 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2354$$

$$x = 0.0897$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0897 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 89.70 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

3. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2957, \quad 0.2957 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2287$$

$$x = 0.0872$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0872 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 87.20 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

4. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วย เอทานอล70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.3426, \quad 0.3426 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2756$$

$$x = 0.1050$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.1050 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 105.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

5. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วย เอทานอล70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.3764, \quad 0.3764 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.3094$$

$$x = 0.1179$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.1179 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 117.90 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

6. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2763, \quad 0.2763 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2093$$

$$x = 0.0798$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำ Autoclave ที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0798 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 79.80 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

7. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2701, \quad 0.2701 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.2031$$

$$x = 0.0774$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0774 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 77.40 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

8. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2322, \quad 0.2322 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1652$$

$$x = 0.0630$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0630 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 63.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

9. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วย เอทานอล70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2547, \quad 0.2547 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1877$$

$$x = 0.0715$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0715 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 71.50 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

10. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วย เอทานอล70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2103, \quad 0.2103 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1433$$

$$x = 0.0546$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0546 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 54.60 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

11. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อ นึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2064, \quad 0.2064 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1394$$

$$x = 0.0531$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0531 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 53.10 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

12. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1708, \quad 0.1708 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1038$$

$$x = 0.0396$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0396 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 39.60 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

13. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1723, \quad 0.1723 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1053$$

$$x = 0.0401$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0401 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 40.10 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

14. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วย
เอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2377, \quad 0.2377 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1707$$

$$x = 0.0651$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0651 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม
เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 65.1 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วน
สกัด 1 กรัม

15. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วย
เอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 2.6241x + 0.0670$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2370, \quad 0.2370 = 2.6241x + 0.0670$$

$$2.6241x = 0.1700$$

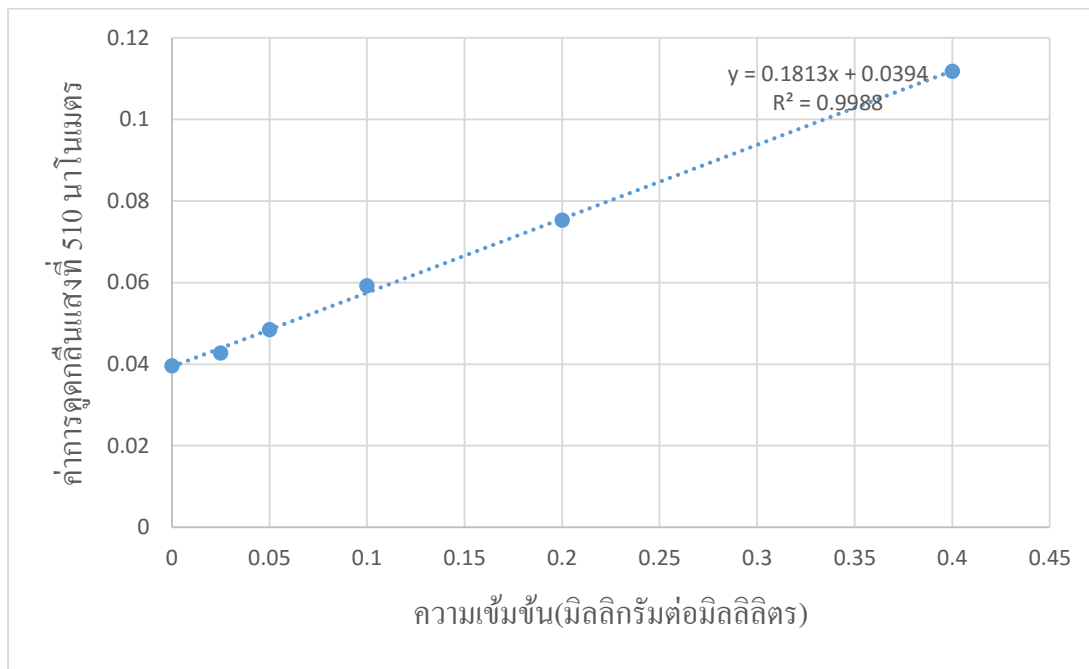
$$x = 0.0648$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.0648 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม
เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 64.8 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วน
สกัด 1 กรัม

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

1. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม



ภาพภาคผนวก ค-1 กราฟมาตรฐานของ Quercetin

ตารางภาคผนวก ค-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

| พืช | วิธีสกัด | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร | | |
|----------|-------------------------|----------------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| เปลือกผล | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.0448 | 0.0462 | 0.0467 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.0452 | 0.0448 | 0.0458 |
| | เอทานอล 40% | 0.0492 | 0.0490 | 0.0484 |
| | เอทานอล 70% | 0.0409 | 0.0406 | 0.0402 |
| | เอทานอล 95% | 0.0515 | 0.0507 | 0.0508 |
| ใบ | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.0478 | 0.0483 | 0.0477 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.0481 | 0.0491 | 0.0478 |
| | เอทานอล 40% | 0.0474 | 0.0479 | 0.0467 |
| | เอทานอล 70% | 0.0693 | 0.0700 | 0.0688 |
| | เอทานอล 95% | 0.0728 | 0.0732 | 0.0733 |
| กิ่ง | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.0453 | 0.0450 | 0.0445 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.0440 | 0.0444 | 0.0446 |
| | เอทานอล 40% | 0.0445 | 0.0448 | 0.0440 |
| | เอทานอล 70% | 0.0502 | 0.0507 | 0.0499 |
| | เอทานอล 95% | 0.0809 | 0.0810 | 0.0797 |

1. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ โดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0448, \quad 0.0448 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0054$$

$$x = 0.0298$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0298 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 14.90 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

2. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0452, \quad 0.0452 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0058$$

$$x = 0.0320$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0320 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 16.00 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

3. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0492, \quad 0.0492 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0098$$

$$x = 0.0541$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0541 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วน สกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 27.05 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

4. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วย เอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0409, \quad 0.0409 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0015$$

$$x = 0.0083$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0083 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วน สกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 8.30 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วน สกัด 1 กรัม

5. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วย เอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0515, \quad 0.0515 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0121$$

$$x = 0.0667$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0667 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วน สกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 66.70 มิลลิกรัมสมมูลของ quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

6. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากใบ ที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0478, \quad 0.0478 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0084$$

$$x = 0.0463$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0463 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 46.30 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

7. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากใบ ที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0481, \quad 0.0481 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0087$$

$$x = 0.0480$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0480 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 48.00 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

8. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากใบ ที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0474, \quad 0.0474 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0008$$

$$x = 0.0441$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0441 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 44.10 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

9. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากใบ ที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0693, \quad 0.0693 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0299$$

$$x = 0.1649$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.1649 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 164.90 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

10. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากใบ ที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0728, \quad 0.0728 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0334$$

$$x = 0.1842$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.1842 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 368.4 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

11. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้ หม้อน้ำความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0453, \quad 0.0453 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0059$$

$$x = 0.0325$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0325 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 32.50 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

12. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0440, \quad 0.0440 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0046$$

$$x = 0.0254$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0254 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 25.40 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

13. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0445, \quad 0.0445 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0051$$

$$x = 0.0281$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0281 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 28.10 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

14. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0502, \quad 0.0502 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0108$$

$$x = 0.0596$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.0596 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 59.60 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

15. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 0.1813x + 0.0394$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0809, \quad 0.0809 = 0.1813x + 0.0394$$

$$0.1813x = 0.0415$$

$$x = 0.2289$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.2289 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อส่วนสกัด เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 22.89 มิลลิกรัมสมมูล quercetin ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

ภาคผนวก ง

การหาค่า IC_{50} ในการกำจัดอนุมูล DPPH

1. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของ gallic acid

$$\text{จากสมการ } y = 6.3998x - 12.067$$

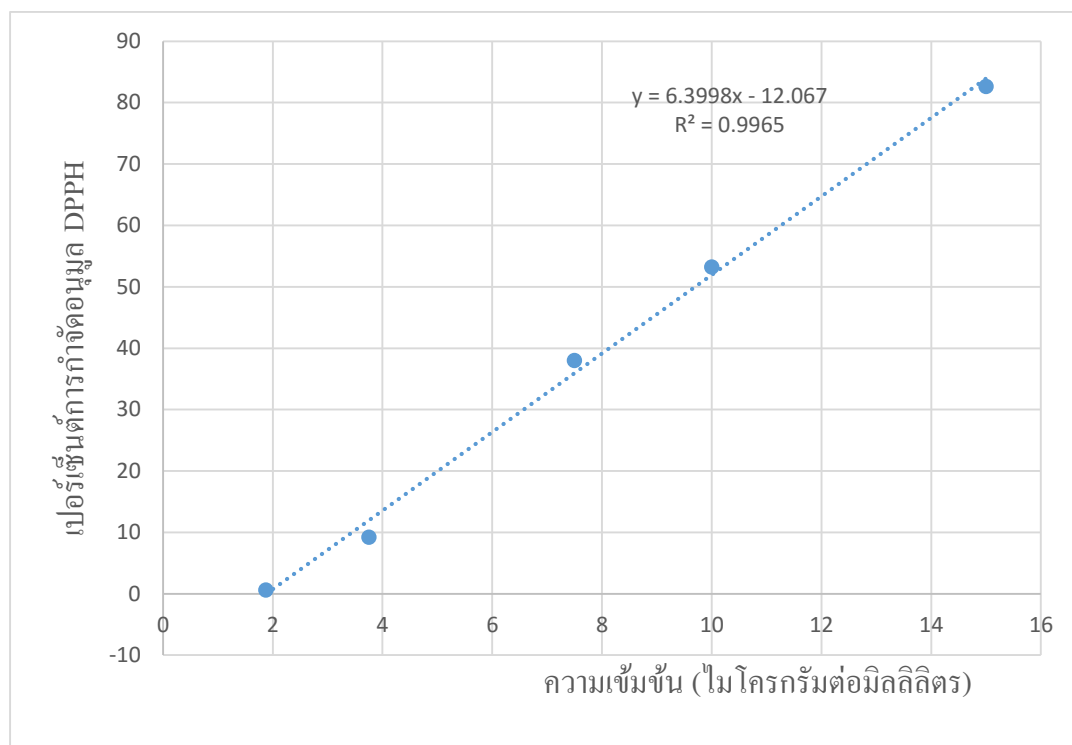
$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 6.3998x - 12.067$$

$$6.3998x = 62.067$$

$$x = 9.70$$

ดังนั้นความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% เท่ากับ 9.70

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-1 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

2. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

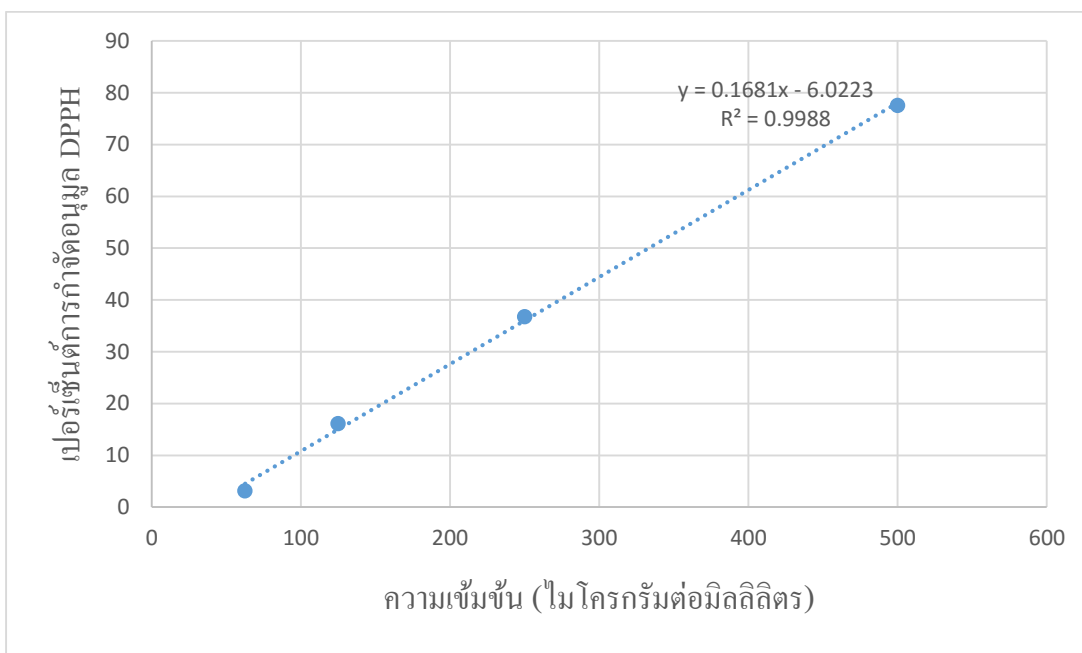
$$\text{จากสมการ } y = 0.1681x - 6.0223$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.1681x - 6.0223$$

$$0.1681x = 56.0223$$

$$x = 333.27$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 333.27 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-2 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

3. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100^{\circ}C$

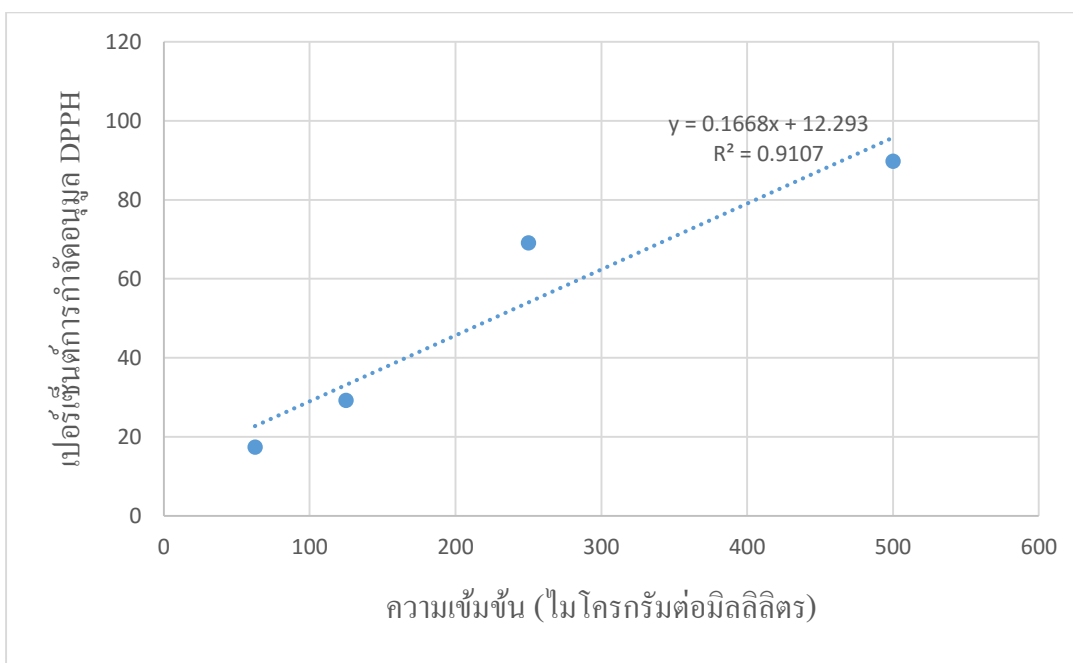
$$\text{จากสมการ } y = 0.1668x + 12.2930$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.1668x + 12.2930$$

$$0.1668x = 37.707$$

$$x = 226.0612$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100^{\circ}C$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 226.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-3 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100^{\circ}C$

4. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

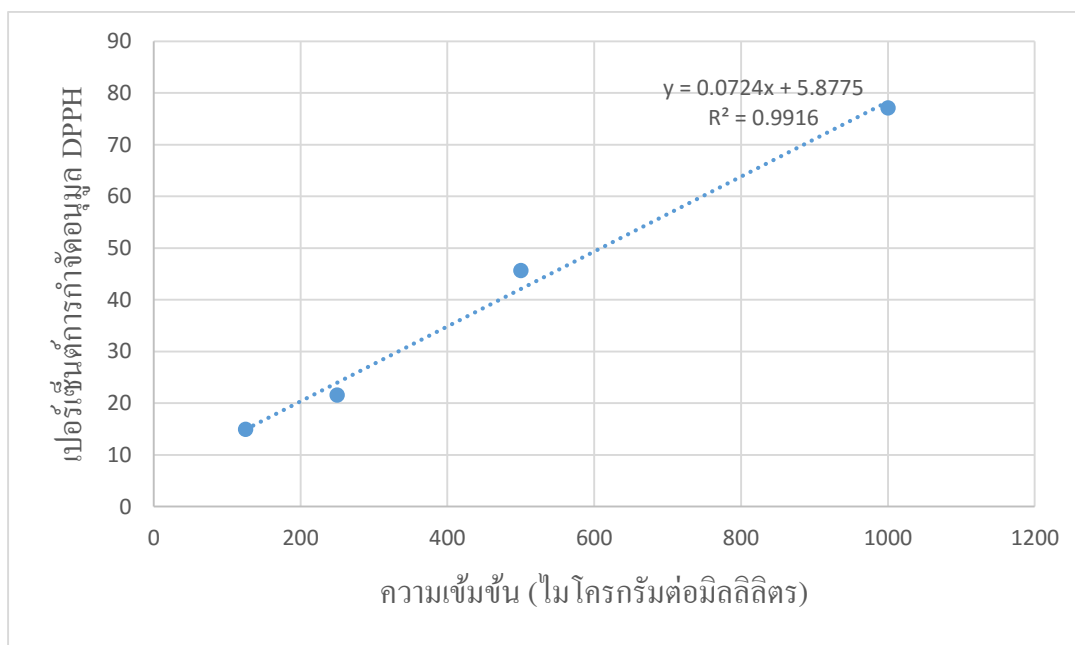
$$\text{จากสมการ } y = 0.0724x + 5.8775$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0724x + 5.8775$$

$$0.0724x = 44.01225$$

$$x = 609.43$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 609.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-4 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

5. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

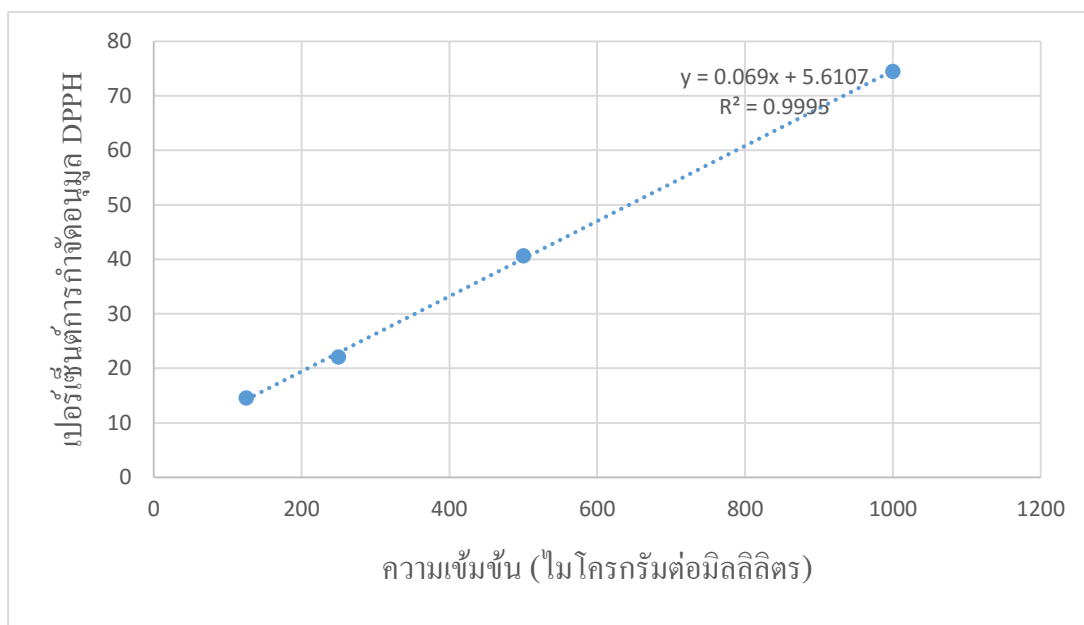
$$\text{จากสมการ } y = 0.069x + 5.6107$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.069x + 5.6107$$

$$0.069x = 44.3893$$

$$x = 643.32$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 643.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-5 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

6. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

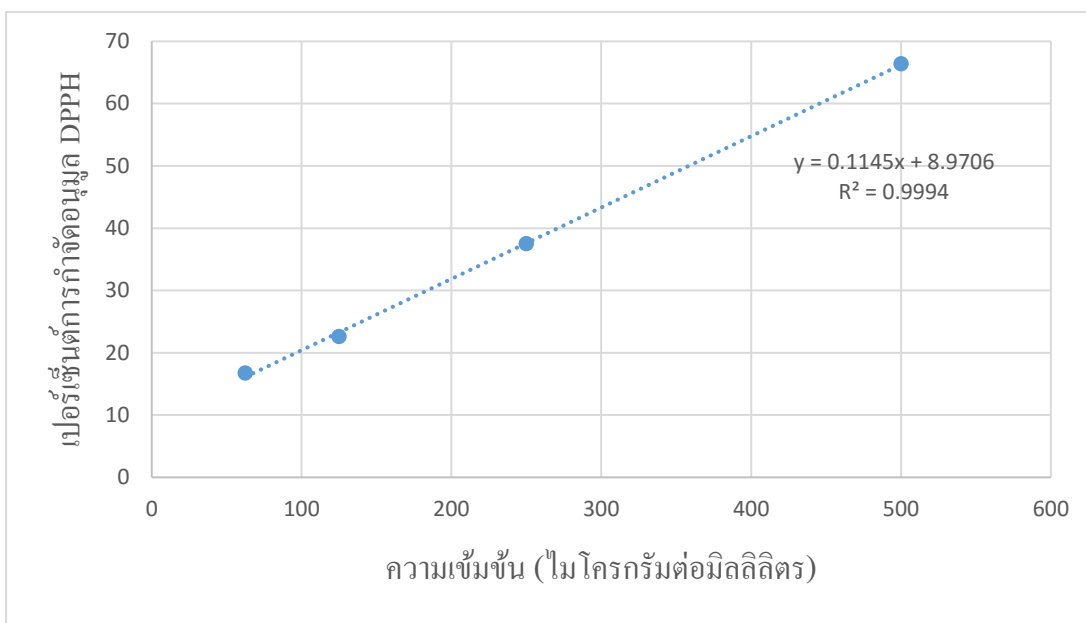
$$\text{จากสมการ } y = 0.1145x + 8.9706$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.1145x + 8.9706$$

$$0.1145x = 41.0294$$

$$x = 358.34$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 358.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-6 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

7. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่ง ความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

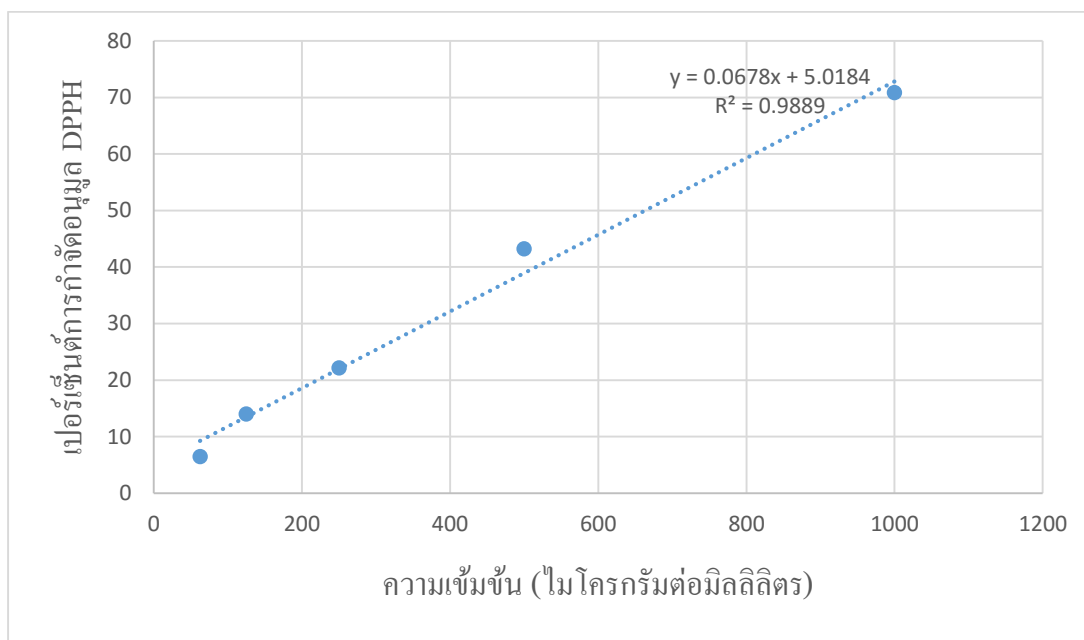
$$\text{จากสมการ } y = 0.0678x + 5.0184$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0678x + 5.0184$$

$$0.0678x = 44.9816$$

$$x = 663.45$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 663.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-7 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำ โดยใช้หม้อนึ่งความดัน ที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

8. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

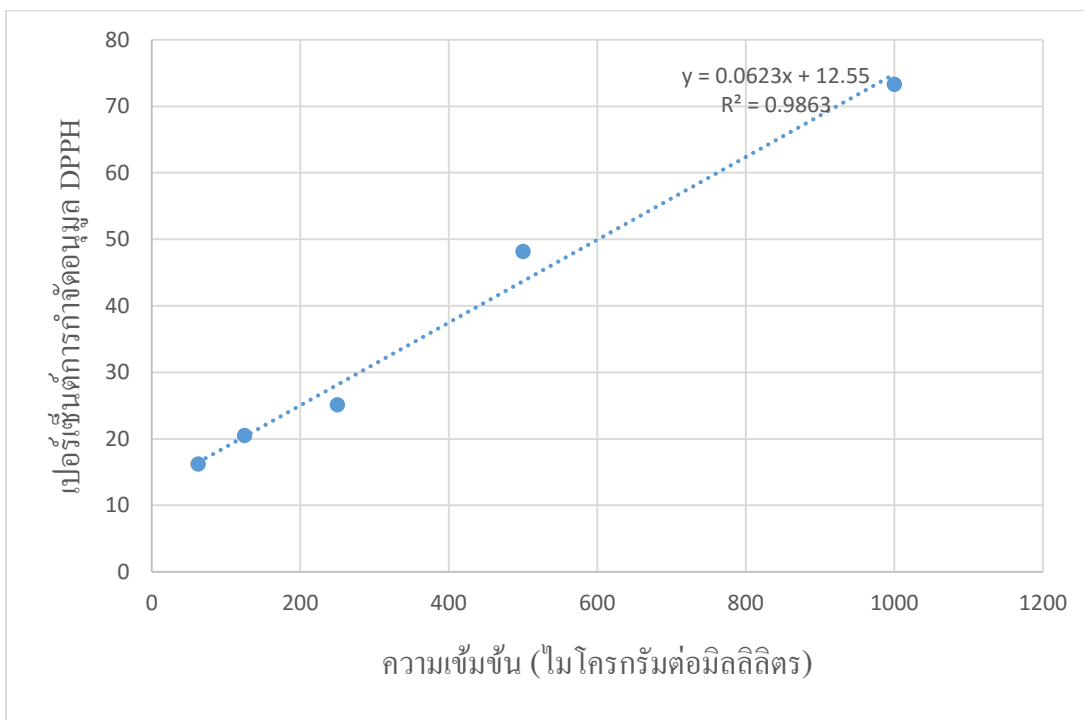
$$\text{จากสมการ } y = 0.0623x + 12.55$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0623x + 12.55$$

$$0.1668x = 37.45$$

$$x = 224.52$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 224.52 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-8 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

9. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

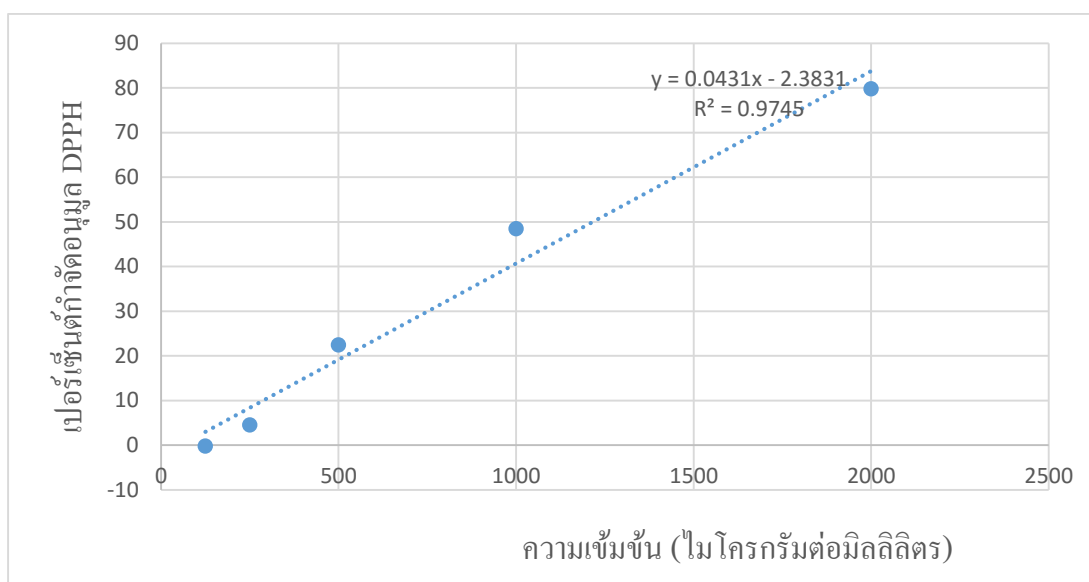
$$\text{จากสมการ } y = 0.0431x - 2.3831$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0431x - 2.3831$$

$$0.0431x = 52.3831$$

$$x = 1215.39$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 1215.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-9 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

10. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

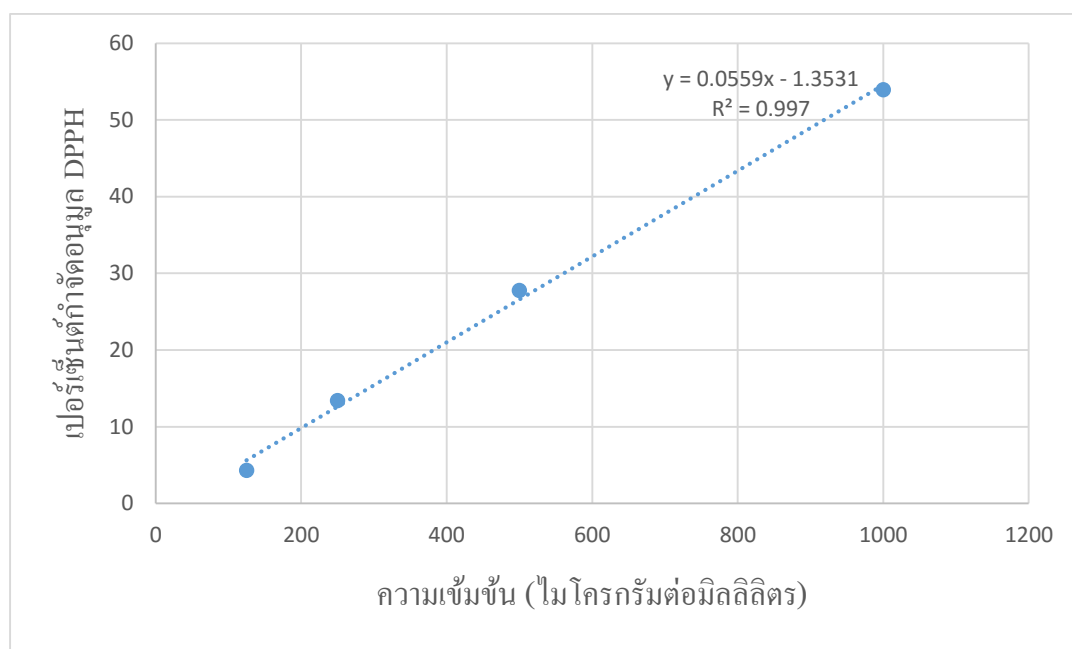
$$\text{จากสมการ } y = 0.0559x - 1.3531$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0559x - 1.3531$$

$$0.0559x = 51.3531$$

$$x = 918.66$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 918.66 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-10 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

11. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

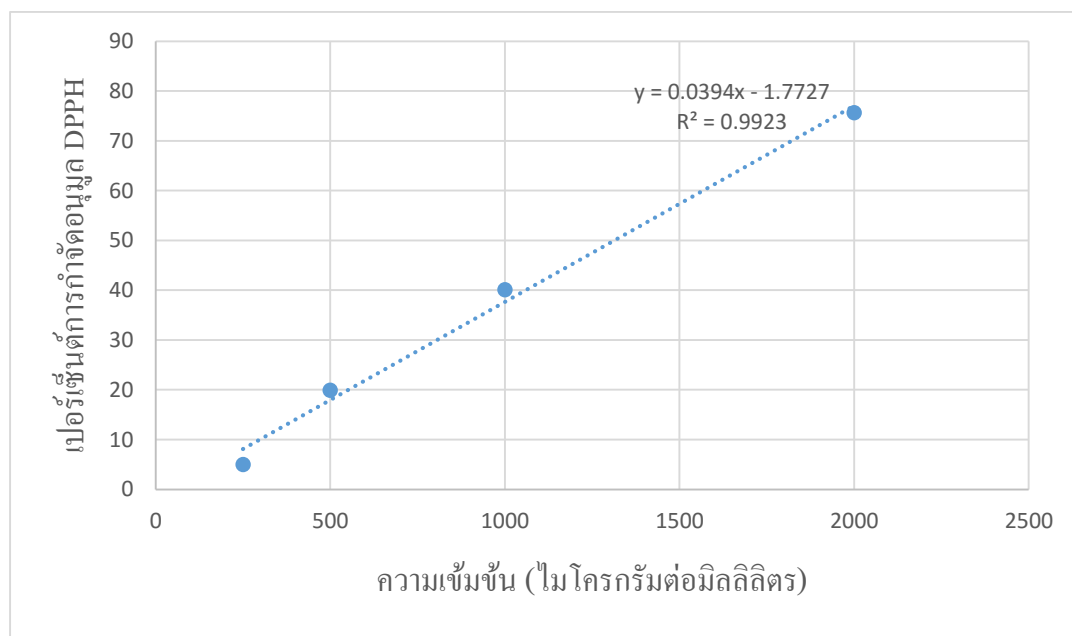
$$\text{จากสมการ } y = 0.0394x - 1.7727$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0394x - 1.7727$$

$$0.0394x = 51.7727$$

$$x = 1314.03$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 1314.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-11 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

12. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่ง ความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

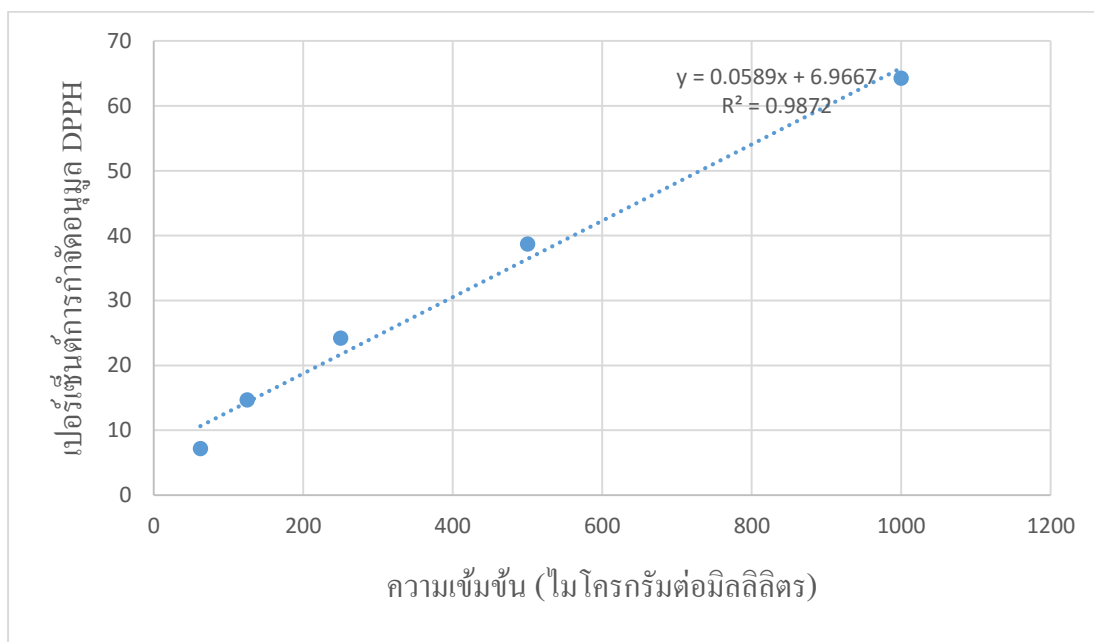
$$\text{จากสมการ } y = 0.0589x + 6.9667$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0589x + 6.9667$$

$$0.0589x = 43.0333$$

$$x = 730.62$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 730.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-12 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ โดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

13. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

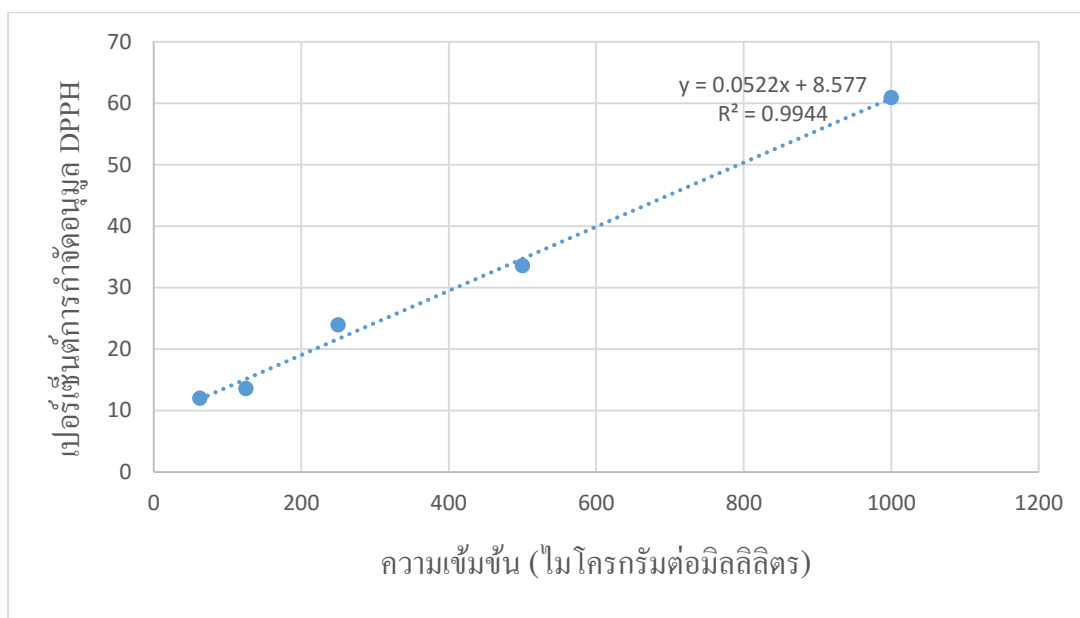
$$\text{จากสมการ } y = 0.0522x + 8.577$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0522x + 8.577$$

$$0.0522x = 41.423$$

$$x = 793.54$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 793.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-13 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

14. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

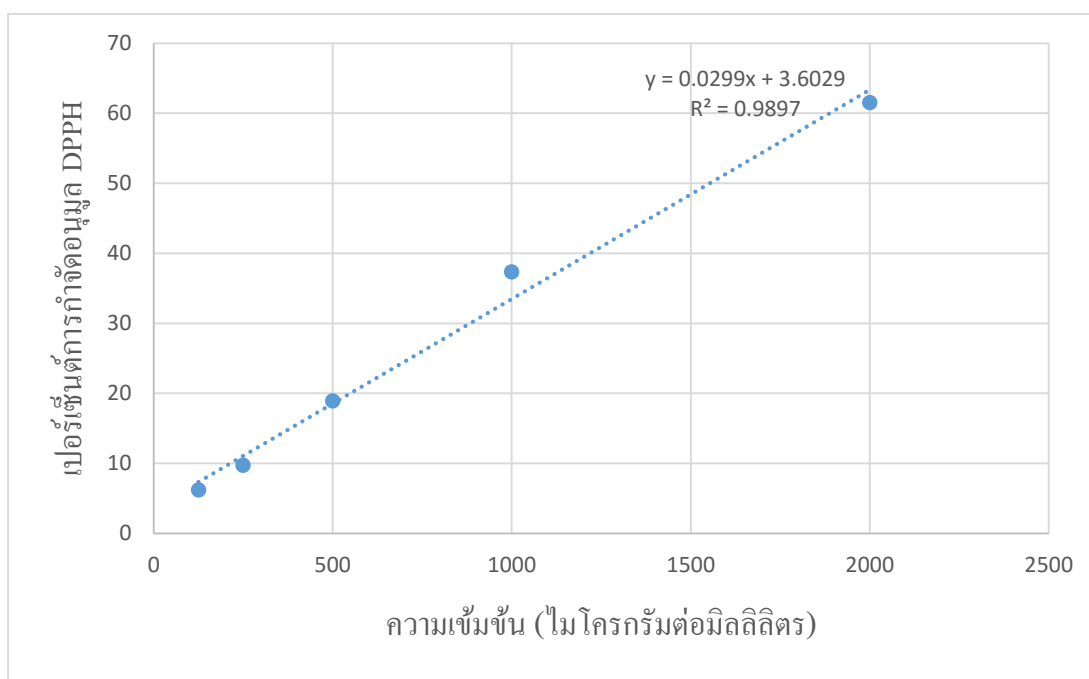
$$\text{จากสมการ } y = 0.0299x + 3.6029$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0299x + 3.6029$$

$$0.0299x = 46.3971$$

$$x = 1551.74$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 1551.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-14 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

15. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

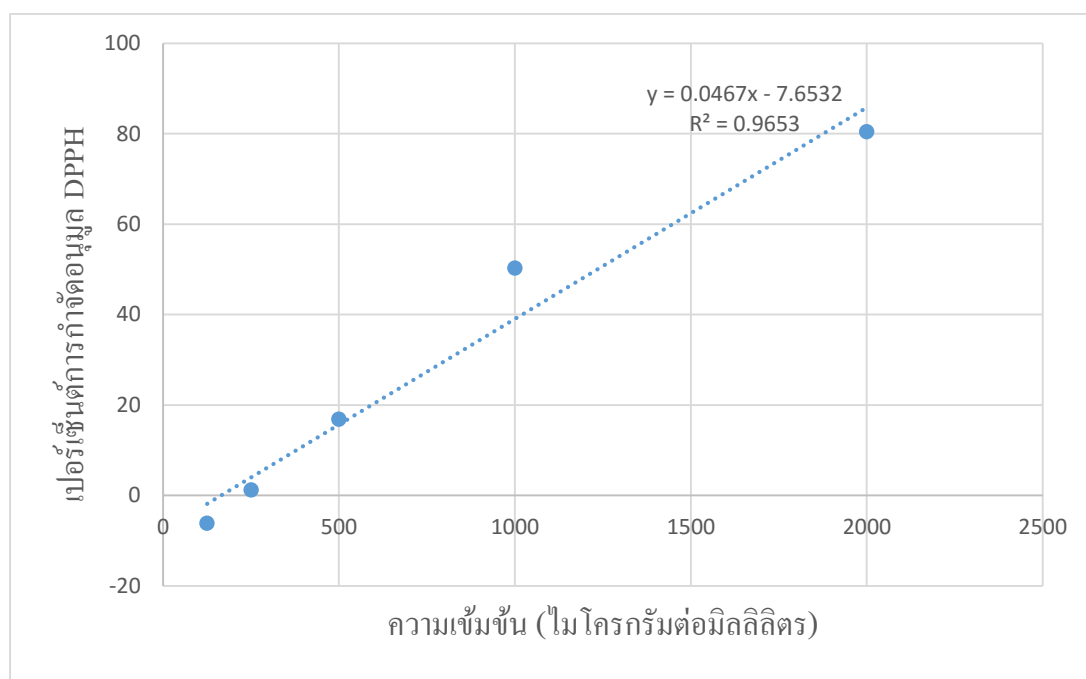
$$\text{จากสมการ } y = 0.0467x - 7.6532$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0467x - 7.6532$$

$$0.0467x = 57.6532$$

$$x = 1234.54$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 1234.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร



ภาพภาคผนวก ง-15 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

16. การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

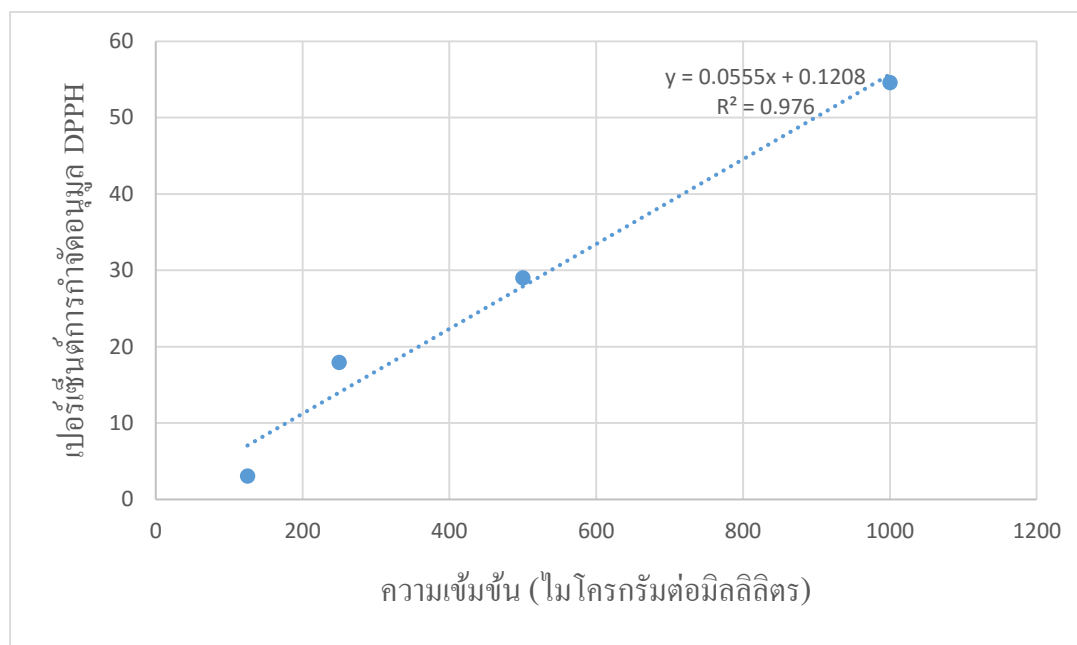
$$\text{จากสมการ } y = 0.0555x + 0.1208$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0555x + 0.1208$$

$$0.0555x = 49.8792$$

$$x = 898.72$$

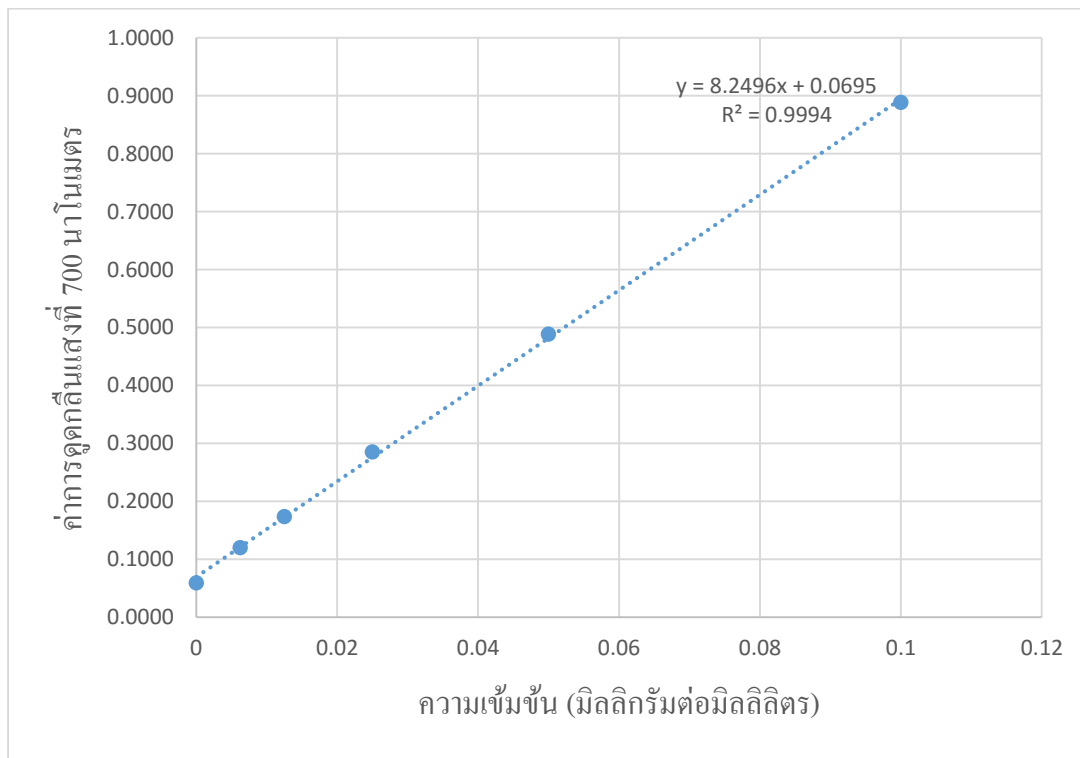
ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% ได้เท่ากับ 898.72 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ง-16 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

ภาคผนวก จ
การหาความสามารถในการรีดิวซ์

1. การหาความสามารถในการรีดิวซ์



ภาพภาคผนวก จ-1 กราฟมาตรฐานของ Gallic acid

ตารางภาคผนวก จ-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรที่ใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์

| พืช | วิธีสกัด | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร | | |
|----------|-------------------------|----------------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| เปลือกผล | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.2369 | 0.2473 | 0.2360 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.2641 | 0.2759 | 0.2615 |
| | เอทานอล 40% | 0.2464 | 0.2462 | 0.2421 |
| | เอทานอล 70% | 0.3026 | 0.3238 | 0.3194 |
| | เอทานอล 95% | 0.3646 | 0.3698 | 0.3989 |
| ใบ | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.1246 | 0.1300 | 0.1239 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.1147 | 0.1182 | 0.1154 |
| | เอทานอล 40% | 0.0969 | 0.1002 | 0.1001 |
| | เอทานอล 70% | 0.1139 | 0.1139 | 0.1163 |
| | เอทานอล 95% | 0.1186 | 0.1194 | 0.1253 |
| กิ่ง | น้ำAutoclave ที่ 121 °C | 0.1473 | 0.1431 | 0.1481 |
| | น้ำที่ 100 °C | 0.1402 | 0.1388 | 0.1427 |
| | เอทานอล 40% | 0.1191 | 0.1195 | 0.1220 |
| | เอทานอล 70% | 0.1235 | 0.1251 | 0.1279 |
| | เอทานอล 95% | 0.1206 | 0.1136 | 0.1188 |

1. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อ
นึ่งความดันที่ 121°C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2369, \quad 0.2369 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.1674$$

$$x = 0.0203$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121°C ที่ความเข้มข้น
1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0203 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ
ส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 20.30 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ
ส่วนสกัด 1 กรัม

2. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ 100°C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2641, \quad 0.2641 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.2032$$

$$x = 0.0246$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ 100°C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
มีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0246 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 24.60 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ
ส่วนสกัด 1 กรัม

3. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.2464, \quad 0.2464 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.1769$$

$$x = 0.0214$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0214 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 21.40 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

4. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.3026, \quad 0.3026 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.2331$$

$$x = 0.0283$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0283 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 28.30 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

5. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.3646, \quad 0.3646 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.2951$$

$$x = 0.0358$$

ในส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0358 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 35.80 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ ส่วนสกัด 1 กรัม

6. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่ง ความดันที่ 121°C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1246, \quad 0.1246 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0551$$

$$x = 0.0067$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121°C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0067 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 67.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

7. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ 100°C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1147, \quad 0.1147 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0452$$

$$x = 0.0055$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ 100°C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0055 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 55.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

8. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0969, \quad 0.0969 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0274$$

$$x = 0.0033$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0033 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 33.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

9. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1139, \quad 0.1139 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0444$$

$$x = 0.0054$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0054 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 54.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

10. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1186, \quad 0.1186 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0491$$

$$x = 0.0006$$

ในส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0006 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 60.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

11. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1473, \quad 0.1473 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0778$$

$$x = 0.0094$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0094 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 94.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

12. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1402, \quad 0.1402 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0707$$

$$x = 0.0086$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ 100 °C ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0086 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 86.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

13. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1191, \quad 0.1191 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0496$$

$$x = 0.0060$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0060 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 60.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

14. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1235, \quad 0.1235 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0540$$

$$x = 0.0065$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0283 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 65.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

15. การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

$$\text{จากสมการ } y = 8.2496x + 0.0695$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.1206, \quad 0.1206 = 8.2496x + 0.0695$$

$$8.2496x = 0.0511$$

$$x = 0.0062$$

ในส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมี
ความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.0062 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อส่วนสกัด 1 กรัม

เพราะฉะนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 62.00 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ
ส่วนสกัด 1 กรัม

ภาคผนวก จ

การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทโลหะ

1. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของ EDTA

$$\text{จากสมการ } y = 2.5519x + 4.0470$$

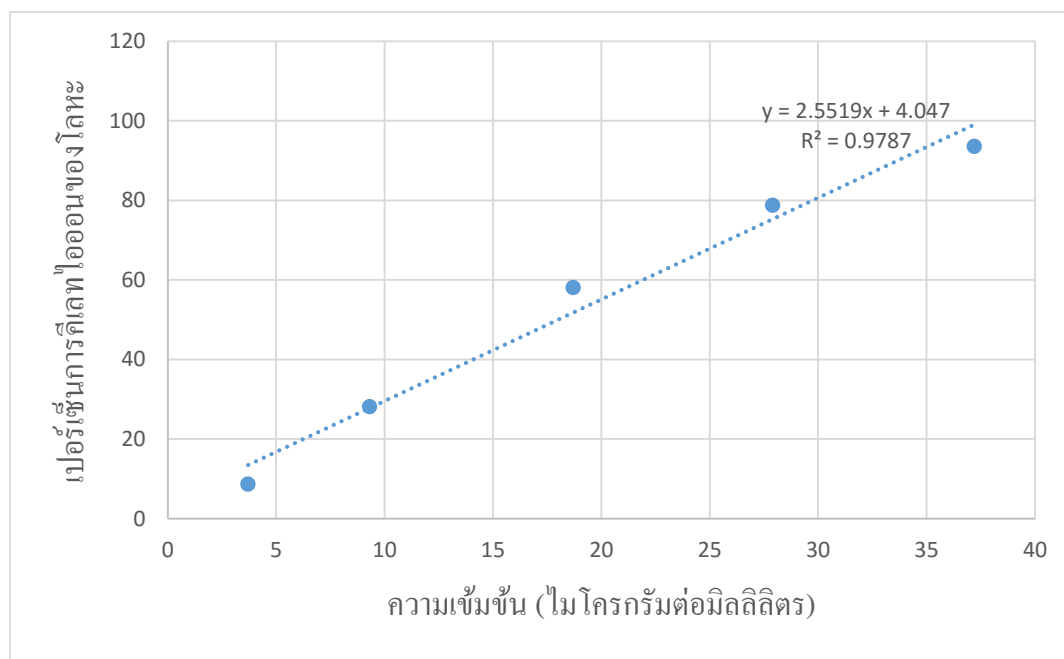
$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 2.5519x + 4.0470$$

$$2.5519x = 45.9530$$

$$x = 18.01$$

ดังนั้นความเข้มข้นของ EDTA ที่สามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 18.01

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-1 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน EDTA

2. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

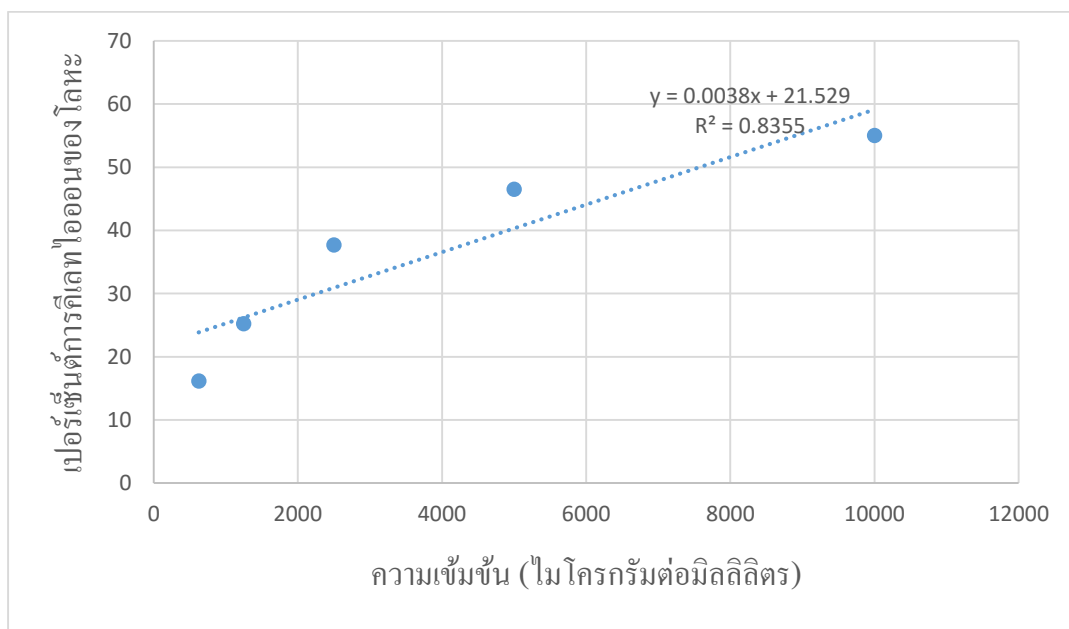
$$\text{จากสมการ } y = 0.0038x + 21.529$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0038x + 21.529$$

$$0.0038x = 28.4710$$

$$x = 7492.37$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 7492.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-2 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

3. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

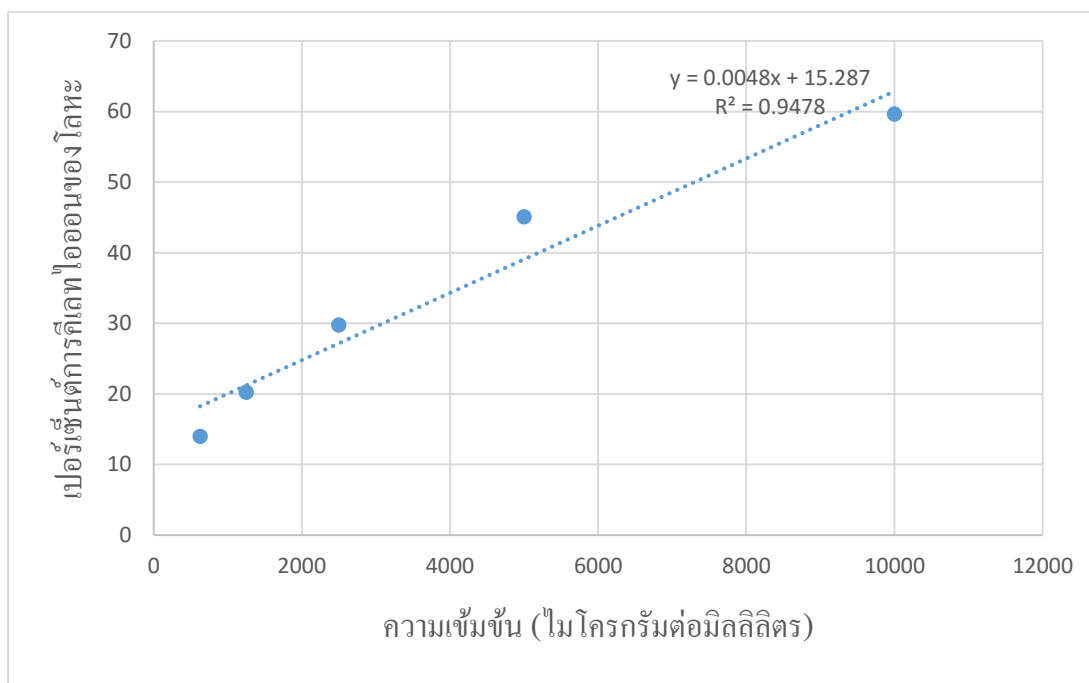
$$\text{จากสมการ } y = 0.0048x + 15.287$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0048x + 15.287$$

$$0.0048x = 34.7130$$

$$x = 7231.88$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำ Autoclave ที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 7231.88 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ก-3 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยน้ำที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

4. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

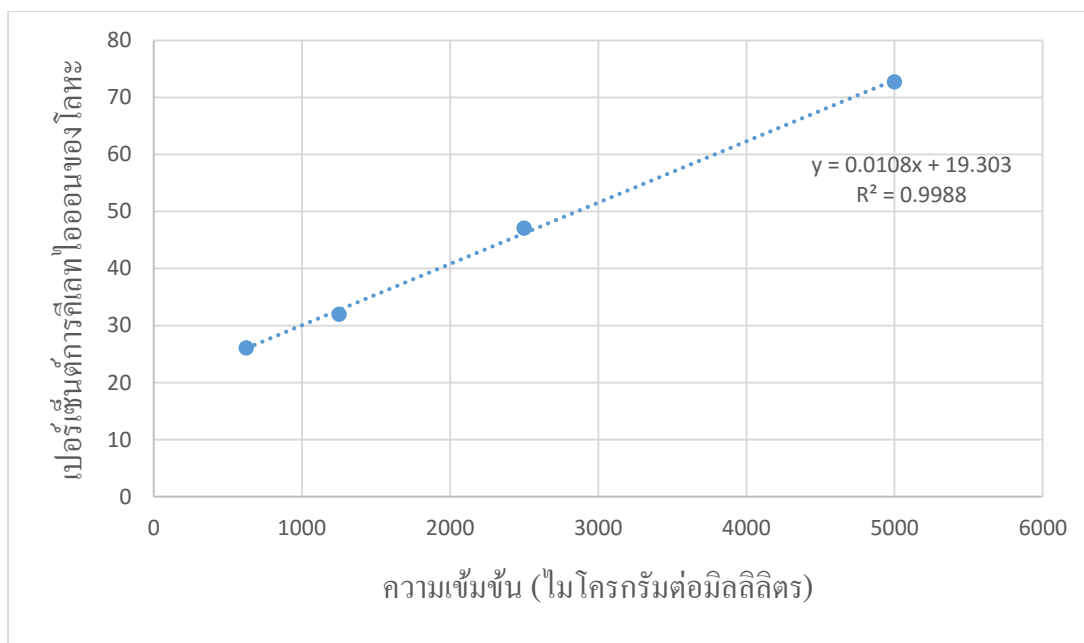
$$\text{จากสมการ } y = 0.0108x + 19.3030$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0108x + 19.3030$$

$$0.0108x = 30.6970$$

$$x = 2842.31$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 2842.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก จ-4 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

5. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

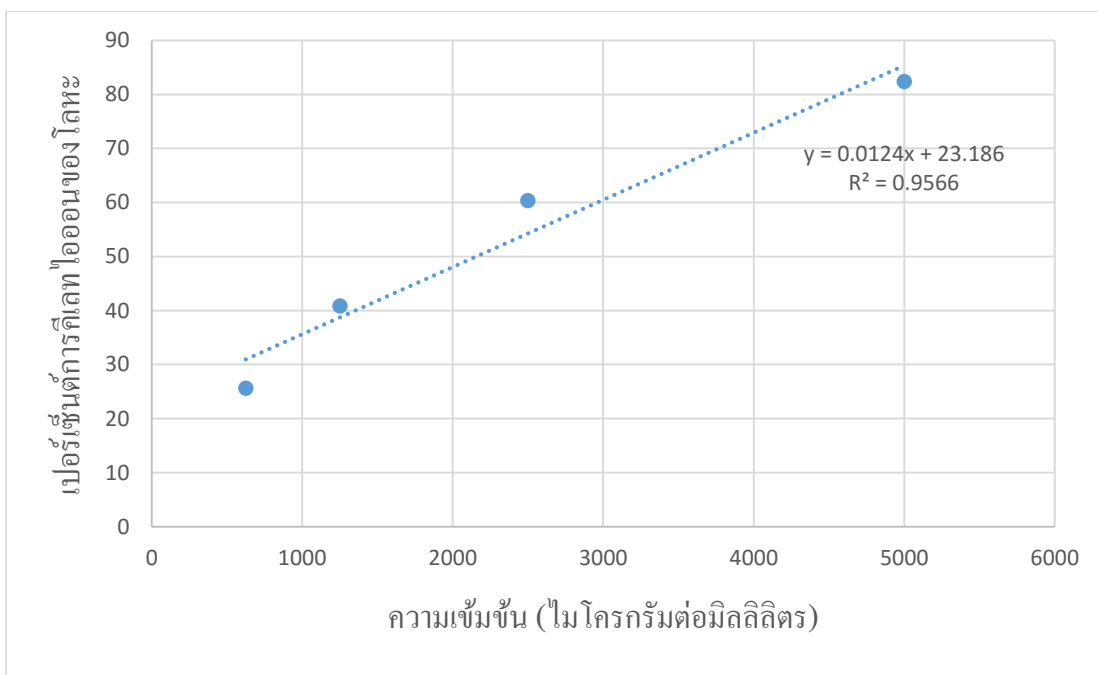
$$\text{จากสมการ } y = 0.0124x + 23.186$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0124x + 23.186$$

$$0.0124x = 26.814$$

$$x = 2162.42$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 2162.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก จ-5 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

6. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

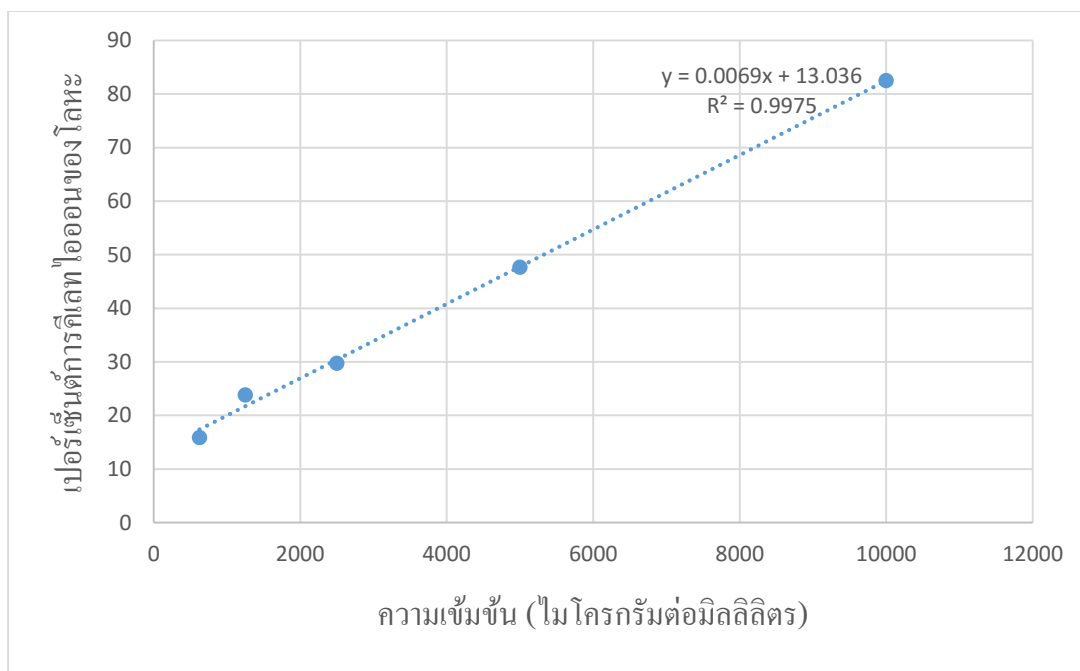
$$\text{จากสมการ } y = 0.0069x + 13.036$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0069x + 13.036$$

$$0.0069x = 36.9640$$

$$x = 5357.10$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 5357.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-6 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากเปลือกผลที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

7. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

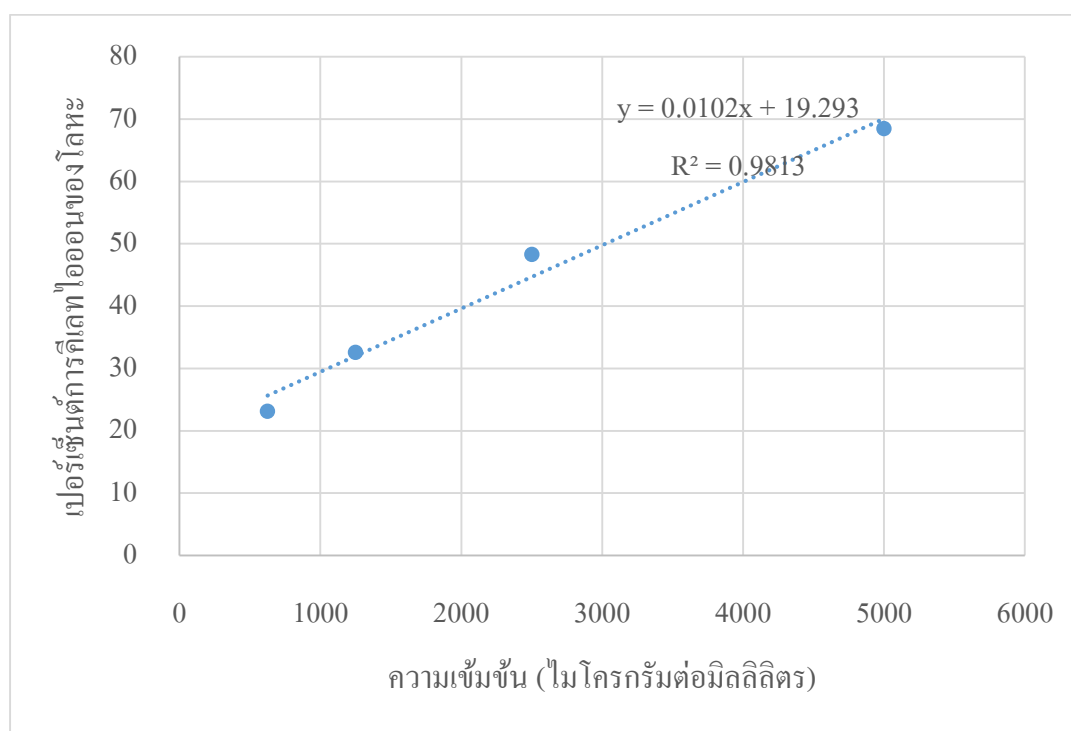
$$\text{จากสมการ } y = 0.0102x + 19.2930$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0102x + 19.2930$$

$$0.0102x = 30.7070$$

$$x = 3010.49$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 3010.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-7 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

8. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

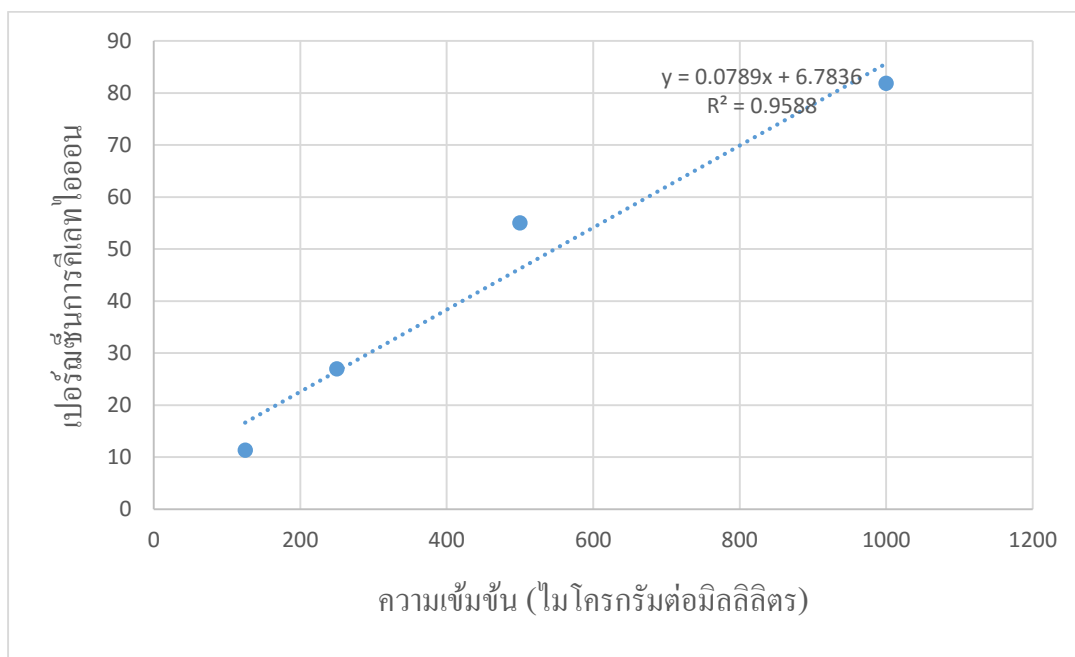
$$\text{จากสมการ } y = 0.0789x + 6.7836$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0789x + 6.7836$$

$$0.0789x = 43.2164$$

$$x = 547.74$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่สามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 547.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-13 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยน้ำที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

9. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

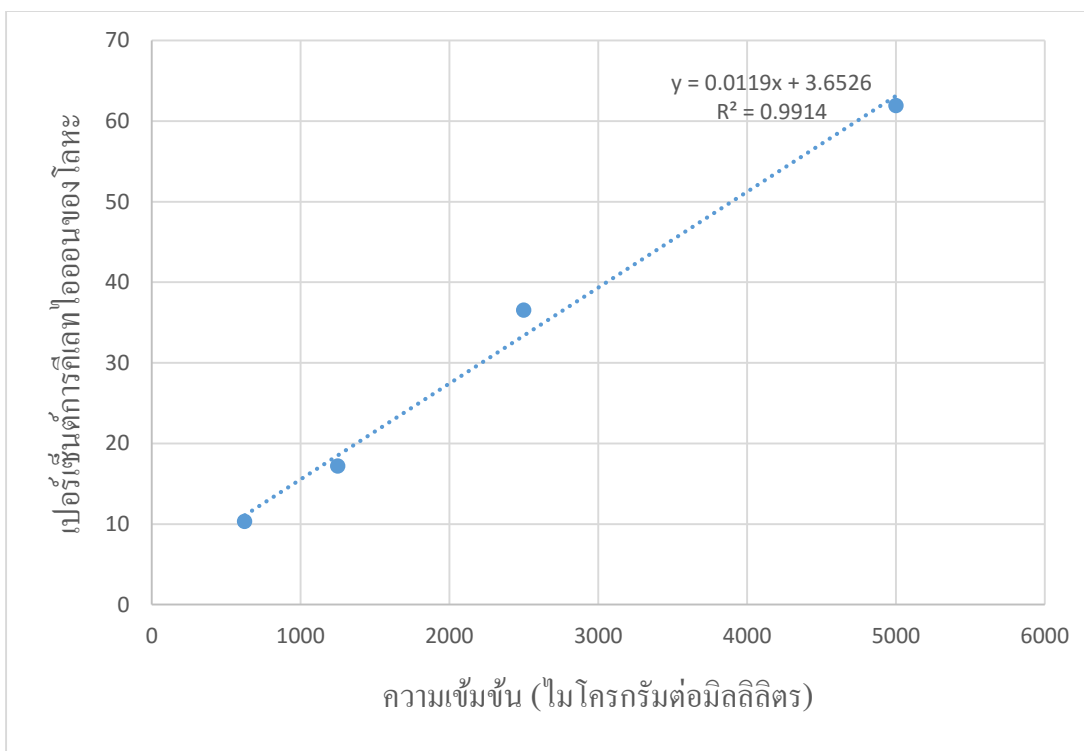
$$\text{จากสมการ } y = 0.0119x + 3.6526$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0119x + 3.6526$$

$$0.0119x = 46.3474$$

$$x = 3894.74$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 3894.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-9 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

10. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

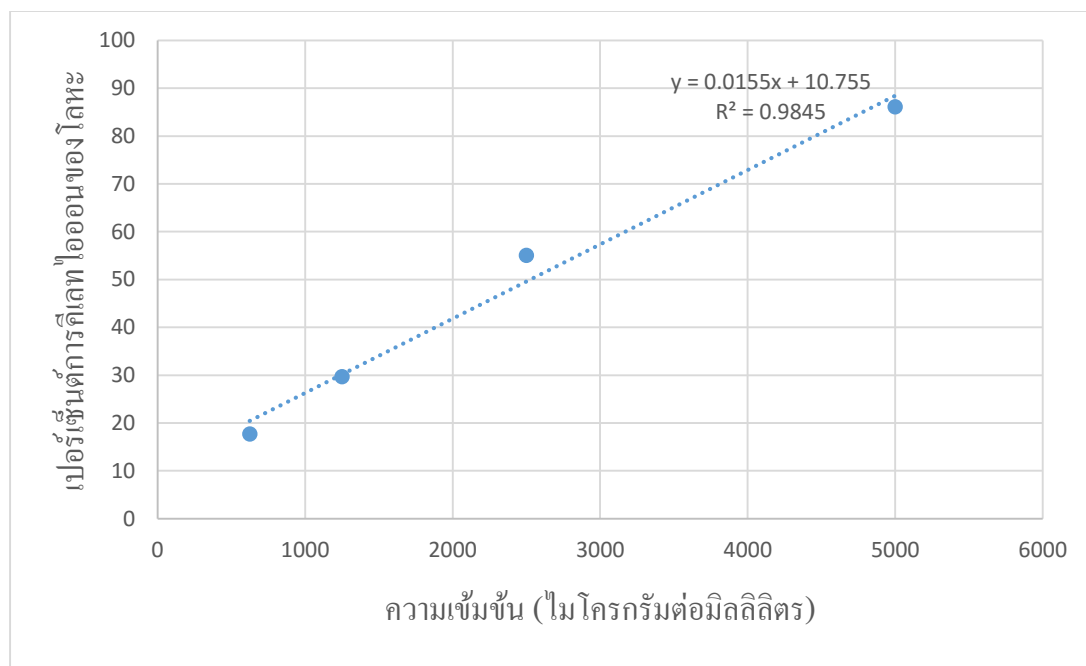
$$\text{จากสมการ } y = 0.0789x + 6.7836$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0789x + 6.7836$$

$$0.0789x = 43.2164$$

$$x = 547.74$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 547.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-10 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

11. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

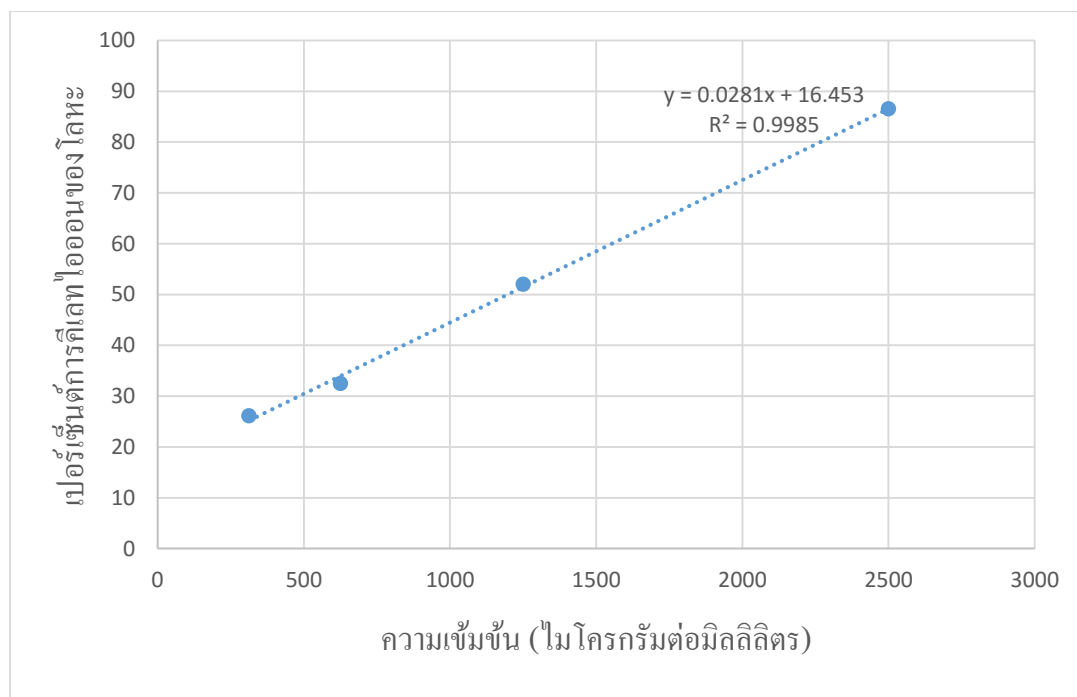
$$\text{จากสมการ } y = 0.0281x + 16.453$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0281x + 16.453$$

$$0.0281x = 33.5470$$

$$x = 1193.84$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 1193.84 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-11 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

12. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$

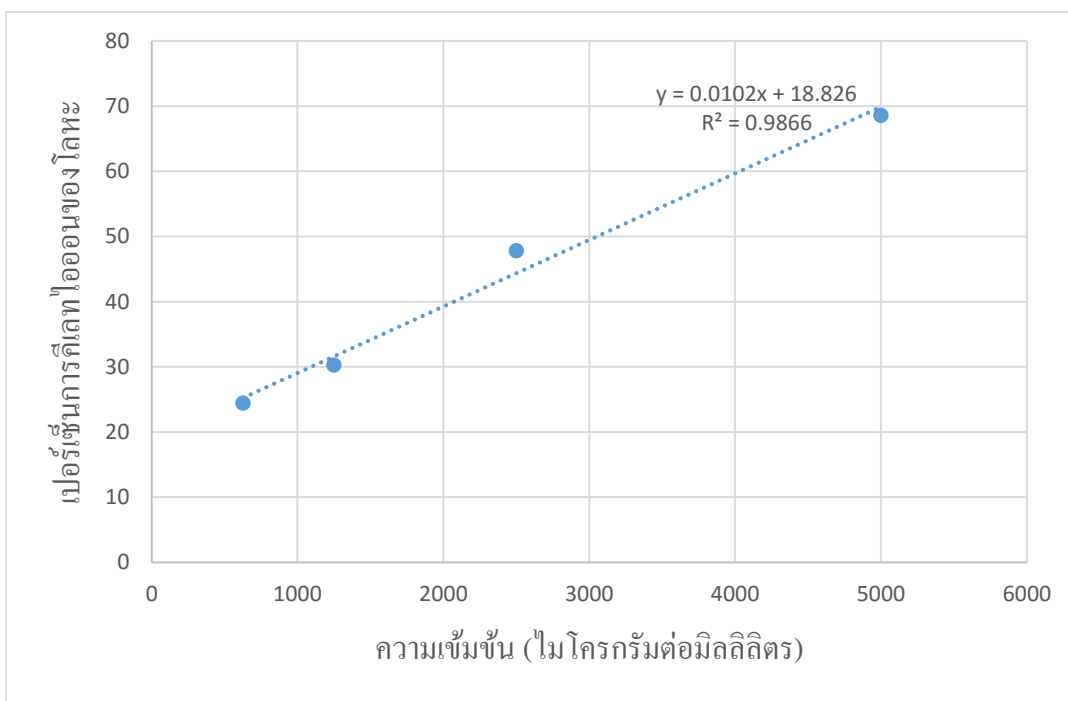
$$\text{จากสมการ } y = 0.0102x + 18.826$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0102x + 18.826$$

$$0.0102x = 31.174$$

$$x = 3056.27$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ซึ่งสามารถ คีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 3056.27 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-12 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$

13. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100^{\circ}C$

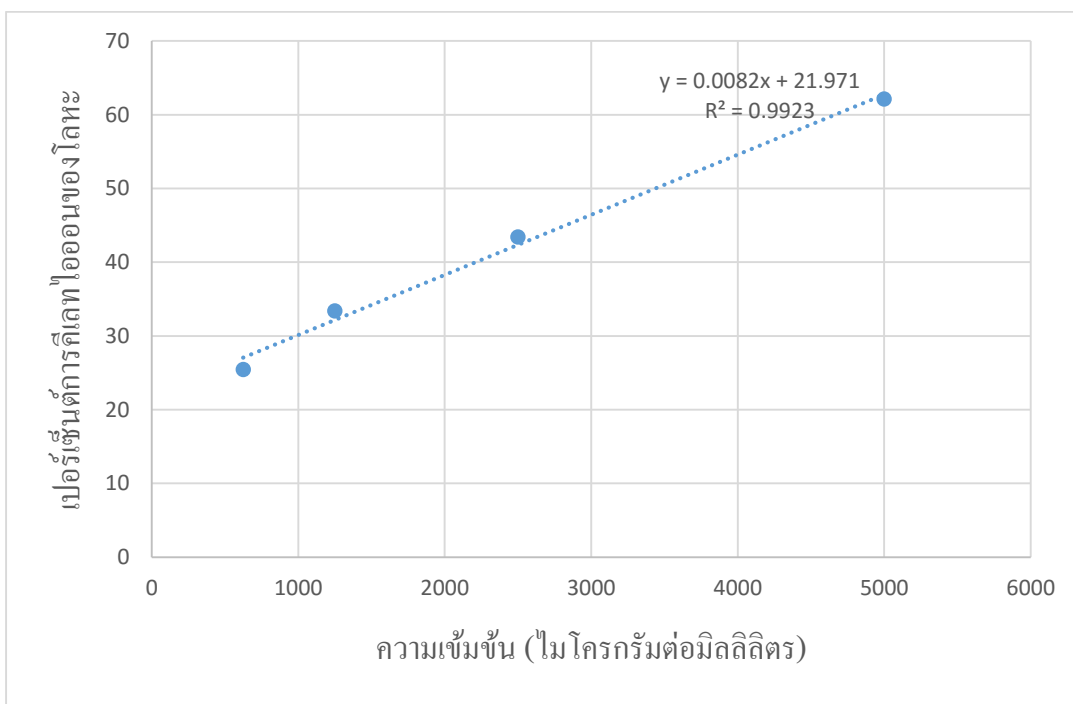
$$\text{จากสมการ } y = 0.0082x + 21.9710$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0082x + 21.9710$$

$$0.0082x = 28.029$$

$$x = 3418.17$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำที่ $100^{\circ}C$ ที่สามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 3418.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-13 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำ ที่ $100^{\circ}C$

14. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

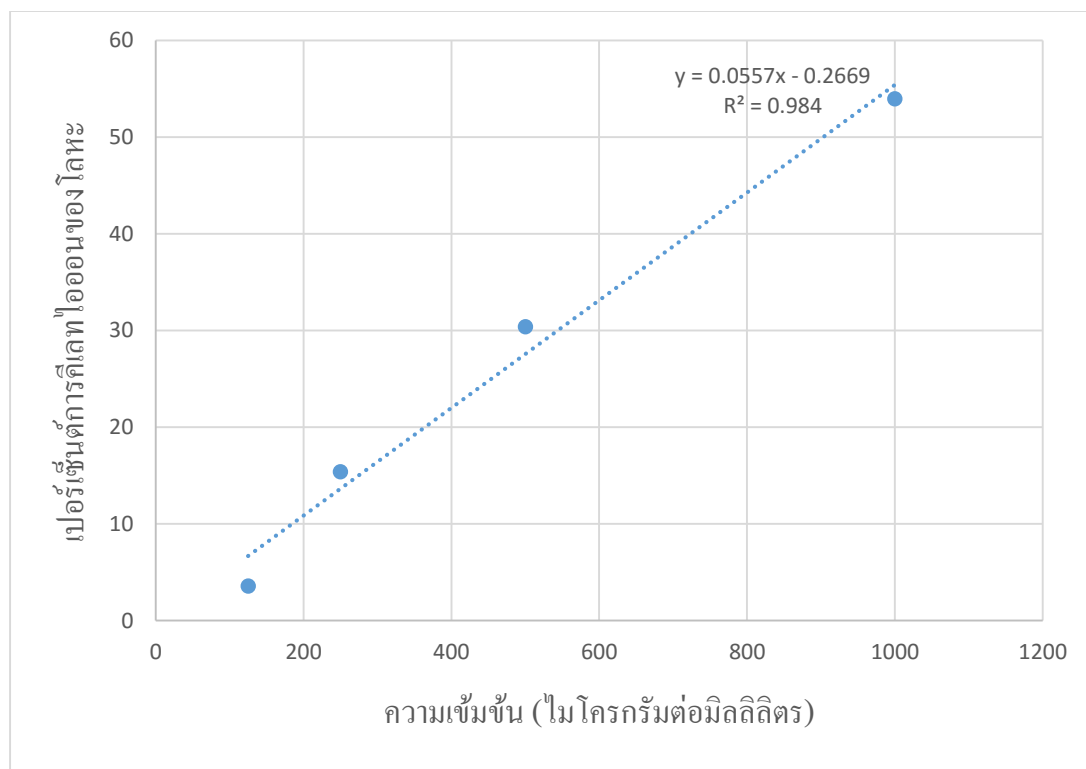
$$\text{จากสมการ } y = 0.0557x - 0.2669$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0557x - 0.2669$$

$$0.0557x = 50.2669$$

$$x = 902.46$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 902.46 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-14 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 40%

15. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

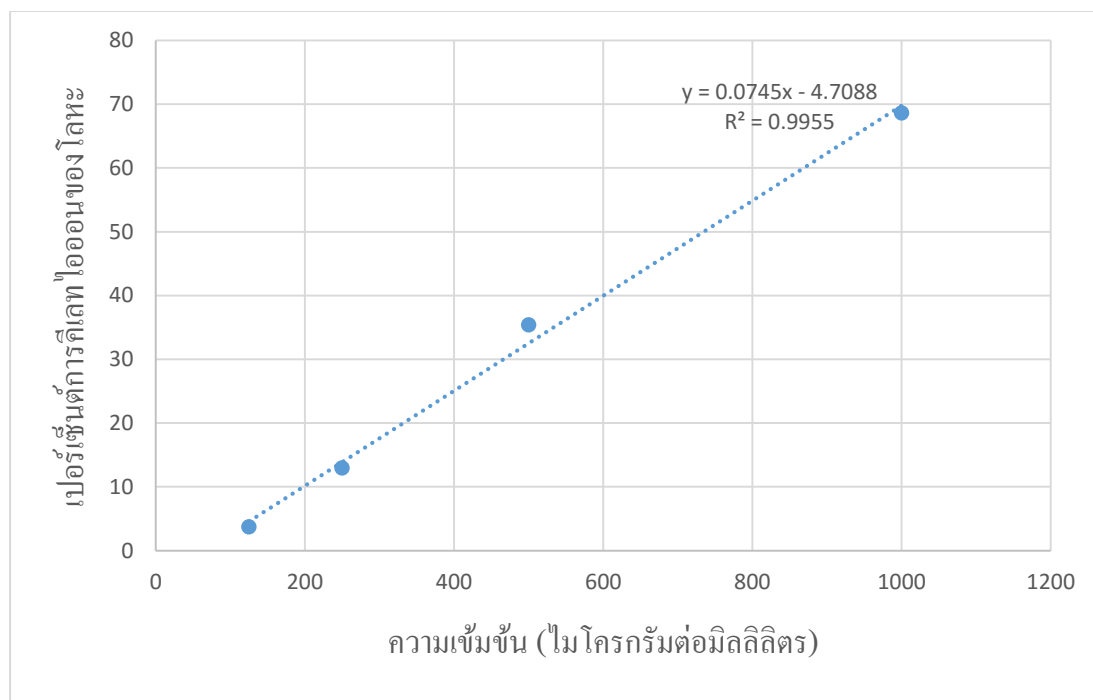
$$\text{จากสมการ } y = 0.0745x - 4.7088$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0745x - 4.7088$$

$$0.0745x = 54.7088$$

$$x = 734.35$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 734.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพภาคผนวก ฉ-15 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70%

16. การหาค่า IC_{50} ความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

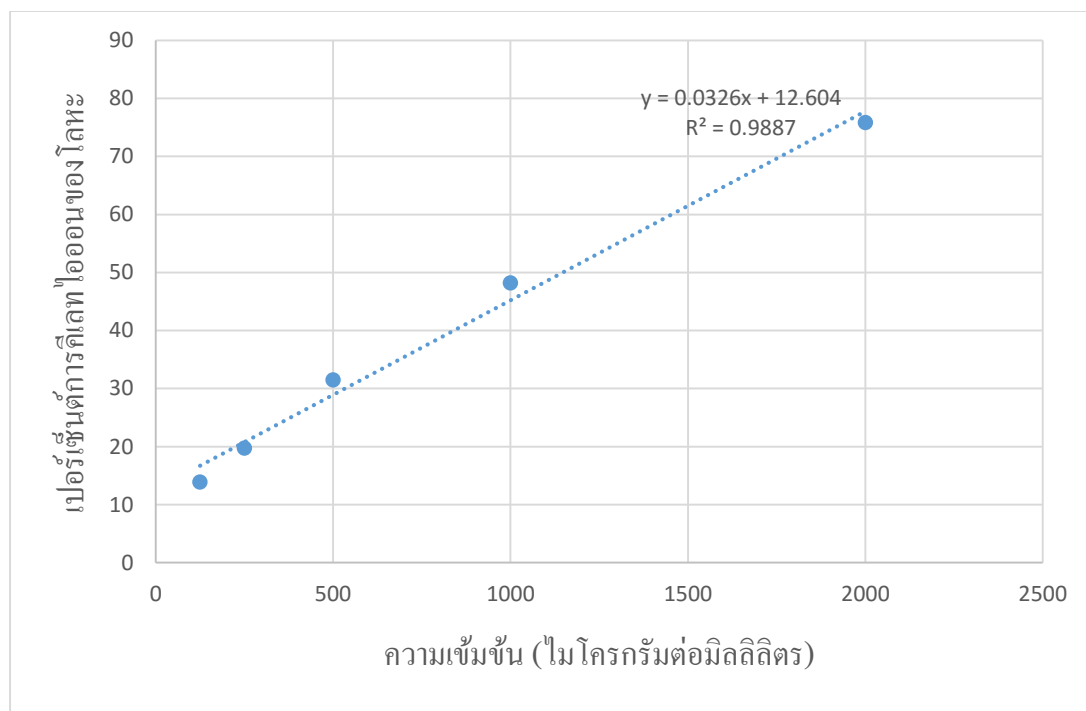
$$\text{จากสมการ } y = 0.0326x + 12.604$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, \quad 50 = 0.0326x + 12.604$$

$$0.0326x = 37.3960$$

$$x = 1147.12$$

ดังนั้นความเข้มข้นของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ซึ่งสามารถคีเลทไอออนของโลหะได้ 50% เท่ากับ 1147.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร



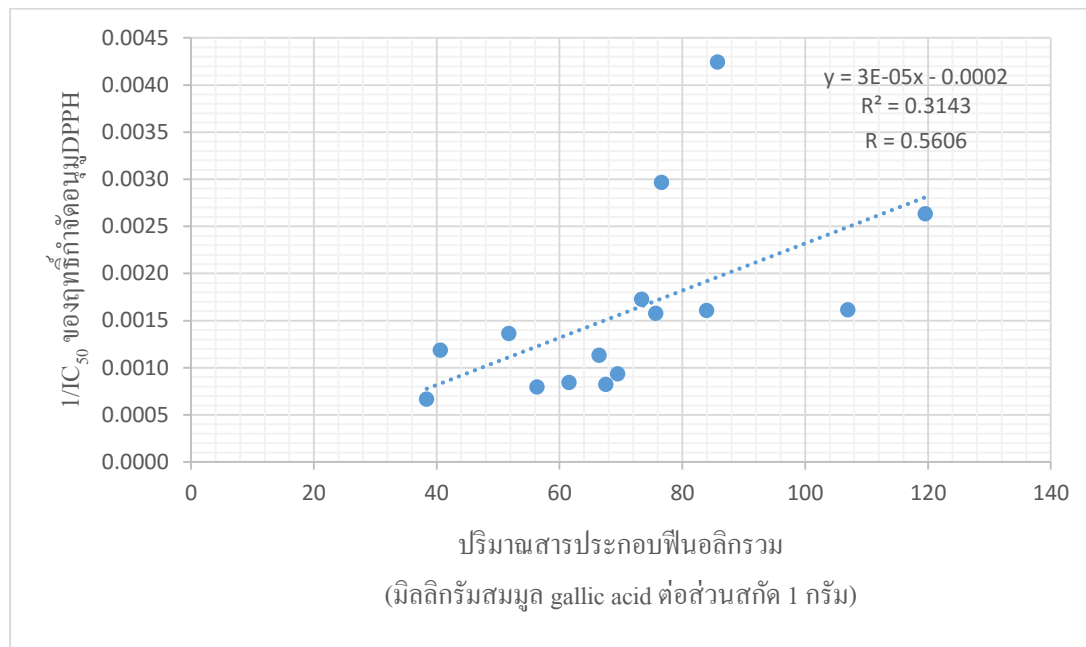
ภาพภาคผนวก ฉ-16 กราฟสมการในการคำนวณ IC_{50} ของส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95%

ภาคผนวก ข

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์

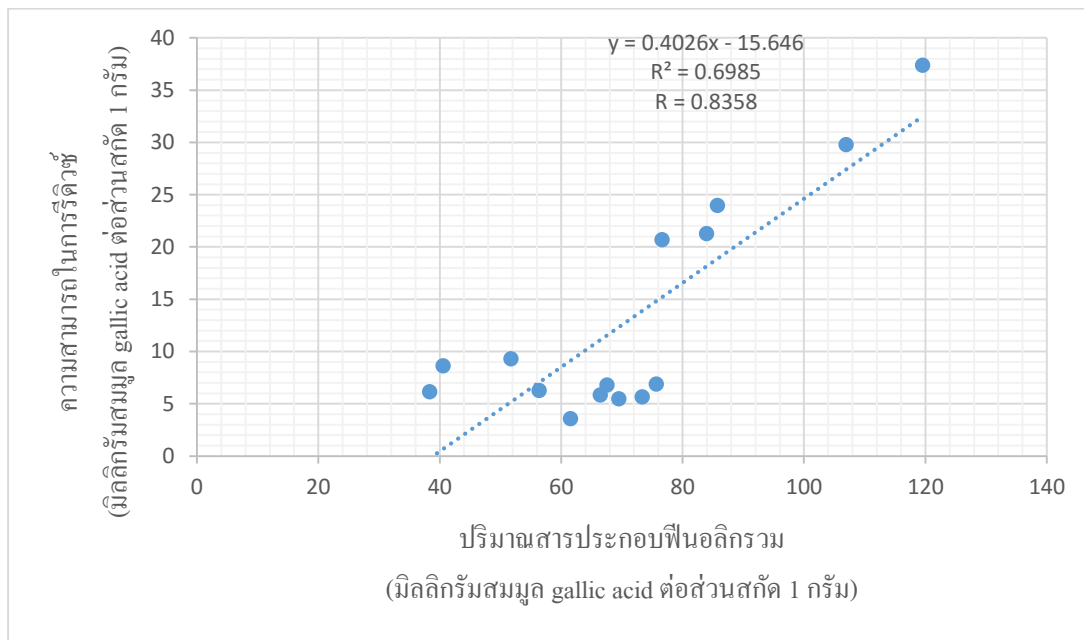
ต้านอนุมูลอิสระ

1. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH



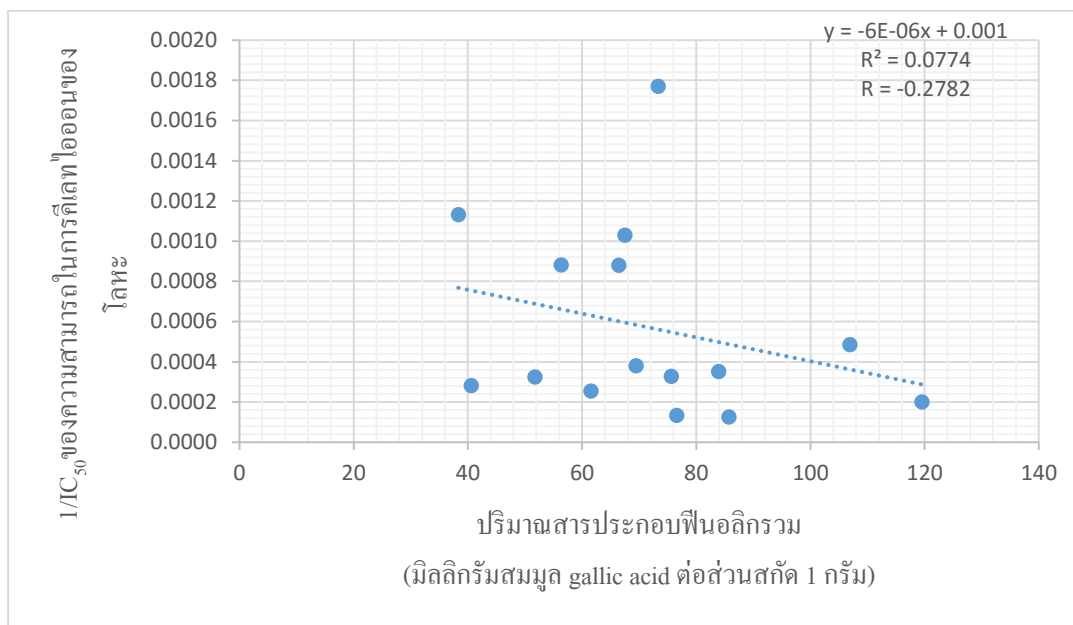
ภาพภาคผนวก ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH

2. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อความสามารถในการรีดิวซ์



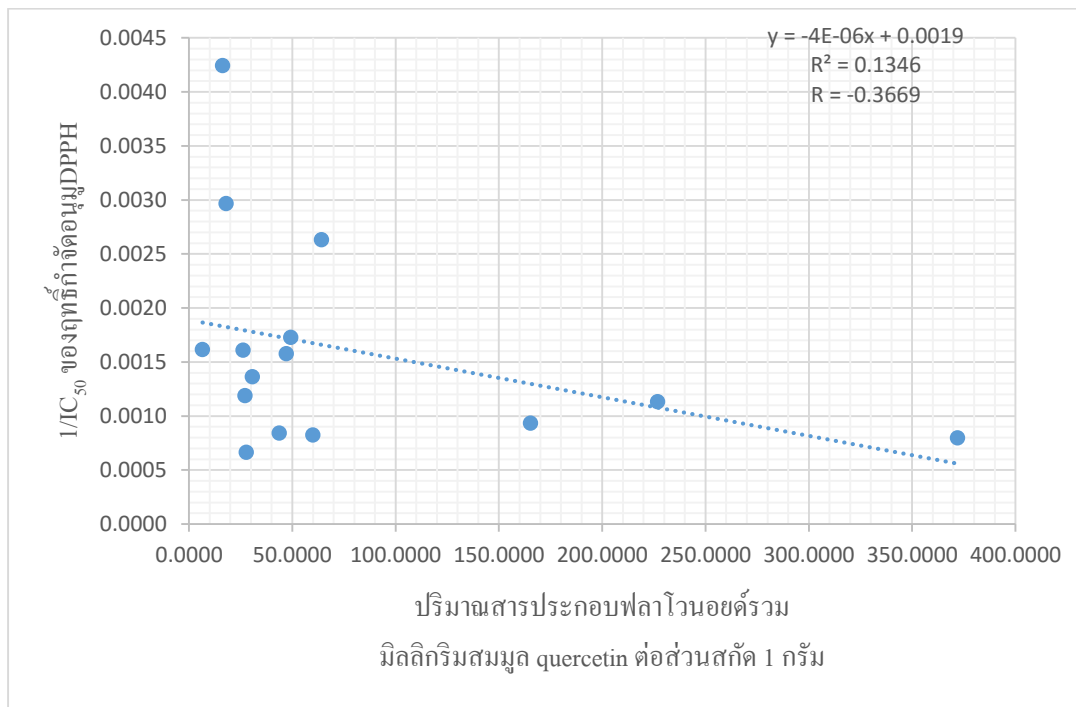
ภาพภาคผนวก ข-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อ
ความสามารถในการรีดิวซ์

3. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ



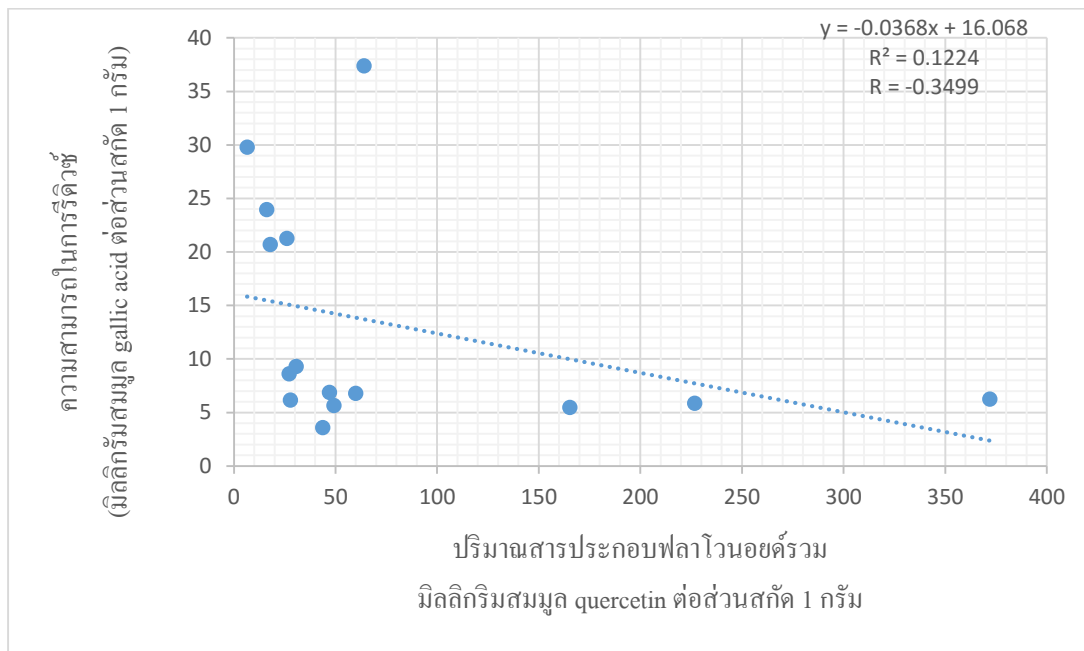
ภาพภาคผนวก ข-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ

4. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH



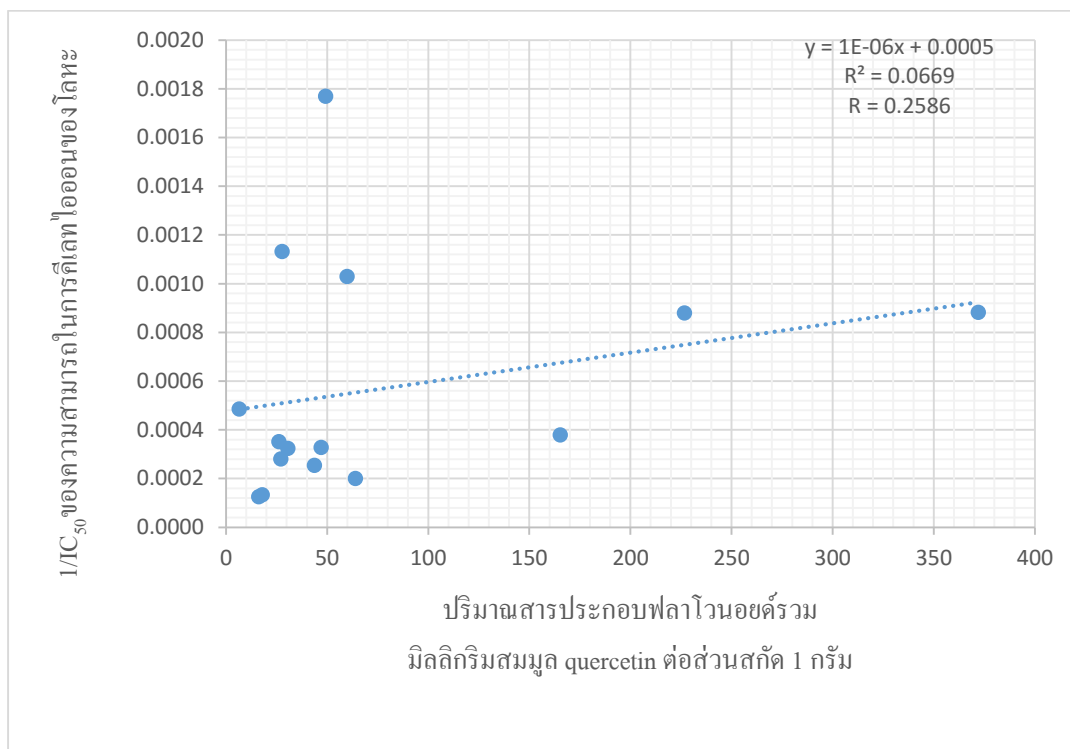
ภาพภาคผนวก ข-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH

5. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อความสามารถในการรีดิวซ์



ภาพภาคผนวก ข-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อความสามารถในการรีดิวซ์

6. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะของโลหะ



ภาพภาคผนวก ช-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมต่อความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะ