

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 ตัว โคจรรอบวงนอกสุด อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก ทำให้อนุมูลอิสระไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ โดยดึงหรือให้อิเล็กตรอนโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระโดยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระและหยุดยั้งการเกิดของอนุมูลอิสระ ซ่อมแซมความเสียหายซึ่งเกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย รวมทั้งช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายซึ่งร่างกายจะได้รับสารต้านอนุมูลอิสระ 2 ทาง คือ สารต้านอนุมูลอิสระจะสามารถสร้างขึ้นมาได้เองโดยร่างกายมนุษย์ซึ่งก็คือเอนไซม์บางชนิดซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ได้แก่ Superoxid dismutase, Catalase, Glutathione peroxidase, Glutathione reductase นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอีกบางตัวที่พบในร่างกายซึ่งไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ Ceruloplasmin Hemopexin uric acid เป็นต้น แต่ปัญหาคือร่างกายเราได้รับสารพิษมากเกินไปในปัจจุบันทำให้

สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายผลิตขึ้นได้เองไม่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกซึ่งมาจาก “อาหาร” โดยเฉพาะอาหารประเภทผัก ผลไม้ สารอาหารและแร่ธาตุต่างๆ ที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซีอาหารที่ให้วิตามินซีสูง เช่น ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้า เขียว บล๊อคโคลี่ ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว ตำลึง ผักบุ้ง เป็นต้น วิตามินอีมีในน้ำมันพืชต่าง ๆ เช่น น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี ซีลีเนียมมีมากในอาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์และตับ บะหมี่ ไข่ ปลา ขนมงโฮลวีต วิตามินเอมีมากในตับหมู ตับไก่ ไข่ โดยเฉพาะไข่แดง นานม พืชผักที่มีสีเขียวยเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวาดตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศแคโรทีนอยด์ (เบต้าแคโรทีนลูทีนและไลโคปีน) มีมากในผักที่มีสีเขียวยเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวาดตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศที่มีการศึกษาค่อนข้างมาก คือสารพฤกษเคมี (phytochemicals) สารเหล่านี้พบได้ทั่วไปในพืช โดยมากพืชสังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อจุดประสงค์บางอย่าง เช่น ป้องกันตัวเองจากเชื้อโรคและแมลงให้ สีสันกับพืช การรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ จะช่วยให้ระบบแอนติออกซิแดนซ์ของร่างกายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เพกา เป็นพืชผักที่สามารถบริโภคได้ทั้งยอด ดอก และฝักอ่อน ซึ่งจะให้ผลผลิตตลอดทั้งปีและจะให้ผลผลิตมากที่สุดในช่วงปลายฝนต้นหนาว ลักษณะของผลเพกาเป็นฝักขนาดใหญ่คล้ายรูปดาบ ยอดและดอกมีสีเหลืองอ่อนมีรสขมคล้ายใบยอ อีกทั้งสามารถรับประทานได้ทั้งฝักแก่และอ่อนโดยเลือกเอาฝักที่มีสีเขียว อายุไม่เกิน 1 เดือน เพราะไม่ใหญ่มากนัก โดยนำไปเผาไฟแรง ๆ

จนเปลือกพองไหม้จนทั่วแล้วขูดลอกเอาแต่ส่วนดำที่ผิวออกให้หมด จากนั้นนำเนื้อที่มีกลิ่นหอมไปปรุงเป็นอาหาร ฝักเพกามีสรรพคุณและคุณค่าทางโภชนาการที่หลากหลาย เช่น ราก จะมีรสฝาดเย็น ขมเล็กน้อย ใช้บำรุงธาตุ ย่อยอาหาร แก้ท้องร่วงบิดและแก้ไข้สันนิบาต ทั้งนี้ถ้าใช้ทาภายนอกให้นำรากมาฝนกับน้ำปูนใสแล้วทาแก้อาการอักเสบ และบวมช้ำ ฝักอ่อน สามารถรับประทานเป็นผัก ช่วยขับลมและบำรุงธาตุ เมล็ดใช้เป็นยาถ่าย ส่วนเมล็ดแก่สามารถใช้เป็นยาระบายแก้ไอและขับเสมหะ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ในฝักเพกา *Oroxylum indicum (L.) Kurz* เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในด้านของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.2 วัตถุประสงค์งานศึกษาวิจัย

เพื่อศึกษาหาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฝักเพกาฝักอ่อนและฝักแก่

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ฝักเพกา ซึ่งนำมาจากบ้านโชคสมบูรณ ต.โชนง อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี จำนวน 10 ฝัก ซึ่งแบ่งเป็นผลอ่อน 5 ฝัก และผลแก่ 5 ฝัก

1.3.2 แบ่งตัวอย่างฝักเพกาออกเป็น 6 ส่วน คือเปลือกของฝักแก่ เนื้อในของฝักแก่ ฝักแก่เปลือกของฝักอ่อน เนื้อในของฝักอ่อน และฝักอ่อน

1.3.3 สกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเอทานอล

1.3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ของสารสกัดจากฝักเพกาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์
และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระส่วนต่าง ๆ ของฝักเพกา
อ่อนและแก่

1.5 ตัวแปร

1.5.1 ตัวแปรต้น

- ชนิดของตัวอย่าง ฝักเพกา (ลื่นฟ้า)

1.5.2 ตัวแปรตาม

- ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

1.5.3 ตัวแปรควบคุม

- ตัวทำละลายเอทานอล
- ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด
- ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

1.6 นิยามศัพท์

เพกา คือ ผักพื้นบ้านป้องกันหวัดในฤดูหนาวเพกาเป็นผักพื้นบ้านที่มีประโยชน์มาก สามารถกินได้ทั้งฝักอ่อน ดอก ยอดอ่อน โดยฝักเพกาอ่อนสามารถรับประทานได้สด ๆ และยอดอ่อนนิยมกินกับลาบปลา ในฝักเพกามีวิตามินซีสูงมากถึง 484 mg/100 g ซึ่งสูงใกล้เคียงกับมะขามป้อมซึ่งถือว่าสูงที่สุดในบรรดาผักผลไม้ทั้งหลาย ฝักอ่อนของเพกามีรสขมช่วยทำให้ร่างกายอบอุ่นต่อสู้กับอากาศเย็นที่จะนำพาโรคหวัด ไอ หอบหืดที่มากับฤดูหนาว แต่คนท้องไม่ควรรับประทานเพราะฝักเพกาเป็นยาร้อน

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัด ด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรือไอออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยจะทำการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และหยุดการก่อตัวของอนุมูลอิสระ

IC₅₀ (50% Inhibitory Concentration) คือค่าความเข้มข้นที่ตัวอย่างผักเพกามีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์

สัญลักษณ์คำย่อ

ตัวย่อ	หมายถึง
g	กรัม
N	นอร์มอล
mg	มิลลิกรัม
mL	มิลลิลิตร
%w/v	ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
%v/v	ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร
nm	นาโนเมตร
μ g	ไมโครกรัม
mM	มิลลิโมลาร์
mg/L	มิลลิกรัมต่อลิตร
mgGE/100 g dw	มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม (น้ำหนักแห้ง)
mgQE/100 g dw	มิลลิกรัมสมมูลควอซิตินต่อ 100 กรัม (น้ำหนักแห้ง)

1.7 สถานที่ดำเนินการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเคมี อาคาร 10 ชั้น 3 คณะวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยี มหาวิทยาลัย-
ราชภัฏมหาสารคาม

1.8 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2558 และ
สิ้นสุดการทดลอง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2558

ตารางที่ 1.1 แผนการดำเนินงาน

หัวข้อ	ระยะเวลาดำเนินงาน										
	กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2558 – ธันวาคม พ.ศ. 2558										
	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
1. เขียนเค้า โครง การศึกษา	←→										
2. เตรียมวัสดุ และอุปกรณ์ใน การเก็บ ตัวอย่าง			←→								
3. การเก็บ ตัวอย่าง ฝักเพกา					←→						
4. วิเคราะห์ผล การศึกษา							←→				
5. เขียน รายงานและ ทำรูปเล่ม									←→		

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไป

2.1.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ เป็นอะตอมหรือโมเลกุลของสารใด ๆ ที่มีอิเล็กตรอนที่ขาดคู่ (unpaired electron) ซึ่งจะทำให้สารดังกล่าวไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและมีความเป็นพิษสูงมากโดยอิเล็กตรอนที่เหลืออยู่เพียงตัวเดียวในชั้นของอิเล็กตรอนนั้น ๆ จะไม่เสถียรต้องไปแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องกันไปซึ่งถ้าเกิดขึ้นกับสารชีวโมเลกุลหรือในเซลล์

ก็จะทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติหรือถูกทำลายในที่สุด ปฏิภานนี้ เป็นกลไกป้องกันตัวเองของร่างกายอย่างหนึ่งที่ร่างกายมีไว้ต่อสู้กับเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ที่เข้าไปในร่างกายให้ถูกกำจัดออกไปโดยเกิดกับออกซิเจนที่เราหายใจเข้าไปนั่นเอง แต่ถ้การเกิดสารอนุมูลนี้มีมากเกินไปดังที่เป็นอยู่ในชีวิตประจำวันของเราที่บริโภคแต่สารปนเปื้อนและล้วนแต่สิ่งแวดล้อมด้วยมลพิษและมลภาวะต่าง ๆ ออกซิเจนในร่างกายก็จะกระตุ้นให้เกิดการทำงานเปลี่ยนแปลงตนเองเป็นสารพิษเพื่อที่จะมาทำลายสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ซึ่งถ้ามากเกินไปเนื้อเยื่อต่าง ๆ ถูกทำลายมาก ๆ ไปเรื่อย ๆ เกิดเป็นปฏิภานต่อเนื่องเป็นลูกโซ่กันไปอันนำมาให้เกิดความเสื่อมต่าง ๆ ของร่างกายและเกิดโรคต่าง ๆ ตามมาในที่สุด (ประสาร สวัสดิ์ชิตัง, 2547 : 5)

นอกจากนี้ยังมีอนุมูลอิสระอีกกลุ่มหนึ่งที่เกิดปฏิภานออกซิเดชันภายนอกร่างกายโดยสาเหตุหลักมาจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ เช่น ควันที่พ่นออกมาจากท่อไอเสียรถยนต์จำนวนมหาศาลที่อยู่ตามท้องถนน แสงแดด รังสีต่าง ๆ การติดเชื้อไวรัส สารก่ดบูด หรือเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาในอาหารหรือในอากาศ และสุดท้ายยังเกิดจากการเคลื่อนไหวร่างกายอย่างแรงและเร็วเป็นเวลานาน ซึ่ง นั่นก็เป็นเรื่องราวที่ธรรมดาสำหรับคนทำงานแข่งขันกับเวลาและการเดินทางที่เร่งรีบในแต่ละวัน สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระได้และปฏิภานที่เกิดขึ้นก็ทำให้เซลล์ในร่างกายของเรา เสื่อมสภาพเร็วกว่าปกติและยังส่งผลให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายอ่อนแอตามลงไป ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นสิ่งจำเป็นในชีวิตประจำวันเพื่อลบล้างกระบวนการทำงานของอนุมูลอิสระจำนวน มากมายมหาศาลที่มีอยู่ในตัวเราเอง

2.1.2 แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ

แหล่งภายนอก ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ไนโตรสออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์ ฝุ่นควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา

แหล่งภายใน ได้แก่ แหล่งอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น

O_2^-	Superoxide anion	(อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์)
OH^-	Hydroxyl radical	(อนุมูลไฮดรอกซิล)
ROO^-	Peroxy radical	(อนุมูลเปอร์ออกซี)
H_2O_2	Hydrogen peroxide	(ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์)

2.1.3 อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค

อนุมูลอิสระในร่างกายนั้นเกิดจากของเสียของกระบวนการเผาผลาญอาหารโดยใช้ออกซิเจนเพื่อให้ได้รับพลังงาน (อภิชาติ วรณวิจิตร, 2544) อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมักพัฒนาการอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อม ความบกพร่องของเซลล์ประสาทในสมองและภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต คือ หัวใจและสมอง (โอภา วัชระคุปต์, 2549) ซึ่งในภาวะที่ผิดปกติของร่างกาย เช่น ภาวะของโรคหรือภาวะที่ร่างกายถูกล้อมรอบด้วยมลพิษจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอนุมูลอิสระมีความว่องไวสูงจะทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ต่างๆ และส่งผลให้เซลล์เกิดการตาย หากหลายเซลล์เกิดการตายก็จะส่งผลให้เกิดความบกพร่องของอวัยวะ เช่น โรคความเสื่อมชนิดต่าง ๆ ของอวัยวะ ภาวะผิวหนังเหี่ยวก่อนวัย โรคความจำเสื่อม โรคหัวใจ โรคความดันโลหิต

2.2 โรคและภาวะที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

ในปัจจุบันสารอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ ความแก่ชรา (aging) กลุ่มโรคและภาวะทางสมองทั้งหลาย เช่น โรคอัลไซเมอร์ (alzheimer's disease) โรคพาร์กินสัน (parkinson's disease) ความจำเสื่อม (memory loss) โรคสมองเสื่อมในคนแก่ (senile dementia) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) การเมาค้าง (hang over) โรคทางตา เช่น โรคต้อกระจก (cataract) ต้อหิน (glaucoma) กระจกตาเสื่อม (macular degeneration) โรคของปอดและหัวใจ เช่น โรคถุงลมโป่งพอง โรคหัวใจ และทางเดินอาหารที่เกิดจากการตีบหลอดเลือด เลือดอุดตันตีบ (atherosclerosis) โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ โรคตับแข็ง (cirrhosis) โรคไตวาย โรคของระบบร่างกายทั้งระบบ เช่น โรคภูมิคุ้มกันตนเอง (auto-immune disease) โรคมะเร็ง (cancer) โรคความดันโลหิตสูง ฯลฯ

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลของสารที่สามารถลดกิจกรรมของอนุมูลอิสระของธาตุออกซิเจนและอนุมูลอิสระของธาตุไนโตรเจน และยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ (ดึงหรือรับอิเล็กตรอน) จากสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ของร่างกายไม่ว่าจะเป็นไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่ง คลอเลสเทอรอล และกรดไขมันไม่อิ่มตัว

โปรตีนและสารพันธุกรรมของร่างกายจึงทำให้โครงสร้างบทบาททำงานของสารชีวโมเลกุลนั้น ๆ ผิดปกติไปและสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อเนื่องจากสารชีวโมเลกุลหนึ่งไปยังสารชีวโมเลกุลอื่นเกิดอนุพันธ์ใหม่เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ ของเซลล์หรือเนื้อเยื่อตามมา ร่างกายของคนมีการสร้างสารเหล่านี้ออกมาตลอดเวลาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงสาร (metabolism) ตามปกติของร่างกาย เช่น การเผาผลาญสารอาหารเป็นพลังงาน ซึ่งต้องอาศัยออกซิเจนและอาจสูงขึ้นในภาวะที่มีการติดเชื้อในสภาวะปกติร่างกายจะมีกระบวนการควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้มากเกินไปโดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระทั้งที่ร่างกายสร้างขึ้นเอง เช่น เอนไซม์ glutathione peroxidase, catalase เป็นต้น หรือได้รับจากภายนอก เช่น อาหารจำพวกผัก ผลไม้และสมุนไพร เป็นต้น หากกระบวนการเหล่านี้ต่ำลงหรือมีภาวะที่ทำให้อนุมูลอิสระสูงขึ้นมากในร่างกายจะทำให้สมดุลเสียไปก็จะเกิดการทำลายเป็นอันตรายต่อสารชีวโมเลกุล (ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารพันธุกรรม) เซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ เรียกว่า เกิดภาวะเครียดจากการออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ ไขมันในเลือดสูง เบาหวาน โรคไต โรคกระดูก รวมทั้งการแก่ชรา มนุษย์จึงต้องได้รับสารที่จะช่วยจัดการกับอนุมูลอิสระเพิ่มเติม ถึงแม้ผัก ผลไม้และสมุนไพร จะไม่ใช่อาหารหลักของมนุษย์แต่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมายเมื่อเทียบกับปริมาณแคลอรีเพียงเล็กน้อยการรับประทานผัก ผลไม้และสมุนไพร มีสารต้านอนุมูล-อิสระหลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นกลุ่มสารที่พบในพืชทุกชนิดนั้นยังมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมาก ทำให้ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นในกระแสเลือดซึ่งสามารถป้องกันอันตรายที่เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระได้รับการรับประทาน

อาหารประเภทผักใบเขียว ผลไม้และสมุนไพรเป็นประจำทำให้ร่างกายสามารถป้องกันโรคที่มีสาเหตุจากการทำลายของอนุมูลอิสระ เช่น โรคไขมันในเลือดสูง โรคหัวใจ เบาหวาน โรคมะเร็ง โรคไต รวมทั้งความแก่ชรา (โสภา วัชระคุปต์, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า antiradicals ปัจจุบันคำศัพท์นี้ได้บัญญัติใหม่เป็นสารขจัดหรือกำจัดอนุมูล (radicals scavenger) เพื่อให้ถูกต้องตรงกับการทำงานและอาจใช้คำว่าสารแอนติออกซิแดนท์แทน อย่างไรก็ตามในภาษาไทยยังคงใช้คำว่าสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าการทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระจะช่วยในการป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการศึกษาจำนวนมากยืนยันถึงการลดอัตราเสี่ยง และการเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดมะเร็ง โรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระจากการบริโภคผักผลไม้ ซึ่งผลดังกล่าวมาจากความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายได้แก่ วิตามินซี วิตามินบี เบต้า-แคโรทีน และสารแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น ฟลาโวนิน ฟลาโวน ฟลาโวนอล คาเทชิน และแอนโทไซ-ยานิน เป็นต้น โดยในปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถสร้างขึ้นมาได้เองโดยร่างกายมนุษย์

2.3.1.1 Superoxide dismutase คือ เอนไซม์ชนิดหนึ่งในระบบป้องกันที่เป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเผาผลาญภายในเซลล์ ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของ

ร่างกายเอนไซม์ชนิดนี้มีอยู่ในร่างกายตั้งแต่แรกเกิดแต่จะมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ เมื่ออายุมากขึ้น

(อุไรพรรณ เจนวาณิชยานนท์, 2553 : ออนไลน์)

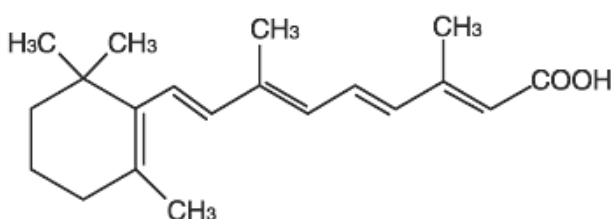
2.3.1.2 Catalase Enzyme พบในกระแสเลือด และในเซลล์ต่าง ๆ มี สะสมในร่างกายมาตั้งแต่แรกเกิดและร่างกายสามารถผลิตเอนไซม์คะตาเลสเองได้ แต่ปริมาณของเอนไซม์คะตาเลสจะลดลงเรื่อย ๆ ตามช่วงของอายุที่มากขึ้น

เอนไซม์คะตาเลส ซึ่งจัดว่าเป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่พบในเซลล์ โดยทำหน้าที่เข้าสลายพันธะทางเคมีของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยจะทำปฏิกิริยาในน้ำหลังทำปฏิกิริยาจะสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ไปเป็นน้ำ (H_2O) และก๊าซออกซิเจน (O_2) ซึ่งร่างกายสามารถหมุนเวียนกลับไปใช้ประโยชน์ใหม่ได้อีก (กำพล ศรีวัฒนกุล และเมธินี

ศรีวัฒนกุล, 2543 : 40)

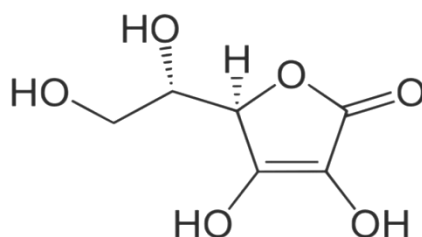
2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สามารถสร้างขึ้นมาตัวเองโดยร่างกายมนุษย์

2.3.2.1 วิตามินเอ (retinol) ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้นแต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้จัดเป็น Precursor ของวิตามินเอ เรียกว่าโปรวิตามินเอ มักพบในพืชผักใบเขียวผักและผลไม้ที่มีสีเหลืองหรือสีส้มแดง (รัชณี คงกาญจนาย, 2557 : ออนไลน์)



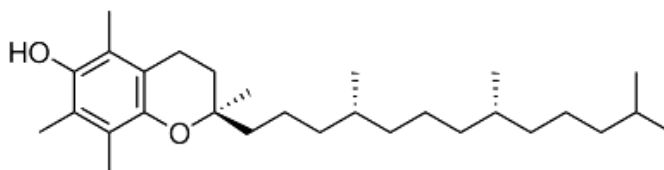
ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของวิตามินเอ

2.3.2.2 วิตามินซี (ascorbic acid) มีชื่อทางเคมีว่ากรดแอสคอร์บิก เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันโดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxy นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีอีกด้วย (อภิชาติ วรณวิจิต, 2556 : ออนไลน์)



ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของวิตามินอี

2.3.2.3 วิตามินอี (Tocopherol) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญโดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันตัวอื่น ๆ เช่น วิตามินซี และซีลีเนียม เป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่วในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอล และโทโคโทอินอล

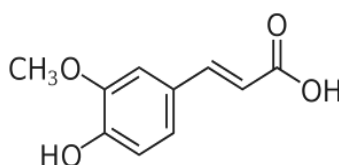


ภาพที่ 2.3 สูตรโครงสร้างของวิตามินอี

2.3.2.4 ซีลีเนียม ทองแดง และสังกะสี (selenium, copper, and zinc) เป็นสารต้านออกซิเดชันทางอ้อม เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน มีการศึกษาวิจัยที่แสดงว่าการใช้ซีลีเนียมและวิตามินอีร่วมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกัน การเกิดโรคมะเร็งบางชนิด ซึ่งพบได้ในอาหารตามธรรมชาติเนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระจับกับไอออนโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยหน้าที่ต่าง ๆ เหล่านี้จึงทำให้มีผลต่อการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสามารถหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ได้ (ริญ เจริญศิริ, 2556 : ออนไลน์)

2.3.2.5 สารประกอบฟีนอลิก (phenolics) เป็นสารในกลุ่มเมทาบอลไลท์ลำดับที่สอง (secondary metabolite) ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต และขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิดมีสูตรโครงสร้างที่เป็นวงเบนซีนที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เกาะอยู่อย่างน้อย 1 กลุ่มมักจะรวมกลุ่มอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) และพบได้ในส่วนของแวคิวโอลภายในเซลล์ ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาตินับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนอล โพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลี-เมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน

เป็นต้น นอกจากนี้ยังจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ธัญพืช ต่าง ๆ กาแฟ ชาเขียว ชาดำ ช็อคโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น (Yu L. และ Zhou K, 2004 : 311-316)



ภาพที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก มีคุณสมบัติที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากและเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญ คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ้มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เป็นต้น อีกทั้งยังทำหน้าที่กำจัดโมเลกุลของอนุมูลอิสระ และกำจัดโลหะหนักที่เป็นพิษต่อเซลล์ ป้องกันกระบวนการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์รวมถึงป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของ กรดไขมัน และโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างเสถียร ดังนั้นจึงไม่เกิดปฏิกิริยากับสารอื่นต่อไป

นอกจากนี้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังสามารถรวมกับอนุมูลอิสระตัวอื่นเพื่อยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระด้วย

ตารางที่ 2.1 ประเภทของสารประกอบฟีนอลิก

จำนวนคาร์บอน	โครงสร้างหลัก	ประเภท
6	C ₆	ฟีนอลิกอย่างง่าย เบนโควควิโนน
7	C ₆ -C ₁	กรดฟีนอลิก
8	C ₆ -C ₂	แอสिटอฟีนอน กรดฟีนิลแอสिटิก
9	C ₆ -C ₃	กรดไฮดรอกซิลซินนามิก คูมาริน ไอโวคูมาริน
19	C ₆ -C ₄	แนพโทควิโนน
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	แซนโทน
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	สตีลปินแอสิทราซีน
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	ฟลาโวนอยด์ ไอโวฟลาโวนอยด์
18	(C ₆ -C ₃) ₂	ลิกนินนีโอลิกแนน

2.4 เพกา (ลื่นฟ้า)

ชื่อสมุนไพร เพกา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Oroxylum indicum (L.) Kurz*

ชื่อสามัญ Broken Bones Tree

วงศ์ Bignoniaceae

ชื่ออื่น มะลิดไม้ มะลื่นไม้ ลิดไม้ (เหนือ) ลื่นฟ้า (เลย) หมากลื่นก้าง

หมากลื่นซ้าง (ฉาน-เหนือ) กาโต้โต้ง (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี)

ดอกกะต้อกกะ ดูแก (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เบโก (มาเล-นราธิวาส)

(สรรพคุณสมุนไพร, 2551 : ออนไลน์)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเพกา

เพกาหรือลิ้นฟ้า เป็นไม้ต้น สูง 3-12 เมตร เปลือกลำต้นเรียบ มีสีเทา แตกกิ่งก้านน้อย

ลักษณะใบเพกา เป็นใบประกอบแบบขนนกสามชั้น ขนาดใหญ่ เรียงตรงข้ามรวมกันอยู่บริเวณปลาย กิ่งใบย่อยรูปไข่หรือรูปไข่

แกมวงรีกว้าง 4-8 เซนติเมตร ยาว 6-12 เซนติเมตร

ดอกเพกา ดอกช่อจะออกที่ปลายยอด ก้านช่อดอกยาว ดอกย่อยขนาดใหญ่ มี 20-35 ดอก กลีบดอกสีนวลแกมเขียว โคนกลีบเป็นหลอดสีม่วงแดง หนาแน่น บานกลางคืน

ผลเพกา เป็นฝักแบนยาว รูปดาบ เมื่อแก่จะแตก ภายในมีเมล็ดแบนจำนวนมาก สีขาว มี ปีกบางโปร่งแสงขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด ให้ได้ต้นกล้าสูง 30-50 เซนติเมตร แล้วปลูกลงในหลุมดินร่วนซุยลึกประมาณ 50-70 เซนติเมตร กลบดินให้แน่น แล้วรดน้ำให้ชุ่ม เจริญงอกงามดีหากปลูกลงในฤดูฝน เมื่อต้นเจริญเติบโตดีแล้วไม่ต้องดูแลเท่าไร

การใช้เป็นอาหาร

ยอดอ่อนและฝักอ่อนมีรสขม นิยมเผาหรือลวกสุก จะทำให้ความขมลดลง เผาแล้วขูดเอาผิวออกให้หมดรับประทานกับน้ำพริกต่าง ๆ เมล็ดเพกา ใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำจับเลี้ยงที่คนจีนนิยมดื่มกัน ช้อควรระวัง ถ้ากินมากอาจทำให้เป็นต่อเนื้อที่ดวงตา

คุณค่าทางโภชนาการ

ผลเพกา (ฝักอ่อน) ในส่วนที่กินได้น้ำหนัก 100 g ให้ไขมัน 0.51 g คาร์โบไฮเดรต 14.3 g โปรตีน 0.23 g เส้นใย 4.3 g แคลเซียม 13 mg ฟอสฟอรัส 4 mg วิตามินเอ 8,221 หน่วย วิตามินซี 484 mg มีประโยชน์ช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์ร่างกายแก่เร็วเกินไป ปกป้องอนุมูลอิสระไม่ให้เกิดขึ้นในร่างกายอันเป็นผลทำให้เกิดเป็นโรคมะเร็งได้ หากรับประทานร่วมกับอาหารที่มีวิตามินอีสูงๆ เช่น รำข้าวในข้าวกล้อง ช่วยเสริมฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้อย่างสมบูรณ์อีกด้วย ในยอดอ่อน 100 g พบว่าให้พลังงาน 101 กิโลแคลอรี โปรตีน 6.4 g ไขมัน 2.6 g คาร์โบไฮเดรต 13.0 g วิตามินบี1 0.18 mg วิตามินบี2 0.69 mg และวิตามินบี3 2.4 mg นอกนั้นเป็นเถ้าและน้ำในผล เพกามีวิตามินเอสูงช่วยบำรุงสายตา เหมาะกับคนที่ขาดวิตามินเอ และมีเส้นใยอาหารมาก ช่วยการขับถ่ายให้เป็นปกติ ทั้งเส้นใยยังช่วยลดการดูดซึมไขมันและน้ำตาลเข้าสู่กระแสโลหิต

สรรพคุณทางวิทยาศาสตร์การแพทย์

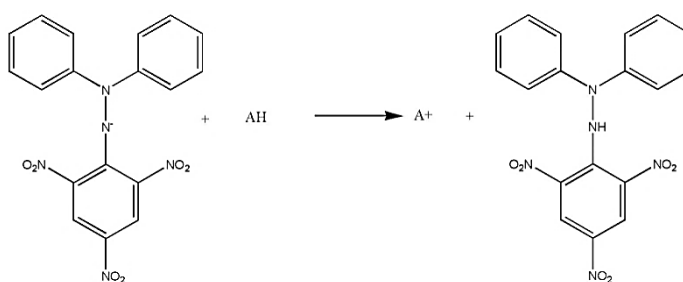
ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่า สารสกัดฟลาโวนอยด์ที่ได้จากเปลือกต้นเพกา มีฤทธิ์ช่วยลดการอักเสบ การแพ้ (anti-inflammatory and anti-allergic) ทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดในหลอดทดลอง สารลาพาคอล (lapacol) ที่สกัดได้จากรากเพกา มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase) ที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้การ

รับประทานผักเพกาหรือยอดอ่อนยังสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดได้ ในงานสาธารณสุขมลงาน เมล็ดเพกาเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่กำหนดเพื่อใช้บรรเทาอาการไอ ขับเสมหะ โดยนำเมล็ดแก่ ประมาณครึ่งกำมือถึงหนึ่งกำมือ (1.5-3.0 g) ใส่ในหม้อเติมน้ำ 300 mL ต้มไฟอ่อน ๆ พอเดือดประมาณ 1 ชั่วโมง ต้มครั้งละ 1 แก้ว วันละ 3 ครั้ง จนอาการไอดีขึ้น

2.5 ปฏิบัติการทดสอบ

ปฏิบัติการทดสอบ DPPH assay

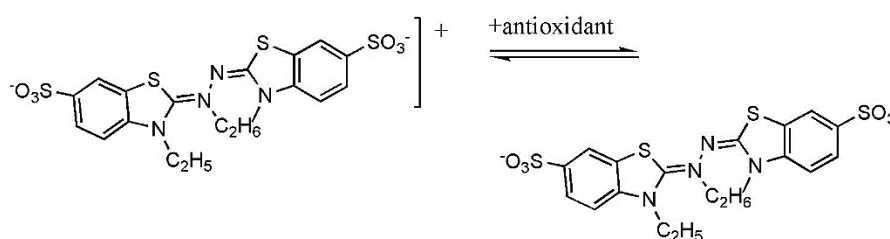
ในการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระใช้การวิเคราะห์โดยวิธี DPPH assay ซึ่ง DPPH radical มีสีม่วง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปทำให้สีม่วงนั้นจางลง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระไปให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล DPPH \cdot ซึ่งจะติดตามการเกิดปฏิกิริยาที่ค่าความยาวคลื่น 517 nm



ภาพที่ 2.6 การเกิดปฏิกิริยาของ DPPH assay

ปฏิกิริยาการทดสอบ ABTS assay

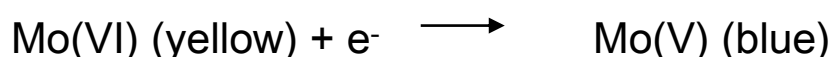
ในการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระใช้การวิเคราะห์โดยวิธี ABTS assay ซึ่ง ABTS radical มีสีเขียว เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปทำให้สีเขียวนั้นจางลง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระไปให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล $ABTS^+$ ซึ่งจะติดตามการเกิดปฏิกิริยาที่ค่าความยาวคลื่น 734 nm



ภาพที่ 2.7 การเกิดปฏิกิริยาของ ABTS assay

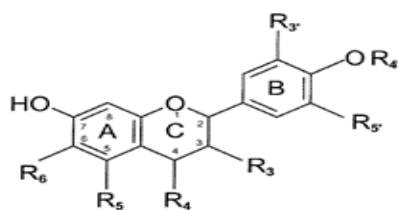
ปฏิกิริยาการทดสอบ Folin-Ciocalteu method

ในการทดสอบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะทดสอบโดย Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Molybdate (VI)) ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) ติดตามการเกิดปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่น 765 nm



ปฏิกิริยาการทดสอบ Aluminium chloride colorimetric assay

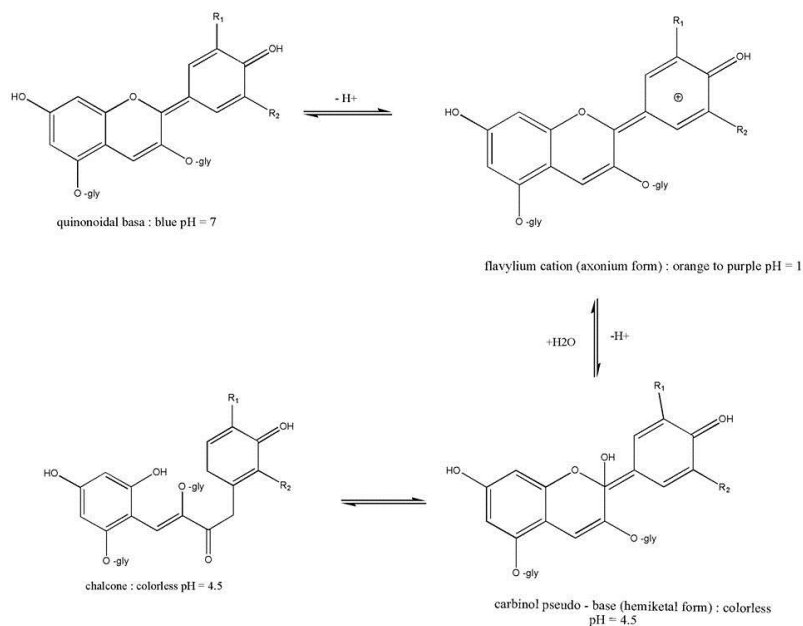
ในการทดสอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะใช้ Aluminium chloride colorimetric assay ในการทดสอบ ในการเกิดปฏิกิริยา AlCl_3 ที่เติมในปฏิกิริยา จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารฟลาโวนอยด์ที่เรียกว่า acid stable complexes ในตำแหน่ง C3 C5 และ/หรือ C5 ในสารสกัด เมื่อเติม NaOH ลงไป สารผสมนั้นจะกลายเป็นสีชมพู ซึ่งติดตามการเกิดปฏิกิริยาโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm



ภาพที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของ Anthocyanins ในสถานะต่าง ๆ

ปฏิกิริยาการทดสอบ pH-differential method

ในการทดสอบหาแอนโทไซยานินทั้งหมดจะใช้ปฏิกิริยาการทดสอบ pH-differential method เนื่องจากจะคงตัวที่พีเอชต่ำ ซึ่งจะมีสีและสามารถวัดได้ที่ค่าความยาวคลื่น 520 nm แต่เมื่อค่าพีเอชสูงขึ้น จะสลายตัวเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปทำให้ไม่มีสี



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่พีเอชต่าง ๆ

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นันทชา ศรีพันธุ์ (2547) ศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากผักสดและผักลวกรวม 15 ชนิดในเขตเทศบาลเมืองนครปฐม โดยวิธีทาง สเปกโทรเมตรีโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดทางคณะผู้วิจัยกลุ่มนี้ทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและนำมาทดสอบโดยทำปฏิกิริยากับ DPPH[•] ในที่มีด

เป็นเวลา 30 นาที ผลที่ได้จากการวิจัยพบว่ามะระจีนสดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและมะระจีนลวกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 30.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ถนอมนวล พรหมบุญ (2556) สารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิด ในจังหวัดเพชรบูรณ์ (เห็ดน้ำผึ้ง เห็ดระโงกขาว เห็ดถ่านใหญ่ เห็ดน้ำหมาก เห็ดตะไคล) สกัดในตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอทิลอะซิเตท เมทานอล น้ำ) ทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1 diphenenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity และหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method และวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณด้วยสถิติและค่าความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ยกเว้นเห็ดตะไคลจะเป็นชั้นน้ำพิจารณาจากค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ มีค่าเป็น 0.0213 0.0073 0.0224 0.02391 และ 0.0339 ตามลำดับ แต่ทุกตัวมีค่า IC_{50} สูงกว่าโทรลอกซ์ ซึ่งมีค่าคือ 2.2430 และค่า IC_{50} มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมดยกเว้นสารสกัดจากเห็ดตะไคลในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท จากผลการวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาประโยชน์จากเห็ดในระดับต่อไปและเป็นประโยชน์ต่อการเลือกบริโภคเห็ดป่าของชาวบ้าน

พัชรวิทย์ ปั่นแห้งเพชร (2546) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชาเขียวใบหม่อนและการนำมาใช้เพื่อป้องกันเซลล์แผลเย็บกระดูกเพราะอาหารเนื่องจากภาวะขาดเลือดพบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดเมื่อทดสอบโดยตรวจวัด ความสามารถของสารสกัดหยาบในการจับอนุมูล

อิสระโดยใช้ DPPH· พบว่าค่า IC₅₀ เท่ากับ 96.50±45.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและความสามารถในการรีดิวซ์ Fe³⁺ โดยสารสกัดหยาบ 40.10 µg สามารถรีดิวซ์ Fe³⁺ ได้เทียบเท่ากับ วิตามินซี 1 ไมโครกรัมและการทดสอบการป้องกันเม็ดเลือดแดงแตกพบว่าได้ค่า IC₅₀ เท่ากับ 45.11±7.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้รักษาป้องกันโรคต่างๆ ได้

ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ (2549) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพืชสมุนไพรที่พบทั่วไปในจังหวัดอุบลราชธานี 8 ชนิด ได้แก่ เหียง กระจับก แมงลักคา หูเสือ เอนอ้า มะพอก มะสังและตุ้มกาขาว ด้วยการนำส่วนต่างๆของพืชมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย ethyl acetate และเอทานอลได้สารสกัดชั้น ethyl acetate และเอทานอลทั้งหมด 36 สารสกัด จากนั้นทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH· พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าสารสกัดในชั้น ethyl acetate โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 19.8±2.3 ถึง 51.4±1.3 เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้นเดียวกัน (500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่า vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) อยู่ในช่วง 4.4±7.2 ถึง 105.9±4.3 มิลลิกรัมวิตามินซี/100 กรัมสารสกัด ส่วนการหาปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดชั้นเอทานอล โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu พบว่าปริมาณสารฟีนอลรวมในสารสกัดนี้จะอยู่ในช่วง 5.4±0.1 ถึง 41.5±0.3 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิด/กรัมสารสกัด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารฟีนอลรวมกับการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.6

วนิดา ชูหมื่นไวย (2553) ได้ทดลองศึกษาผลของการลวกนึ่งและย่างมะระขึ้นกสดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในมะระขึ้นกสด ด้วยวิธี DPPH· เพื่อนำข้อมูลจากการทดลองไปใช้ประโยชน์สำหรับการนำผลมะระขึ้นกไปประกอบอาหารและบริโภคมะระขึ้นกให้ได้ประโยชน์สูงสุด ในการวิจัยนี้เริ่มจากการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากมะระขึ้นกสด และมะระขึ้นกที่ผ่านกระบวนการลวก นึ่ง ย่าง ด้วยเมทานอล พบว่าสารสกัดหยาบจากมะระขึ้นกสดได้มากที่สุด 3.3% เมื่อเทียบกับน้ำหนักสด 1500 กรัม รองลงมาเป็นมะระขึ้นกย่าง 1.25% มะระขึ้นกลวก 0.73% มะระขึ้นกนึ่ง 0.43% ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปละลายในเมทานอลและปรับให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ แล้วเติม DPPH· แล้วนำไปหาค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่า % Inhibition เพื่อนำไปคำนวณหาค่า IC₅₀ แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความร้อนมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ มะระขึ้นกที่ผ่านกระบวนการลวกมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะระขึ้นกสดเป็น 467.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดมะระขึ้นกที่ผ่านกระบวนการนึ่งและย่างเป็น 482.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 546.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Deka et al., (2556) ได้ศึกษาเกี่ยวกับเพกาซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *oronylum indicum* (family : Bigoniacear) หรือ Broken bones tree เป็นพืชที่พบมากในอินเดียและเอเชีย

ตะวันออกเฉียงใต้ เพกามีชื่อเรียกอื่น ๆ เช่น Bhatghila, Tona, Bhut-Vriksha, Shyonaka, และ Hanyu pinyin ในสองทศวรรษที่ผ่านมา มีรายงานจำนวนมากที่ปรากฏในวารสารวิทยาศาสตร์ที่อธิบายถึงคุณสมบัติทางโภชนาการและสมุนไพร ซึ่งเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ซึ่งเน้นข้อมูลสำคัญในรายละเอียดพฤกษศาสตร์ของเพกา ชื่อพื้นบ้าน ฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเน้นวัตถุประสงค์หลักทางการศึกษาเพกา โครงสร้างของสารประกอบและชื่อ IUPAC ทั้ง 28 ชนิด ที่พบในเพกาพร้อมทั้งสูตรโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล จุดหลอมเหลว

Maisuthisakul.P. et al., (2007) ศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี colori-

Metric method ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด คักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (สารต้านอนุมูลอิสระ) ของสารสกัดจากเม่าและพืชพื้นบ้านของไทย จำนวน 26 ชนิดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ซึ่งการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดใช้วิธีของ Folin–Ciocalteu ส่วนคักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (สารต้านอนุมูลอิสระ) จะวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH• พบว่า สารสกัดจากเม่า ลูกหว้า และมะขาม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

T.Kalaivani และ Lazar Mathew (2553) ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของการสกัดเพกาที่แตกต่างกันได้แก่ การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ β -carotene. ผงเปลือกลำต้น สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ในการเพิ่มสภาพขั้วโดยใช้เครื่อง Soxhlet การวิเคราะห์คุณภาพของสารประกอบทางเคมีในพืช เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลและคลอโรฟอร์มจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ การสกัดด้วยเอทานอลจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดในการวิเคราะห์ด้วยวิธี β -carotene การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในอนุมูลอิสระอาจเกิดจากสารประกอบทางเคมีในพืช ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สกัดโดยเอทานอลจะมีประสิทธิภาพสูงสุด สารที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มจะมีประสิทธิภาพในวิธี reducing potential

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์การวิจัย

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือ	รุ่น	บริษัท
เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer	Lampda 12	Perkin Elmer
เครื่องเขย่า (shaker)	UM-57070	UMAC SCIENTIFIC
เครื่องระเหยลดความดัน (rotary vacuum evaporator)	rotavapor R-124	sibata scientific technology
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	OHAUS PA4102	OSAUS CORPORATION, USA
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	OHAUS MODELPA214	PRECISA Co.,Ltd
ตู้อบความร้อน (hot air oven)	model UNE 500	ScilutionCo.,Ltd

3.2 วัสดุและอุปกรณ์

3.2.1 บีกเกอร์ขนาด 50, 150, 600 mL

3.2.2 ปิเปตขนาด 10 mL

3.2.3 ไมโครปิเปตขนาด 1000 μ L

3.2.4 หลอดหยด

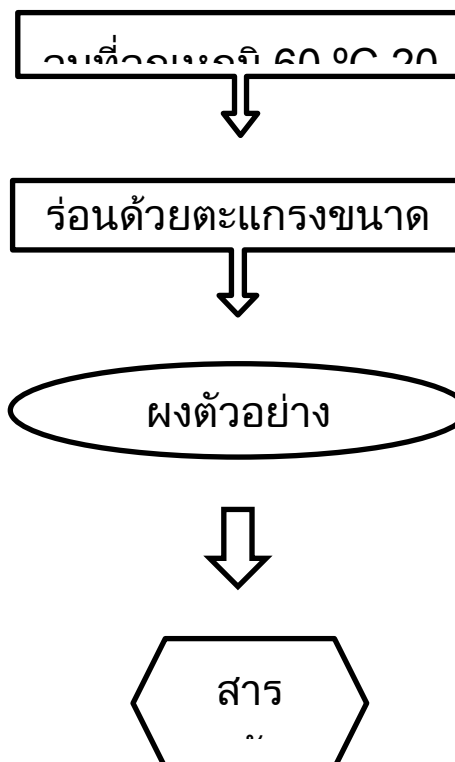
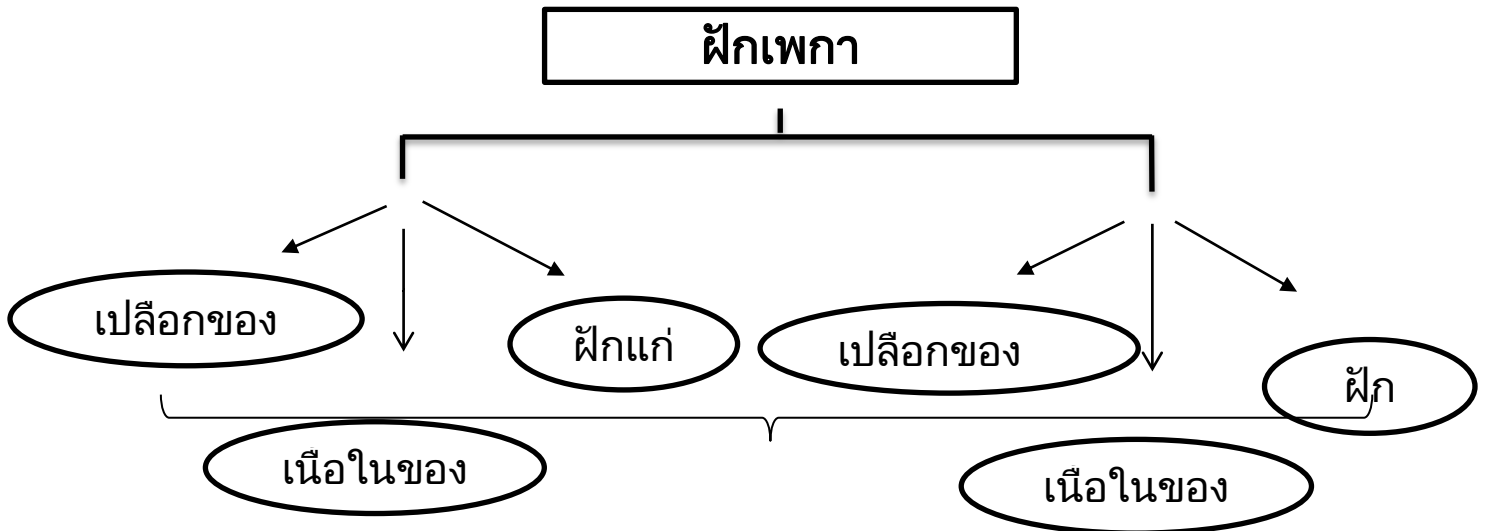
- 3.2.5 แท่งแก้ว
- 3.2.6 ซ้อนตัดสาร
- 3.2.7 ตะแกรงร่อนเบอร์ ขนาด 35 เมช
- 3.2.8 กระดาษชำระ
- 3.2.9 มีด เขียง
- 3.2.10 ขวดรูปชมพู่
- 3.2.11 ขวดปรับปริมาตร
- 3.2.12 กระบอกตวง
- 3.2.13 ขวดสีชา
- 3.2.14 แท่งแก้วคนสาร

3.3 สารเคมี

ตารางที่ 3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	มวลโมเลกุล	บริษัท
เอทานอล	46.07	Carlo erba
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	394.99	Fluka
กรดแอสคอร์บิก	176.14	Carlo erba
โทรลอคซ์	250	Carlo erba

3.4 แผนและทิศทางการดำเนินงาน





ทดสอบด้วยวิธี

3.5 วิธีดำเนินการวิจัย

3.5.1 วิธีการเก็บตัวอย่างผักเพกา

3.5.1.1 ตัวอย่างผักเพกา เก็บมาจากบ้านโชคสมบูรณ์ ตำบลโขง อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

3.5.1.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างผักเพกา

1. แบ่งตัวอย่างผักเพกาออกเป็น 6 ส่วนได้แก่ เปลือกของฝักแก่ เนื้อในของฝักแก่ ฝักแก่ เปลือกของฝักอ่อน เนื้อในของฝักอ่อน และฝักอ่อน
2. หลังจากแบ่งตัวอย่างเสร็จจากนั้น หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 20 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างผักเพกาแต่ละส่วนมาบดให้ละเอียด
3. นำตัวอย่างผักเพกาแต่ละส่วนมาร่อนด้วย ตะแกรงร่อนขนาด 35 เมช

4. เก็บตัวอย่างสำหรับการสกัดไว้ใน

โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.5.2 ขั้นตอนการสกัด

3.4.2.1 ชั่งตัวอย่างมา 2.5 g ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL แล้วเติม เอทานอล ปริมาตร 50 mL จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaker ที่ 150 rpm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 93 สกัดซ้ำอีก 2 รอบ นำสารละลายตัวอย่างระเหยด้วยเครื่องทำระเหย (Evaporator) นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนสารละลายตัวอย่างแห้ง

3.5.3 การเตรียมตัวอย่าง

3.4.3.1 ชั่งตัวอย่างมา 0.2 g ความเข้มข้น 2,000 mg/L ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 mL เพื่อเป็น Stock ที่จะใช้นำไปวิเคราะห์

3.6 การเตรียมสาร

3.6.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 100 mg/L ชั่งกรดแอสคอร์บิกมา 0.0100 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 mL

3.6.2 การเตรียมสารละลาย DPPH[•] ความเข้มข้น 0.1 mM ชั่ง DPPH[•] มา 0.0195 g ละลายในเอทานอล และปรับปริมาตรด้วยเอทานอล จนครบ 500 mL

3.6.3 การเตรียมสารละลายโทรลอกซ์ความเข้มข้น 100 mg/L ชั่งสารมาตรฐานโทรลอกซ์มา 0.0100 g ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลเป็น 100 mL

3.7 ขั้นตอนการทดลอง

3.7.1 วิธีการวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH· การหาสารต้านอนุมูลอิสระของสารละลายผักเพกาด้วยวิธี DPPH· และรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (half maximal inhibitory concentration : IC₅₀) เมื่อเทียบกับปริมาณสมมูลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก และสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยมีขั้นตอนดังนี้ (ดัดแปลงมาจาก วันแข็ง สิทธิกิจโยธิน (2014))

3.7.1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก และสารสกัดจากผักเพกามา 1.5 mL ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย DPPH· ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 1.5 mL ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่วัดได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% Inhibition) โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก คำนวณดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (\% Inhibition)} = \left[\frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \right] \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (เอทานอล + อนุมูลอิสระ DPPH \cdot)

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง (สารตัวอย่าง + อนุมูลอิสระ DPPH \cdot)

รายงานผลเป็นค่า IC₅₀ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

***หมายเหตุ** สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกมีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 mg/L

สารละลายตัวอย่างผักเพกามีความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 mg/L

3.7.1.2 บีบอัดสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ และสารสกัดจากผักเพกามา 1.5 mL ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย DPPH \cdot 0.1 mM 1.5 mL ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่วัดได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

(% Inhibition) โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ คำนวณดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (\% Inhibition)} = \left[\frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \right] \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (เอทานอล + อนุมูลอิสระ DPPH \cdot)

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง (สารตัวอย่าง + อนุมูลอิสระ DPPH \cdot)

รายงานผลเป็นค่า IC_{50} เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์

***หมายเหตุ** สารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 mg/L

สารละลายตัวอย่างฝักเพกามีความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 mg/L

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากฝักเพกา

จากการวิจัยนำฝักเพกาทั้ง 6 ส่วน ประกอบไปด้วย เปลือกของฝักแก่ เนื้อในของฝักแก่ ฝักแก่ เปลือกของฝักอ่อน เนื้อในของฝักอ่อน และฝักอ่อน มาส่วนละ 2.5 g ทำการสกัดด้วยเอทานอล 50 mL แล้วนำไประเหยแห้งสารสกัด ผลของการสกัดพบว่าส่วน

ของฝักเพกาที่ได้สารสกัดมากถึงน้อยสุดคือ เปลือกของฝักอ่อน ฝักอ่อน ฝักแก่ เนื้อในของฝักอ่อน เนื้อในของฝักแก่ เปลือกของ ฝักแก่ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1

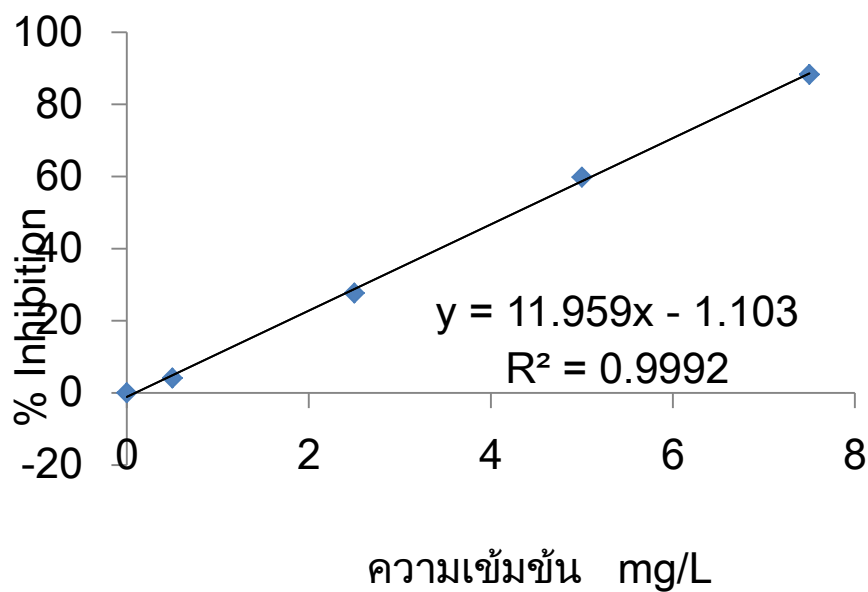
ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดฝักเพกา

ตัวอย่าง เพกา	น้ำหนักแห้ง (g \pm SD)	น้ำหนักสารสกัด (g \pm SD)	% Yield (g \pm SD)
เปลือกของฝักแก่	2.5xxx \pm 0.0010	0.2217 \pm 0.0145	8.8687 \pm 0.0490
เนื้อในของฝักแก่	2.5xxx \pm 0.0020	0.2833 \pm 0.0217	11.3326 \pm 0.1500
ฝักแก่	2.5xxx \pm 0.0001	0.5205 \pm 0.0438	20.8192 \pm 0.0580
เปลือกของฝักอ่อน	2.5xxx \pm 0.0004	0.8306 \pm 0.0685	32.3567 \pm 0.0036
เนื้อในของฝักอ่อน	2.5xxx \pm 0.0004	0.4708 \pm 0.0120	18.8300 \pm 0.0160
ฝักอ่อน	2.5xxx \pm 0.0002	0.7868 \pm 0.0929	31.4673 \pm 0.0020

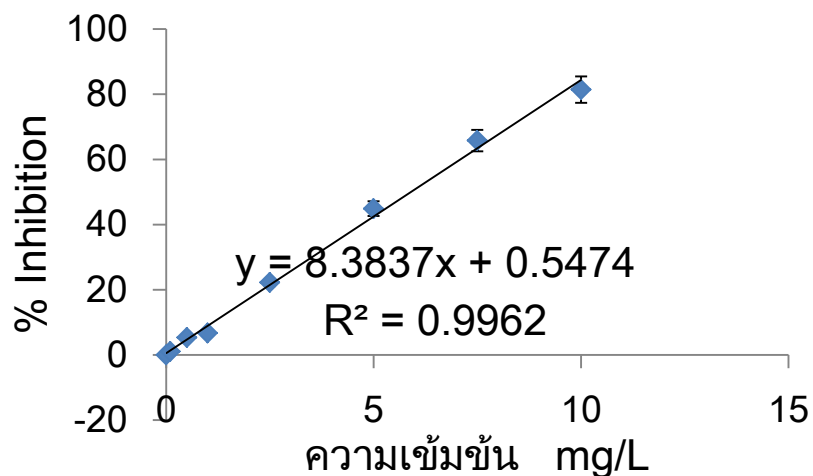
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH•

เมื่อวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกและสารละลายมาตรฐาน โทรลอกซ์ ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยวัดที่

ความเข้มข้นต่างกันจากนั้นนำไปหา % Inhibition แล้วนำค่าที่ได้มาทำกราฟเส้นตรงระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาค่า IC_{50} พบว่าสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.284 mg/L และสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.046 mg/L

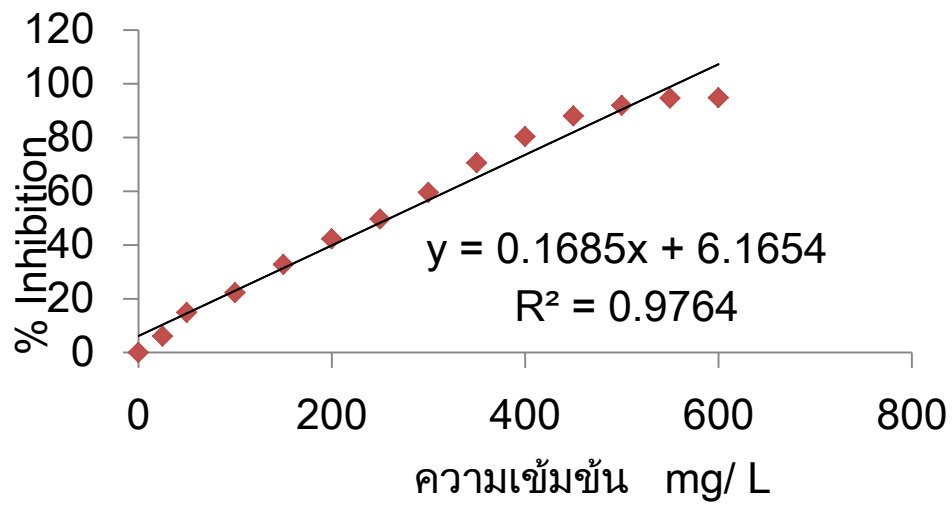


ภาพที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง



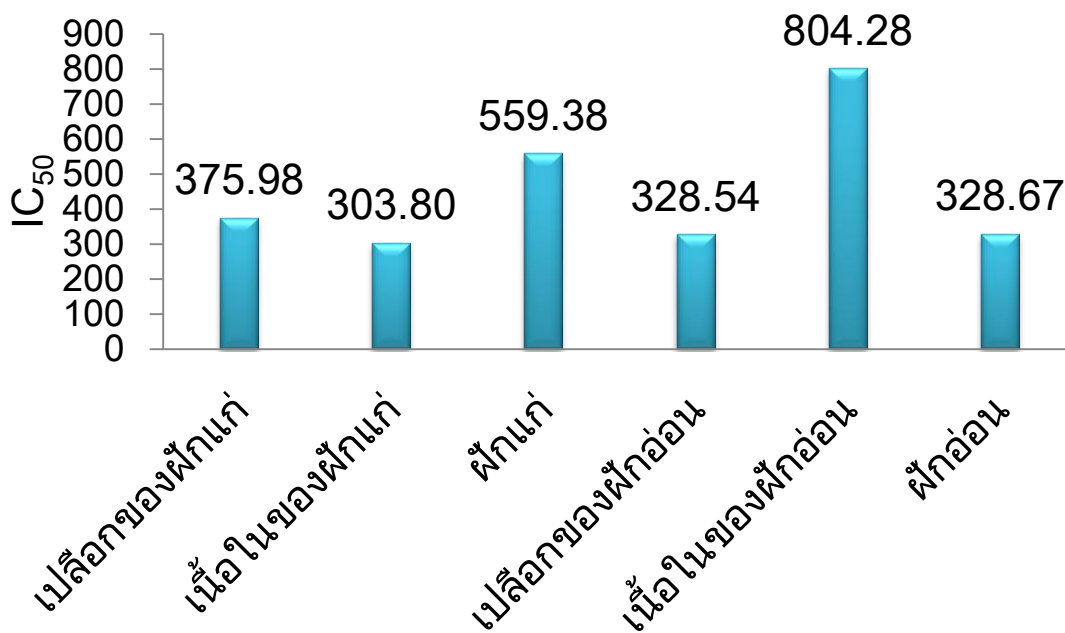
ภาพที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH· ของสารสกัดจากฝักเพกา พบว่าทุกส่วนที่สกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้นที่อยู่ในช่วง 0 ถึง 600 mg/L โดยพบว่าค่า IC₅₀ ของสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ เนื้อในของฝักแก่ 303.80 mg/L เปลือกของฝักอ่อน 328.54 mg/L ฝักอ่อน 328.67 mg/L เปลือกของฝักแก่ 375.98 mg/L ฝักแก่ 559.38 mg/L และเนื้อในของฝักอ่อน 804.28 mg/L ตามลำดับ

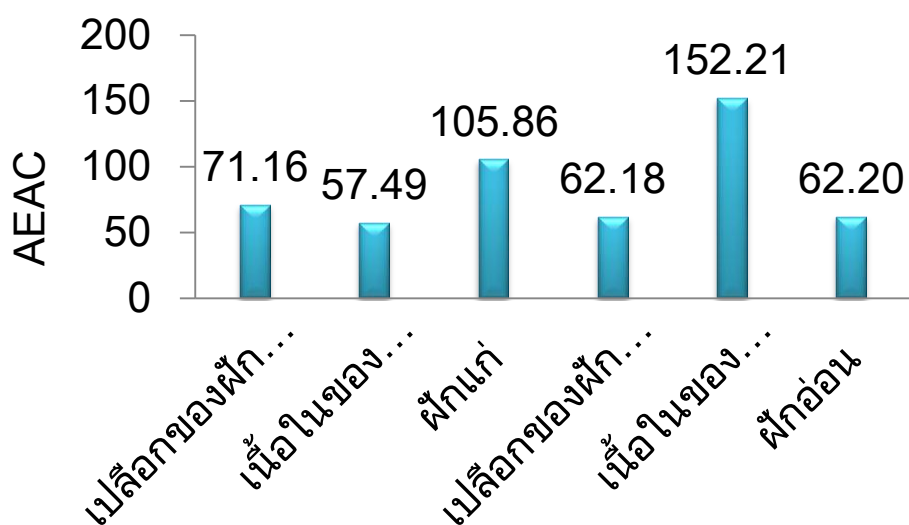


ภาพที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกาเนื้อในของฝักแก่ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง

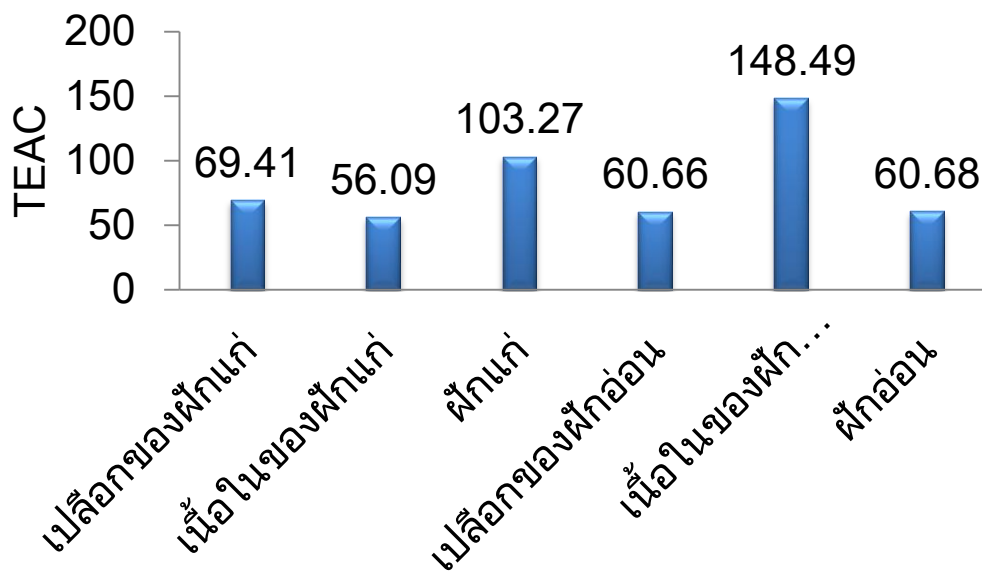
*หมายเหตุ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกาเปลือกของฝักอ่อน ฝักอ่อนเปลือกของฝักแก่ ฝักแก่ เนื้อในของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละของการยับยั้งแสดงในภาคผนวก



ภาพที่ 4.4 ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH



ภาพที่ 4.5 การเปรียบเทียบสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) กับ ค่า IC₅₀ ของสารสกัดตัวอย่างฝักเพกา ส่วนต่าง ๆ โดยวิธี AEAC (Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity)



ภาพที่ 4.6 การเปรียบเทียบสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) กับ ค่า IC_{50} ของสารสกัดตัวอย่างฝักเพกา ส่วนต่าง ๆ โดยวิธี TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการทดลองศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผักเพกา โดยการหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) ในสารสกัดเอทานอล จากผักเพกาโดยแบ่งออกเป็น 6 ส่วนคือ เปลือกของผักแก่ เนื้อในของผักแก่ ผักแก่ เปลือกของผักอ่อน เนื้อในของผักอ่อน และผักอ่อน พบว่า

5.1.1 IC₅₀ ในผักเพกา เนื้อในของผักแก่ โดยวิธี DPPH[•] มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 303.80 mg/L รองลงมาคือ เปลือกของผักอ่อน 328.54 mg/L ผักอ่อน 328.67 mg/L เปลือกของผักแก่ 375.98 mg/L ผักแก่ 559.38 mg/L และเนื้อในของผักอ่อน 804.27 mg/L ตามลำดับ

จากการทดลองการหาปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH[•] พบว่า ในผักเพกา เนื้อในของผักแก่ มีปริมาณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 303.80 mg/L

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในผักพื้นบ้านชนิดอื่น ๆ ที่สนใจเพื่อที่จะเปรียบเทียบหาปริมาณโพลีฟีนอล ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระว่ามีมากน้อยเพียงใด และควรศึกษาเพิ่มเติมว่าในผักพื้นบ้านที่ศึกษามีสารชนิดใดอยู่บ้าง เพื่อเป็นการต่อยอดงานวิจัยต่อไป

บรรณานุกรม

กฤตติญารัตน์ สมวงศ์. (2012). การศึกษาหาสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH· วิธี ABTS^{•+}

จากผัก พื้นบ้านภาคอีสานจำนวน 10 ชนิด. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กำพล ศรีวัฒนกุล และ เมธินี ศรีวัฒนกุล. (2543). **Catalase Enzyme เอนไซม์บำบัด**. สยาม สปอร์ต ซินดิเคท. กรุงเทพฯ. ฅนอมนวนล พรหมบุญ. (2556). สารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิดในจังหวัดเพชรบูรณ์. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

นันทชา ศรีพันลม. (2547). ศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากผักสดและผักลวกรวม 15 ชนิดในเขตเทศบาลเมืองนครปฐม. ค้นเมื่อ วันที่ 13 สิงหาคม 2558,

จาก <http://tstj.research.tu.ac.th/>.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. (2547). การสำรวจความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้.

รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พัชรวิทย์ ปั่นแห้งเพ็ชร. (2546). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชาเขียวใบหมอน. สืบค้นเมื่อวันที่ 13 สิงหาคม 2558, จาก <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/>.

รัชณี คงกาญจนาย. (2553). “ปริมาณธาตุเหล็ก สังกะสี ธาตุทองแดง วิตามินอี เบต้าแคโรทีนและลูทีน ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย” สำนักงานคณะกรรมการวิจัย

แห่งชาติ. 40 (10) : 10-13

ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และ ทรงพร จึงมั่นคง. (2549). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH• และ ปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิญญู เจริญศิริ. (2556). สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้. ค้นเมื่อ 8 สิงหาคม

2558, จาก <https://www.doctor.or.th/article/detail/1346>.

เพชรรุ่ง เทนทอง. (2556). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH• และหาสารประกอบ

ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิด. ค้นเมื่อ 11 สิงหาคม 2558,

จาก <http://www.tu.ac/0rg/research>.

รุ่งโรจน์ เหน้คำ. (2551). สมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สกัดจากผักกระถิน ผักแส้ว และผักคาวตอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วนิดา ชูหมื่นไวย. (2553). ศึกษาผลของการลวก นึ่งและย่างมะระขึ้นกสดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในมะระขึ้นกสด ด้วยวิธี DPPH•

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.

วันแข็ง สิทธิกิจโยธิน. (2014). การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
ด้วยวิธี DPPH

ของผักสะเดาลวก. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะ
วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

บรรณานุกรม (ต่อ)

วิภพ สุทชนะ. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์:กลไกการ
ออกฤทธิ์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคนิค
การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา.

หยาดฝน ทะนงการกิจ. (2554). การผลิตใยอาหารที่มีสารต้าน
อนุมูลอิสระสารกลุ่มกลูโคซิโนเลต และซัลโฟราเฟนจากกาก
ไบนอกของกะหล่ำปลี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อภิชาติ วรรณวิจิตร. (2544). ข้าวเพื่อสุขภาพชีวิต. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โอภา วัชรคุปต์. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระ. พี. เอส. พรินท์,
กรุงเทพฯ.

อุไรพรรณ เจนวาณิชยานนท์. (2553). เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์
ดิสมิวเทส, Superoxide dismutase (S.O.D.). ค้นเมื่อ 8
สิงหาคม 2558,

จาก <http://www.greenclinic.in.th/index.php>
 page=shop.product.

Deka, Vimal Kumar, Chandan Prasad. (2556). *Oroxylum indicum*– a medicinal plant of North East India: An overview of its nutritional, remedial, and prophylactic properties. **Food Chemistry** 90 : 140-145

Maisuthisakul P, Pongsawatmanit R, Suttajit M. (2007). “Assessment and correlation of free radical scavenging capacity and phenolic constituents from thai indigenous plant”. **Food Chemistry** 100 : 1409-1418.

Panichaupakaranant P, Keawsuwan S. (2004). “Bioassay-guided isolation of the antioxidant constituent from cassia alata L. leaves”. **Sci Technol** 26 : 103- 107

T. Kalaivani, Lazar Mathew. (2553). Phytochemistry and Free radical scavenging activities of *Oroxylum indicum*. **Environ. We Int. J. Sci. Tech.** 4 : 45-52

Yu, L. and Zhou, K. (2004). “Antioxidant properties of bran extracts from Platte wheagrow at different location”. **Food Chemistry** 90 : 311-316.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารสกัดตัวอย่างและการเตรียมสารเคมี

1. วิธีการเตรียมสารสกัดฝักเพกาความเข้มข้น 2,000 ppm ปริมาตร 100 mL

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร ppm} &= \\ \frac{\text{มวลของตัวทำละลาย}}{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมด}} \times 10^6 & \\ 2,000 &= \frac{\text{g}}{100} \times 10^6 \\ \text{g} &= 0.2 \text{ g} \end{aligned}$$

ดังนั้น ชั่งสารสกัดฝักเพกามา 0.2 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 mL

2. วิธีการคำนวณการเตรียมสารละลาย DPPH• 0.1 mM ปริมาตร 500 mL

$$n = 0.1 \text{ mM}, \text{ MW} = 394.4 \text{ g}$$

สาร 1 M มีเนื้อสาร DPPH•
394.4 g

สาร 1×10^{-4} M มีเนื้อสาร DPPH•

$$\frac{394.4 \text{ g} \times 1 \times 10^{-4}}{1}$$

$$= 0.039 \text{ g}$$

สารละลาย 1000 mL มีเนื้อสาร DPPH·
0.039 g

ถ้าสารละลาย 500 mL มีเนื้อสาร DPPH·

$$\frac{0.039 \text{ g} \times 500 \text{ mL}}{1,000 \text{ mL}}$$

= 0.0195 g

ดังนั้น ชั่งสาร DPPH· มา 0.0195 g ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล
ให้ครบ 500 mL

3. วิธีการคำนวณการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

ความเข้มข้น 100 mg/L

ปริมาตร 100 mL

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร ppm} &= \\ \frac{\text{มวลของตัวถูกละลาย}}{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมด}} \times 10^6 & \\ 100 &= \frac{\text{g}}{100} \times 10^6 \\ \text{g} &= 0.01 \text{ g} \end{aligned}$$

ดังนั้น ชั่งสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิกมา 0.01 g ปรับปริมาตร
ด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 mL

4. วิธีการคำนวณการเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 100 mL

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad \text{ppm} &= \\ \frac{\text{มวลของตัวถูกละลาย}}{\text{ปริมาตรของสารละลายทั้งหมด}} \times 10^6 & \\ 100 &= \frac{\text{g}}{100} \times 10^6 \\ \text{g} &= 0.01 \text{ g} \end{aligned}$$

ดังนั้น ชั่งสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์มา 0.01 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 mL

ภาคผนวก ข

ข้อมูลดิบ

1. ค่าการดูดกลืนแสงของการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี
DPPH[•]

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH[•] ของตัวอย่างฝัก
เพกาเปลือกของฝักแก่

Sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.4914	0.4929	0.4918	0.4920±.0008	0.0000±0.1
25	0.4664	0.4682	0.4644	0.4663±0.0019	5.0000±0.3
50	0.4597	0.4577	0.4541	0.4572±0.0028	7.0000±0.5
100	0.3763	0.3776	0.3767	0.3769±0.0007	23.0000±0.1
150	0.3970	0.3860	0.3841	0.3890±0.0070	21.0000±1.1
200	0.3297	0.3358	0.3336	0.3330±0.0031	32.0000±0.1
250	0.3013	0.3012	0.3001	0.3009±0.0007	39.0000±0.1
300	0.2616	0.2633	0.2596	0.2615±0.0019	47.0000±0.1
350	0.2311	0.2338	0.2266	0.2305±0.0036	53.0000±0.1
400	0.1964	0.1929	0.1930	0.1941±0.0020	61.0000±0.1
450	0.1715	0.1691	0.1636	0.1681±0.0041	66.0000±0.1
500	0.1507	0.1532	0.1525	0.1521±0.0013	69.0000±0.1
550	0.1214	0.1188	0.1193	0.1198±0.0014	76.0000±0.1

600	0.1075	0.1109	0.1087	0.1090±0.0017	78.0000±0.0
-----	--------	--------	--------	---------------	-------------

ตารางที่ ข-2 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH[•] ของตัวอย่างฝัก เพกาฝักแก่

Sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5072	0.5108	0.5167	0.5116±0.0048	0.0000±0.0
25	0.5007	0.4960	0.4955	0.4974±0.0029	3.0000±0.5

50	0.4738	0.4732	0.4907	0.4792±0.0099	6.0000±1.9
100	0.4407	0.4467	0.4511	0.4462±0.0052	13.0000±1.9
150	0.4034	0.4164	0.4227	0.4142±0.0098	19.0000±1.9
200	0.3691	0.3743	0.3756	0.3730±0.0034	27.0000±0.9
250	0.3306	0.3408	0.3439	0.3384±0.0070	34.0000±1.9
300	0.3233	0.3266	0.3140	0.3213±0.0065	37.0000±1.9
350	0.3007	0.3028	0.2974	0.3003±0.0027	41.0000±0.9
400	0.2724	0.2986	0.2980	0.2897±0.0150	43.0000±2.9
450	0.2806	0.2851	0.2816	0.2824±0.0024	45.0000±0.9
500	0.2622	0.2605	0.2576	0.2601±0.0023	49.0000±0.9
550	0.2326	0.2287	0.2298	0.2304±0.0020	55.0000±0.9
600	0.2185	0.2167	0.2253	0.2202±0.0045	57.0000±0.9

ตารางที่ ข-3 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH[•] ของตัวอย่างผักเพกาเนื้อในของฝักแก่

sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5239	0.5179	0.5236	0.5218±0.0034	0.0000±0.0
25	0.4901	0.4933	0.4874	0.4903±0.0030	6.0000±0.9
50	0.4404	0.4451	0.4467	0.4441±0.0033	15.0000±0.9
100	0.4053	0.4109	0.4011	0.4058±0.0049	22.0000±0.9
150	0.3521	0.3498	0.3513	0.3511±0.0012	33.0000±0.9
200	0.3003	0.3015	0.3022	0.3013±0.0010	42.0000±0.9

250	0.2648	0.2621	0.2613	0.2627±0.0018	50.0000±0
300	0.2112	0.2096	0.2123	0.2110±0.0014	60.0000±0
350	0.1523	0.1549	0.1539	0.1537±0.0013	71.0000±0
400	0.1012	0.1046	0.1022	0.1027±0.0017	80.0000±0
450	0.0615	0.0643	0.0616	0.0625±0.0016	88.0000±0
500	0.0411	0.0421	0.0426	0.0419±0.0008	92.0000±9
550	0.0306	0.0319	0.0217	0.0281±0.0056	95.0000±1
600	0.0218	0.0301	0.0290	0.0270±0.0045	95.0000±0

ตารางที่ ข-4 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH[•] ของตัวอย่างผักเพกาเปลือกของฝักอ่อน

sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5181	0.5200	0.5241	0.5207±0.0031	0.0000±0.
25	0.4964	0.4945	0.4969	0.4959±0.0013	5.0000±0.
50	0.4694	0.4545	0.4691	0.4643±0.0085	11.0000±1
100	0.4050	0.4076	0.4134	0.4087±0.0043	22.0000±0
150	0.3720	0.3442	0.3548	0.3570±0.0140	31.0000±2
200	0.3519	0.3461	0.3185	0.3388±0.0178	35.0000±3
250	0.3288	0.2696	0.2626	0.2870±0.0364	45.0000±6
300	0.2245	0.2278	0.2207	0.2243±0.0036	57.0000±0
350	0.1951	0.1887	0.1845	0.1894±0.0053	64.0000±1
400	0.1497	0.1413	0.1289	0.1400±0.0105	73.0000±2

450	0.1108	0.1158	0.1164	0.1143±0.0031	78.0000±0
500	0.0939	0.0929	0.0832	0.0900±0.0059	83.0000±1
550	0.0668	0.0645	0.0635	0.0649±0.0017	88.0000±0
600	0.0483	0.0481	0.0508	0.0491±0.0015	91.0000±0

ตารางที่ ข-5 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างผัก
เพกาเนื้อในของฝักอ่อน

sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5214	0.5154	0.5184	0.5184±0.0030	0.0000±0.
25	0.5058	0.5090	0.4993	0.5047±0.0049	3.0000±0.
50	0.4910	0.4996	0.4994	0.4967±0.0049	4.0000±0.
100	0.4774	0.4796	0.4870	0.4813±0.0050	7.0000±0.
150	0.4688	0.4719	0.4681	0.4696±0.0020	9.0000±0.
200	0.4506	0.4514	0.4471	0.4497±0.0023	13.0000±0
250	0.4261	0.4276	0.4259	0.4265±0.0009	18.0000±0
300	0.4075	0.4069	0.4113	0.4086±0.0024	21.0000±0
350	0.3972	0.3918	0.3950	0.3947±0.0027	24.0000±0
400	0.3876	0.3814	0.3760	0.3817±0.0058	26.0000±1
450	0.3505	0.3571	0.3696	0.3591±0.0097	31.0000±1
500	0.3174	0.348	0.3443	0.3366±0.0167	35.0000±3
550	0.3318	0.3230	0.3342	0.3297±0.0059	36.0000±1
600	0.3177	0.3143	0.3050	0.3123±0.0066	40.0000±1

ตารางที่ ข-6 ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี DPPH[•] ของตัวอย่างผัก
เพกาฝักอ่อน

sample concentration (mg/L)	Absorbance				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5504	0.5434	0.5389	0.5442±0.0058	0.0000±1
25	0.5149	0.5115	0.5216	0.5160±0.0051	5.0000±0
50	0.4842	0.4941	0.5068	0.4950±0.0113	9.0000±2
100	0.3065	0.4500	0.4432	0.3999±0.0810	27.0000±1
150	0.3937	0.4039	0.3985	0.3987±0.0051	27.0000±0
200	0.3579	0.3442	0.3512	0.3511±0.0069	35.0000±1
250	0.2981	0.2986	0.2980	0.2982±0.0003	45.0000±0
300	0.2651	0.2619	0.2592	0.2621±0.0030	52.0000±0
350	0.2214	0.2199	0.2192	0.2202±0.0011	60.0000±0
400	0.1771	0.1682	0.1737	0.1730±0.0045	68.0000±0
450	0.1491	0.1471	0.1453	0.1472±0.0019	73.0000±0
500	0.0980	0.1086	0.1129	0.1065±0.0077	80.0000±1
550	0.0741	0.0183	0.0853	0.0592±0.0359	89.0000±6
600	0.0539	0.0669	0.0562	0.0590±0.0069	89.0000±1

ตารางที่ ข-7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
แอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH[•]

Ascorbic acid	Absorbance
---------------	------------

concentration (mg/L)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	% Inhibition
0	0.5354	0.5261	0.5474	0.5363±0.0107	0.0001
0.1	0.5366	0.5341	0.5361	0.5356±0.0013	0.0001
0.5	0.5010	0.5179	0.5241	0.5143±0.0120	4.0000
1	0.5042	0.5022	0.5046	0.5037±0.0013	6.0000
2.5	0.3893	0.3851	0.3891	0.3878±0.0024	28.0000
5	0.2118	0.2303	0.2049	0.2157±0.0131	60.0000
7.5	0.0514	0.0557	0.0815	0.0629±0.0163	88.0000
10	0.0519	0.0544	0.0525	0.0529±0.0013	90.0000

ตารางที่ ข-8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานโทร
ลอกซ์ ด้วยวิธี DPPH

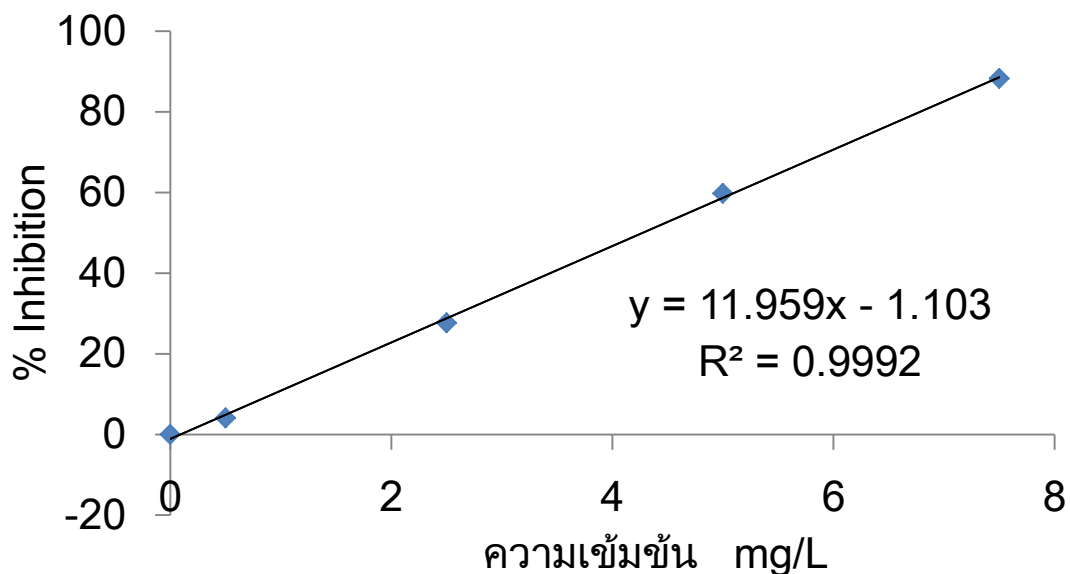
Trolox concentration (mg/L)	Absorbance				% Inhibition
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	
0	0.4755	0.4768	0.4785	0.4769±0.002	0.0070

0.1	0.4910	0.4596	0.4652	0.4719±0.017	1.0414
0.5	0.4541	0.4507	0.4498	0.4515±0.002	5.3191
1.0	0.4325	0.4479	0.4544	0.4449±0.011	6.7030
2.5	0.3589	0.3704	0.3673	0.3655±0.006	22.2339
5.0	0.2222	0.2789	0.3833	0.2948±0.082	44.8941
7.5	0.1580	0.1657	0.1658	0.1632±0.004	65.7860
10.0	0.1042	0.0759	0.0858	0.0886±0.014	81.4147

ภาคผนวก ค

การคำนวณผลการวิจัย

1. ตัวอย่างการคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH• (IC₅₀)



ภาพที่ ค-1 กราฟสมการในการคำนวณหาร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

แทนค่า $y = 50$

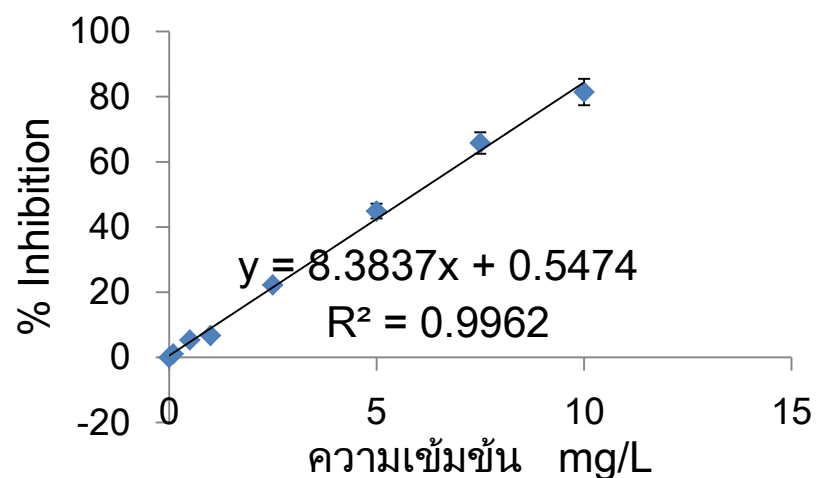
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad y &= 11.959x - 1.103 \\ 50 &= 11.959x - 1.103 \\ x &= \frac{50 + 1.103}{11.959} \\ x &= 5.284 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

ดังนั้น ค่าร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่าเท่ากับ 5.284 mg/L

* สูตรการหาค่า % Inhibition

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Average}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

2. ตัวอย่างการคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ ในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH \cdot (IC₅₀)



ภาพที่ ค-2 กราฟสมการในการคำนวณหาร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานโทรลอกซ์

แทนค่า $y = 50$

จากสมการ $y = 8.3837x + 0.5474$

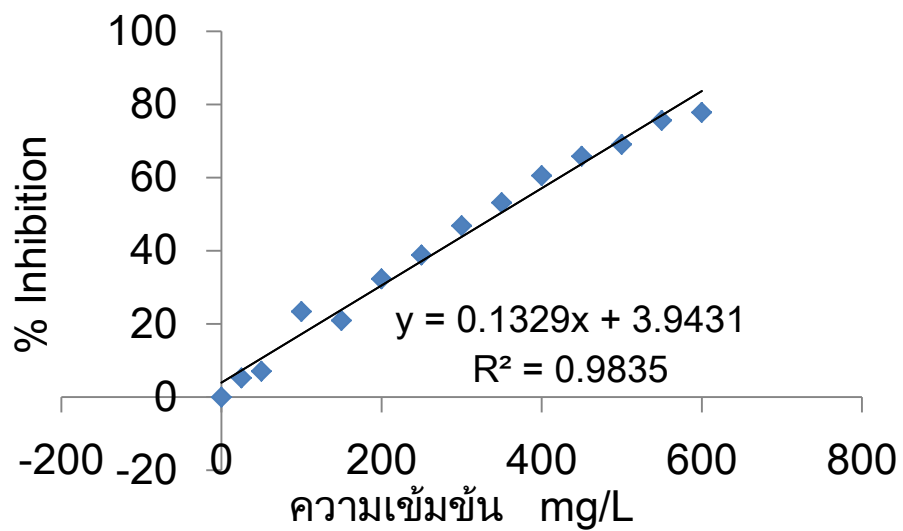
$50 = 8.3837x + 0.5474$

$$x = \frac{50 - 0.5474}{8.3837}$$

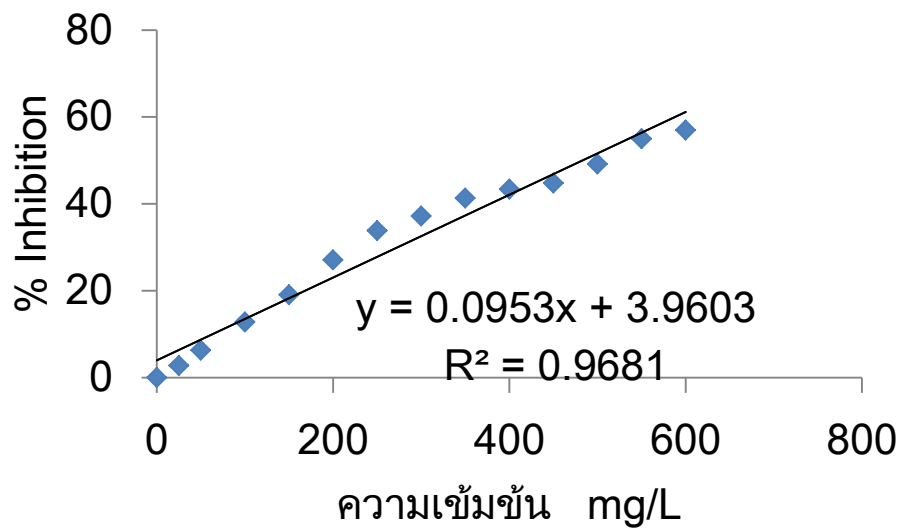
$$x = 5.046 \text{ mg/L}$$

ดังนั้น ค่าร้อยละการยับยั้งของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ มีค่าเท่ากับ 5.046 mg/L

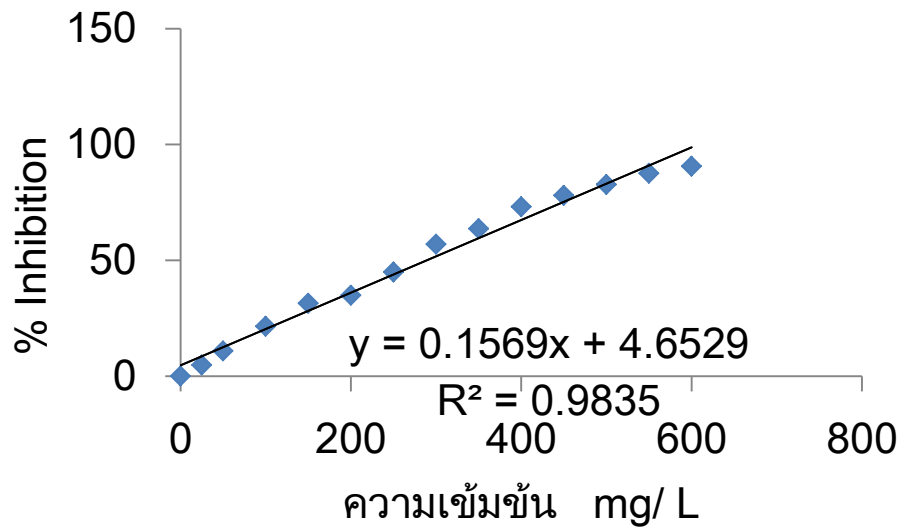
กราฟแสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH·



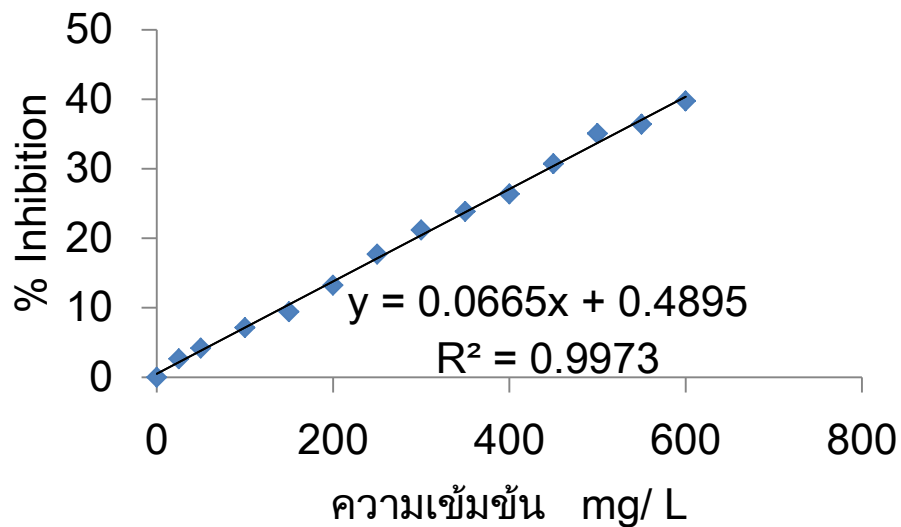
ภาพที่ ค-7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกา เปลือกของฝักแก่ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง



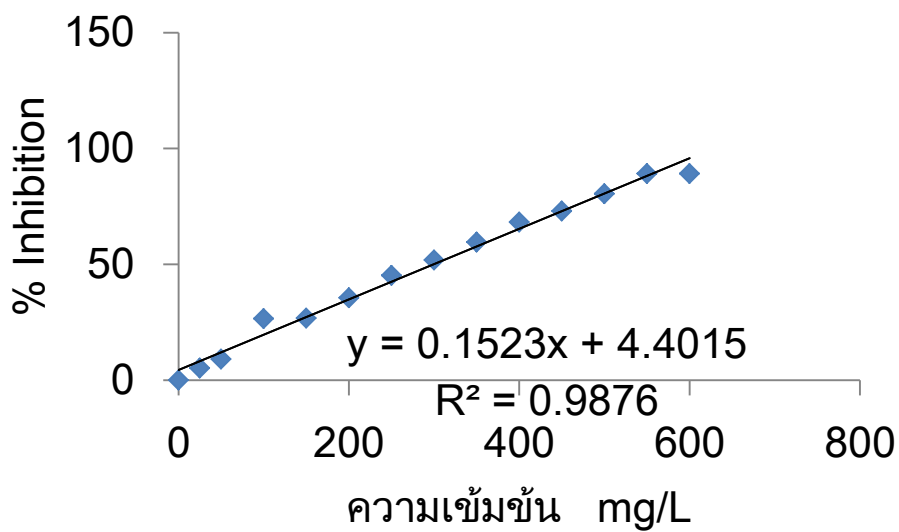
ภาพที่ ค-8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกาฝักแก่ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง



ภาพที่ ค-9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกา เปลือกของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง



ภาพที่ ค-10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกาเนื้อ
ในของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ
กับร้อยละการยับยั้ง



ภาพที่ ค-11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากฝักเพกาฝักอ่อน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับร้อยละการยับยั้ง

ภาคผนวก ง
ภาพประกอบงานวิจัย



ภาพที่ ง-1 ตัวอย่างฝักเพกา
กรีดแยกชิ้นส่วนฝักเพกา



ภาพที่ ง-2 ใช้มีด



ภาพที่ ง-3 แกะแยกส่วนฝักเพกา
แยกแต่ละส่วนเพื่อนำไปอบ

อุณหภูมิ 60 °C



ภาพที่ ง-4

ที่



ภาพที่ ง-5 บดตัวอย่างให้ละเอียด
ตัวอย่างฝักเพกาที่ผ่านการร่อน

ภาพที่ ง-6



ภาพที่ ง-7 ชั่งตัวอย่าง 2.5 g
ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL

ภาพที่ ง-8



ภาพที่ ง-9 เติมเอทานอล 50 mL
เขย่าด้วยเครื่อง Shaker

ภาพที่ ง-10



ภาพที่ ง-11 กระดาษกรอง
กรองสารละลายตัวอย่าง



ภาพที่ ง-13 กระดาษกรองที่ใช้แล้ว
สารละลายตัวอย่าง
ของฝักแก

ภาพที่ ง-12

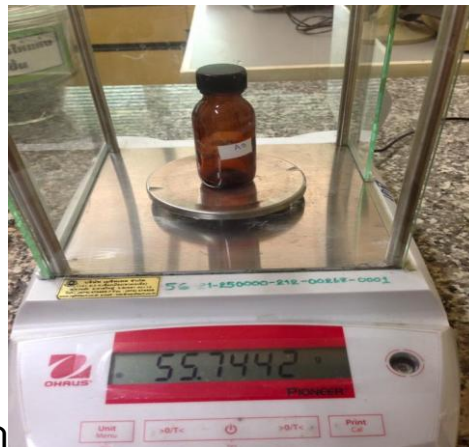
ภาพที่ ง-14

เปลือก



ภาพที่ ง-15 สารละลายตัวอย่างที่สกัด 3 ชั่วโมง

ภาพที่ ง-



16 นำไประเหยแยกสารสกัด



ภาพที่ ง-17 ชั่งขวดใส่สารสกัดตัวอย่าง
เครื่องระเหยลดความดัน

ภาพที่ ง-18



ภาพที่ ง-19 ทำการระเหยแยกสารสกัดตัวอย่าง

ภาพที่ ง-

20 สารสกัดตัวอย่างที่ได้



ภาพที่ ง-21 อบที่อุณหภูมิ 60 °C
เตรียมอุปกรณ์



ภาพที่ ง-22



ภาพที่ ง-23 กระบอกลวดขนาด 50
mL

ภาพที่ ง-24 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer



ภาพที่ ง-25 เตรียมสารสกัดตัวอย่าง
การทดลองด้วยวิธี DPPH



ภาพที่ ง-26



ภาพที่ ง-27 หลอดทดลอง

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ นายวัฒนา ชวนชัยลิก

เกิดวันที่ 7 มกราคม พ.ศ. 2536

ที่อยู่ 28/7 บ้านสงเปลือย ตำบลธัญญา อำเภอกมลาไสย จังหวัดกาฬสินธุ์

ประวัติการศึกษา

ระดับประถมศึกษา โรงเรียนสงยางสงเปลือยวิทยาคม อำเภอกมลาไสย จังหวัดกาฬสินธุ์

ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนกมลาไสย อำเภอกมลาไสย จังหวัดกาฬสินธุ์

ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนกมลาไสย อำเภอกมลาไสย จังหวัดกาฬสินธุ์

ชื่อ นายสถาพร ทิมา

เกิดวันที่ 2 กันยายน พ.ศ. 2536

ที่อยู่ 76 หมู่ 11 บ้านโชคสมบูรณ์ ตำบลโขง อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

ประวัติการศึกษา

ระดับประถมศึกษา โรงเรียนบ้านตาโม ตำบลโขง อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนน้ำยืนวิทยา อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนน้ำยืนวิทยา อำเภอน้ำ
ยืน จังหวัดอุบลราชธานี