



ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการประยุกต์ใช้ใน  
เครื่องสำอางของเปลือกลำต้นของต้น *Garcinia pedunculata*

โดย  
เบญจมาศ ไชยลาภ

สนับสนุนงบประมาณโดย  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์  
ประจำปีงบประมาณ 2562

Antioxidant activities and cosmetic application of  
stem barks of *Garcinia pedunculata*

By  
Benjamat Chailap

Granted By

Rajamangala University of Technology Rattanakosin

Fiscal year 2019

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง “ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางของเปลือกลำต้นของต้น *Garcinia pedunculata*” สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยปัจจัยหลายประการ ขอขอบคุณความช่วยเหลือของ ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธเนศวร นวลใย สำหรับความทุ่มเท และคำปรึกษาในการทำวิจัย ขอขอบคุณบุคลากรและครอบครัวที่เป็นกำลังใจในการทำงาน และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีที่ให้ความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2562

เบญจมาศ ไชยลาภ และคณะ

กันยายน 2562



## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : C-1/2562

ชื่อโครงการ : ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางของเปลือก  
ลำต้นของต้น *Garcinia pedunculata*

ชื่อนักวิจัย : ดร.เบญจมาศ ไชยลาภ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธเนศวร นวลใย

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นส้มควาย (*Garcinia pedunculata*) โดยใช้การสกัดแบบหมักด้วยตัวทำละลายเมทานอล และสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต นำสารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตตแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายอะซิโตนและเฮกเซนได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 6 ส่วนสกัดย่อย (FR1-FR6) ส่วนสกัดย่อยที่ 1 (FR1) ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายเพื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ นำส่วนสกัดย่อยที่ 2 – 6 (FR2-FR6) ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH พบว่าส่วนสกัดย่อยที่ 2 ไม่แสดงการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH และส่วนสกัดย่อยที่ 3 – 6 มีค่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ที่ร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) อยู่ในช่วง 327.59 – 10.59  $\mu\text{g/mL}$  โดยส่วนสกัดย่อยที่ 6 (FR6) แสดงค่าแสดงค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.59 \pm 0.40$  เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $5.08 \pm 0.68$  และจากผลการยับยั้งค่าการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH แสดงให้เห็นว่าความมีขี้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส้มควายมีการอิทธิพลต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH นอกจากนี้ผลการทดลองการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดนี้ให้ผลสอดคล้องกับวิธีการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จากผลการทดลองข้างต้นสารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส้มควายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ น่าจะสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและสปาได้

คำสำคัญ : *Garcinia pedunculata*, ต้านอนุมูลอิสระ, เครื่องสำอาง

---

Email Address : b\_amat@hotmail.com

ระยะเวลาการดำเนินงาน : 1 ตุลาคม 2561 ถึง 30 กันยายน 2562



## Abstract

**Code of project** : C-1/2562  
**Project name** : Antioxidant activities and cosmetic application of stem barks of *Garcinia pedunculata*  
**Researcher name** : Benjamat Chailap (Ph.D.) and Assist.Prof.Thanesuan Nuanyai (Ph.D.)

In this research, the antioxidant efficacy of the crude extract from stem bark of *Garcinia pedunculata* were investigated. The crude extract was derived from methanol solvent extraction and extracted with ethyl acetate solvent. Then, the crude extract of ethyl acetate was separated by column chromatography technique using acetone and hexane solvent system to obtain 6 sub-fraction parts (FR1-FR6). The antioxidant activity of sub-fraction 1 (FR1) did not be showed because of its limiting solubility in antioxidant testing solvent. The sub-fractions 2 - 6 (FR2-FR6) were tested for antioxidant activity by DPPH technique. It was found that, the sub-fraction 2 did not show the antioxidant activity. The sub-fractions 3 - 6 exhibited the efficiency of 50 percent DPPH free radical inhibition ( $IC_{50}$ ) in the concentration ranges of 327.59 - 10.59 ug / mL. The sub-extraction part 6 (FR6) displayed the most effective DPPH inhibition with the value of  $IC_{50}$  equal to  $10.59 \pm 0.40$  which was compared with the standard Trolox with  $IC_{50}$  equal to  $5.08 \pm 0.68$ . This indicated that the polarity of the crude extracts in each sub-fractions influenced on DPPH free radical inhibition. Moreover, the antioxidant activity results of these sub-fractions using ABTS technique were consistent with the results from DPPH technique. These promising results should be able to apply for the development of cosmetics and spa.

**Keywords:** *Garcinia pedunculata*, Antioxidant activities, Extract, Cosmetic

---

**Email Address** : b\_amat@hotmail.com

**Period of project** : 1 October 2018 – 30 September 2019

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 นิยามศัพท์	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	21
3.2 เครื่องมือและสารเคมี	21
3.3 วิธีการทดลอง	22
<b>บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล</b>	
4.1 การแยกสารบริสุทธิ์จากเปลือกต้นส้มแขก ( <i>G. atroviridis</i> )	24
4.2 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	24
4.3 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS	37
<b>บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ</b>	49
บรรณานุกรม	51
ประวัติผู้วิจัย	53

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์อนุมูลอิสระ	15
2	แสดงน้ำหนักและ %yield ของส่วนสกัดย่อยของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท	24
3	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR2 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	25
4	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR3 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	27
5	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR4 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	29
6	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR5 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	31
7	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR6 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	33
8	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง Trolox ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH	35
9	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR2 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	37
10	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR3 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	39
11	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR4 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	41
12	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR5 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	43
13	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR6 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	45
14	แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง Trolox ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS	47
15	แสดงค่า IC <sub>50</sub> ของส่วนสกัดย่อยในการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH	49
16	แสดงค่า IC <sub>50</sub> ของส่วนสกัดย่อยในการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS <sup>•+</sup>	50

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	13
2	แสดงปฏิกิริยาของ FRAP assay	14
3	ส้มแขกที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า <i>Garcinia atroviridis</i>	16
4	ส้มแขกที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า <i>Garcinia pedunculata</i>	17
5	แสดงโครงสร้างของสารที่แยกได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดผลของ <i>G. pedunculata</i>	18
6	แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร Pedunxanthones D-F	18
7-9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	25
10-12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	27
13-15	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	29
16-18	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	31
19-21	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	33
22-24	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	35
25-27	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	37
28-30	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	39
31-33	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	41
34-36	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	43
37-39	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)	45



รูปที่

40-42

กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 1) - (ครั้งที่ 3)

หน้า

47



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากธรรมชาติได้รับความนิยมมาก เนื่องจากผู้บริโภคให้ความสำคัญกับความปลอดภัย นอกจากนี้ สารจากธรรมชาติหลายชนิด สามารถออกฤทธิ์ช่วยให้ผิวพรรณดีขึ้น เช่น ลดริ้วรอย เต็มน้ำในผิว ลดรอยต่างด้า ช่วยให้ผิวขาวขึ้น ตลอดจนการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ผิวพรรณแก่ก่อนวัย [1] ตัวอย่างของพืชที่นิยมนำสารสกัดมาใช้ในเครื่องสำอางได้แก่ สารสกัดจากต้นว่านหางจระเข้ หรือสารสกัดจากมะหาด เป็นต้น [1, 2] อย่างไรก็ตามการใช้สารจากธรรมชาติหรือสมุนไพรในเครื่องสำอางยังมีข้อจำกัดอยู่ เช่น ความไม่คงตัวของสารจากธรรมชาติ การสกัดสารสำคัญที่บริสุทธิ์ได้มาก่อนข้างยาก ต้องใช้วัตถุดิบปริมาณมาก ตลอดจนอาจเกิดปฏิกิริยากันระหว่างสารจากธรรมชาติและวัตถุดิบหลักในการผลิตเครื่องสำอางจนทำให้เกิดสีหรือกลิ่นที่อาจไม่พึงประสงค์และทำให้อายุการใช้งานของเครื่องสำอางลดลงไปด้วย เป็นต้น [1, 2] ด้วยเหตุนี้การนำสารหรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้ในเครื่องสำอางยังต้องมีการพัฒนาต่อไปอีกมาก

กลไกการออกฤทธิ์ของเครื่องสำอางประการหนึ่งคือการต้านสารอนุมูลอิสระ [2] อนุมูลอิสระ (free radical) คือโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก จัดเป็นสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยแหล่งกำเนิดของสารอนุมูลอิสระนี้อาจเกิดขึ้นเองจากกระบวนการเมตาบอลิซึมตามปกติ หรือเกิดจากการรับสารเคมีจากภายนอก เช่น มลพิษต่างๆ โดยปกติแล้วร่างกายจะมีระบบต้านออกซิเดชันทำหน้าที่ควบคุมให้ระดับของอนุมูลอิสระอยู่ในระดับที่พอเหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์หรือโปรตีน อย่างไรก็ตามหากมนุษย์ดำเนินชีวิตเกี่ยวข้องกับกิจกรรมที่เอื้ออำนวยให้ได้รับสารอนุมูลอิสระเข้าสู่ร่างกายมากเกินไประดับที่ระบบต้านออกซิเดชันจะควบคุมได้ก็อาจมีผลให้ชีวโมเลกุลในเซลล์ถูกออกซิไดซ์จนสูญเสียการทำงาน และเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถหวนคืนได้ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านออกซิเดชันอย่างมากมาย โดยสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติซึ่งพบได้ทั้งในพืชต่างๆ ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก [3-6]

*Garcinia pedunculata* (*G. pedunculata*) เป็นล้มลุกสายพันธุ์หนึ่งที่พบในภาคใต้ตอนกลางของไทยในเขตจังหวัดกระบี่ สตูล ภูเก็ต สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช ชาวพื้นเมืองเรียกล้มลุกชนิดนี้ว่า “ล้มควาย” มีลักษณะมีลักษณะต้นเหมือนมังคุดลำต้นแตกกิ่งถี่ๆ ขนานกับพื้นดิน ต้นเป็นพุ่ม ใบเป็นรูปหอกกลับ ดอกเพศผู้มีสีเขียวอ่อนอยู่เป็นกระจุก ส่วนดอกเพศเมียจะออกเป็นดอกเดี่ยว ผลกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8-12 เซนติเมตร มีลักษณะคล้ายกับล้มลุกสายพันธุ์

*Garcinia atroviridis* ที่เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศมาเลเซียและภาคใต้ตอนล่างของไทยในเขตจังหวัดปัตตานี ยะลา แต่ผลมีขนาดใหญ่กว่าและมีร่องที่ตื้นกว่า [7-9] งานวิจัยในต่างประเทศได้รายงานถึงสารอาหารใน *G. pedunculata* ว่าอุดมไปด้วย เบต้าแคโรทีน วิตามินซี และแร่ธาตุอื่นๆ มากมาย [10] ฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ เช่น เปลือกต้น เปลือกผลของ *G. pedunculata* เช่น การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) การยับยั้งการเจริญเติบโตของอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ฤทธิ์ในการต้านการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (antimutagenic) ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxicity) เป็นต้น [11-21] จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า *G. pedunculata* เป็นพืชที่มีประโยชน์ทั้งทางโภชนาการและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่เด่นชัดมาก อีกทั้งคุณสมบัติเหล่านี้ยังมีความคงตัวเมื่อเก็บไว้ในสภาวะที่เหมาะสมอีกด้วย ทางคณะผู้วิจัยจึงเห็นความเป็นไปได้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจาก *G. pedunculata* ซึ่งเก็บตัวอย่างจาก อ.กระทุ้ง จ.ภูเก็ต ประเทศไทย การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจาก *G. pedunculata* ตลอดจนถึงการพัฒนานำสารสกัดจาก *G. pedunculata* มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนั้นมีประโยชน์ในทางเพิ่มมูลค่าให้กับพืชท้องถิ่นที่มีราคาถูกเป็นที่รู้จักมานาน และหาได้ง่าย โดยอาจใช้ชื่อ “ส้มใหญ่อันดามัน” แทน “ส้มควาย” เพื่อเป็นเอกลักษณ์ให้กับพืชพื้นเมืองแถบทะเลอันดามัน และเป็นจุดขายให้กับผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากเปลือกลำต้นของ *G. pedunculata*

1.2.2 เพื่อศึกษาการนำสารสกัดหยาบหรือสารบริสุทธิ์จากเปลือกลำต้นของ *G. pedunculata* ประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 สกัดและแยกสารบริสุทธิ์จาก *G. pedunculata* พร้อมทั้งพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากเปลือกลำต้นของ *G. pedunculata*

1.3.3 นำสารสกัดหยาบหรือสารบริสุทธิ์จาก *G. Pedunculata* ประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง



## 1.4 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

1.4.1 สารสกัดหยาบ (Crude) หมายถึง สารที่ได้จากการนำตัวอย่างพืชไปแช่ในตัวทำละลาย และกรองนำส่วนที่เป็นของเหลวออกมาระเหยแห้ง

1.4.2 สารบริสุทธิ์ (Pure substance) หมายถึง สารเนื้อเดียวที่ประกอบไปด้วยสารเพียงชนิดเดียวไม่มีสารอื่นเจือปน

1.4.3 การสกัด (Extraction) หมายถึง กระบวนการแยก (separation) โดยใช้ของเหลวอีกชนิดหนึ่งเป็นตัวทำละลาย สารที่ต้องการแยกโดยให้ละลายออกมาในตัวทำละลาย

1.4.4 พิสูจน์ทราบโครงสร้าง (Structure identification) หมายถึง การนำข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารเคมี มาประมวลผลและสามารถเขียนโครงสร้างทางเคมีของสารได้

1.4.5 สเปกโทรสโกปี (Spectroscopy) หมายถึง ผลจากอันตรกิริยาของแสงกับสาร สามารถให้ข้อมูลในรูปของสเปกตรัมที่สามารถนำไปใช้ในการระบุโครงสร้างของโมเลกุลได้โดยการวัดความถี่ของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ถูกสารดูดกลืน เปล่งออกมา หรือกระเจิงออกมาเทียบเคียงรูปแบบของพลังงานจากการดูดกลืนหรือการเปล่งออกมากับรายละเอียดโครงสร้างของโมเลกุล

1.4.6 การแยกสาร (Separation) กระบวนการทำสารผสมให้บริสุทธิ์ โดยอาศัยความแตกต่างของสมบัติทั้งทางกายภาพและเคมีมาใช้เป็นเกณฑ์ในการแยกสารผสม เช่น การกรอง การกลั่น การระเหย การตกตะกอน การตกผลึก การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นต้น

1.4.7 โครมาโทกราฟี (Chromatography) หมายถึง เทคนิคการแยกสารผสมโดยอาศัยหลักการละลายของสารในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ โดยสารที่ต้องการนำมาแยกโดยวิธีนี้จะมีสมบัติการละลายในตัวทำละลายได้ไม่เท่ากัน และตัวถูกดูดซับโดยตัวดูดซับได้ไม่เท่ากัน ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน

1.4.8 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin-Layer Chromatography) หมายถึง การแยกของผสมโดยอาศัยการที่ต่างกันของเฟสคงที่โดยเฟสคงที่เป็นของแข็ง เฟสคงที่ที่นิยมใช้คือ silica gel ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ) และ alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ในขณะเดียวกันเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นของเหลวจะพาสารให้เคลื่อนที่ เนื่องจากสารที่มีโครงสร้างต่างกันจะได้รับแรงดึงดูดและแรงผลักรันต่างกัน ดังนั้นสารแต่ละชนิดจึงเคลื่อนที่ในอัตราที่ต่างกัน สารที่ถูกดูดซับได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารที่ถูกดูดซับน้อย จึงทำให้เกิดการแยกของสารขึ้นเป็นแถบๆ

1.4.9 คอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column Chromatography) หมายถึง เทคนิคการแยกสารผสม โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่และถูกดูดซับที่ต่างกัน อลูมินาหรือซิลิกาเจลถูกบรรจุในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลว ลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่ง



เป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นผู้พาไป สารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้สารผสมแยกจากกันได้

1.4.10 อนุมูลอิสระ (free radicals) สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล

1.4.11 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หมายถึง สารที่ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือยับยั้งปฏิกิริยาที่มีออกซิเจน หรือเปอร์ออกไซด์เป็นตัวกระตุ้นทางเคมี

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบองค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดและสารบริสุทธิ์จากเปลือกลำต้นของ *G. Pedunculata* จาก อ.กระทุ้ง จ.ภูเก็ต ประเทศไทย

1.5.2 ดำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากสารสกัดหยาดหรือสารบริสุทธิ์จากเปลือกลำต้นของ *G. pedunculata*

1.5.3 นักวิจัยในสาขาที่เกี่ยวข้อง และอุตสาหกรรมเครื่องสำอางสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้พัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรม ตลอดจนการนำองค์ความรู้และตำรับเครื่องสำอางที่ได้ไปเผยแพร่และพัฒนาสู่งานวิจัยด้านชุมชน เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับชุมชนสำหรับอุปโภค หรือจำหน่ายต่อไป

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

##### 2.1.1 อนุมูลอิสระ

##### 2.1.1.1 ความหมายและแหล่งที่มา

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล เกิดได้จากปัจจัยภายในร่างกายเช่น กระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย และปัจจัยภายนอก [22] เช่น

- มลพิษต่างๆ เช่น โอโซน โลหะหนัก ควันทะลุหรือ แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนโตรไดออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์
- การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย หรือ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เป็นต้น
- จากรังสี รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสียูวี รังสีแกมมา
- กระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง ๆ กลับมาใช้ซ้ำ การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียมไหม้ หรือ เกิดจากการปิ้งย่าง
- จากยาบางชนิด เช่น โดxorubicin (doxorubicin) เพนนิซิลลามิน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol)

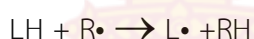
##### 2.1.1.2 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระ

การเกิดอนุมูลอิสระโดยทั่วไปจะเกี่ยวข้องกับอะตอมของออกซิเจน, กรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid), ฟอสโฟไลปิด (phospholipids), โคเลสเตอรอล (cholesterol) และ ดีเอ็นเอ (DNA) กระบวนการออกซิเดชันของไขมันมีส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของอาหาร และทำให้เกิดกระบวนการ oxidative modification ของไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein, LDL) [22]

กระบวนการออกซิเดชันของไขมันเกิดผ่าน 3 ปฏิกิริยา คือ (1) non-enzymatic free radical-mediated chain reaction, (2) non-enzymatic, non-radical photo-oxidation, (3) enzymatic reaction [22] วิธีที่ (1) ถือเป็นปฏิกิริยาทั่วไปในการเกิดอนุมูลอิสระที่นำไปสู่จุดเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ที่ก่อให้เกิดการทำลายอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว ลักษณะที่สำคัญของกระบวนการออกซิเดชันผ่าน enzymatic free radical-mediated chain reaction ประกอบด้วย กระบวนการ

เริ่มต้น (Initiation), กระบวนการแพร่กระจาย (Propagation), กระบวนการแตกแขนง (Branching), และกระบวนการสิ้นสุด (Termination) โดยกระบวนการเหล่านี้อาจมีจุดเริ่มต้นโดยสิ่งเร้าภายนอก เช่น ความร้อน แสง รังสีที่แตกตัวเป็นไอออน (ionizing radiation) หรือจากสารเคมีเช่นไอออนของโลหะ หรือ โปรตีนที่มีโลหะเป็นองค์ประกอบ (metalloproteins) [22]

กระบวนการเริ่มต้น (Initiation):

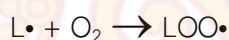


โดย LH คือ โมเลกุลของสารตั้งต้น เช่นไขมัน

R• คือ อนุมูลอิสระที่กระตุ้นให้เกิดการออกซิเดชัน (Initiating oxidizing radical)

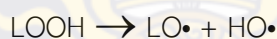
การออกซิเดชันของไขมันจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาสูง (Highly reactive allyl radical, L•) ที่จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างรวดเร็วเพื่อเกิดเป็นอนุมูลอิสระไขมันของ peroxy (LOO•)

กระบวนการแพร่กระจาย (Propagation):

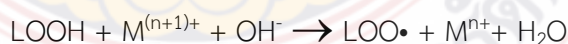
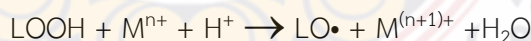


อนุมูลอิสระของ peroxy (LOO•) จะเป็นพาหะให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่จะออกซิไดซ์ไขมันต่อไป หรือทำให้เกิดไขมัน hydroperoxides (LOOH) ซึ่งจะก่อให้เกิดเป็นสารประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิดเช่น แอลกอฮอล์ ไฮโดรคาร์บอน และอนุมูลอิสระอื่นๆ รวมถึงอนุมูลของ alkoxy (LO•)

กระบวนการแตกแขนง (Branching):



การแตกตัวของไขมัน hydroperoxides โดยทั่วไปมักเกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาโดยโลหะทรานซิชัน หรือปฏิกิริยาที่คล้ายคลึงกันของ hydrogen peroxide เกิดเป็นอนุมูลอิสระไขมันของ peroxy (LOO•) และ alkoxy (LO•)

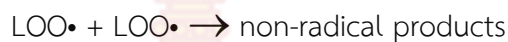


กระบวนการสิ้นสุด (Termination) เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical product) อีกต่อไป

กระบวนการสิ้นสุด (Termination):







### 2.1.1.3 ผลกระทบจากอนุมูลอิสระ

กระบวนการออกซิเดชันในร่างกายและในอาหารมีความสำคัญให้ผู้คนได้ตระหนักมากขึ้น กระบวนการออกซิเดชันในระบบเมตาบอลิซึม (oxidative metabolism) มีความจำเป็นสำหรับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ผลข้างเคียงของกระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับ การเกิดอนุมูลอิสระและอนุภาคอื่นๆ ของออกซิเจนที่มีความว่องไวต่อปฏิกิริยา ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของการออกซิเดชัน (oxidative changes) เมื่อเกิดอนุมูลอิสระส่วนเกินขึ้นจะสามารถเอาชนะเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ทำหน้าที่ป้องกัน (เช่น superoxide dismutase, catalase และ peroxidase) และเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายตลอดจนถึงทำให้เซลล์ตายได้ (ตัวอย่างเช่นกระบวนการ apoptosis) [22]

อนุมูลอิสระจากออกซิเจน (Reactive oxygen species, ROS) หรือไนโตรเจน (Reactive nitrogen species, RNS) เกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันของกระบวนการต่างๆ ในสิ่งเหล่านี้

- กระบวนการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์อาหารเกิดการเหม็นหืน (rancidity) หรือ การเสื่อมสภาพของอาหารไม่ว่าจะเป็นทางด้าน สารอาหาร สี รส ลักษณะของอาหาร และความปลอดภัยของอาหาร

- กระบวนการออกซิเดชันในร่างกายมนุษย์ทำให้เกิดโรคร้ายต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว โรคเบาหวาน การอักเสบเรื้อรัง การผิดปกติทางระบบประสาท โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคชรา (aging) ตลอดจนถึงมะเร็งต่างๆ [23]

อนุมูลอิสระส่วนเกินจากกระบวนการเมตาบอลิซึมมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ภายในเซลล์ ก่อให้เกิดอันตรายแก่เซลล์โดยอนุมูลอิสระจะทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์หลายประเภทเช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) [23]



## 2.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

### 2.1.2.1 ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

Pro-oxidant ในทางชีวภาพ หรือ oxidant ในทางเคมี คือสารที่สามารถก่อให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันที่นำความเสียหายต่อเป้าหมายทางชีวภาพต่างๆ เช่นกรดนิวคลีอิก ไขมัน และ โปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นชื่อเรียกทางชีวภาพของสาร reductant (สารที่สามารถให้อิเล็กตรอนแก่สารอื่นได้) คือสารที่สามารถลดปริมาณ pro-oxidant ลงควบคู่กับการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ [22-24]

นอกจากนี้ ยังมีผู้ให้นิยามของสารต้านอนุมูลอิสระดังนี้ สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) หมายถึง สารใดๆ ที่เมื่อปรากฏอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารอื่นๆ ที่ก่อให้เกิดการออกซิเดชัน (oxidizable substance) สารนี้จะชะลอหรือยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของสารที่สามารถเกิดการออกซิเดชันได้ [22] หากยึดนิยามนี้ สาร reductant ในทางเคมี ทุกตัวไม่ได้จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเสมอไป แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ (1) chain breaking oxidants และ (2) preventative antioxidants ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถลดอัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันได้ [22] นอกจากนี้ยังมีความหมายอื่นๆ ของสารต้านอนุมูลอิสระเช่น สารต้านอนุมูลอิสระหมายถึง สารที่ต่อต้านกระบวนการออกซิเดชัน หรือยับยั้งปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนหรือเปอร์ออกไซด์เป็นตัวช่วยในการเกิดปฏิกิริยา หรือหากมองในทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระจะหมายถึง สารสังเคราะห์หรือสารที่ได้จากธรรมชาติ ที่เมื่อเติมลงในผลิตภัณฑ์แล้วจะช่วยป้องกันหรือชะลอความเสื่อมที่เกิดจากการกระทำของออกซิเจนในอากาศ ในทางชีวภาพและทางยา สารต้านอนุมูลอิสระจะเป็นแอนไซม์หรือสารอินทรีย์ ตัวอย่างเช่น วิตามิน E หรือ เบต้า แคโรทีน ( $\beta$ -carotene) [25-26]

สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียในหลายๆ ผลิตภัณฑ์ อาทิเช่น ไขมัน น้ำมัน ผลิตภัณฑ์อาหาร สบู่ เพื่อชะลอกลิ่นเหม็นหืน ถูกนำมาใช้ในแก๊สโซลีนและผลิตภัณฑ์อื่นๆ จากปิโตรเลียมก็จะช่วยชะลอการเกาะตัวเป็นยาง และการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ที่ไม่พึงประสงค์ นอกจากนี้ยังช่วยยืดอายุการใช้งานของยาง ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระในยางและพลาสติกเช่น สารฟีนอลที่มีโครงสร้างเกาะกะ หรือเอมีน [26]

หากพิจารณาในแง่ของอาหาร หรือโภชนาการ สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร (Dietary antioxidant) จะช่วยลดผลเสียของอนุมูลอิสระที่ก่อตัวจากปฏิกิริยา เช่น อนุมูลอิสระที่ว่องไวของออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และอนุมูลอิสระที่ว่องไวของไนโตรเจน (reactive nitrogen species, RNS) ที่มีผลเสียต่อกระบวนการทำงานของอวัยวะต่างๆ ในร่างกายมนุษย์ เช่นสารต้านอนุมูลอิสระ อาจจะช่วยป้องกันร่างกาย โดยเกิดการรวมตัวกับอนุมูลอิสระเป็นสารอื่นที่ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาที่เป็นผลเสียต่อร่างกายได้ [26]

### 2.1.2.2 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งออกได้เป็น สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural Antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic Antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural Antioxidants) พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ อาจมีได้หลายชนิด เช่น

- เอนไซม์ เช่น glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxid dismutase (SOD) สามารถเปลี่ยน  $O_2\cdot$  เป็น  $H_2O_2$  [25, 26]
- วิตามิน เช่น วิตามินซี (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟิลาซิม) พบในพืชผักสีเขียว ผลไม้รสเปรี้ยว วิตามินอี (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) พบในน้ำมัน และเมล็ดพืชชนิดต่างๆ กลูต้าไทโอน (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟิลาซิมและเมมเบรน) [26]
- สารอื่นๆ เช่น carotenoids [26]

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic Antioxidants) เช่น สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propylgallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารเหล่านี้นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป มีข้อดีคือ มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่ข้อเสียก็คือมีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค

### 2.1.2.3 กลไกในการต้านอนุมูลอิสระ

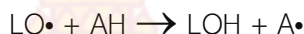
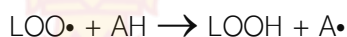
ในทางเคมีนั้น สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นได้เอง (Autoxidation) ซึ่งปฏิกิริยานี้เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระระหว่างออกซิเจนและสารตั้งต้นอื่นๆ สารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพจะเป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่

ดังนั้นกลไกในการยับยั้งอนุมูลอิสระจึงมีได้หลากหลายแบบ [24] เช่น

- 1) ทำลายอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เช่น ROS/RNS scavengers
- 2) การยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระของออกซิเจน และไนโตรเจน
- 3) เกิดปฏิกิริยากับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation)
- 4) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking)

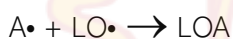
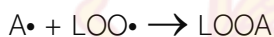
5) ทำหน้าเสมือนเป็นเอนไซม์ที่ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidative enzyme) หรือยับยั้งเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน

ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ [22]



โดย อนุมูลอิสระกำหนดเป็นอนุมูลอิสระที่มีความว่องไวสูง (Highly reactive allyl radical,  $L\cdot$ ) อนุมูลอิสระไขมันของ peroxy ( $LOO\cdot$ ) และ alkoxy ( $LO\cdot$ ) และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปขัดขวางกระบวนการกระจายของปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยการเกิดสารประกอบ peroxy ของสารต้านอนุมูลอิสระ



### 2.1.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity Determination)

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืช หรืออาหารต่างๆ มีความซับซ้อนในด้านขององค์ประกอบ การแยกสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งเหล่านี้จึงใช้ต้นทุนสูง และยังมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงมีวิธีมาตรฐานสำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนา หาวิธีที่สะดวกและรวดเร็วในการหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในการป้องกันโรคจึงได้รับความสนใจ

วิธีที่ใช้ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใช้พื้นฐานหลักการทางเคมี 2 ประการ คือ (1) วิธีที่มีพื้นฐานจากตัวออกซิไดซ์ทางชีวภาพ (biological oxidants) หรือการทำลายอนุมูลอิสระเหล่านี้ [24] ได้แก่

- Peroxyl radical ( $ROO\cdot$ ) scavenging capacity assay,
- Superoxide radical anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) scavenging capacity assay
- Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) scavenging capacity assay
- Hydroxyl radical ( $HO\cdot$ ) scavenging capacity assay
- Hypochlorous acid ( $HOCl$ ) scavenging capacity assay
- Singlet oxygen ( $^1O_2$ ) scavenging capacity assay
- Nitric oxide radical ( $NO\cdot$ ) scavenging capacity assay
- Peroxynitrite ( $ONOO\cdot$ ) scavenging capacity assay



หรือ (2) วิธีที่ไม่อาศัยพื้นฐานทางชีวภาพ (non-biological assays) ได้แก่ การทำลายอนุมูลอิสระเหล่านี้ [24]

- scavenging of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH<sup>•</sup> assay)
- scavenging of 2, 2-azinobis-(3-ethylvenzothiazoline-6-sulphonate) radical cation (ABTS<sup>•+</sup>) หรือ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay
- Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)
- Folin-Ciocalteu reducing capacity (FC assay)
- Total reducing capacity ที่หาโดยวิธีทางเคมีไฟฟ้า

การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายวิธี แต่หากพิจารณาตามปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องจะสามารถแบ่งกลุ่มการวิเคราะห์ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ วิธีที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายอะตอมของไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT) และวิธีที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (Electron transfer, ET) [24] แต่ละวิธีนั้นมีความต่างกันในเรื่องของ สารตั้งต้น (substrates), probes, สภาวะในการทำปฏิกิริยา (reaction condition) ดังนั้นการเปรียบเทียบผลการหาสารต้านอนุมูลอิสระของแต่ละวิธีจึงเป็นสิ่งที่ยากมาก รายงานการเปรียบเทียบข้อดี ข้อเสีย และความเหมาะสมของแต่ละวิธี เพื่อที่จะใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานในการหาสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นสิ่งจำเป็นมาก

วิธีที่นิยมในการวิเคราะห์เชิงปริมาณคือ วิธีที่มีพื้นฐานอยู่บนการถ่ายเทอิเล็กตรอน (Electron Transfer-Based Assays, ET-Based Assays) ซึ่งมีอยู่หลากหลายวิธี โดยวิธีเหล่านี้เกี่ยวข้องอยู่กับองค์ประกอบ 2 อย่างในปฏิกิริยา คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และตัวออกซิไดซ์ (oxidant) หรือ ตัวที่ทำหน้าที่วัด (Probe) นั่นเอง การถ่ายโอนอิเล็กตรอนเกิดขึ้นดังนี้

**Probe (oxidant) + e (from antioxidant) → reduced probe + oxidized antioxidant**  
(Huang, 2005)

ตัวที่ทำหน้าที่วัด หรือตัวออกซิไดซ์ จะดึงอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของตัวออกซิไดซ์นั่นเอง โดยจะให้ค่าการดูดกลืนแสงของตัวออกซิไดซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสีจะเปลี่ยนแปลงไปมากหรือน้อยนั้นแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระนั่นเอง โดยปฏิกิริยานี้ถือว่าสิ้นสุดเมื่อสีของสารละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลง [24] หรือพูดอย่างง่ายคือ นำอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน มาเป็นตัวที่ทำหน้าที่ตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือนอกจากค่าการดูดกลืนแสง หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ (1) แบบที่แสดงปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์



ต้านอนุมูลอิสระสูง และ (2) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC<sub>50</sub>, 50 % of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่  $\mu\text{M}/\text{mg}$ ,  $\text{mM}/\text{mg}$ ,  $\mu\text{M}/\text{mL}$ ,  $\text{mM}/\text{mL}$  เป็นต้น

เนื่องด้วยความเหมาะสม และสะดวกในการปฏิบัติงาน งานวิจัยนี้สนใจวิธีวิเคราะห์ที่มีรายละเอียดดังนี้ [25]

1) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging Capacity Assay) เป็นวิธีการหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่ง่ายและแม่นยำ โดยส่วนใหญ่ใช้กับสารสกัดจากพืชและผลไม้ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH $\cdot$ , diphenyl-picrylhydrazyl radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว โดยมีอิเล็กตรอนเดี่ยวบนอะตอมของไนโตรเจน (N) และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้ เครื่องยูวี วิซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-vis spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH $\cdot$  ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ง่ายขึ้นเป็นสีเหลือง หรืออาจใช้การวัดโดยเครื่อง electron spin resonance (EPR) ก็ได้ โดยกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเชื่อว่าเกิดจากการถ่ายโอนอะตอมของไฮโดรเจนจากสารต้านอนุมูลอิสระไปยังอนุมูลอิสระ DPPH ดังแสดง [25]



วิธีทดลองโดยใช้ DPPH assay โดยทั่วไปมีขั้นตอนดังนี้คือ นำสารละลายของ DPPH (3.9 ml, 25 mg/L) ที่ละลายในเมทานอล มาผสมกับสารละลายของสารตัวอย่าง (0.1 mL) ที่ทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา หรือจนกระทั่งสีของสารละลายไม่เปลี่ยนแปลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้ จากนั้นคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น ก่อนใส่สารตัวอย่าง ดังนี้

$$\% \text{DPPH}_{\text{REM}} = 100 \times [\text{DPPH}]_{\text{REM}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}}$$

ร้อยละของ DPPH ที่เหลืออยู่ (%DPPH<sub>REM</sub>) จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% จะถูกกำหนดเป็น EC<sub>50</sub> [2] ตัวบ่งชี้อื่นๆ เช่น TC<sub>50</sub> คือเวลาที่ใช้ในการเข้าสู่ steady state กับ EC<sub>50</sub> และพฤติกรรมทางจลนศาสตร์ แสดงโดยตัวบ่งชี้ที่เรียกว่า “antiradical efficiency (AE)” หาได้จาก

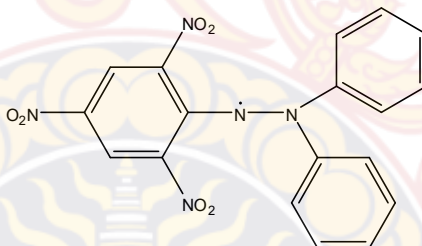
$$\text{AE} = 1/ \text{EC}_{50} \text{ TC}_{50}$$

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ  $\mu\text{M}/\text{mg}$

วิธีนี้มีข้อดีคือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว และใช้เพียงเครื่อง ยูวี วิซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ส่วนข้อเสียคือ การแปลผลของวิธีนี้ทำได้ลำบากเมื่อสารที่นำมาวัดมีการดูดกลืนแสงที่ให้สเปกตรัมที่ซ้อนทับกับ DPPH นอกจากนี้ DPPH• ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยา และมีโครงสร้างที่ค่อนข้างเกาะกะ จึงอาจมีผลให้มีการตอบสนองต่ออนุมูลอิสระอื่นๆ ได้เฉื่อย ยิ่งไปกว่านั้น สีของ DPPH อาจจางลงได้โดยตัวรีดิวซ์หรือการเกิด H transfer [25]

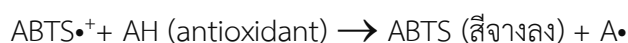
เนื่องจากความเฉื่อยของ DPPH จึงเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่งที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน(interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้เช่นกัน

อย่างไรก็ตาม แม้จะมีข้อเสียอยู่บ้าง แต่วิธีนี้ก็มีการนำไปใช้อย่างแพร่หลาย



### รูปที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [25]

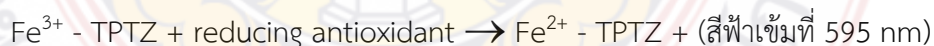
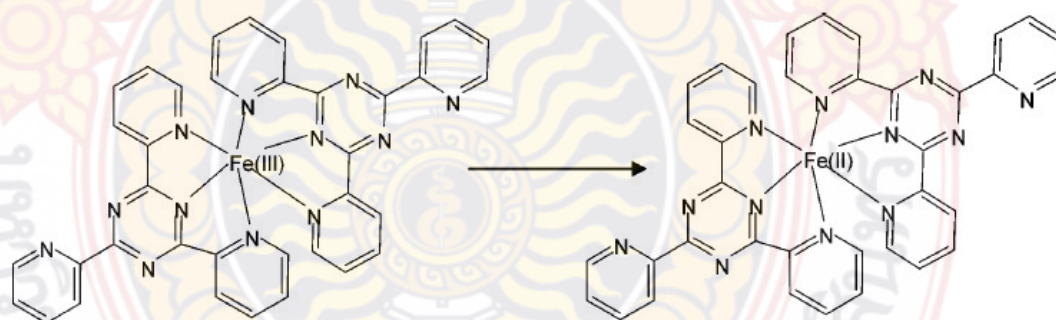
2) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay) อนุมูลอิสระ เอบีทีเอส (ABTS•+, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS•+ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS•+ ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS•+ ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลง (ดังสมการ 6) และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS•+ ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox กระทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH



วิธีนี้มีข้อดี คือ ABTS•+ ละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS•+ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

3) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับ ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) หรือ สารประกอบเชิงซ้อน  $Fe^{3+}$ -TPTZ ทำให้เกิดการเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน  $Fe^{2+}$ -TPTZ ดังรูปที่ ซึ่ง  $Fe^{2+}$ -TPTZ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร [24] (หรือ 595 nm [25]) ศักย์ไฟฟ้า (redox potential) ของ  $Fe^{3+}$ -TPTZ มีค่า < 0.7 V ดังนั้น FRAP จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการเปรียบเทียบกับความสามารถของปฏิกิริยารีดอกซ์ภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อได้

ปริมาณของ  $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$  ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4$ ) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน  $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$  ประกอบด้วยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-s-triazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ และสารละลายเฟอร์ริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด



รูปที่ 2 แสดงปฏิกิริยาของ FRAP assay [25]

วิธีนี้มีข้อดีคือ ทำได้หลายสารตัวอย่าง พร้อม ๆ กัน ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ใช้ต้นทุนต่ำในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง แต่มีข้อเสียคือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกาย และสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำ ปราศจากไอออน



ตารางที่ 1 เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์อนุมูลอิสระดังตาราง [24]

วิธีวิเคราะห์ (Assay) และหลักการ	การวิเคราะห์เชิงปริมาณ
- TEAC อนุมูลอิสระของ ABTS <sup>•+</sup> ถูกทำให้ลดลงโดยสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้การดูดกลืนที่ 414 หรือ 734 nm ลดลง	- Trolox equivalent ( $\mu\text{M}$ ) - ascorbic acid equivalents (mg/100 mL หรือ 100 g)
- DPPH <sup>•</sup> อนุมูลอิสระของ DPPH <sup>•</sup> ถูกทำให้ลดลงโดยสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้การดูดกลืนที่ 515 nm ลดลง	- EC <sub>50</sub> (efficient concentration) - RSE (radical scavenging efficiency) - Trolox equivalents ( $\mu\text{M}$ ) - ascorbic acid equivalents (mg/100 mL หรือ 100 g)
- FRAP (Ferric reducing antioxidant power) สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine ถูกทำให้ลดลงโดยสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้การดูดกลืนที่ 593 nm เพิ่มขึ้น	- Ferrous ions equivalents - Ascorbic acid equivalents
- Folin-Ciocalteu reducing capacity สารประกอบเชิงซ้อนของ Tungstate-molybdate ถูกทำให้ลดลงโดยสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้การดูดกลืนที่ 750 nm เพิ่มขึ้น	- Gallic acid equivalent ( $\text{mgL}^{-1}$ )
- Electrochemical total reducing capacity กระบวนการออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระที่ผิวหน้าของขั้วอิเล็กโทรดทำให้ความเข้มของ anodic current เพิ่มขึ้น	- Oxidation potential ( $E_{1/2}$ ) - Intensity of the anodic current ( $I_a$ ) - Area under the anodic wave (S)

## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ส้มแขกเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ CLUSIACEAE (Guttifera) เป็นไม้ผลพื้นเมืองที่พบในภาคใต้ของประเทศไทย ใช้เป็นเครื่องปรุงอาหารที่มีรสเปรี้ยว ช่วยเพิ่มรสชาติให้กับอาหาร เป็นที่นิยมนำมาปรุงเพื่อใช้ในการทำอาหารพื้นเมืองทางภาคใต้ เช่น แกงส้ม ปลาต้มเค็ม ต้มยำ ฯลฯ โดยนำผลส้มแขกไป



หันเป็นขึ้นบางๆ ตากแดดให้แห้ง แล้วเก็บไว้ปรุงรส พืชที่นิยมเรียกว่า “ส้มแขก” ที่พบนั้นมี 3 สายพันธุ์ คือ *Garcinia gummi-gutta* , *Garcinia atroviridis* และ *Garcinia pedunculata*



รูปที่ 3 ส้มแขกที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia atroviridis* [9]

*Garcinia gummi-gutta* พบในประเทศอินโดนีเซีย ชื่อสามัญคือ *Garcinia cambogia* มีผลลักษณะเหมือนฟักทองผลเล็ก บริเวณผลมีพูเป็นร่องลึกหลายพูเห็นชัดเจน สำหรับส้มแขกที่พบมากพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทยคือ *Garcinia atroviridis* ส้มแขกชนิดนี้ยังเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศมาเลเซีย ซึ่งพบบริเวณรัฐทางเหนือของมาเลเซียและภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย ซึ่งเป็นไม้ทางเศรษฐกิจและมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาอีกด้วย มีลักษณะลำต้นสูงมากกว่า 20 เมตร ลำต้นผิวเรียบมีสีเทา มีกิ่งก่อกตามลำต้น ใบมีสีเขียวเข้มเรียบเป็นมัน ใบยางแคบปลายใบรูปไข่กลับ ผลมีสีเหลืองอมส้มอ่อน [8]

*Garcinia pedunculata* (*G. pedunculata*) เป็นส้มแขกสายพันธุ์หนึ่งที่พบในภาคใต้ตอนกลางของไทยในเขตจังหวัดกระบี่ สตูล ภูเก็ต สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช ชาวพื้นเมืองเรียกส้มแขกชนิดนี้ว่า “ส้มควาย” มีลักษณะเป็นไม้ต้นขนาดเล็ก สูง 16 เมตร เรือนยอดแน่น ลำต้นเล็กเรียวแหลม เปลือกสีน้ำตาลถึงน้ำตาลอมเหลือง แตกเป็นแผ่นหนาและเป็นคอร์ก เปลือกในสีแดง ชุ่ม มียางสีออกเหลืองอยู่บางๆ ใบใหญ่กว้าง 7-11 เซนติเมตร ยาว 16-28 เซนติเมตร รูปไข่กลับถึงรูปไข่กลับแกมขอบขนาน ปลายทู่หรือกลม โคนแคบ เนื้อบาง เขียวเข้มเป็นมันด้านบนแห้งสีเขียวอมมากก็ เส้นกลางใบใหญ่เป็นร่องตื้นด้านบน เส้นใบชัด 12-20 คู่ ห่างเท่ากัน เส้นใบย่อยเป็นชั้นบันไดจาง ก้านใบเล็กยาว 2-3.5 เซนติเมตร ปลายเป็นปีกแคบ กิ่งเป็นสัน 4 สัน ผลใหญ่ยาว 8-12 เซนติเมตร ก้านผล

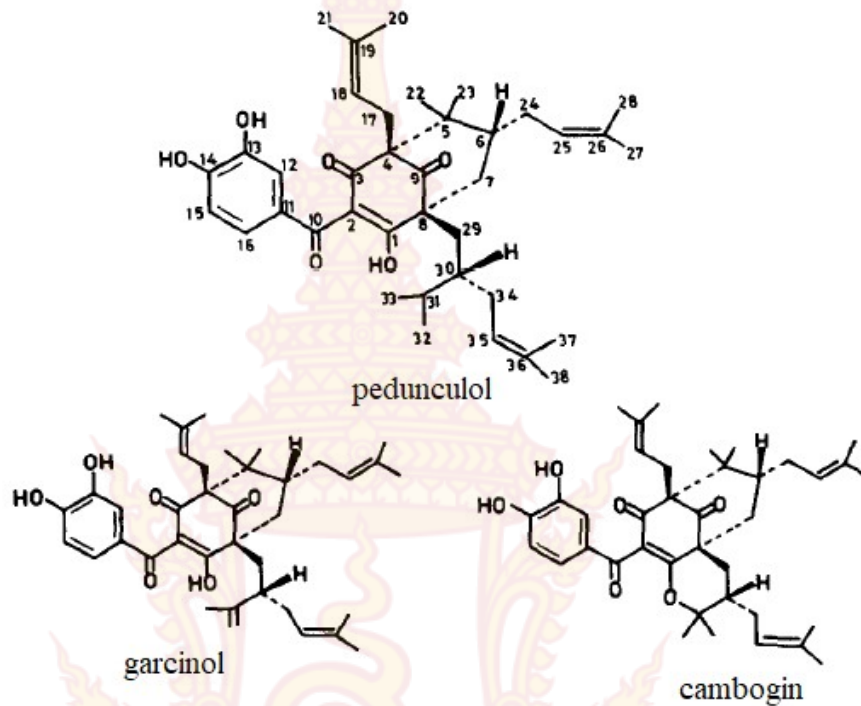
ใหญ่ยาว 2-4 เซนติเมตร กลมมีร่องตื้นแนวตั้ง 6-8 ร่อง ปลายสองด้านบวมเกลี้ยง สีเขียวเป็นนวล สุกสีส้มอมเหลือง เมล็ดใหญ่ 6-10 รูปไต มีเนื้อชุ่มรสเปรี้ยว พบในป่าดิบที่ต่ำ [7]



รูปที่ 4 ส้มแขกที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia pedunculata* [9]

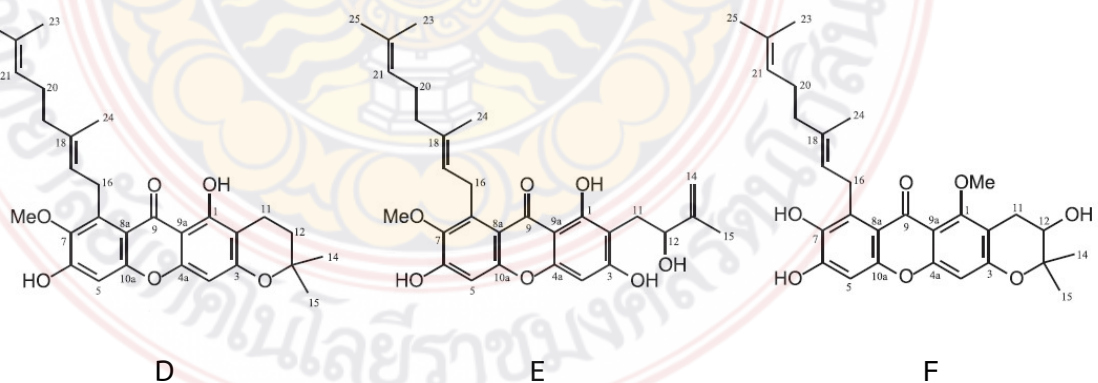
งานวิจัยในต่างประเทศได้รายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จากส่วนต่างๆ ของ *G. pedunculata* โดยงานวิจัยแบ่งเป็น 2 ลักษณะนั้นคือ (1) ศึกษาองค์ประกอบที่เป็นสารบริสุทธิ์ แสดงโครงสร้างทางเคมีจากส่วนต่างๆ ของต้น *G. pedunculata* และ (2) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น การต้านมะเร็ง การต้านเชื้อรา การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของ *G. pedunculata* [10-21]

รายงานวิจัยการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ *G. pedunculata* มีดังนี้ ในปี 1974 Ramo Rao และคณะ ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแก่นต้น *G. pedunculata* ได้พบสารประเภท hydroxyxanthone 2 ชนิด ที่มี hydroxylation pattern ที่แปลกในวงๆ หนึ่ง นอกจากนี้ยังพบสารประเภท biflavanone GB-1a, talbotflavone และ 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone [11] ในปี 1989 SaHU และคณะ ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกหุ้มเมล็ดผลของ *G. pedunculata* จากที่สกัดด้วยเมทานอล ได้พบสาร 3 ชนิดที่เป็นอนุพันธ์ของสารประเภท polyisoprenylated benzophenone คือ pendunculol ซึ่งเป็นสารใหม่ , garcinol และ cambogin ดังแสดงในรูปที่ 5 [12]



รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างของสารที่แยกได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดผลของ *G. pedunculata* [12]

ในปี 2015 Hau และคณะวิจัยจากเวียดนามได้รายงานสารประกอบประเภทแซนโทน 3 ชนิด (Pedunxanthes D-F แสดงในรูปที่ 6) และสารอื่นๆ (norcowanin, 3-isomangostin,  $\alpha$ -mangostin และ fuscaxanthone) ที่ถูกค้นพบแล้วจากสารสกัดคลอโรฟอร์มของ *G. pedunculata* นอกจากนี้ยังได้รายงานความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Hela และ NCI-H460 ของสารบริสุทธิ์ที่รายงานอีกด้วย ผลการศึกษาพบว่า Pedunxanthes D (สาร 1) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด [17]



รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสาร Pedunxanthes D-F



รายงานวิจัยการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของ *G. pedunculata* มีดังนี้ ในปี 2005 G.S. Joseph และคณะนักวิจัยในประเทศอินเดีย ได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกผลของพืชตระกูล Garcinia 2 ชนิด คือ *Garcinia cowa* และ *G. pedunculata* ซึ่งพบได้ทั่วไปในทางตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย โดยใช้ตัวทำละลายคือเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม และได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญเติบโตของอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ที่ได้จากรา *Aspergillus flavus* โดยพบว่าสารสกัดจากคลอโรฟอร์มจาก *G. pedunculata* สามารถต้านการเจริญเติบโตของ *A. flavus* ได้ [13] ในปี 2006 ผู้วิจัยคณะเดิม ยังได้รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกของผล *G. pedunculata* จากเฮกเซนและคลอโรฟอร์มยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และ ฤทธิ์ในการต้านการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (antimutagenic) อีกด้วย [14] ต่อมาในปี 2014 ผู้วิจัยคณะเดิม ได้รายงานว่าสารสกัดเอทิลอะซีเตตจากเปลือกต้น *G. pedunculata* มีฤทธิ์ในการต้านการรวมตัวกันของเกร็ดเลือด และ สารสกัดอะซีโตนจากเปลือกต้น *G. pedunculata* แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อเทียบกับสารเบต้าแคโรทีน [15]

ในปี 2015 Islam และคณะวิจัยจากประเทศบังคลาเทศและญี่ปุ่น ได้รายงานองค์ประกอบทางโภชนาการของผล *G. pedunculata* ว่าประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -Carotene) และวิตามินซี (Ascorbic acid) ในปริมาณที่สูงกว่าวิตามินและแร่ธาตุอื่นๆ นอกจากนี้ยังศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิที่มีต่อการเก็บสารสกัดจากผลของ *G. pedunculata* ว่าส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ เช่น วิตามินซี และความคงตัวของประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS มากหรือน้อยเพียงใด ผลการศึกษาพบว่าวิตามินซีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากผลของ *G. pedunculata* ยังมีความคงตัวเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ นั่นคือที่ 5 °C เป็นเวลา 15 วัน และ ที่ -18 °C เป็นเวลา 90 วัน ผลงานวิจัยแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่นำสารสกัดจาก *G. pedunculata* ไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นทางการแพทย์ อาหาร ตลอดจนเครื่องสำอาง [10] ในปี 2016 รายงานวิจัยทางการแพทย์ของ Munduggaru ประเทศอินเดีย ได้รายงานว่าสารสกัดน้ำของ *G. pedunculata* สามารถป้องกันโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันในหนูได้ [18]

จากงานวิจัยที่รายงานมาทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า *G. pedunculata* เป็นพืชที่มีประโยชน์มากมายในทางโภชนาการและยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายอีกด้วย อีกทั้งสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของ *G. pedunculata* ยังมีความคงตัวเมื่อเก็บไว้ในสภาวะที่เหมาะสมอีกด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกต้นของ *G. pedunculata* เนื่องจากยังมีรายงานการวิจัยไม่มาก อีกทั้งพืชที่เก็บในท้องถิ่นที่แตกต่างกันมักให้สารสำคัญที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกันอีกด้วย โดยงานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างของ *G. pedunculata* จากจังหวัดภูเก็ต และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารบริสุทธิ์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบ



เหล่านั้น ตลอดจนพัฒนานำสารสกัดที่ได้จากเปลือกต้นของส้มแขกไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพืชท้องถิ่นชนิดนี้ต่อไป



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างของส้มควาย (*Garcinia pedunculata*) ส่วนเปลือกต้น เก็บจาก อ.กระทุ้ง จ.ภูเก็ต ได้ทำการเปรียบเทียบและพิสูจน์พันธุ์ไม้เปรียบเทียบตัวอย่างพืชอัดแห้งและได้ทำการเก็บรักษาที่สำนักหอพรรณไม้ กรมป่าไม้ BKF.No. 194897

#### 3.2 เครื่องมือและสารเคมี

##### 3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1) Column OD 30 mm length 40 cm
- 2) Column OD 15 mm length 40 cm
- 3) NMR 400 MHz Bruker Avance 400
- 4) Varian Cary 50 Probe UV-visible spectrophotometer
- 5) NMR sample tube 5 ml
- 6) TLC Aluminum sheet
- 7) HRESIMS Bruker micrOTOF
- 8) Perkin-Elmer 1760X FTIR
- 9) Perkin-Elmer 341 polarimeter at 589 nm
- 10) Fisher-Johns melting point apparatus
- 11) UV-Visible Spectrophotometer, Thermo Scientific, Evolution 220

##### 3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1) Silica gel for packed column No. 107734
- 2) Silica gel for packed column No. 109385
- 3) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- 4) Ethyl acetate (EtOAc)
- 5) Methanol (MeOH)
- 6) Acetone
- 7) Dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )
- 8) Hexanes

- 9) Deuterated Chloroform (CDCl<sub>3</sub>)
- 10) Dimethyl Sulfoxide-D6 (D, 99.99%)
- 11) Ethanol (Ar grade)

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การสกัดส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท (EtOAc)

นำส่วนเปลือกต้นของส้มควายที่ตากแห้ง บดด้วยเครื่องบด นำส่วนเปลือกต้นที่บดแล้ว จำนวน 5.0 กิโลกรัม แช่ตัวทำละลายเมทานอล ปริมาตร 20.0 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน กรองนำส่วนสารละลายออกและแช่ด้วยตัวทำละลายเมทานอลอีก 2 ครั้ง นำสารละลายเมทานอลที่ ที่สกัดได้มารวมกันและระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบ (crude) ในส่วน MeOH นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดด้วยตัวทำละลาย EtOAc และน้ำ ปริมาตรอย่างละ 1.0 L จำนวน 3 ครั้ง นำส่วนสกัด EtOAc ทั้งหมดรวมกันและระเหยแห้งโดยใช้เทคนิคการลดความดัน จะได้ส่วนสกัดหยาบ EtOAc จำนวน 18.99 กรัม

#### 3.3.2 การแยกสารจากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท

นำส่วนสกัดหยาบ EtOAc ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่าง CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH และคลุกกับ silica gel จนแห้ง บรรจุ silica gel ที่ผสมตัวทำละลาย Hexane จนอิ่มตัวลงใน sintered glass buchner funnel No.3 ขนาด 1,000 mL และอัดให้อนุภาค silica gel แน่น เท silica gel ที่คลุกสารสกัดหยาบ EtOAc ไว้ลงบน silica gel ที่อิ่มตัวด้วย Hexane ใช้ pump ดูดตัวทำละลายและเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายโดยเริ่มจาก 5-100% Acetone/Hexanes ใช้เทคนิค TLC ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเพื่อรวมส่วนสกัดย่อยที่เหมือนกัน ได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 6 ส่วนสกัดย่อย (FR1-FR6)

#### 3.3.3 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH (Oliveira, 2017)

นำสารตัวอย่างละลายด้วย 50% DMSO ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 25, 50, 100, 250, 500 และ 1,000 ug/mL หรือสารละลายมาตรฐาน Trolox นำสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน Trolox จำนวน 50 uL ผสมกับ 150 uL ของสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 mM ใน Methanol ใน 96 well plate เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 517 นาโนเมตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ลดลง ตามสมการ

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{test sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}}} \right\} \times 100\%$$

โดยที่	$A_{\text{control}}$	= 150 $\mu\text{L}$ DPPH + 50 $\mu\text{L}$ 50% DMSO
	$A_{\text{test sample}}$	= 150 $\mu\text{L}$ DPPH + 50 $\mu\text{L}$ Sample/standard
	$A_{\text{Blank}}$	= 150 $\mu\text{L}$ Methanol + 50 $\mu\text{L}$ Sample/standard

### 3.3.4 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS (Oliveira, 2017)

นำสารละลาย 7 mM ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) จำนวน 5 mL ผสมกับ 88  $\mu\text{L}$  ของสารละลาย 2.45 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เจือจางสารละลาย ABTS ที่ถูกกระตุ้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรให้อยู่ในช่วง  $0.70 \pm 0.05$  ละลายสารละลายตัวอย่างด้วย 50% DMSO ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 250, 500, 1,000, 2,500, และ 5,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  หรือสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้น 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  นำสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน Trolox จำนวน 50  $\mu\text{L}$  ผสมกับ 150  $\mu\text{L}$  ของสารละลาย ABTS ใน 96 well plate เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 734 นาโนเมตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ลดลง ตามสมการ

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ \frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{test sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}}} \right\} \times 100\%$$

โดยที่	$A_{\text{control}}$	= 150 $\mu\text{L}$ ABTS + 50 $\mu\text{L}$ 50%DMSO
	$A_{\text{test sample}}$	= 150 $\mu\text{L}$ ABTS + 50 $\mu\text{L}$ Sample/standard
	$A_{\text{Blank}}$	= 150 $\mu\text{L}$ Water + 50 $\mu\text{L}$ Sample/standard



## บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

### 4.1 การแยกสารจากส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากเปลือกลำต้น *Garcinia pedunculata*

จากการแยกส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทของสารสกัดเปลือกต้นส้มควายโดยเทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี สามารถแยกสารสกัดย่อยที่มีลักษณะของความมีขี้ที่ตรวจสอบโดยเทคนิคทางThin Layer Chromatography ได้ทั้งหมด 6 ส่วนสกัดย่อย ซึ่งสามารถสรุปได้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนักและ %yield ของส่วนสกัดย่อยของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท

ส่วนสกัดย่อย	น้ำหนัก (กรัม)	%yield
FR1	0.125	<0.001
FR2	0.457	<0.001
FR3	1.205	<0.001
FR4	5.030	0.100
FR5	0.983	<0.001
FR6	0.125	<0.001

### 4.2 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

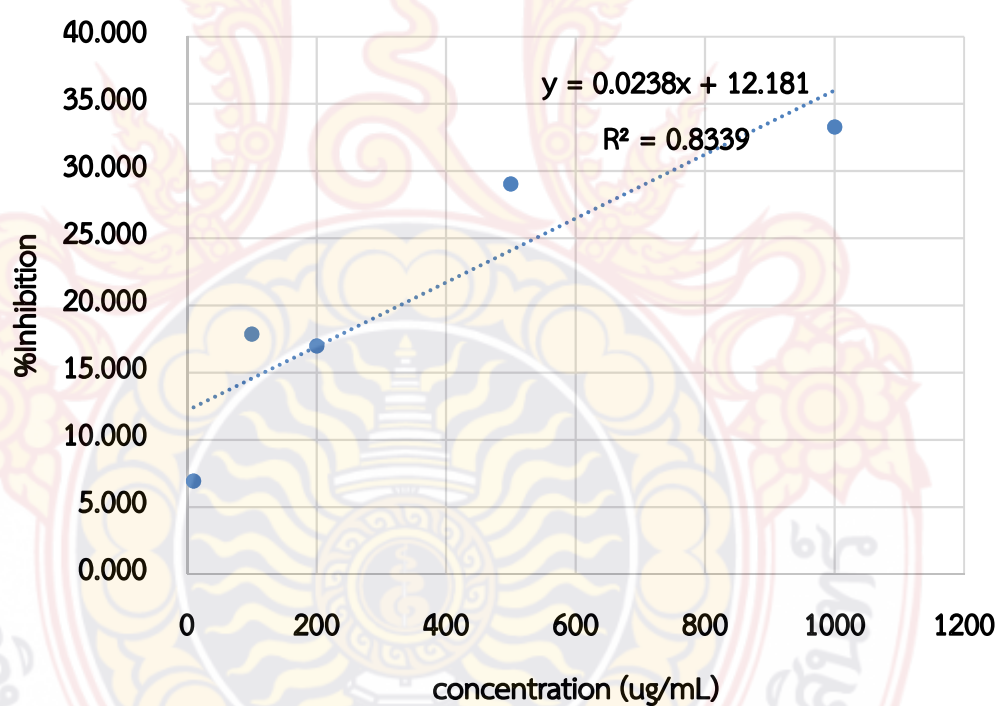
จากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของสารสกัดส่วนสกัดย่อยจากเปลือกต้นส้มควาย ในส่วนสกัดย่อยที่ FR1 ไม่สามารถทำการทดสอบได้เนื่องจากตัวอย่างไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลาย

#### 4.2.1 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR2

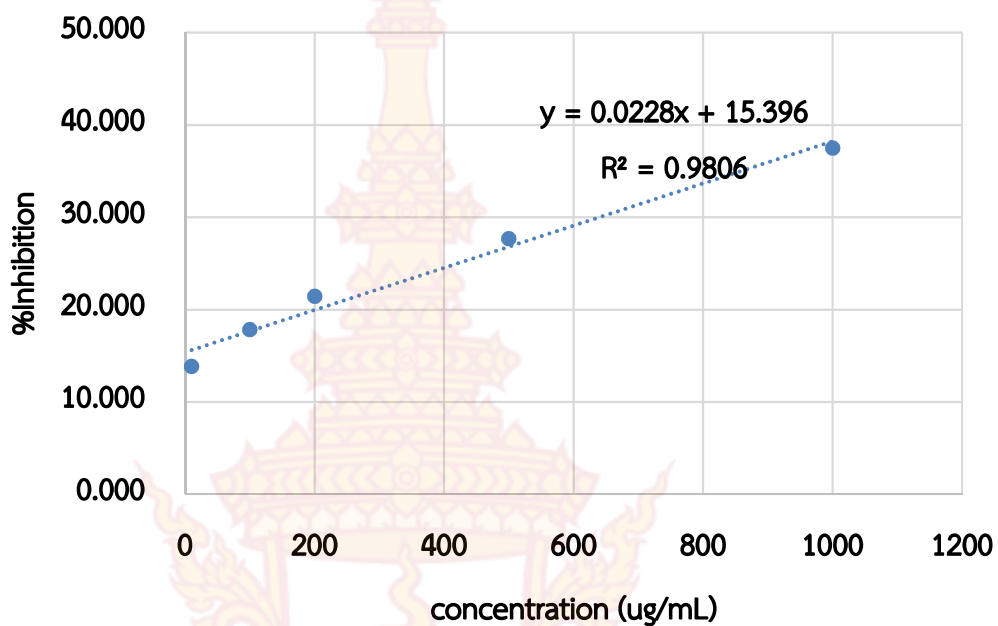
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR2 แสดงในตารางที่ 3 และ กราฟแสดงในรูปที่ 7-9

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR2 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

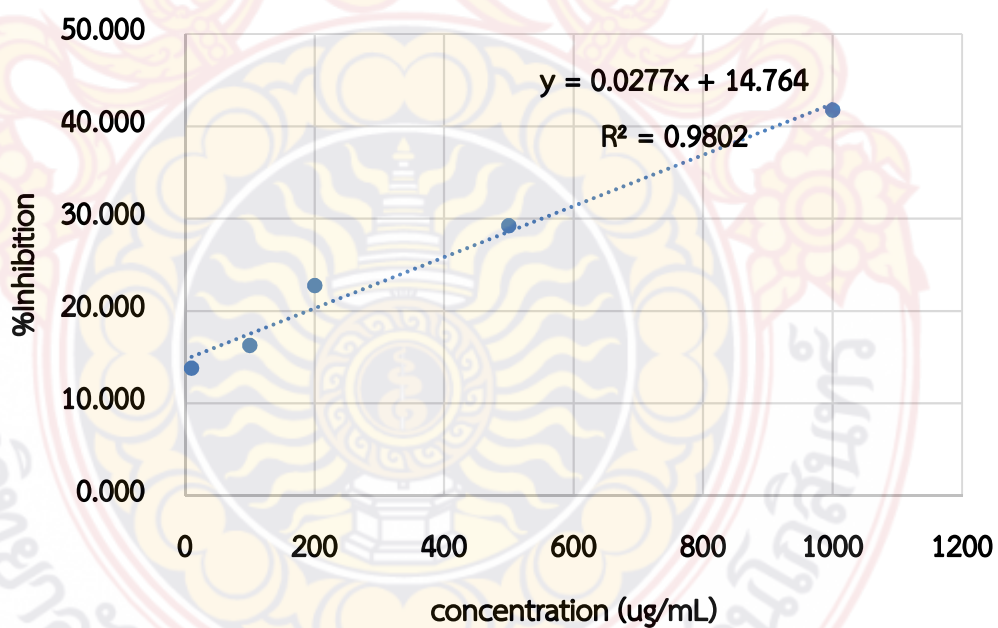
Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
10	0.506	0.475	0.506	0.475	0.475	6.920	13.839	13.839
100	0.445	0.445	0.445	0.445	0.452	17.857	17.857	16.295
200	0.460	0.440	0.460	0.440	0.434	16.964	21.429	22.768
500	0.398	0.404	0.398	0.404	0.397	29.018	27.679	29.241
1000	0.401	0.382	0.401	0.382	0.363	33.259	37.500	41.741



รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 2)



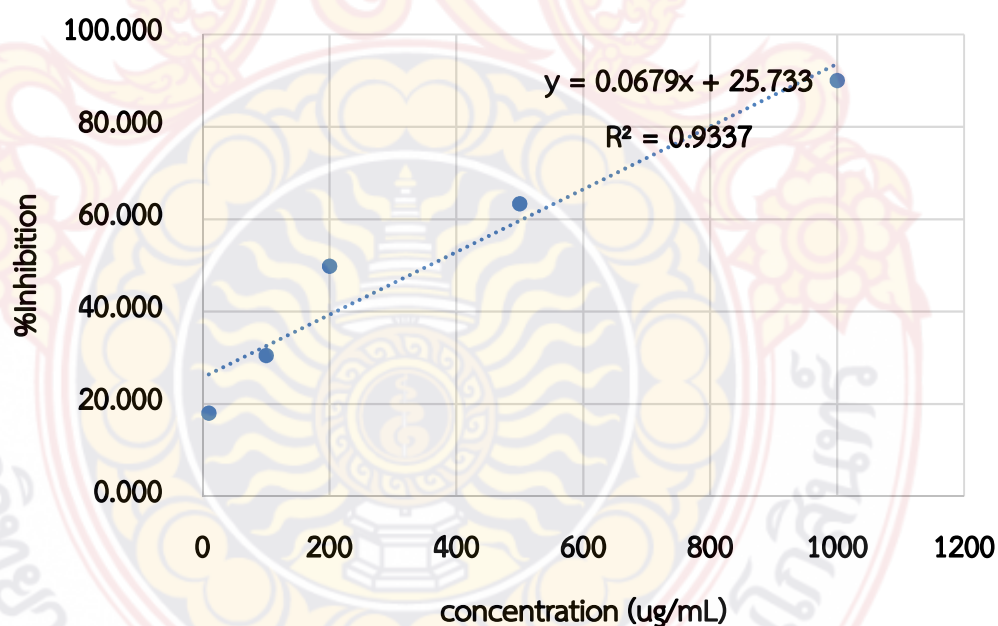
รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 3)

#### 4.2.2 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR3

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR3 แสดงในตารางที่ 4 และ กราฟแสดงในรูปที่ 10-12

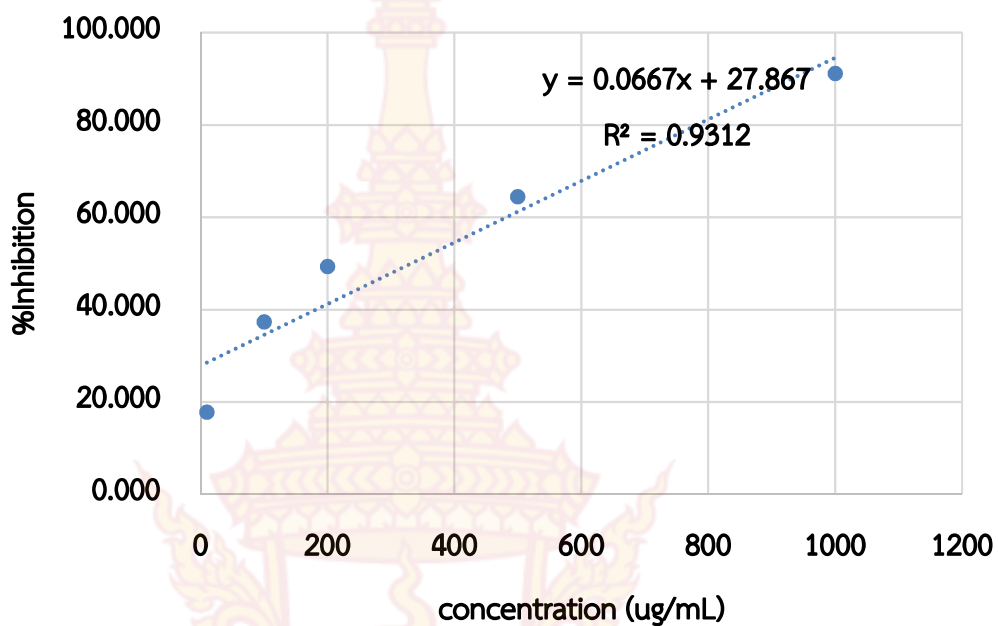
ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR3 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
10	0.450	0.074	0.443	0.444	0.437	18.000	17.778	19.333
100	0.450	0.080	0.393	0.362	0.348	30.444	37.333	40.444
200	0.450	0.076	0.302	0.304	0.298	49.778	49.333	50.667
500	0.450	0.089	0.254	0.249	0.225	63.333	64.444	69.778
1000	0.450	0.119	0.164	0.159	0.152	90.000	91.111	92.667

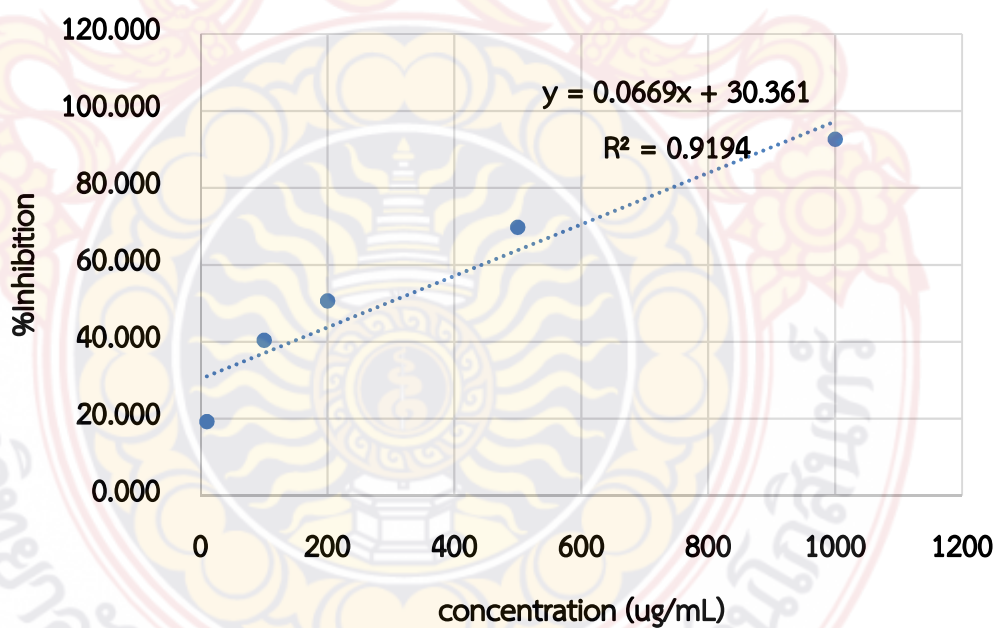


รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 1)





รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 2)



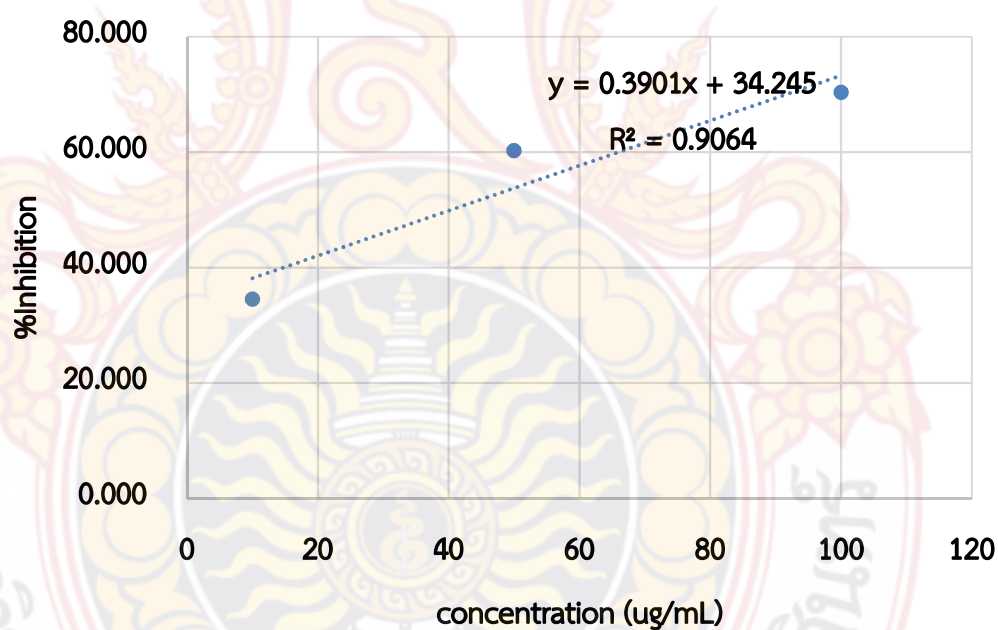
รูปที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 3)

#### 4.2.3 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR4

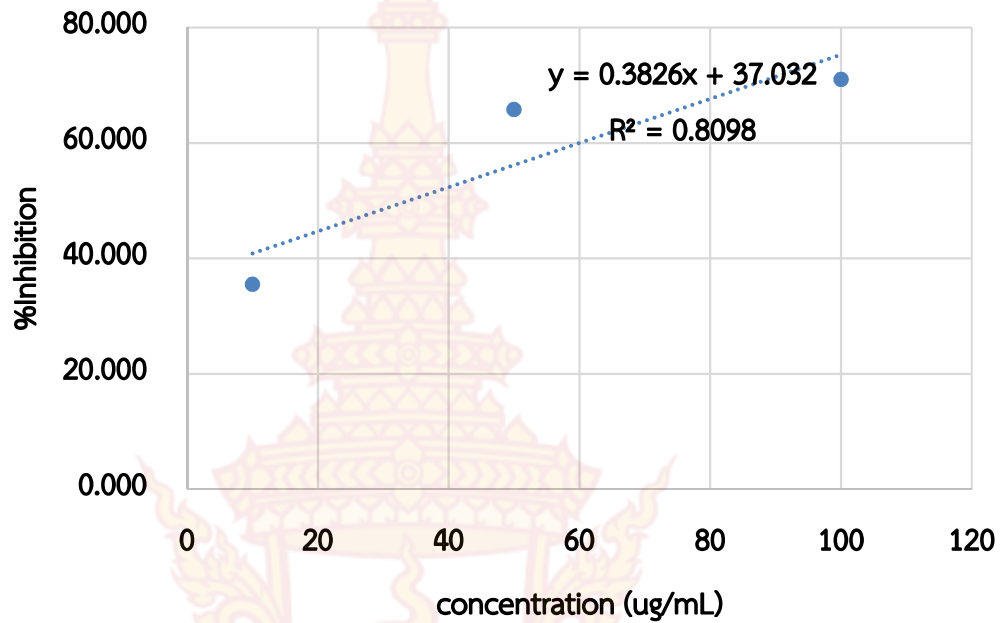
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR4 แสดงในตารางที่ 5 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 13-15

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR4 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

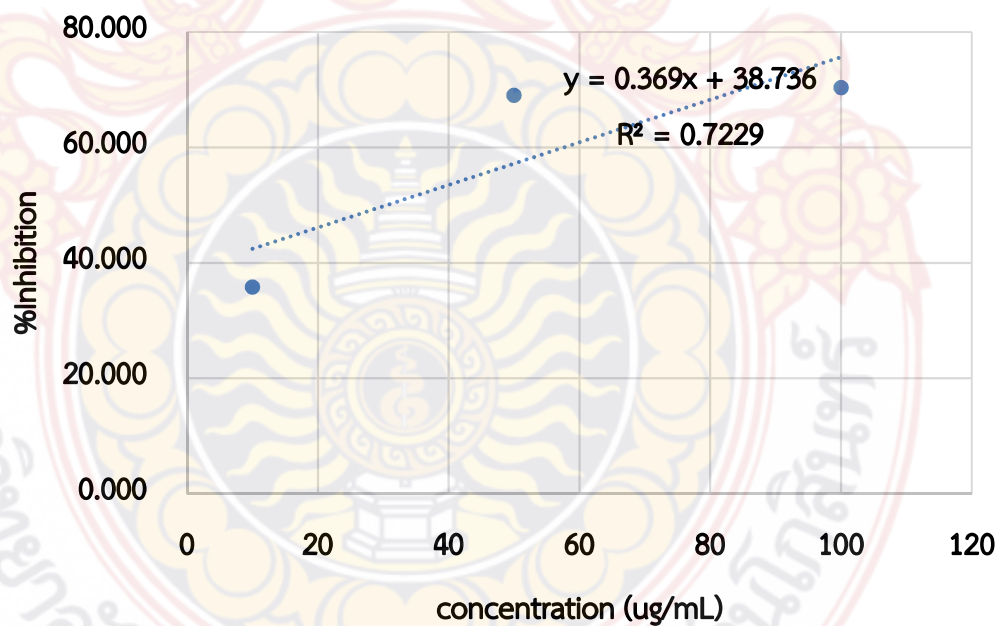
Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
10	0.307	0.034	0.235	0.232	0.231	34.528	35.505	35.831
50	0.307	0.034	0.156	0.139	0.129	60.261	65.798	69.055
100	0.307	0.034	0.125	0.123	0.125	70.358	71.010	70.358



รูปที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 2)



รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 3)

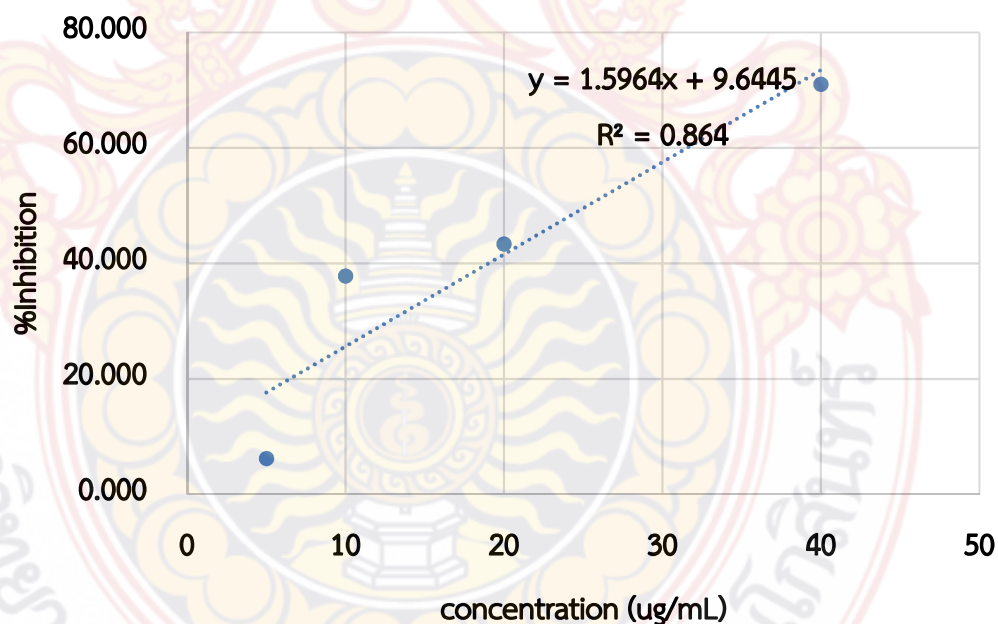


#### 4.2.4 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR5

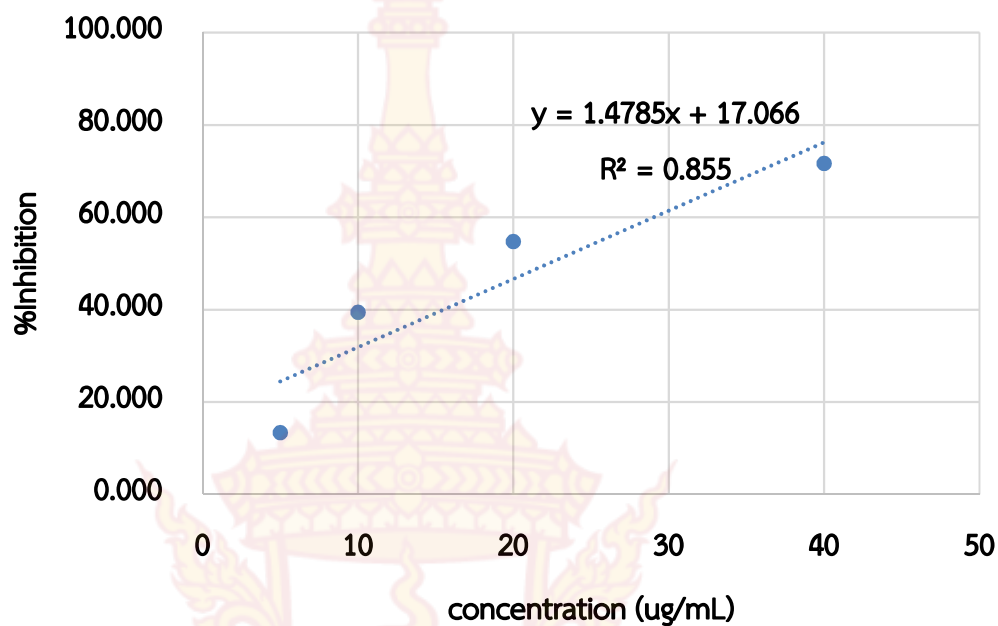
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR5 แสดงในตารางที่ 6 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 16-18

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR5 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

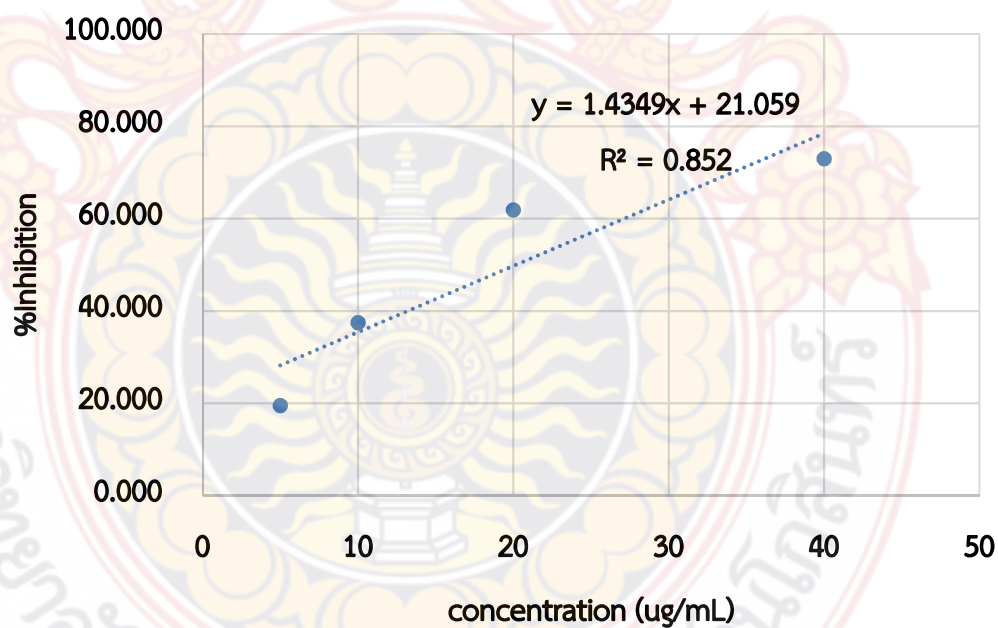
Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.307	0.046	0.334	0.312	0.293	6.189	13.355	19.544
10	0.307	0.046	0.237	0.232	0.238	37.785	39.414	37.459
20	0.307	0.053	0.227	0.192	0.170	43.322	54.723	61.889
40	0.307	0.038	0.127	0.125	0.121	71.010	71.661	72.964
80	0.307	0.064	0.182	0.139	0.123	61.564	75.570	80.782



รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 2)



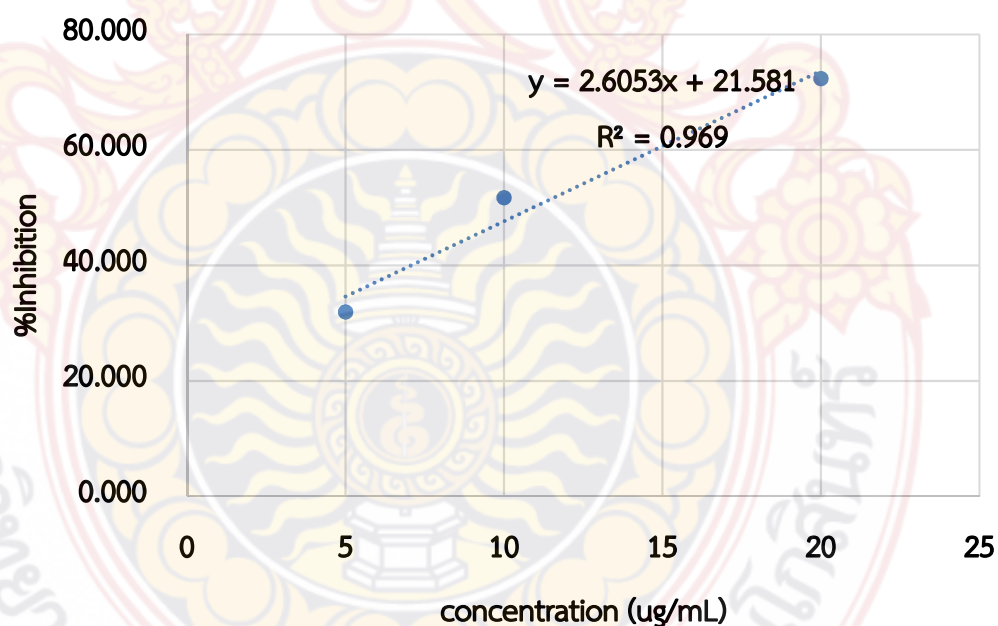
รูปที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 3)

#### 4.2.5 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR6

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย FR6 แสดงในตารางที่ 7 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 19-21

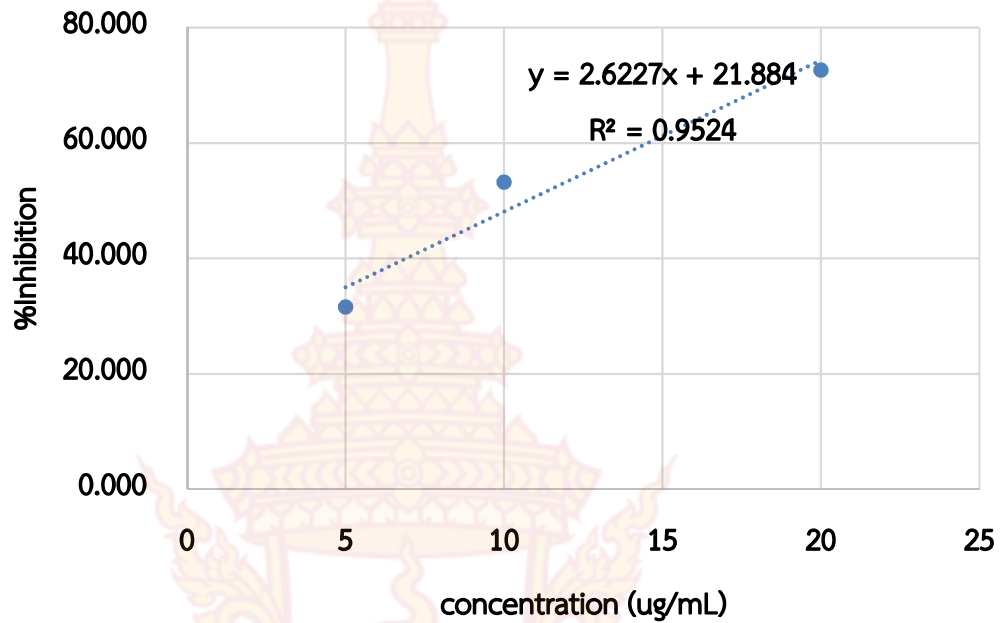
ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR6 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.329	0.031	0.255	0.256	0.251	31.915	31.611	33.131
10	0.329	0.038	0.197	0.192	0.186	51.672	53.191	55.015
20	0.329	0.036	0.127	0.126	0.123	72.340	72.644	73.556
40	0.329	0.043	0.132	0.127	0.128	72.948	74.468	74.164
80	0.329	0.044	0.120	0.119	0.115	76.900	77.204	78.419

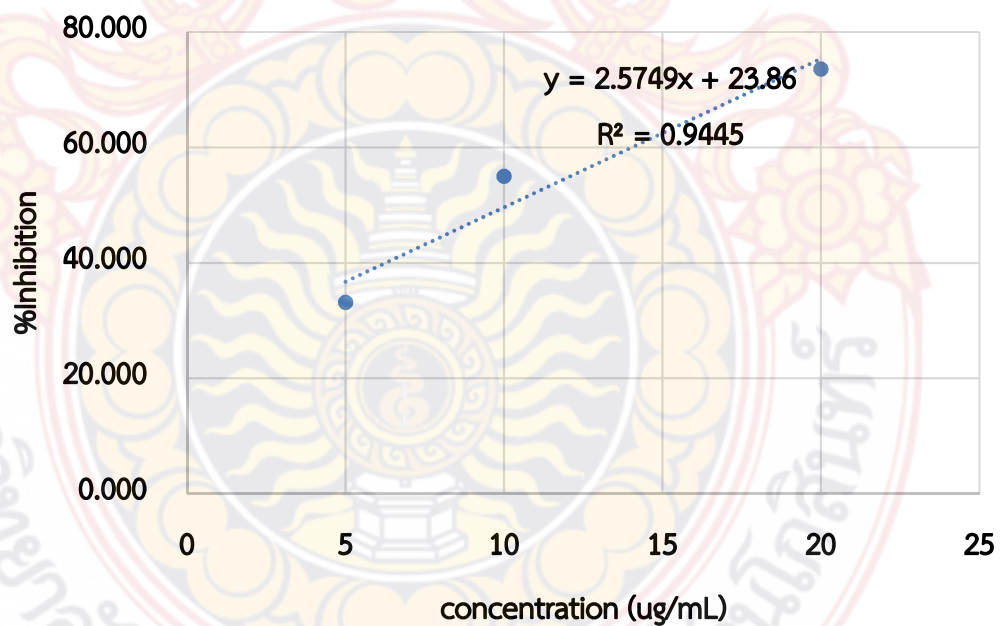


รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 1)





รูปที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 2)



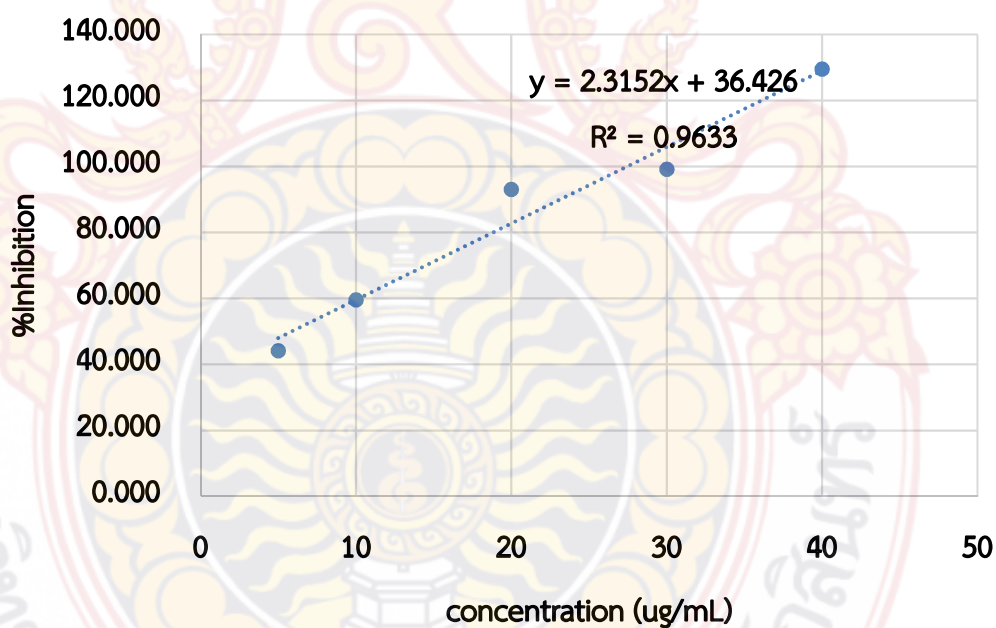
รูปที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 3)

#### 4.2.6 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย Trolox

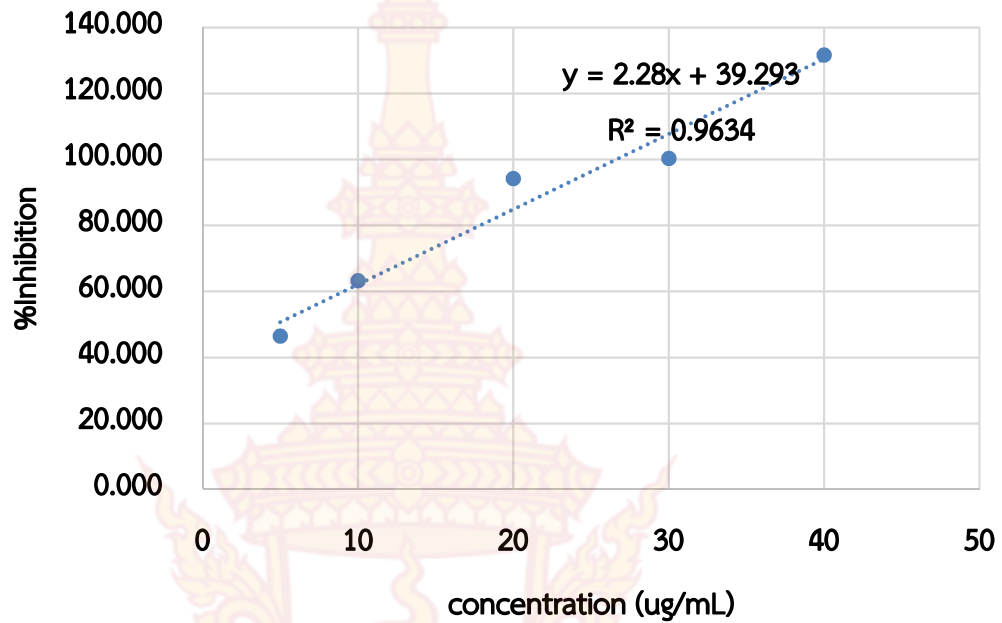
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อย Trolox แสดงในตารางที่ 8 และกราฟดังแสดงในรูปที่ 22-24

ตารางที่ 8 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง Trolox ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH

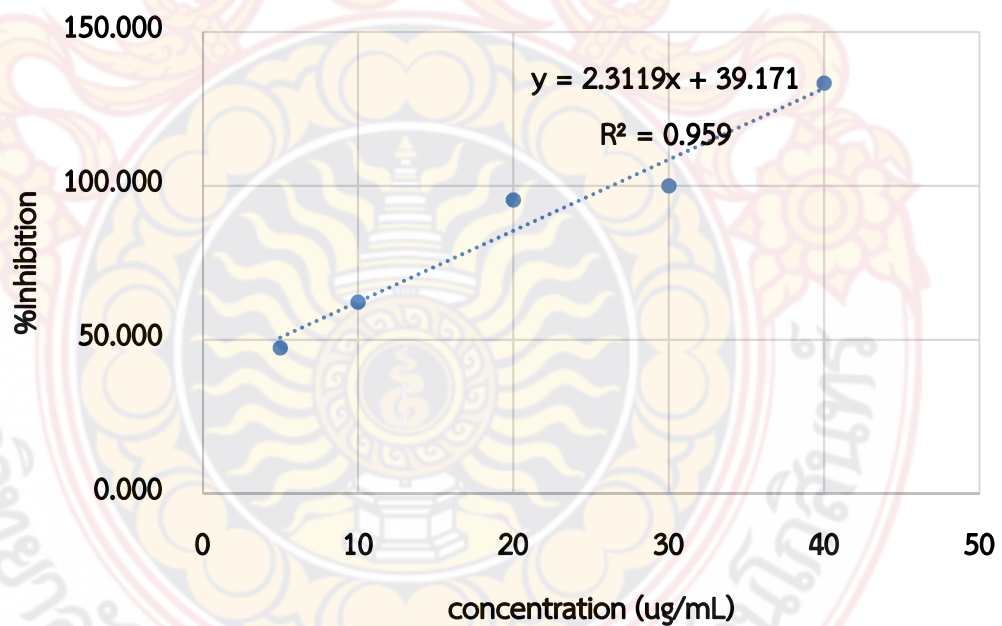
Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.329	0.094	0.278	0.270	0.267	44.073	46.505	47.416
10	0.329	0.094	0.227	0.215	0.218	59.574	63.222	62.310
20	0.329	0.094	0.117	0.113	0.109	93.009	94.225	95.441
30	0.329	0.095	0.098	0.094	0.095	99.088	100.304	100.000



รูปที่ 22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 2)



รูปที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 3)



#### 4.3 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

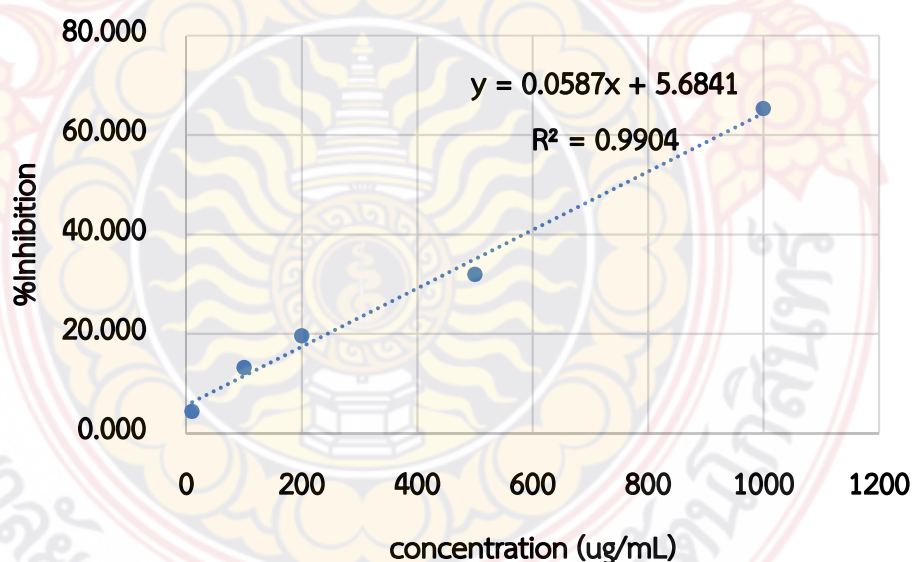
จากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของสารสกัดส่วนสกัดย่อยจากเปลือกต้นส้ม ความ ในส่วนสกัดย่อยที่ FR1 ไม่สามารถทำการทดสอบได้เนื่องจากตัวอย่างไม่สามารถละลายได้ในตัว ทำละลาย

##### 4.3.1 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR2

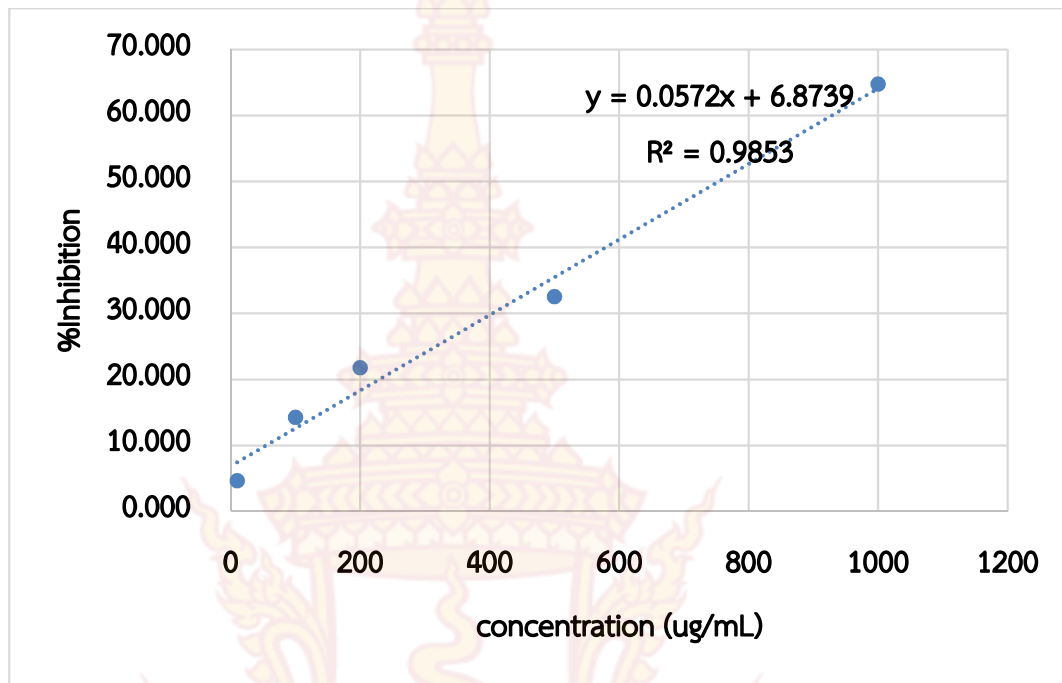
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR2 แสดงในตารางที่ 9 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 25-27

ตารางที่ 9 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR2 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ แบบ ABTS

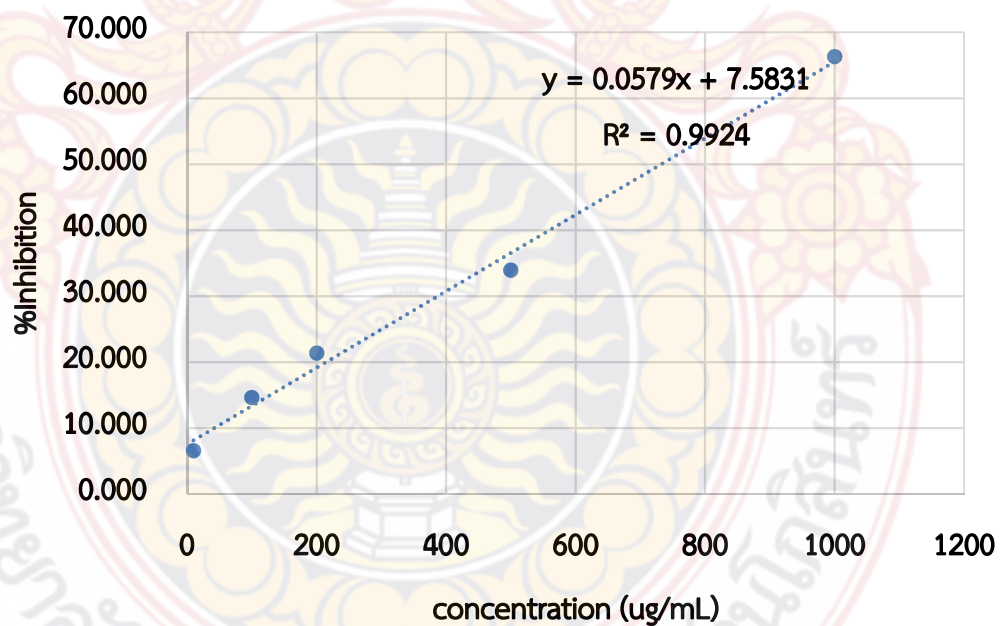
Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
10	0.519	0.023	0.519	0.518	0.508	4.432	4.624	6.551
100	0.519	0.043	0.493	0.488	0.486	13.295	14.258	14.644
200	0.519	0.046	0.463	0.452	0.454	19.653	21.773	21.387
500	0.519	0.046	0.399	0.396	0.389	31.985	32.563	33.911
1000	0.519	0.080	0.260	0.263	0.255	65.318	64.740	66.281



รูปที่ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วน สกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 2)



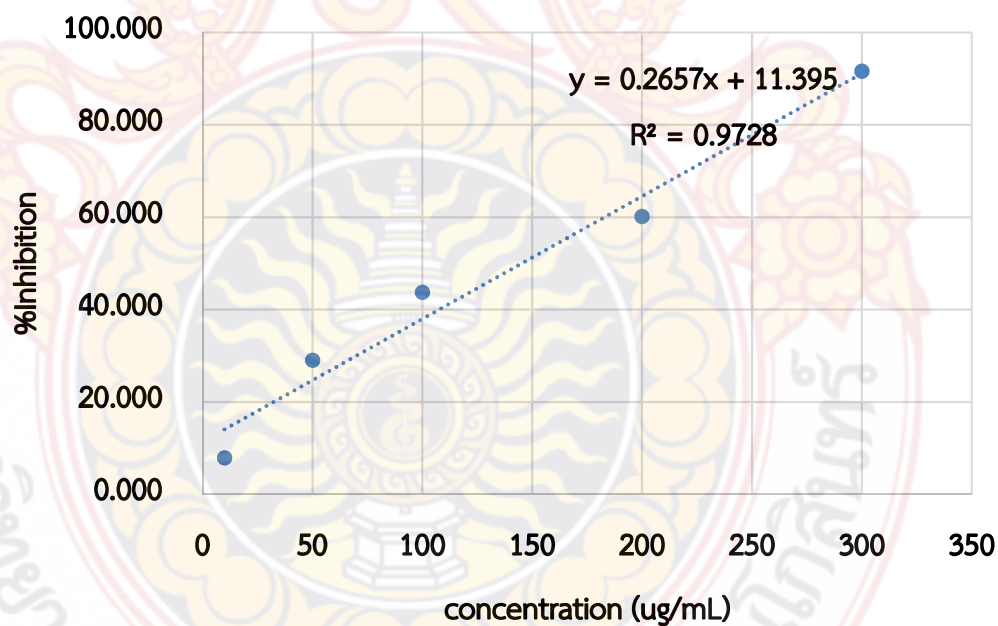
รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR2 (ครั้งที่ 3)

#### 4.3.2 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR3

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR3 แสดงในตารางที่ 10 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 28-30

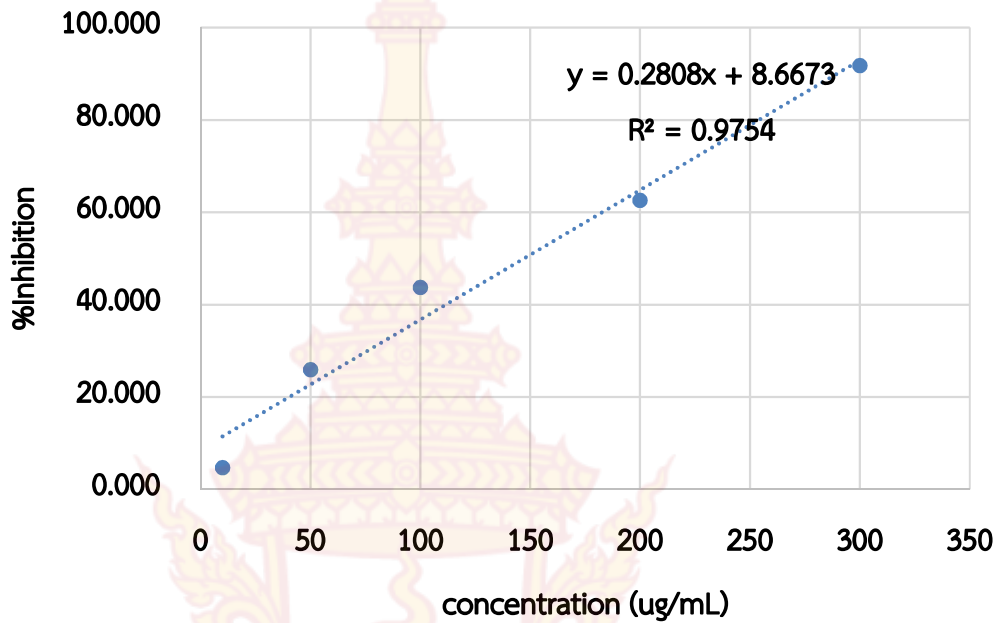
ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR3 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
10	0.572	0.023	0.550	0.568	0.513	7.867	4.720	14.336
50	0.572	0.034	0.440	0.458	0.407	29.021	25.874	34.790
100	0.572	0.033	0.355	0.355	0.331	43.706	43.706	47.902
200	0.572	0.060	0.288	0.274	0.230	60.140	62.587	70.280
300	0.572	0.095	0.143	0.142	0.139	91.608	91.783	92.308

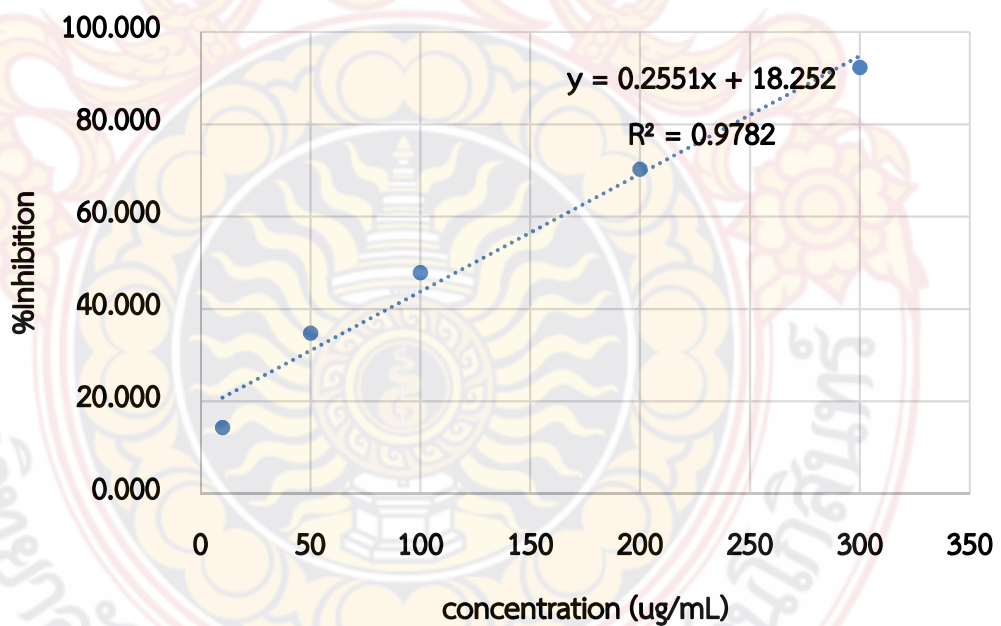


รูปที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 1)





รูปที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 2)



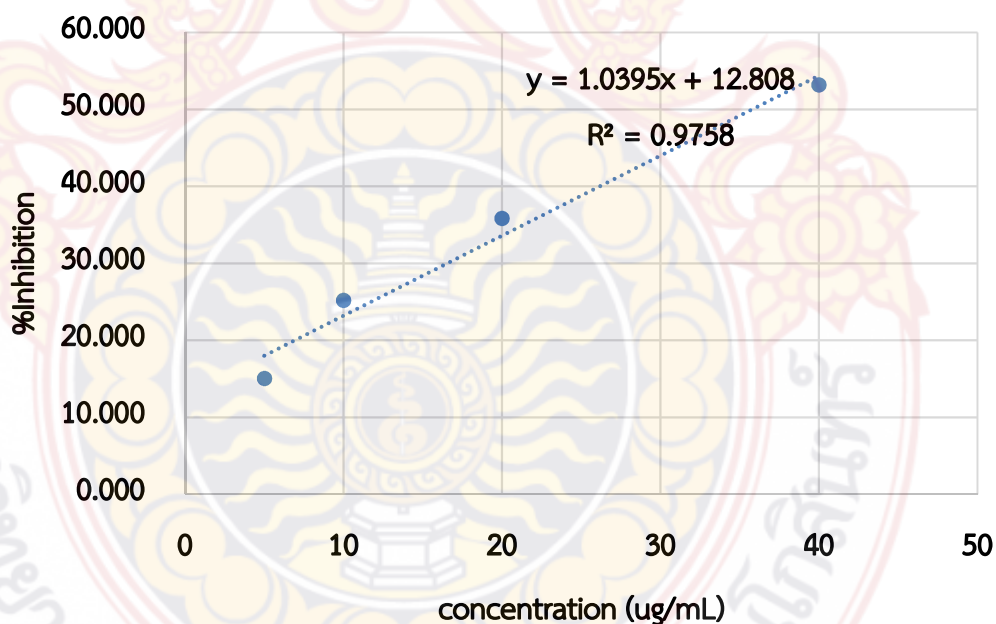
รูปที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR3 (ครั้งที่ 3)

#### 4.3.3 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR4

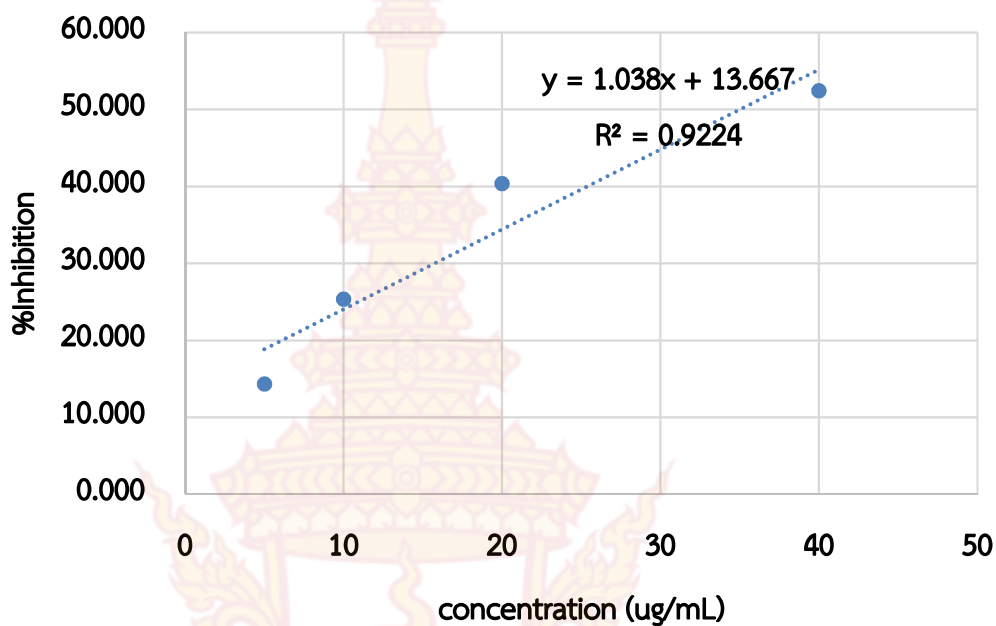
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR4 แสดงในตารางที่ 11 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 31-33

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR4 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

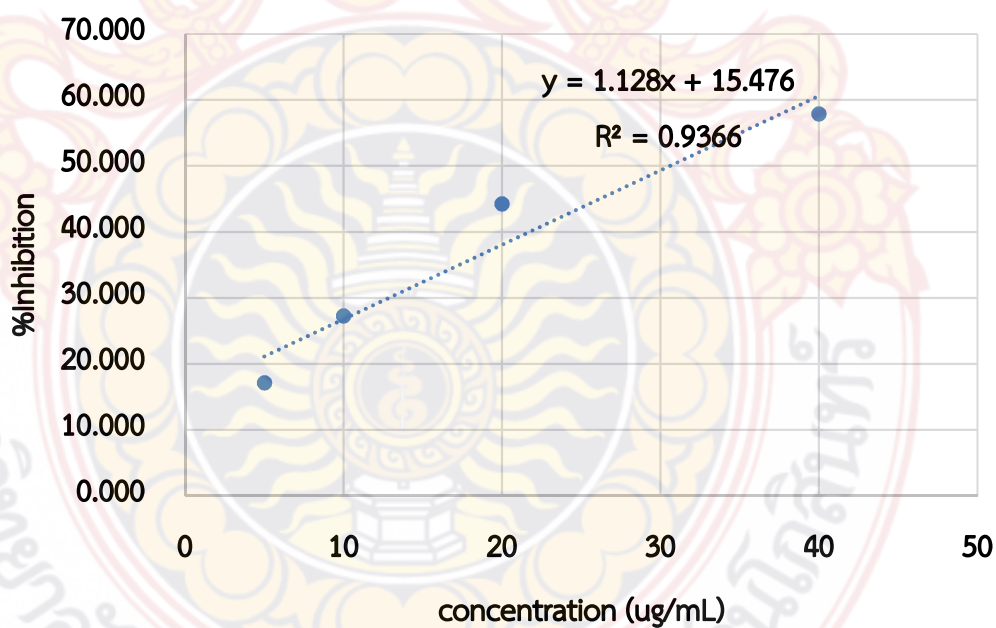
Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.572	0.054	0.540	0.544	0.528	15.035	14.336	17.133
10	0.572	0.026	0.454	0.453	0.442	25.175	25.350	27.273
20	0.572	0.038	0.405	0.379	0.357	35.839	40.385	44.231
40	0.572	0.022	0.290	0.294	0.263	53.147	52.448	57.867
80	0.572	0.051	0.216	0.208	0.206	71.154	72.552	72.902



รูปที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 32 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 2)



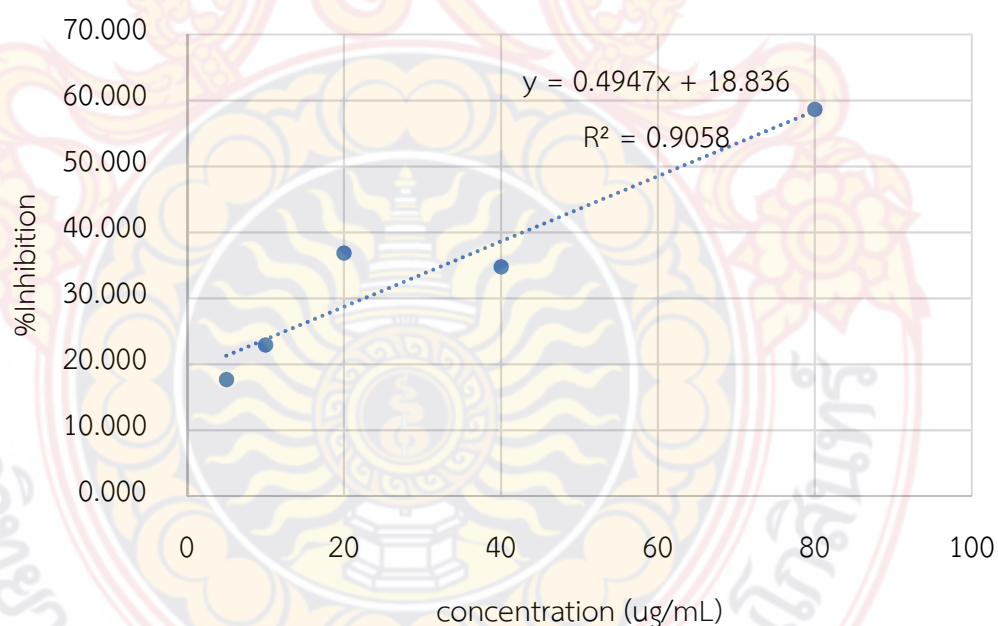
รูปที่ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR4 (ครั้งที่ 3)

#### 4.3.4 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR5

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR5 แสดงในตารางที่ 12 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 34-36

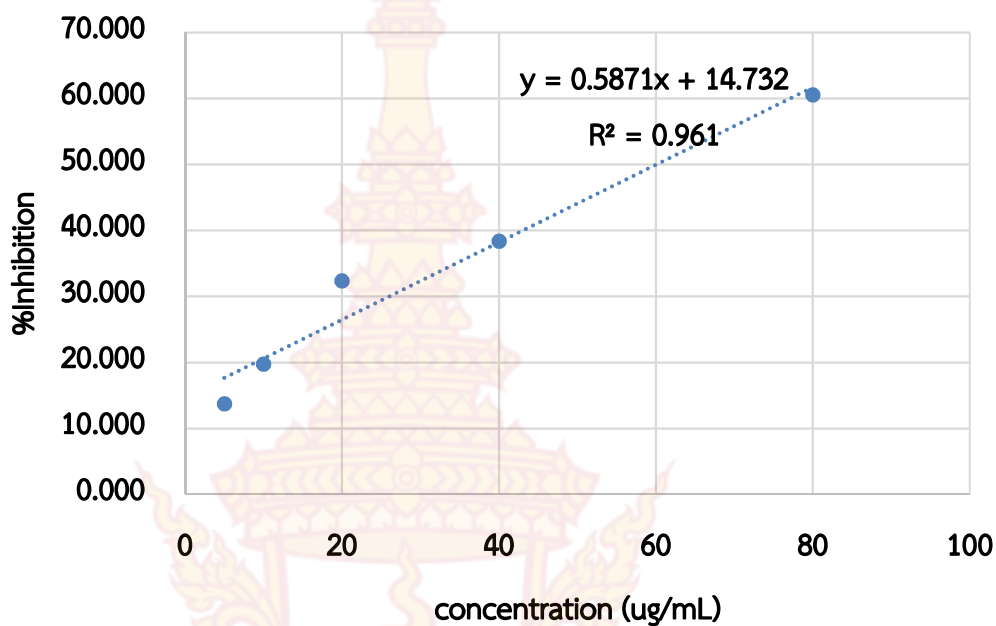
ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR5 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

Concentration (ug/mL)	A <sub>Blank</sub>	A <sub>control</sub>	A <sub>test sample</sub>			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.532	0.029	0.467	0.488	0.515	17.669	13.722	8.647
10	0.532	0.024	0.434	0.451	0.476	22.932	19.737	15.038
20	0.532	0.031	0.367	0.391	0.411	36.842	32.331	28.571
40	0.532	0.031	0.378	0.359	0.370	34.774	38.346	36.278
80	0.532	0.054	0.274	0.264	0.259	58.647	60.526	61.466

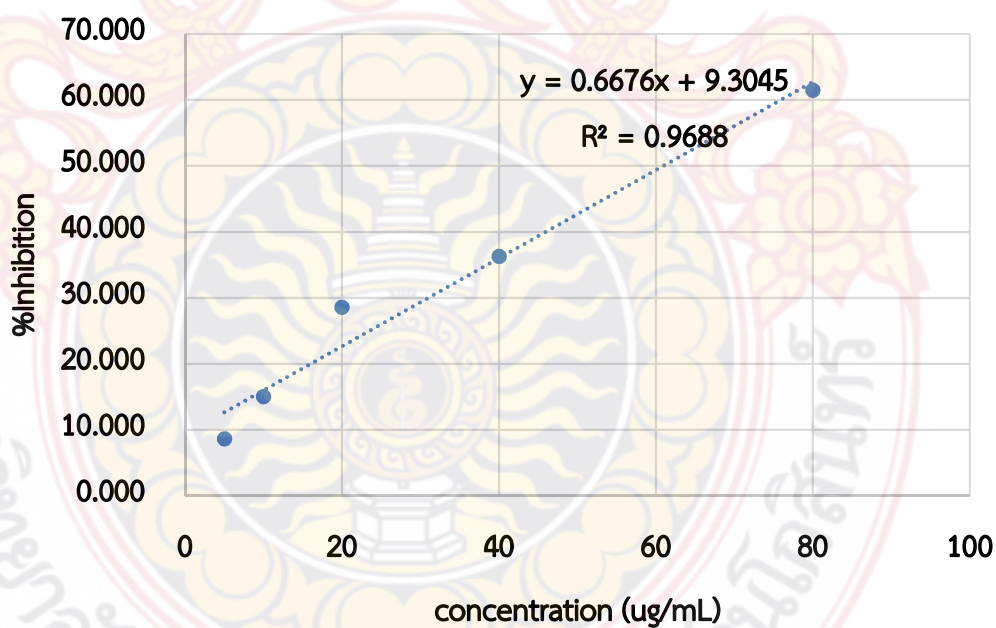


รูปที่ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 1)





รูปที่ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 2)



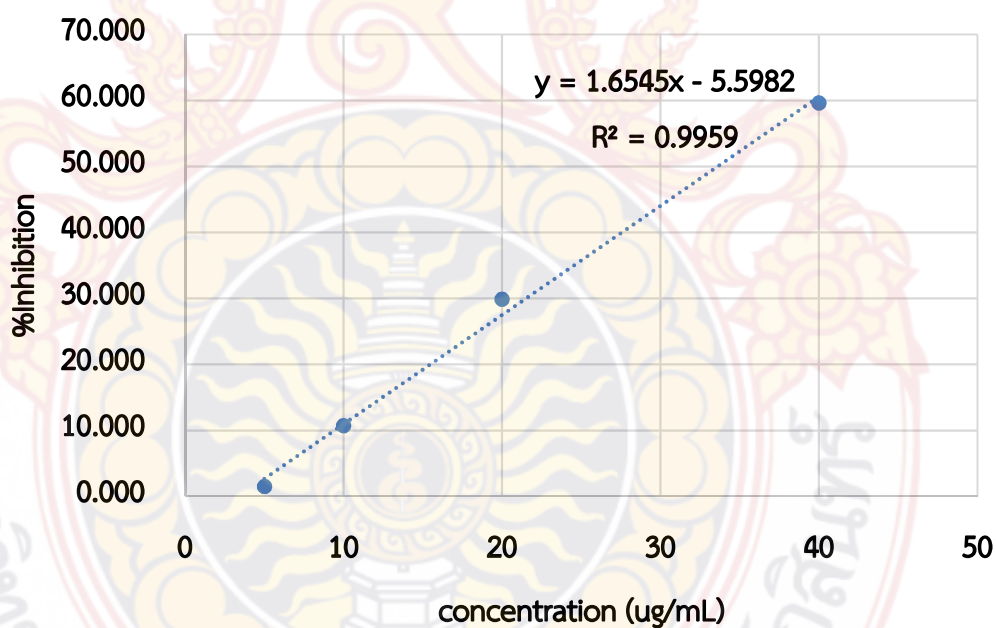
รูปที่ 36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR5 (ครั้งที่ 3)

#### 4.2.5 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR6

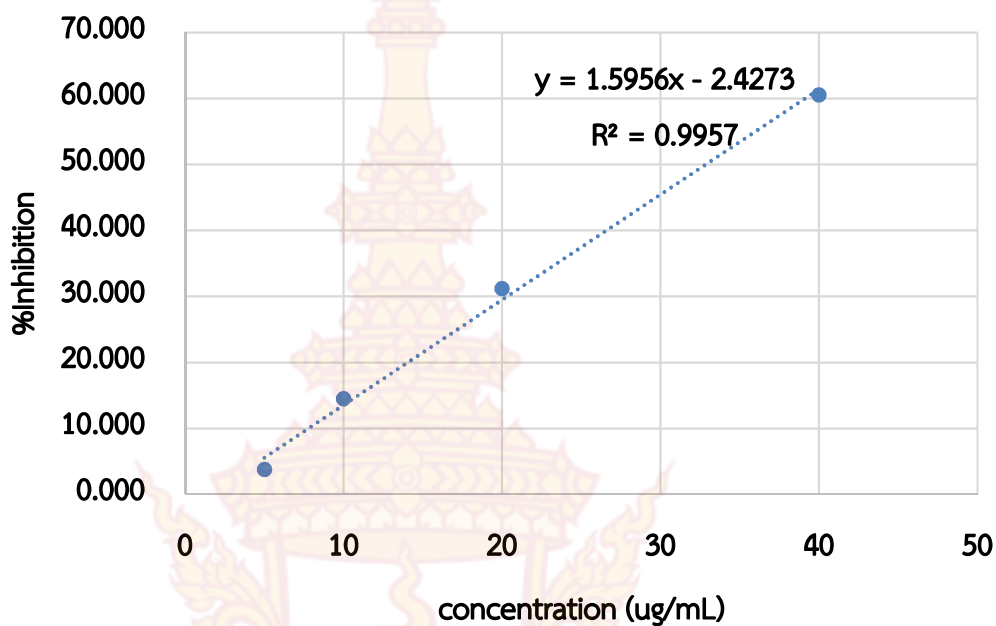
การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย FR6 แสดงในตารางที่ 13 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 37-39

ตารางที่ 13 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง FR6 ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

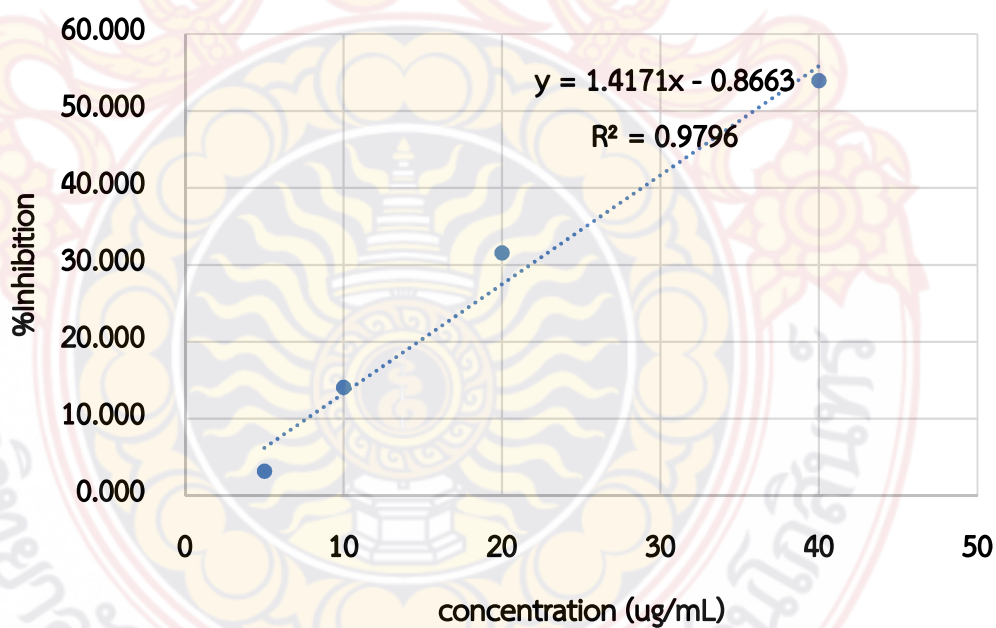
Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.532	0.030	0.554	0.542	0.545	1.504	3.759	3.195
10	0.532	0.026	0.501	0.481	0.483	10.714	14.474	14.098
20	0.532	0.050	0.423	0.416	0.414	29.887	31.203	31.579
40	0.532	0.087	0.302	0.297	0.332	59.586	60.526	53.947



รูปที่ 37 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 1)



รูปที่ 38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 2)



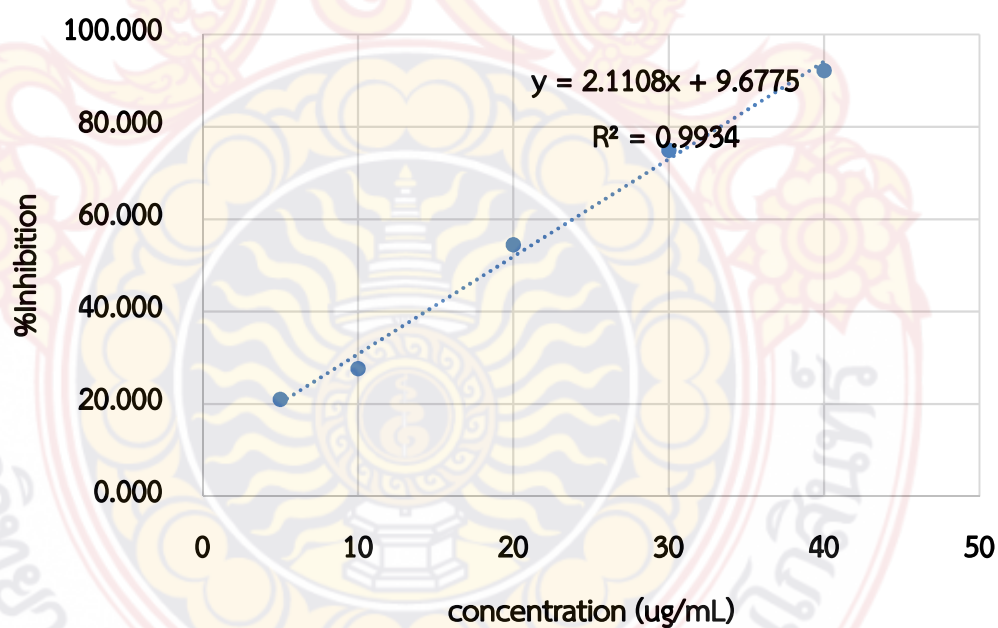
รูปที่ 39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ FR6 (ครั้งที่ 3)

#### 4.3.6 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย Trolox

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อย Trolox แสดงในตารางที่ 14 และ กราฟดังแสดงในรูปที่ 40-42

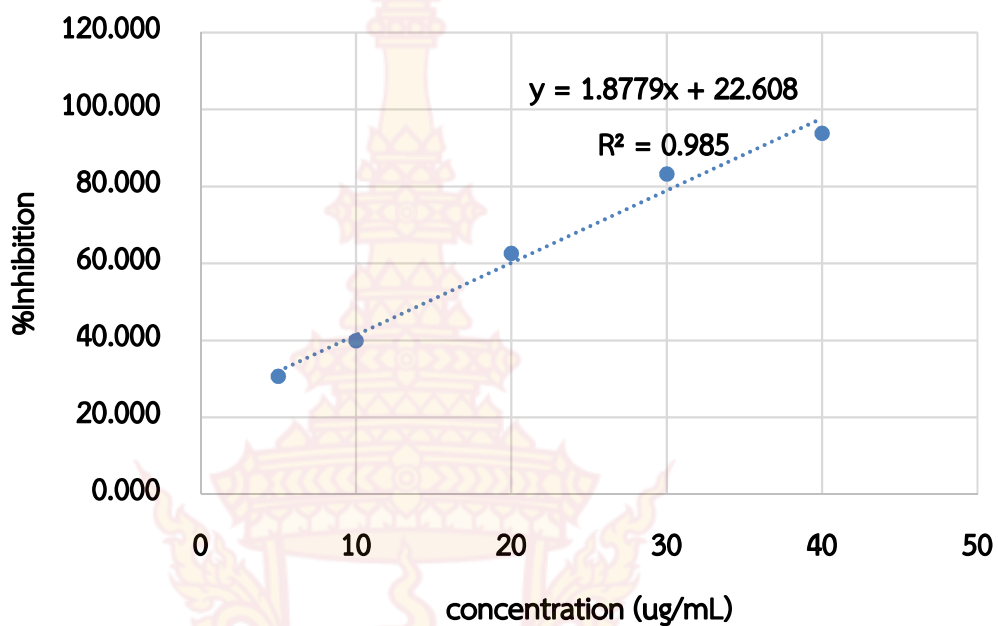
ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง Trolox ของการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระแบบ ABTS

Concentration (ug/mL)	$A_{\text{Blank}}$	$A_{\text{control}}$	$A_{\text{test sample}}$			%Inhibition		
			1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
5	0.597	0.049	0.521	0.463	0.484	20.938	30.653	27.136
10	0.597	0.046	0.478	0.405	0.416	27.638	39.866	38.023
20	0.597	0.043	0.315	0.266	0.290	54.439	62.647	58.626
30	0.597	0.040	0.190	0.140	0.149	74.874	83.250	81.742
40	0.597	0.042	0.089	0.079	0.066	92.127	93.802	95.980

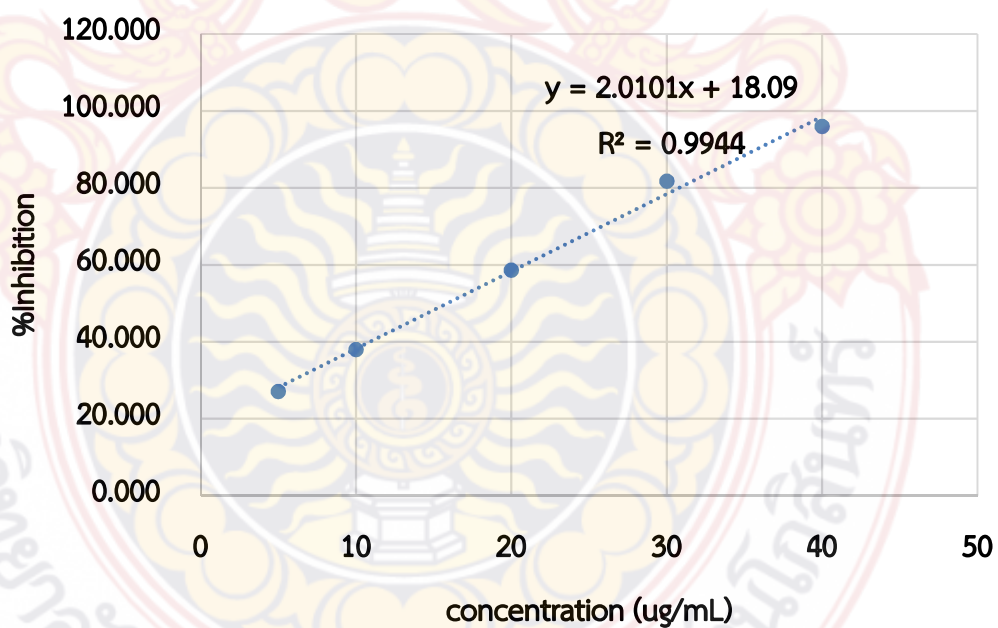


รูปที่ 40 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 1)





รูปที่ 41 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 2)



รูปที่ 42 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS ของส่วนสกัดย่อยที่ Trolox (ครั้งที่ 3)

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองแยกสารสกัดหยาบของเปลือกลำต้นของ *Garcinia Pedunculata* พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมทานอลมีปริมาณค่อนข้างสูงแต่เมื่อทำการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตจะได้สารสกัด ส่วนเอทิลอะซิเตตในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสำคัญที่อยู่ในส่วนเปลือกลำต้นของต้นส้มควายค่อนข้างมีความมีขี้ที่สูง จากนั้นนำสารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตตมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายอะซีโตนและเฮกเซนจะได้ส่วนสกัดย่อยทั้งหมด 6 ส่วน (FR1-FR6) และจากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH พบว่าส่วนสกัดย่อยส่วนเอทิลอะซิเตตของเปลือกลำต้นส้มควายมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 (Inhibitory Concentration; IC<sub>50</sub>) แสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงค่า IC<sub>50</sub> ของส่วนสกัดย่อยในการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ DPPH

ส่วนสกัดย่อย	IC <sub>50</sub> (ug/mL)
FR1	ND.
FR2	> 1,000
FR3	327.59 ± 32.13
FR4	34.95 ± 5.01
FR5	22.57 ± 2.57
FR6	10.59 ± 0.40
Trolox	5.08 ± 0.68

จากตารางที่ 15 จะเห็นได้ว่าการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH ของส่วนสกัดย่อยมีระดับการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย สำหรับส่วนสกัดย่อยที่ 1 (FR1) เป็นส่วนสกัดที่มีความมีขี้ค่อนข้างต่ำทำให้เกิดการตกตะกอนในระหว่างทำการทดสอบ จากผลการทดสอบจะเห็นได้ว่าระดับความมีขี้ของสารสกัดมีผลต่อการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH ในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (FR6) แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH ที่มากที่สุดที่ระดับ 10.59 ug/mL ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox (5.08 ug/mL)

เนื่องจากอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติมีอยู่ด้วยกันหลากหลายรูปแบบ กลไกในการยับยั้งอนุมูลอิสระก็จะมีความแตกต่างกันไปด้วย อนุมูลอิสระโดยเทคนิค ABTS<sup>•+</sup> ซึ่งมีความแตกต่างจาก

เทคนิค DPPH คือ DPPH radical scavenging assay ไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ เนื่องจาก DPPH ต้องละลายด้วยเอทานอล ซึ่งแตกต่างจาก ABTS<sup>•+</sup> ที่สามารถละลายได้ในน้ำ จึงสะดวกที่จะประยุกต์ใช้ในตัวอย่างที่มีการละลายน้ำหรืออยู่ในรูปของบัพเฟออร์ จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล ABTS<sup>•+</sup> ลดลงร้อยละ 50 (Inhibitory Concentration; IC<sub>50</sub>) แสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงค่า IC<sub>50</sub> ของส่วนสกัดย่อยในการยับยั้งอนุมูลอิสระแบบ ABTS<sup>•+</sup>

ส่วนสกัดย่อย	IC <sub>50</sub> (ug/mL)
FR1	ND.
FR2	747.17 ± 12.63
FR3	138.98 ± 12.62
FR4	33.81 ± 2.77
FR5	61.24 ± 1.34
FR6	34.12 ± 1.58
Trolox	16.52 ± 2.32

จากตารางที่ 16 จะเห็นได้ว่าการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค ABTS<sup>•+</sup> ของส่วนสกัดย่อยมีระดับการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย สำหรับส่วนสกัดย่อยที่ 1 (FR1) เป็นส่วนสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำทำให้เกิดการตกตะกอนในระหว่างทำการทดสอบ จากผลการทดสอบจะเห็นได้ว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค ABTS<sup>•+</sup> ในส่วนสกัดย่อยที่ 6 (FR6) แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยเทคนิค ABTS<sup>•+</sup> ที่มากที่สุดที่ระดับ 34.12 ug/mL ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox (16.52 ug/mL)

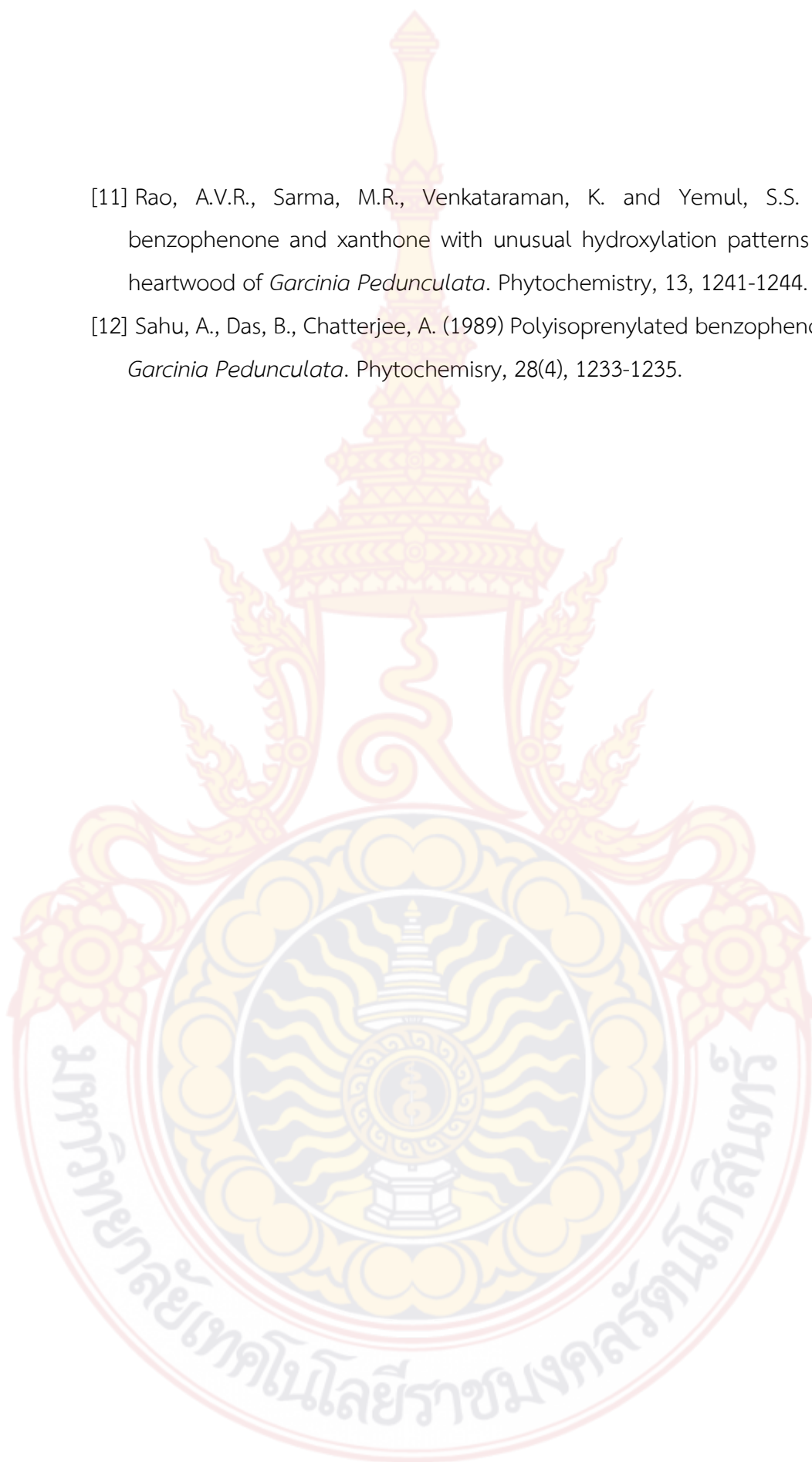
จากผลการยับยั้งค่าการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH และ ABTS<sup>•+</sup> แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส้มควายมีการอิทธิพลต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ผลการทดลองการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> ของสารสกัดนี้ให้ผลสอดคล้องกับวิธีการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จากผลการทดลองข้างต้นสารสกัดหยาบจากเปลือกลำต้นของส้มควายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ น่าจะสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและสปาได้

### บรรณานุกรม

- [1] Nuanyai, T. (2016) Development of mixed herbs shower gel toward the community product standard. *Area Based Development Research Journal*, 8(1), 42-61.
- [2] Chantree, K. (2015) Formulation of whitening Cosmetics from Lakoocha Extract. *SDU Research Journal Sciences and Technology*, 8(1), 1-24.
- [3] บุหรีน พันธุ์สุวรรณ. (2556) อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ: Free radicals, Antioxidants and Antioxidant activity Determination. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. ปีที่ 21 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม-กันยายน, 275.
- [4] Antolovich, M., Prenzler, P.D., Emilios, P., McDonald, S., Robards, K. (2002) Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127, 183-198.
- [5] Zegarac, J.P.-Z., Valek, L., Stipcevic, T., Martinez, S. (2010) Electrochemical determination of antioxidant capacity of fruit tea infusions. *Food Chemistry*. 121, 820-825.
- [6] Tan, W-N., Khairuddean, M., Wong, K.-C., Tong, W.-Y., Ibrahim, D. (2016) Antioxidant compounds from the stem bark of *Garcinia atroviridis*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 18(8), 804-811.
- [7] ไชมอน การ์ดเนอร์, พินดา สิทธิสุนทร และ ก่องกานดา ชยามฤต. (2558) ไม้ป่าภาคใต้ เล่มหนึ่ง. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน): โครงการจัดพิมพ์คบไฟ.
- [8] สุธีรา ถาวรรัตน์. (2558) รายงานชุดโครงการวิจัย เรื่อง วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนบน (Research and development on economic local crops in the upper southern). *กรมวิชาการเกษตร*, 104-120.
- [9] สโรชา ถึงสุข. (2558) รายงานโครงการวิจัย เรื่อง วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มแขกในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน (Research and development on Malabar Tamarind production technologies in the upper southern). *กรมวิชาการเกษตร*.
- [10] Islam, M.Z., Hoque, M.M., Asif-Ul-Alam, S.M. and Monalisa, K. (2015) Chemical composition, Antioxidant capacities and storage stability of *Citrus macroptera* and *Garcinia pedunculata* fruits. *Emir. J. Food Agric*, 27(3), 275-282.



- [11] Rao, A.V.R., Sarma, M.R., Venkataraman, K. and Yemul, S.S. (1974) A benzophenone and xanthone with unusual hydroxylation patterns from the heartwood of *Garcinia Pedunculata*. *Phytochemistry*, 13, 1241-1244.
- [12] Sahu, A., Das, B., Chatterjee, A. (1989) Polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia Pedunculata*. *Phytochemistry*, 28(4), 1233-1235.



## ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ - สกุล ดร.เบญจมาศ ไชยลาภ

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานที่สามารถติดต่อได้

คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล ถนนเพชรเกษม ตำบลหนองแก อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 77110

โทรศัพท์ 032-618-800 ต่อ 4812, โทรสาร 032-618-570,

โทรศัพท์มือถือ 089-659-5210,

e-mail: b\_amat@hotmail.com

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วท.ด.(เคมี) สาขาเคมี, “2555”

ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วท.บ.(เคมี) สาขาเคมี, “2548”

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ การต้านอนุมูลอิสระ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

- ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางของเปลือกลำต้นส้มแขก งบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ ระหว่าง ๑ ต.ค. ๒๕๖๐- ๓๐ ก.ย. ๒๕๖๑
- ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มแซนโทนโดยวิธีทางเคมีไฟฟ้า(ทุนวิจัยเงิน งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2559)

6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและทำเสร็จแล้ว:

- Nuanyai, T; Chailap, B.; Buakeaw, A.; Puthong, S. (2017). Cytotoxicity of clerodane diterpenoids from fresh ripe fruits of *Casearia grewiifolia*. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 39(4), (Accepted) (ทุนวิจัย

สกอ. ประจำปี 2558: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพรท้องถิ่นในเขตอำเภอหัวหิน)

- **Chailap, B.**; Nuanyai, T; Buakeaw, A.; Puthong, S. (2017). Chemical constituents of fruits and leaves of *Cratoxylum cochinchinense* and their cytotoxic activities. *Naresuan University Journal: Science and Technology*, 25(3), (Accepted) (ทุนวิจัยเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557: สารสกัดจากต้วเกลี้ยงที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง)

- Nuanyai, T.; **Chailap, B.**; Puthong, S.; and Buakeaw, A. (2015) Cytotoxicity of xanthone from twigs of *Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume. *Journal of Science Ladkrabang*, 24(2), 1-12 (ทุนวิจัยเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557: สารสกัดจากต้วเกลี้ยงที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง)

