รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาการแยกสารและโครงสร้างของสารจากพืชสมุนไพร

***Gynura auriculata* Cass. ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน**

Study on Isolation and Structural Elucidation of Active Compounds from

***Gynura auriculata* Cass. for Curing Diabetes**

โดย

ธวัลรัตน์ รัตนเดชานาคินทร์

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2555

รหัสโครงการวิจัย มจ. 1-53-014/54-003

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การศึกษาการแยกสารและโครงสร้างของสารจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน

Study on Isolation and Structural Elucidation of Active Compounds from *Gynura auriculata* Cass. for Curing Diabetes

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2554
จำนวน 150,000 บาท

หัวหน้าโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธวัลรัตน์ รัตนเดชานาคินทร์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

26 ธันวาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาการแยกสารและโครงสร้างของสารจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อุดหนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2554

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และสถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบคุณ Dr. Willard E. Collier และนางสาวรัตติกาล ติง ที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือจนทำให้การวิจัยในครั้งนี้ได้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

ท้ายที่สุดนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดาและมารดา และพี่ ๆ ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือสนับสนุน ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยจนทำให้งานวิจัยสำเร็จด้วยดี

ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง	**ข**
สารบัญภาพ	**ง**
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	7
ผลการวิจัย	19
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	53
เอกสารอ้างอิง	57

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Catechin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	20
ตารางที่ 2	ปริมาณของสาร Catechin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	21
ตารางที่ 3	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Catechin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	22
ตารางที่ 4	ปริมาณของสาร Catechin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	23
ตารางที่ 5	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Beta-carotein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	24
ตารางที่ 6	ปริมาณของสาร Beta-carotein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	25
ตารางที่ 7	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Beta-carotein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	26
ตารางที่ 8	ปริมาณของสาร Beta-carotein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	28
ตารางที่ 9	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Lutein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	29
ตารางที่ 10	ปริมาณของ Lutein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	30
ตารางที่ 11	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Lutein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	31
ตารางที่ 12	ปริมาณของ Lutein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	32
ตารางที่ 13	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	33
ตารางที่ 14	ปริมาณของสาร Zeaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	34
ตารางที่ 15	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	35
ตารางที่ 16	ปริมาณของสาร Zeaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	36
ตารางที่ 17	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	37
ตารางที่ 18	ปริมาณของสาร Astaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	38

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 19	ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	39
ตารางที่ 20	ปริมาณของสาร Astaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	40
ตารางที่ 21	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1	41
ตารางที่ 22	ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	42
ตารางที่ 23	ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/g W) ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	43
ตารางที่ 24	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2	44
ตารางที่ 25	ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	45
ตารางที่ 26	ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/g W) ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	46
ตารางที่ 27	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 1	47
ตารางที่ 28	ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (control) และสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	48
ตารางที่ 29	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)	49
ตารางที่ 30	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 2	50
ตารางที่ 31	ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (control) และสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	51
ตารางที่ 32	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)	52

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	กราฟมาตรฐาน Catechin ครั้งที่ 1	20
ภาพที่ 2	กราฟมาตรฐาน Catechin ครั้งที่ 2	22
ภาพที่ 3	กราฟมาตรฐาน Beta-carotein ครั้งที่ 1	24
ภาพที่ 4	กราฟมาตรฐาน Beta-carotein ครั้งที่ 2	27
ภาพที่ 5	กราฟมาตรฐาน Lutein ครั้งที่ 1	29
ภาพที่ 6	กราฟมาตรฐาน Lutein ครั้งที่ 2	31
ภาพที่ 7	กราฟมาตรฐาน Zeaxanthin ครั้งที่ 1	34
ภาพที่ 8	กราฟมาตรฐาน Zeaxanthin ครั้งที่ 2	35
ภาพที่ 9	กราฟมาตรฐาน Astaxanthin ครั้งที่ 1	37
ภาพที่ 10	กราฟมาตรฐาน Astaxanthin ครั้งที่ 2	39
ภาพที่ 11	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 760 นาโนเมตร)	41
ภาพที่ 12	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 760 นาโนเมตร)	44
ภาพที่ 13	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 515 นาโนเมตร)	48
ภาพที่ 14	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 515 นาโนเมตร)	51

การศึกษาการแยกสารและโครงสร้างของสารจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน

Study on Isolation and Structural Elucidation of Active Compounds from *Gynura auriculata* Cass. for Curing Diabetes

ธวัลรัตน์ รัตนเดชานาคินทร์

Thawalrat Ratanadachanakin

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

.....

บทคัดย่อ

พืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และมีสรรพคุณในการลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานได้เป็นอย่างดี งานวิจัยครั้งนี้เราได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสี่ชนิด ตัวอย่างที่ 1.1 ประกอบด้วยใบและส่วนยอดสด ตัวอย่างที่ 1.2 คือ ใบและส่วนยอดอบแห้ง ตัวอย่างที่ 2.1 คือ ใบสดอย่างเดียว และ ตัวอย่างที่ 2.2 คือ ใบอบแห้งอย่างเดียว เราใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้ UV-vis diode-array detector ในการแยกสารสำคัญจากตัวอย่างทั้งสี่ เวลารีเทนชัน (retention time) ของสารมาตรฐานถูกใช้ในการวิเคราะห์สารสำคัญ จากผลการทดลอง พบสาร Catechin ในตัวอย่างที่ 1.1, ตัวอย่างที่ 1.2, ตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2 เท่ากับ 12.59, 166.77, 12.60, และ 277.90 mg/kg ตามลำดับ พบสาร Lutein ในตัวอย่างที่ 1.1, ตัวอย่างที่ 1.2, ตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2 เท่ากับ 28.50, 9.47, 6.60, และ 3.65 mg/kg ตามลำดับ พบสาร Beta-carotene ในตัวอย่างที่ 1.1, ตัวอย่างที่ 1.2, ตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2 เท่ากับ 2.76, 3.94, 6.09, และ 2.85 mg/kg ตามลำดับ ไม่พบปริมาณสาร Zeaxanthin ในตัวอย่างทั้งสี่ พบสาร Astaxanthin ในตัวอย่างที่ 1.1 และ ตัวอย่างที่ 1.2 เท่ากับ 47.96 และ 66.86 mg/kg ตามลำดับ แต่เราไม่พบสารดังกล่าวในตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2

นอกจากนั้น ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent ในตัวอย่างที่ 1.1, ตัวอย่างที่ 1.2, ตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2 เท่ากับ 2.21, 2.23, 23.98 และ 26.03 มิลลิกรัม GAE ต่อผัก 1 กรัม ตามลำดับ และหาเปอร์เซ็นต์การ

ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของในตัวอย่างที่ 1.1, ตัวอย่างที่ 1.2, ตัวอย่างที่ 2.1 และตัวอย่างที่ 2.2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.80, 16.63, 68.17, และ 59.79 ตามลำดับ

คำสำคัญ: *Gynura auriculata* Cass., โรคเบาหวาน คาเทชิน ลูทีน เบต้าแคโรทีน ซีแซนทีน แอสต้าแซนทีน เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช สารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent สารต้านออกซิเดชัน

Abstract

Gynura auriculata Cass. has been shown to reduce blood sugar in patients. In this research, we studied the active compounds in four samples of *Gynura auriculata* Cass. Sample 1.1 consisted of fresh leaves and stems, sample 1.2 was dry leaves and stems, sample 2.1 was fresh leaves only, and sample 2.2 was dry leaves only. We used high performance liquid chromatography (HPLC) with a UV-vis diode-array detector to separate the active compounds from the four samples. Retention times of standard samples were used to identify the compounds. Catechin was found in sample 1.1, sample 1.2, sample 2.1, and sample 2.2 with concentrations of 12.59, 166.77, 12.60, and 277.90 mg/kg, respectively. Lutein was found in sample 1.1, sample 1.2, sample 2.1, and sample 2.2 with concentrations of 28.50, 9.47, 6.60, and 3.65 mg/kg, respectively. Beta-carotene was found in sample 1.1, sample 1.2, sample 2.1, and sample 2.2 with concentrations of 2.76, 3.94, 6.09, and 2.85 mg/kg, respectively. We did not find Zeaxanthin in all four samples. Astaxanthin was found in sample 1.1 and sample 1.2 with concentrations of 47.96 and 66.86 mg/kg, respectively but we did not find Astaxanthin in sample 2.1 and sample 2.2.

Furthermore, in this research, we also found total phenolic compounds using Folin-Ciocalteu's reagent in sample 1.1, sample 1.2, sample 2.1, and sample 2.2 with concentrations of 2.21, 2.23, 23.98, and 26.03 mg GAE /sample 1 g, respectively. We found the percent of DPPH radical scavenging activities in sample 1.1, sample 1.2, sample 2.1, and sample 2.2 are 15.80%, 16.63%, 68.17%, and 59.79 %, respectively.

Key words: *Gynura auriculata* Cass., Diabetes, Catechin, Lutein, Beta-carotene, Zeaxanthin, Astaxanthin, DPPH radical scavenging activity, Total Phenolic compounds using Folin-Ciocalteu's Reagent, Antioxidant

คำนำ

โรคเบาหวาน [1] เป็นโรคเรื้อรัง และเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ ไม่เลือกเพศ ไม่เลือกวัย โรคเบาหวานเกิดจากต่อมที่ตับอ่อนทำงานหลั่งอินซูลินออกมาไม่ปกติ มีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากกว่าปกติ ปัญหาของโรคเบาหวานก็คือ 1. ชาวไทยส่วนใหญ่ยังขาดความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน จึงไม่ได้ให้ความสำคัญต่อโรคดังกล่าว ซึ่งอาจทำให้บางคนพบจุดจบอย่างน่าเศร้าใจก็คือ ถึงขั้นต้องถูกแพทย์ตัดแขนและขาออก เพราะว่าเซลล์ผิวหนังตาย ต้องเสียชีวิตก่อนวัยอันควร หรือผู้ป่วยบางคนได้สูญเสียการมองเห็นตลอดชีวิต 2. ผู้ป่วยที่มีภาวะน้ำตาลสูงเป็นเวลานานๆ ทำให้เกิดการเสื่อมของอวัยวะต่างๆ เช่น ตา หัวใจ ไต เส้นประสาท และเส้นเลือด ฯลฯ จากการศึกษาพบว่าอาการแทรกซ้อนทางไตประมาณ 35% เกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมานานประมาณ 10 ปี ซึ่งจะตรวจพบภาวะไตวายในระยะเริ่มต้น และถ้าผู้ป่วยยังคงไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกวิธีต่อไปอีกประมาณ 5 ปี จะพบภาวะไตวายในระยะสุดท้าย [2,3] นอกจากนี้โรคเบาหวานยังเป็นสาเหตุก่อให้เกิดอาการแทรกซ้อนและเรื้อรังอีกหลายโรค เช่น หลอดเลือดหัวใจตีบ ความดันโลหิตสูง โรคทางสมอง อัมพาต และโรคเสื่อมทางสมรรถภาพทางเพศ ฯลฯ

ศ.นพ.เทพ หิมะทองคำ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้รายงานว่าโลกมีผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่เกิดจากร่างกายไม่ตอบสนองต่ออินซูลินอย่างเหมาะสมประมาณ 190 ล้านคน สำหรับประเทศไทยจำนวนของผู้ป่วยเบาหวานชนิดดังกล่าวมีประมาณ 1 ล้านคน [2]

สมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวานตามตำหรับยาแผนโบราณนั้นถูกบันทึกไว้มากมาย [5,6] สมุนไพรที่จะทำการศึกษาในโครงการฯนี้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gynura auriculata* Cass. หรือ *Gynura divaricata* DC. วงศ์ ASTERACEAE (COMPOSITAE) มีชื่อสามัญคือ Purple velvel plant และ Purple passion vine [4] เป็นพืชสมุนไพรที่มาจากประเทศจีน ถูกนำมาปลูกในประเทศไทย หรือมีชื่อที่รู้จักกันเรียกว่า “จินจี่เหมาเยี่ย” หรือ “ยาเทวดา” เนื่องมาจากมีสรรพคุณทางด้านการรักษาหลายโรค อาทิเช่น โรคเบาหวาน โรคความดันเลือดสูง และโรคหัวใจที่เกิดจากเส้นเลือดอุดตัน เป็นต้น [7] พืชสมุนไพรดังกล่าวขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ด้วยวิธีการปักชำกิ่งหรือตอนกิ่งการปลูกขึ้นได้ในดินทั่วไป ชอบแดด ไม่ชอบน้ำท่วมขัง ปลูกเป็นทั้งไม้ประดับและไม้สมุนไพร ทำให้มีแพร่หลายทั่วไปในหมู่ผู้ชอบพืชสมุนไพร

สมุนไพรที่มีศักยภาพในการลดน้ำตาลในเลือดจึงควรมีการส่งเสริมการศึกษาวิจัยทางเคมีเพื่อนำผลจากการศึกษามาสนับสนุนการใช้สมุนไพรทดแทนยาแผนปัจจุบัน สมุนไพรจะเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคเบาหวาน และเป็นการส่งเสริมให้ผู้ป่วยสามารถพึ่งพาตนเอง

งานวิจัยที่นำเสนอเพื่อขอรับเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2551-2553) อีกทั้งยังสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การวิจัย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (พ.ศ. 2551-2553) ในกลยุทธ์การวิจัยที่ 4 เรื่องการพัฒนาและการคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน การแพทย์ทางเลือก และสมุนไพร ซึ่งมีแผนงานวิจัยดังนี้ 1. การวิจัยเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือก เพื่อสร้างองค์ความรู้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นและการคุ้มครองภูมิปัญญา 2. การวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และสาธารณสุข

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สาร Catechin, สาร Lutein, สาร Beta-carotene, สาร Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสี่ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างใบและส่วนยอดสด ตัวอย่างใบและส่วนยอดอบแห้ง ตัวอย่างใบสดอย่างเดียว และ ตัวอย่างใบอบแห้งอย่างเดียว
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สาร Catechin, สาร Lutein, สาร Beta-carotene, สาร Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสี่ตัวอย่าง
3. เพื่อศึกษาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสี่ตัวอย่าง
4. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (Folin-Ciocalteu's reagent) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสี่ตัวอย่าง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบว่าสารสำคัญที่พบในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ประกอบด้วยสารอะไรบ้าง และทำให้ทราบปริมาณของสารสำคัญดังกล่าว
2. สามารถทราบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช
3. สามารถทราบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (Folin-Ciocalteu's reagent)
4. จากผลการวิจัยทำให้สามารถนำมาเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ และสาธารณสุขต่อไปในอนาคต

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พืชสมุนไพรมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gynura auriculata* Cass. หรือ *Gynura divaricata* DC. วงศ์ ASTERACEAE (COMPOSITAE) มีชื่อสามัญคือ Purple velvel plant และ Purple passion vine [4] เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และมีสรรพคุณในการลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานได้เป็นอย่างดี

ในปี ค.ศ. 1996 พบว่า *Gynura auriculata* Cass. มีสารอัลคาลอยด์ที่เป็นพิษและก่อให้เกิดโรคมะเร็งอยู่ 2 ชนิด [8,9] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบกรดอะมิโนที่จำเป็น [10] พบสารอัลเคนแอลกอฮอล์ กรดไขมัน และ เอสเทอร์ ฯลฯ [11,12] อยู่ใน *Gynura auriculata* Cass. นอกจากนั้นยังมีการตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ใน *Gynura auriculata* Cass. โดยใช้สารรูตินเป็นสารมาตรฐาน แต่ไม่มีการรายงานเกี่ยวกับโครงสร้างของสารฟลาโวนอยด์นั้น [13] ในปี ค.ศ. 2005 ได้มีการรายงานเกี่ยวกับ *Gynura auriculata* Cass. ว่ามีปริมาณสารไนไตร์อยู่ในระดับที่สามารถกินสมุนไพรนี้ได้ [14] ต่อมาในปีเดียวกันและนักวิจัยกลุ่มเดียวกันได้รายงานว่าสารไนไตร์ที่พบใน *Gynura auriculata* Cass. มีปริมาณสารไนไตร์อยู่ในระดับสูงซึ่งไม่สามารถกินสมุนไพรนี้ได้ [15] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบโลหะหนักตะกั่ว อยู่ในระดับสูงกว่าสารมาตรฐาน [16]

ในปี ค.ศ. 2002 ได้มีการศึกษา *Gynura auriculata* Cass. โดยนำใบของ *Gynura auriculata* Cass. มาสกัดด้วย *n*-butanol แล้วนำส่วนสกัดที่ได้มาทดสอบกับหนู พบว่าในส่วนสกัดดังกล่าวสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดหนูได้ และไม่มีผลข้างเคียงอย่างเป็นนัยสำคัญกับหนู [17,18] อย่างไรก็ตามจากการได้ค้นคว้ายังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสารที่พบในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. เก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ เรานำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมเป็นตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง คือ 1. ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 2. ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง 3. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 4. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ในงานวิจัยครั้งนี้ เราใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารสำคัญ ได้แก่ สาร Catechin สาร Lutein สาร Beta-carotene สาร Zeaxanthin และ สาร Astaxanthin

นอกจากนั้น ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษา การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) และ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent

เราได้วางแผนทำการทดลองดังนี้คือ เราแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกัน คือ

ครั้งที่ 1 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 1.1 ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 1.2 ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ครั้งที่ 2 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสารสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 2.1 ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 2.2 ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

การหาปริมาณของสาร Catechin [25]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)
2	Diode array detector (DAD)
3	เครื่องกลั่นสุญญากาศแบบหมุน
4	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
5	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
6	ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 0.1, 5, 10 และ 20 mL
7	Nylon Filter Membrane ขนาด 0.45 ไมครอน
8	บีกเกอร์พลาสติก (Plastic Beaker) ขนาด 100 mL
9	ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 125 mL
10	ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 10, 50 และ 100 mL
11	จุกยาง (Stopper) สำหรับปิดปากขวดรูปชมพู่
12	กระบอกฉีดยา (Syringe)
13	Dropper

สารเคมี

	สารเคมี
1	Methanol , CH_3OH , A.R. Grade
2	catechin, HPLC Grade

วิธีการวิจัย

วิธีการสกัดสารตัวอย่าง และการวิเคราะห์สารประกอบคาเทชิน

1. ทำการสกัดสารตัวอย่าง โดยวิธีการรีฟลักซ์ (Reflux extraction) โดยใช้ตัวทำละลาย 100% เมทานอล 100 มิลลิลิตร ทำการรีฟลักซ์ต่อเนื่องเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ทำการแยกตะกอนทิ้ง ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารที่สกัดได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องกลั่นสูญญากาศแบบหมุน นำ crude ที่ได้มาละลายด้วยเมทานอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร
2. นำสารละลายจากข้อ 1 มาฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบคาเทชิน รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบคาเทชินเป็นมิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

การวิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	C18 ; 5 µm, 4.6x250 mm
ประเภทของเครื่องตรวจวัด	UV-Visible Detector
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	210 นาโนเมตร (nm)
อุณหภูมิที่ทดสอบ	25 องศาเซลเซียส ± 1 องศาเซลเซียส
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	10 ไมโครลิตร (µL)
อัตราการไหล	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (mL/min)
ระยะเวลาในการฉีด	10 นาที
เวลารีเทนชันของ คาเทชิน	2.584 นาที (min)
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	Methanol:น้ำ (80:20)

การคำนวณ

สามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

สารคาเทชิน Content in sample

A = [C×V×F]/[W]

A = catechin content (mg/ผัก 1 g)

C = Amount of catechin content from standard curve (μg/mL)

V = sample volume before diluted (mL) = 10 mL

F = dilution factor = 1 จำนวนเท่า

W = sample weight (g)

การหาปริมาณของสาร Lutein, Beta-carotene, Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin [26]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)
2	UV-Visible Detector
3	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
5	คอลัมน์ (Column) ขนาด 5 ไมครอน ความยาว 0.46 µm x25 cm
6	บีกเกอร์พลาสติก (Plastic Beaker) ขนาด 100 mL
7	ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 125 mL
8	ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 50 และ 100 mL
9	กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาด 5 มิลลิลิตร
10	ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 2 , 5 , 10 และ 20 mL
11	Nylon Filter Membrane ขนาด 0.45 ไมครอน

สารเคมี

	สารเคมี
1	Acetone, C_3H_6O, A.R. Grade
2	Chloroform, $CHCl_3$, A.R. Grade
3	Methanol, CH_3OH, A.R. Grade
4	β-carotene, A.R. Grade
5	Lutien, A.R. Grade
6	Zeaxanthin, A.R. Grade
7	Astazanthin, A.R. Grade

วิธีการวิจัย

การหาปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ ได้แก่ สาร Lutein, Beta-carotene, Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin เป็นต้น จากตัวอย่างทั้งสี่ชนิดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. โดยมีวิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการสกัดตัวอย่าง ดังต่อไปนี้

1. เตรียมสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สาร Lutein, Beta-carotene, Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin ที่ความเข้มข้นดังนี้ 0.5, 5, 10, 20, 40 พีพีเอ็ม
2. บดตัวอย่าง และชั่งน้ำหนัก 3.00xx กรัม แล้วทำการสกัดสารแคโรทีนอยด์ ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ อะซิโตน ครั้งละ 5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงเก็บส่วนสารสกัดไว้ และสกัดซ้ำด้วยอะซิโตน 3-4 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายข้อ มา 2ระเหยเอาอะซิโตนออกไป ด้วยการพ่นก๊าซไนโตรเจน นำสารส่วนที่สกัดได้มาละลายด้วยตัวทำละลายอะซิโตนและปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน

การวิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	C18 ; 5 µm, 4.6x250 mm
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	Chloroform:Methanol (80:20)
อัตราการไหล	1.0 mL/min
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	10 ไมโครลิตร (µL)
ประเภทของเครื่องตรวจวัด	UV-Visible Detector
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	456 นาโนเมตร
ระยะเวลาในการวิเคราะห์ทั้งสิ้น	25 นาที
เวลารีเทนชันของ Lutein	6.780 นาที
เวลารีเทนชันของ Beta-carotene	17.170 นาที
เวลารีเทนชันของ Zeaxanthin	10.967นาที
เวลารีเทนชันของ Astaxanthin	7.789 นาที

การคำนวณ

Carotenoid content in sample

A = [C×V×F]/[W]

A = carotenoid content (mg/kg) = (µg/g)

C = amount of carotenoid content from standard curve (µg/mL)

V = sample volume before diluted (mL) = 1 มิลลิลิตร

F = dilution factor = 1 จำนวนเท่า

W = sample weight (g) = 3 กรัม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent และ การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) [27]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	UV-VIS Spectrophotometer
2	Rotary evaporator
3	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
5	ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 50 และ 100 mL
6	volumetric flask 100, 10, 25 mL.
7	ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 2 , 5 , 10 และ 20 mL

สารเคมี

	สารเคมี
1	Methanol , CH_3OH, AR Grade
2	Gallic acid, $C_7H_6O_5$, A.R. Grade
11	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$, (DPPH)
12	Folin-Ciocalteu´s phenol reagent, $3H_2O.P_2O_5.13WO_3.5MoO_3.10H_2O$ และ $3H_2O.P_2O_5.13W_2O_5.5\ Mo_2O_5.10H_2O$
13	Sodium carbonate anhydrous, Na_2CO_3
14	น้ำอัลตร้าเพียว, H_2O

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม (Stock solution)

ชั่งกรดแกลลิก (assay 98%) 0.1020 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม

1.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม (Intermediate solution)

ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกจากข้อ 1.1 มา 5.00 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

1.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (Working standard solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 10, 20, 40 และ 60 พีพีเอ็ม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายกรดแกลลิก จากข้อ 1.1 มา 0.1, 0.2, 0.4, และ 0.6 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายของกรดแกลลิกเข้มข้น 10, 20, 40 และ 60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

1.4 สารละลาย DPPH$^{\cdot}$ เข้มข้น 6.5×10^{-5} M

ชั่ง DPPH$^{\cdot}$ มา 0.0030 กรัม ละลายในเมทานอล ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. วิธีการสกัดสารตัวอย่าง

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent (Total phenolics content by Folin-Ciocalteu's reagent) และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical)

2.1 ทำการสกัดสารตัวอย่าง โดยวิธีการรีฟลักซ์ (Reflux extraction) ใช้ตัวทำละลาย 100% เมทานอล 200 มิลลิลิตร ทำการรีฟลักซ์ต่อเนื่องเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำสารตัวอย่างที่สกัดได้ไปกรอง ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ทำการแยกตะกอนทิ้งไป นำสารละลายที่สกัดไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกลั่นสุญญากาศแบบหมุน นำ crude ที่ได้มาละลายด้วยเมทานอลและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร นำสารสกัด ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบเท่าปริมาณกรดแกลลิกต่อน้ำหนักของตัวอย่าง 1 กรัม (milligram gallic acid equivalent per gram dried weight, mgGAE/g DW) เพื่อหาตัวสกัดที่สกัดสารประกอบฟีนอลิกรวม ได้ปริมาณมากที่สุด (พิจารณาจากค่า mgGAE/g DW ถ้าค่ามาก แสดงว่ามีสารประกอบฟีนอลิกรวมปริมาณสูง

3. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent (Total phenolics content by Folin-Ciocalteu's reagent)

3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ข้อ 1.3

ก. นำสารละลายกรดแกลลิก 10.00 พีพีเอ็ม 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลางจำนวน 3 หลอด และเติมสารลงในแต่ละหลอดตามลำดับดังนี้

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu 10% (v/v) 2.50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที
2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.15% (w/v) 1.00 มิลลิลิตร

ข. นำสารละลายจากข้อ ก อุ่นที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินาน 30 นาที

ค. ปิเปตสารละลายในหลอดทดลอง หลอดละ 1.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

ง. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760})

จ. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้นอื่น ๆ ทำการตรวจวัดการดูดกลืนแสงในทำนองเดียวกัน (ก-ง)

ฉ. สร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยและความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.2 การทดสอบสารตัวอย่าง

ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2 มาปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล (เจือจาง 100 เท่า) แล้วนำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.1 โดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกในข้อ ก เป็นสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิด และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัด รายงานผลเป็นมิลลิกรัม ของสารประกอบฟีนอลลิกรวมต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากสมการ y = 0.0161x – 0.0347 แทนค่า y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ที่ได้จากการทดลอง เพื่อหาค่า x คือ ค่า C นั่นเอง ต่อจากนั้นนำค่าต่าง ๆ ที่ได้ไปแทนค่าในสมการ $A = [C \times V \times F]/[W] \times [1\ L / 1000\ mL]$ เพื่อหาค่า A

Total phenolic compounds content in sample

$A = [C \times V \times F]/[W] \times [1\ L / 1000\ mL]$

A = total phenolic compounds content (mg/ ผัก 1 g)

C = concentration of total phenolic compounds from standard curve (mg/L)

V = sample volume before diluted (mL) = 10 mL

F = dilution factor = 100 จำนวนเท่า

W = sample weight (g)

4. ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical)

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity)

ก. นำสารละลาย $DPPH^{\cdot}$ จากข้อ 1.4 ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง หลอดละ 3.00 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด

ข. ใส่สารละลายกรดแกลลิก 10 พีพีเอ็ม หลอดละ 0.30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ค. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (A_{515}) โดยที่

1. ใช้เมทานอล เป็นสารละลายแบงค์ (blank)
2. ใช้เมทานอลผสมกับสารละลาย $DPPH^{\cdot}$ อย่างละ 3 มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุม

ง. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้นอื่น ๆ (20, 30, 40, 60, และ 80 พีพีเอ็ม) ทำการทดลองวิธีเดียวกัน (ก-ค)

จ. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity) จากค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย(A_{sample}) โดยคิดเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (A_{ctrl}) ดังสมการข้างล่างนี้

$$\%\text{DPPH radical scavenging activity} = \left(\frac{A_{ctrl} - A_{sample}}{A_{ctrl}}\right)100$$

การทดสอบสารตัวอย่าง

ก. นำสารละลาย DPPH$^{\bullet}$ จากข้อ 1.4 ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง หลอดละ 3.00 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด

ข. ใส่สารละลายสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2 (เจือจาง 100 เท่า) หลอดละ 0.30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ค. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (A_{515}) โดยที่

1. ใช้เมทานอล เป็นสารละลายแบงค์ (blank)
2. ใช้เมทานอลผสมกับสารละลาย DPPH$^{\bullet}$ อย่างละ 3 มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุม

ง. สารละลายตัวอย่างชนิดอื่น ๆ ทำการทดลองวิธีเดียวกัน (ก-ค)

จ. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity) จากค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (A_{sample}) โดยคิดเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม, (A_{ctrl}) ดังสมการ 2.2

ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานตลอดโครงการฯ 1 ปี
(เป็นโครงงานวิจัยต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 ปี)

สถานที่ดำเนินงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย
สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสารสำคัญจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ซึ่งเก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง คือ 1. ใบและยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 2. ใบและยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง 3. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 4. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ในงานวิจัยครั้งนี้ เราใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารสำคัญ ได้แก่ สาร Catechin สาร Lutein สาร Beta-carotene สาร Zeaxanthin และสาร Astaxanthin

นอกจากนั้น ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษา การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) โดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (A_{515}) และ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent และใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760})

เราได้วางแผนทำการทดลองดังนี้คือ เราแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกัน คือ

เราได้วางแผนทำการทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกัน คือ

ครั้งที่ 1 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่าง คือ

ตัวอย่างที่ 1.1 ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 1.2 ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ครั้งที่ 2 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสารสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่าง คือ

ตัวอย่างที่ 2.1 ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 2.2 ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

การหาปริมาณสาร Catechin ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร Catechin ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานสาร Catechin ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 5.0000 กรัม

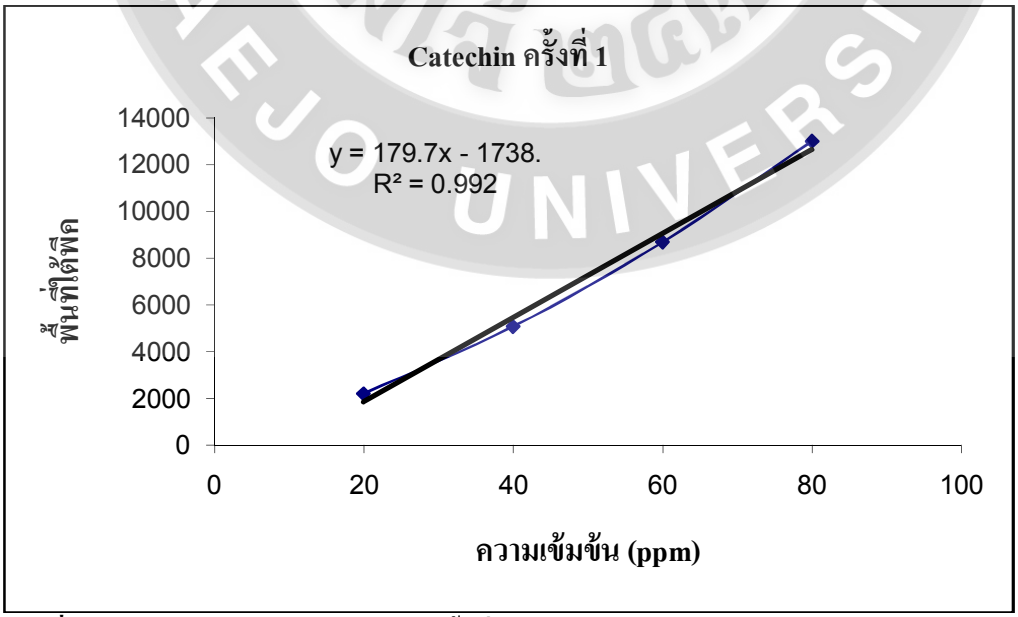
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสาร Catechin เข้มข้น 20, 40, 60, และ 80 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารมาตรฐาน Catechin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Catechin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สาร Catechin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
20	2218.40
40	5082.30
60	8691.00
80	12996.00

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 179.71x – 1738.5



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานสาร Catechin ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 210 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Catechin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Catechin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานสาร Catechin (ภาพที่ 1) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Catechin รายงานผลปริมาณสาร Catechin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 2

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Catechin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 2.609 นาที และ 2.613 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Catechin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.59 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Catechin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 2.582 นาที และ 2.581 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Catechin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 166.77 mg/kg

ตารางที่ 2 ปริมาณของสาร Catechin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Catechin	5.0000	12.59	5.0000	166.77	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Catechin ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสาร Catechin ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Catechin ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

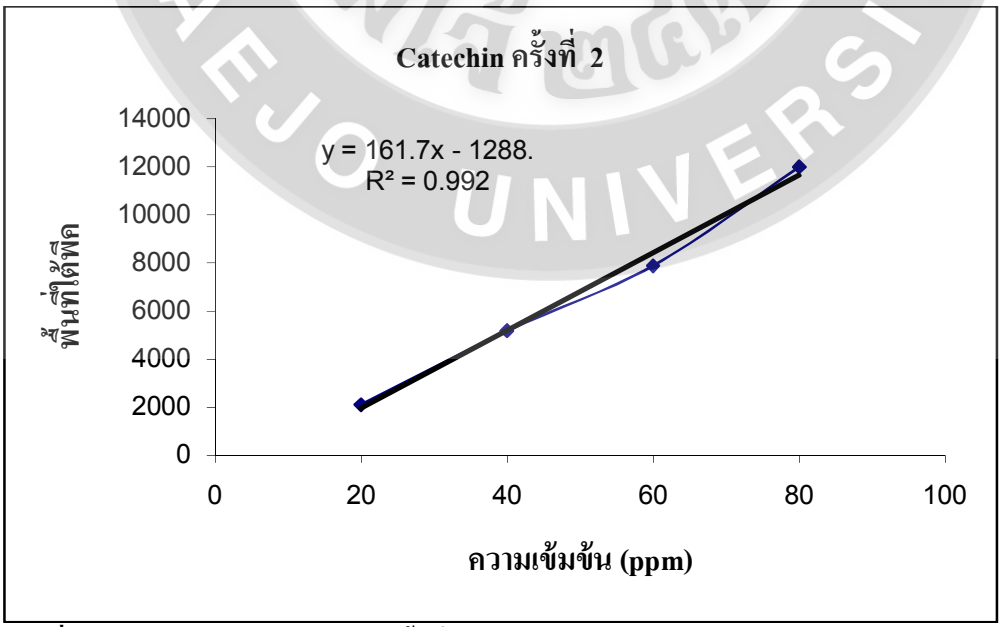
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Catechin เข้มข้น 20, 40, 60, และ 80 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Catechin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Catechin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สาร Catechin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
20	2118.40
40	5182.30
60	7891.00
80	11996.00

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 161.71x – 1288.5



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐาน Catechin ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 210 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Catechin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Catechin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Catechin (ภาพที่ 2) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Catechin รายงานผลปริมาณสาร Catechin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 4

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Catechin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 2.609 นาที และ 2.613 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Catechin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.6 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Catechin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 2.582 นาที และ 2.581 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Catechin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 277.9 mg/kg

ตารางที่ 4 ปริมาณของสาร Catechin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Catechin	5.0000	12.60	3.0000	277.90	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Beta-carotene ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร Beta-carotene ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน แอลฟา-โทโคฟีรอล ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

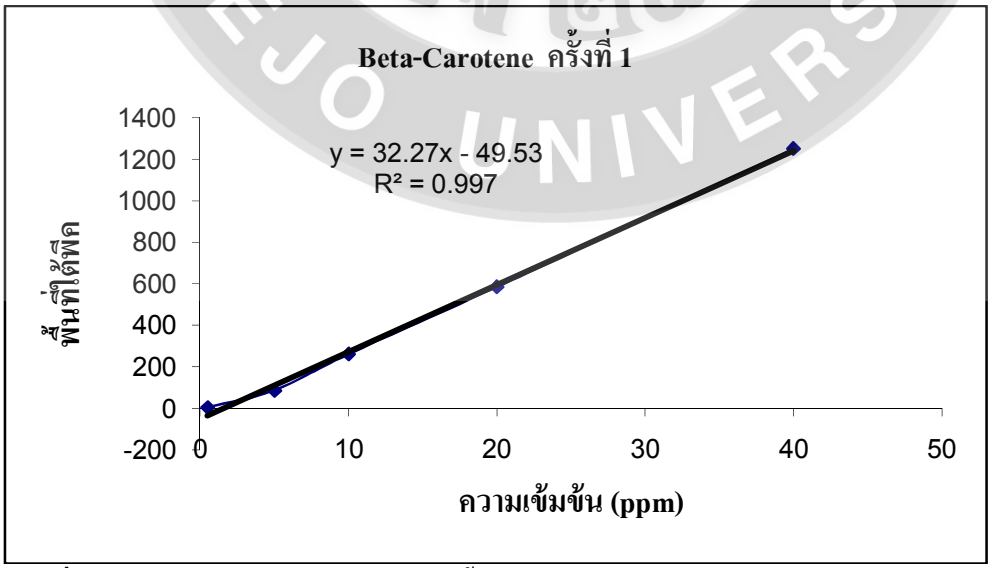
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Beta-carotene เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20, 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Beta-carotene ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3

ตารางที่ 5 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Beta-carotene ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ครั้งที่ 1	
สาร Beta-carotene	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	4.10
5	85.80
10	261.30
20	585.30
40	1252.5

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 32.274x - 49.534$



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐาน Beta-carotene ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Beta-carotene ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Beta-carotene โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Beta-carotene (ภาพที่ 3) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Beta-carotene รายงานผลปริมาณสาร Beta-carotene ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 3.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 6

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Beta-carotene จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 17.115 นาที และ 17.092 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Beta-carotene ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.76 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Beta-carotene จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 17.170 นาที และ 17.114 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Beta-carotene ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.94 mg/kg

ตารางที่ 6 ปริมาณของสาร Beta-carotene ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Beta-Carotene	3.0000	2.76	3.0000	3.94	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Beta-carotene ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสาร Beta-carotene ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Beta-carotene ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

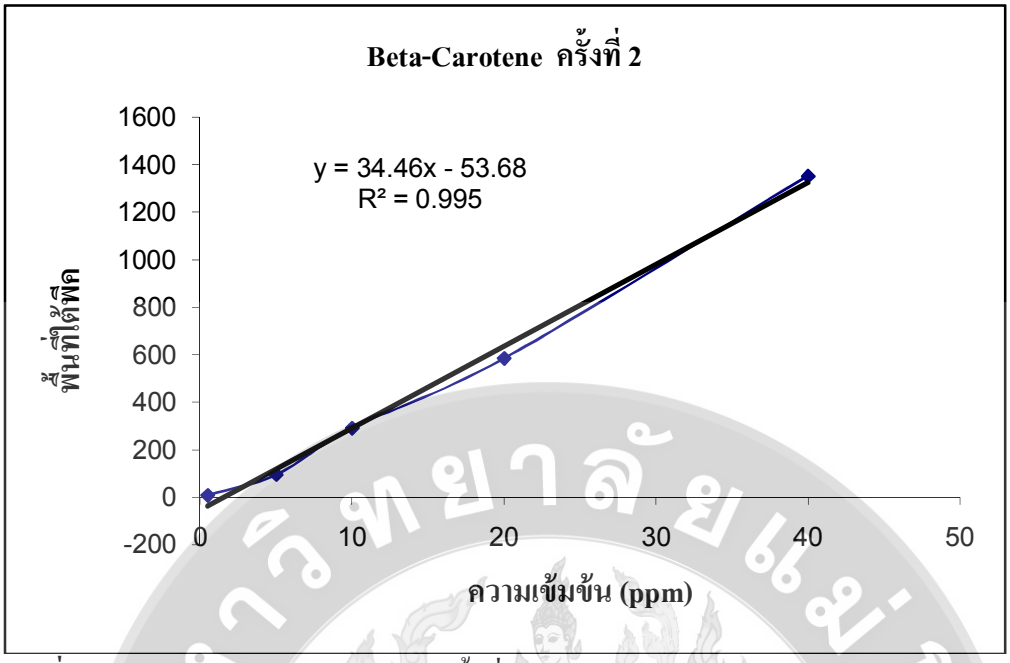
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Beta-carotene เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20, 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Beta-carotene ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 7 และภาพที่ 4

ตารางที่ 7 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Beta-carotene ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ครั้งที่ 2	
สาร Beta-carotene	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	9.10
5	95.80
10	291.30
20	585.30
40	1352.50

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 34.469x – 53.686



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐาน Beta-carotene ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Beta-carotene ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Beta-carotene โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Beta-carotene (ภาพที่ 4) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Beta-carotene รายงานผลปริมาณสาร Beta-carotene ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 3.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 8

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Beta-carotene จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 17.115 นาที และ 17.092 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Beta-carotene ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.09 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Beta-carotene จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 17.170 นาที และ 17.114 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Beta-carotene ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.85 mg/kg

ตารางที่ 8 ปริมาณของสาร Beta-carotene ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์ ครั้งที่ 2	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Beta-Carotene	3.0000	6.09	3.0000	2.85	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

การหาปริมาณสาร Lutein ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร Lutein ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานสาร Lutein ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 3.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

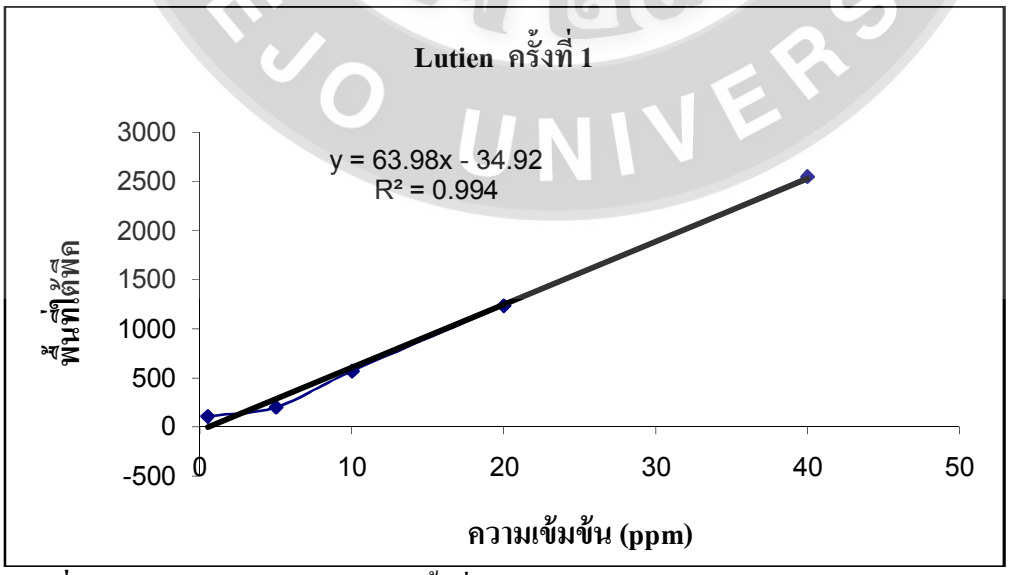
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสาร Lutein เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Lutein ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 5

ตารางที่ 9 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Lutein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สาร Lutein	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	107.04
5	198.83
10	567.21
20	1235.1
40	2548.3

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 63.988x - 34.922$



ภาพที่ 5 กราฟมาตรฐานสาร Lutein ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Lutein ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Lutein โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานสาร Lutein (ภาพที่ 5) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Lutein รายงานผลปริมาณสาร Lutein ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 3.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 10

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Lutein จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 6.866 นาที และ 6.838 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Lutein ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.50 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Lutein จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 6.780 นาที และ 6.784 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Lutein ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.47 mg/kg

ตารางที่ 10 ปริมาณของสาร Lutein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Lutein	3.0000	28.50	3.0000	9.47	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Lutein ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสาร Lutein ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานสาร Lutein ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

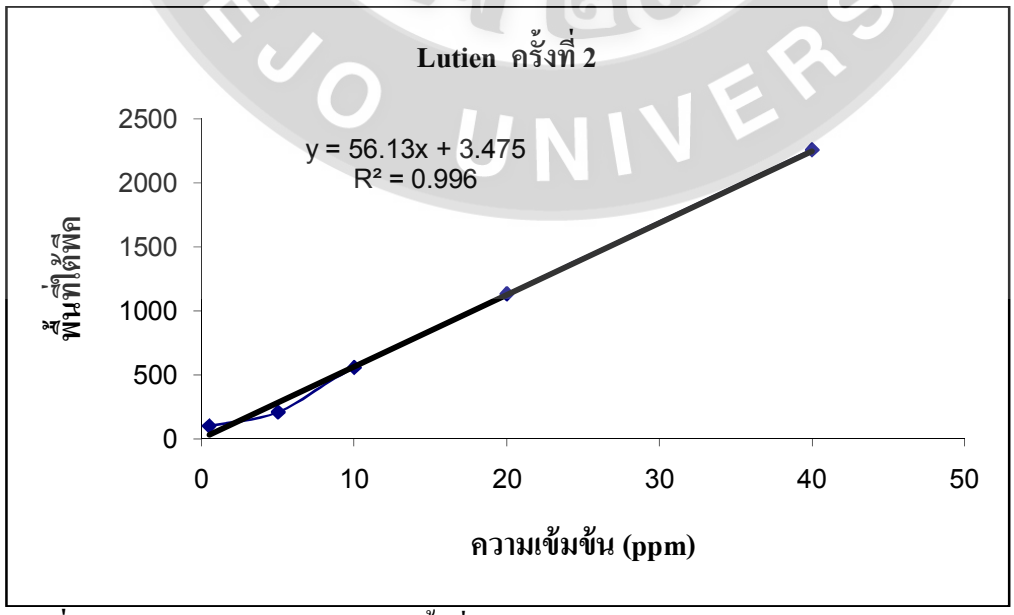
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสาร Lutein เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Lutein ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 11 และภาพที่ 6

ตารางที่ 11 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานสาร Lutein ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ครั้งที่ 2	
สาร Lutein	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	101.04
5	208.83
10	557.210
20	1132.10
40	2256.30

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 56.134x + 3.4756



ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานสาร Lutein ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Lutein ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Lutein โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานสาร Lutein (ภาพที่ 6) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Lutein รายงานผลปริมาณสาร Lutein ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 3.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 12

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Lutein จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 6.866 นาที และ 6.838 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Lutein ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.60 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Lutein จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 6.780 นาที และ 6.784 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Lutein ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.65 mg/kg

ตารางที่ 12 ปริมาณของสาร Lutein ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Lutein	3.0000	6.60	3.0000	3.65	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Zeaxanthin ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร Zeaxanthin ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

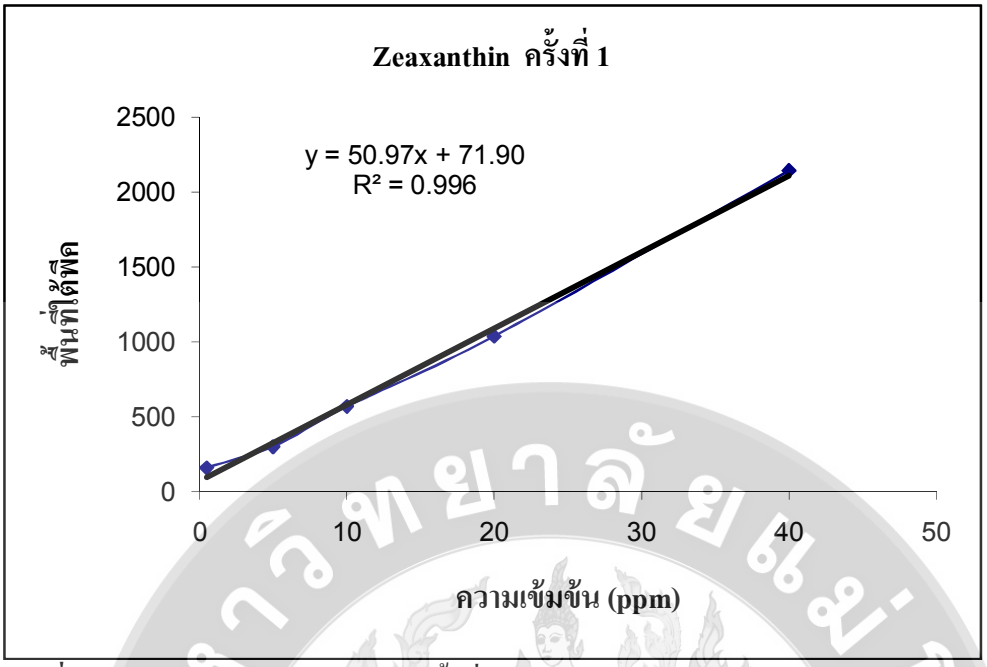
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Zeaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 13 และภาพที่ 7

ตารางที่ 13 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สาร Zeaxanthin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	158.79
5	299.90
10	568.10
20	1037.60
40	2143.90

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 50.977x + 71.903



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐาน Zeaxanthin ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Zeaxanthin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Zeaxanthin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Zeaxanthin (ภาพที่ 7) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Zeaxanthin รายงานผลปริมาณสาร Zeaxanthin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 3.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 14

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 และ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Zeaxanthin เท่ากับ 10.967 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (mg/kg) ดังนั้น เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Zeaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 14 ปริมาณของสาร Zeaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Zeaxanthin	3.0000	ไม่พบสาร	3.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Zeaxanthin ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสาร Zeaxanthin ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานZeaxanthin ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

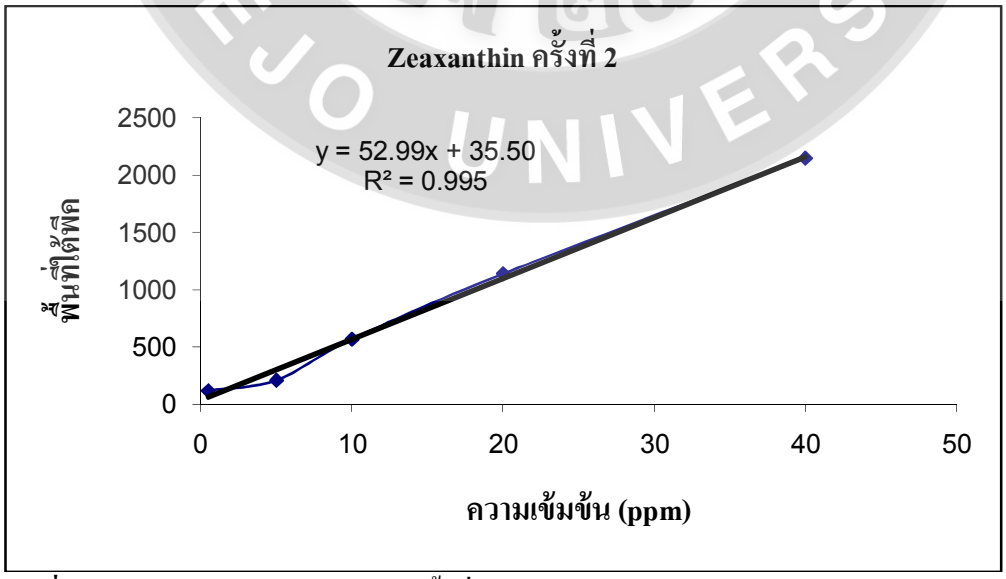
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสาร Zeaxanthin เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Zeaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 15 และภาพที่ 8

ตารางที่ 15 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Zeaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สาร Zeaxanthin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	118.79
5	209.90
10	568.10
20	1137.60
40	2143.90

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 52.99x + 35.509



ภาพที่ 8 กราฟมาตรฐาน Zeaxanthin ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Zeaxanthin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Zeaxanthin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Zeaxanthin (ภาพที่ 8) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Zeaxanthin รายงานผลปริมาณสาร Zeaxanthin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 3.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 16

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 และ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Zeaxanthin เท่ากับ 10.967 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ mg/kg) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Zeaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 16 ปริมาณของสาร Zeaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Zeaxanthin	3.0000	ไม่พบสาร	3.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Astaxanthin ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร Astaxanthin ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

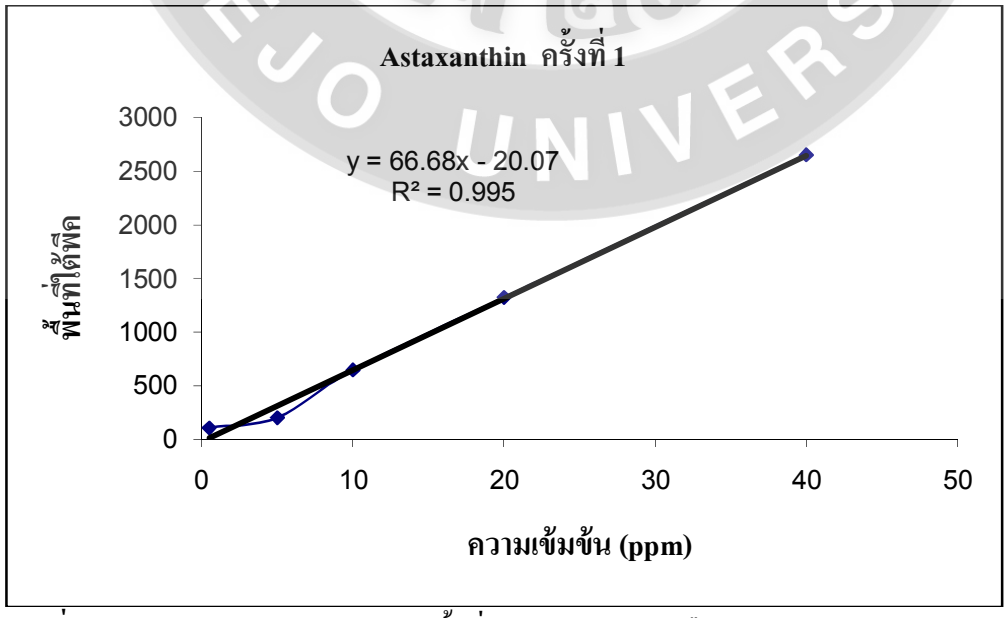
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Astaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 17 และภาพที่ 9

ตารางที่ 17 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สาร Astaxanthin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	107.16
5	201.50
10	645.90
20	1325.30
40	2654.60

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 66.687x - 20.077



ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐาน Astaxanthin ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Astaxanthin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Astaxanthin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Astaxanthin (ภาพที่ 9) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Astaxanthin รายงานผลปริมาณสาร Astaxanthin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 3.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 18

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Astaxanthin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 7.906 นาที และ 7.856 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Astaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 47.96 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Astaxanthin จากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 7.789 นาที และ 7.798 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Astaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 66.86 mg/kg

ตารางที่ 18 ปริมาณของสาร Astaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Astaxanthin	3.0000	47.96	3.0000	66.86	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสาร Astaxanthin ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสาร Astaxanthin ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 3.0000 กรัม

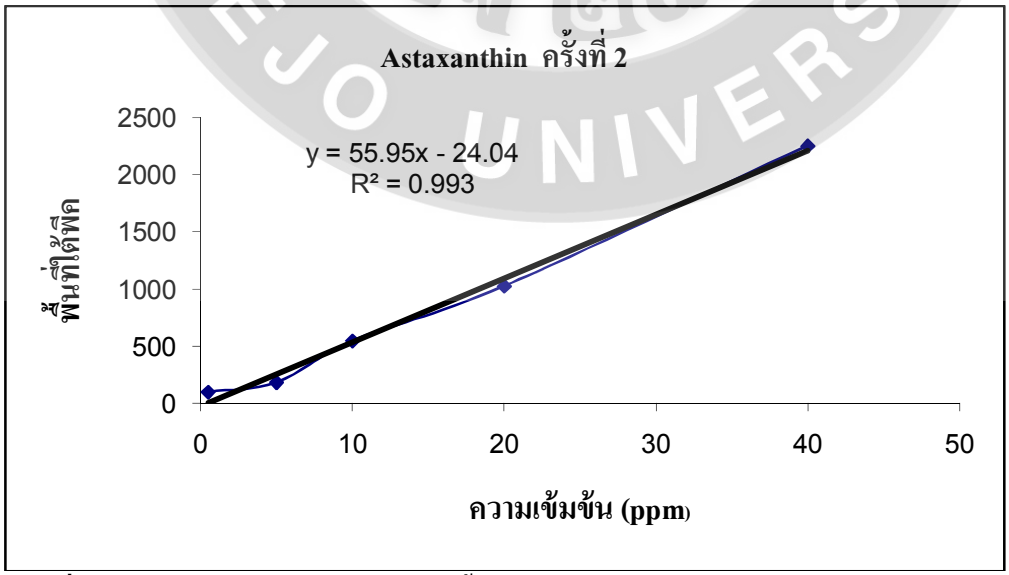
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin เข้มข้น 0.5, 5, 10, 20 และ 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสาร Astaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 456 นาโนเมตร ดังตารางที่ 19 และภาพที่ 10

ตารางที่ 19 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน Astaxanthin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สาร Astaxanthin	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	97.16
5	181.50
10	545.90
20	1025.30
40	2254.60

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 66.687x - 20.077



ภาพที่ 10 กราฟมาตรฐาน Astaxanthin ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 456 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสาร Astaxanthin ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสาร Astaxanthin โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน Astaxanthin (ภาพที่ 10) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสาร Astaxanthin รายงานผลปริมาณสาร Astaxanthin ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 3.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 20

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Astaxanthin เท่ากับ 7.906 นาที และ 7.856 นาที ตามลำดับ แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (mg/kg) ดังนั้น เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Astaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสาร Astaxanthin เท่ากับ 7.789 นาที และ 7.798 นาที ตามลำดับ แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (mg/kg) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสาร Astaxanthin ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 20 ปริมาณของสาร Astaxanthin ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Astaxanthin	3.0000	ไม่พบสาร	3.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม หรือ mg GAE/g W

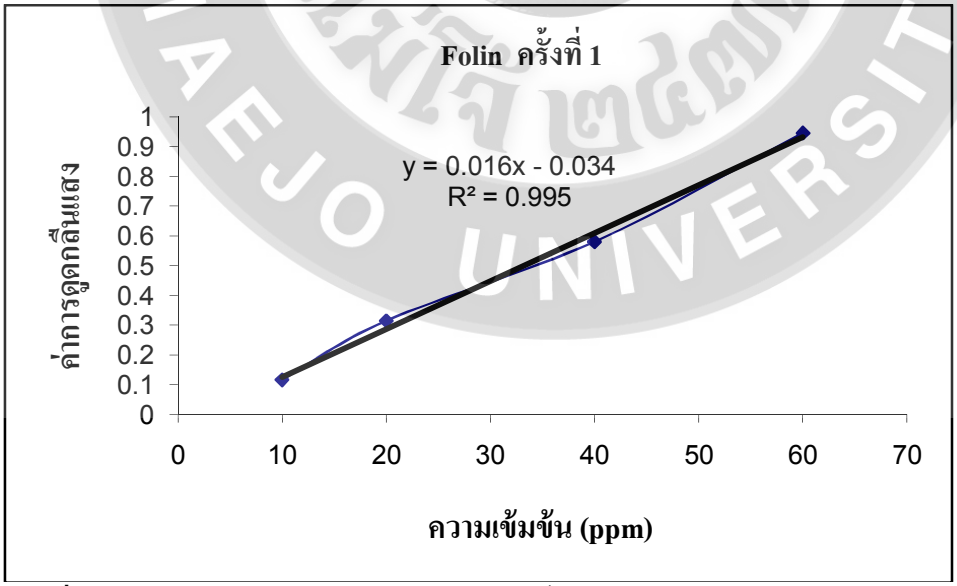
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 10, 20, 40 และ 60 พีพีเอ็ม นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu (FC reagent) จากนั้นใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 760 นาโนเมตร ดังตารางที่ 21 และภาพที่ 11

ตารางที่ 21 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

กรดแกลลิก	
ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (nm)
10	0.1169
20	0.3150
40	0.4808
60	0.9456

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 0.0161x - 0.0347$



ภาพที่ 11 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 760 นาโนเมตร)

ตารางที่ 22 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)

ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (ค่า y)
ตัวอย่างที่ 1.1	0.1435
ตัวอย่างที่ 1.2	0.1448

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การคำนวณ

Total phenolic compounds content in sample:

A = [C×V×F]/[W] x [1 L / 1000 mL]

A = total phenolic compounds content (mg/ ผัก 1 g)

C = concentration of total phenolic compounds from standard curve (mg/L) = พีพีเอ็ม

V = sample volume before diluted (mL) = 10 mL

F = dilution factor = 100 จำนวนเท่า

W = sample weight (g)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent)

โดยนำสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน $y = 0.0161x - 0.0347$ โดยการแทนค่า y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ที่ได้จากการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 22 เพื่อหาค่า x ซึ่งมีค่าเท่ากับค่า C (concentration of total phenolic compounds from standard curve (mg/L)) นั่นเอง ต่อจากนั้นนำค่าต่าง ๆ ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรข้างล่างนี้

A = [C×V×F]/[W] x [1 L / 1000 mL]

เพื่อหาค่า A คือ ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic compounds content (mg/ ผัก 1 g))

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (ค่า C) ซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตร เพื่อคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และในตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม แสดงในตารางที่ 23

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 1.1 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1435 mAU ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานเท่ากับ 11.07 ppm หรือ เท่ากับ mg/L เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.21 มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 1.2 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1448 mAU ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานเท่ากับ 11.15 ppm หรือ เท่ากับ mg/L เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.23 มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

ตารางที่ 23 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/g W) ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Folin	5	2.21	5	2.23	มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม หรือ mgGAE/g W

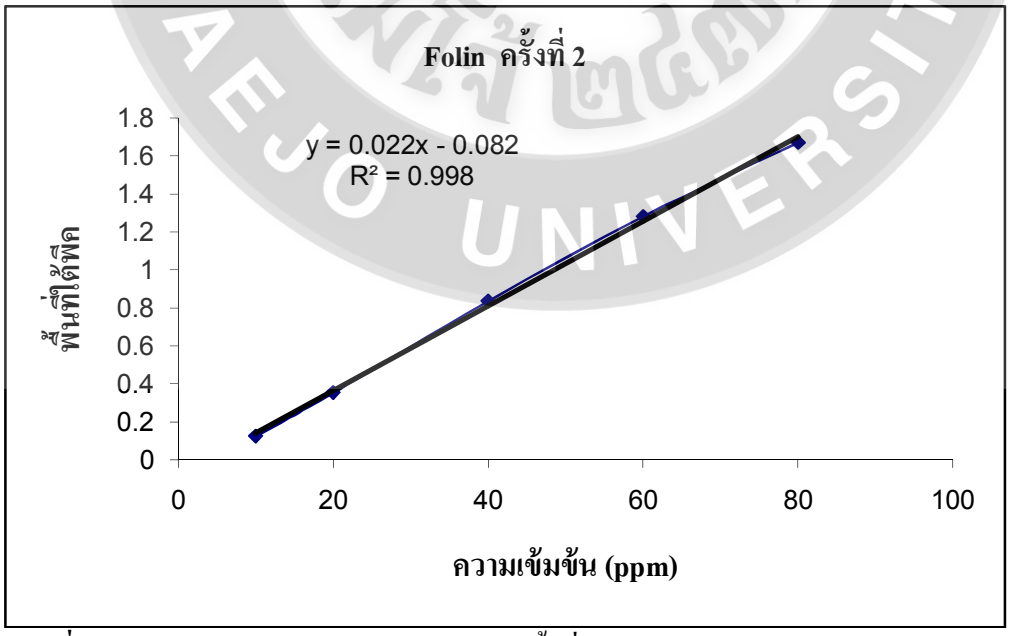
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 10, 20, 40 และ 60 พีพีเอ็ม นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu (FC reagent) จากนั้นใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 760 นาโนเมตร ดังตารางที่ 24 และภาพที่ 12

ตารางที่ 24 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

กรดแกลลิก	
ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (nm)
10	0.1248
20	0.3541
40	0.8360
60	1.2821
80	1.6707

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 0.0223x - 0.0826



ภาพที่ 12 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 760 นาโนเมตร)

ตารางที่ 25 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)

ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (ค่า y) หน่วย nm
ตัวอย่างที่ 2.1	2.5907
ตัวอย่างที่ 2.2	1.6590

การคำนวณ

Total phenolic compounds content in sample :

A = [C×V×F]/[W] x [1 L / 1000 mL]

A = total phenolic compounds content (mg/ ผัก 1 g)

C = concentration of total phenolic compounds from standard curve (mg/L)

V = sample volume before diluted (mL) = 10 mL

F = dilution factor = 100 จำนวนเท่า

W = sample weight (g)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (FC reagent)

โดยนำสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน y = 0.0223x - 0.0826 โดยการแทนค่า y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ที่ได้จากการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 25 เพื่อหาค่า x ซึ่งมีค่าเท่ากับค่า C (concentration of total phenolic compounds from standard curve (mg/L)) นั่นเอง ต่อจากนั้นนำค่าต่าง ๆ ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรข้างล่างนี้

A = [C×V×F]/[W] x [1 L / 1000 mL]

เพื่อหาค่า A คือ ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic compounds content (mg/ ผัก 1 g))

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (ค่า C) ซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตร เพื่อคำนวณหาปริมาณปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ในตัวอย่างที่ 2.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และในตัวอย่างที่ 2.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 26

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 2.1 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เท่ากับ 2.5907 mAU ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานเท่ากับ 119.88 ppm หรือ เท่ากับ mg/L เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.98 มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 2.2 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เท่ากับ 1.6590 mAU ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานเท่ากับ 78.10 ppm หรือ เท่ากับ mg/L เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.03 มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

ตารางที่ 26 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/g W) ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Folin	5	23.98	3	26.03	มิลลิกรัมต่อผัก 1 กรัม

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ยอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 1

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ยอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

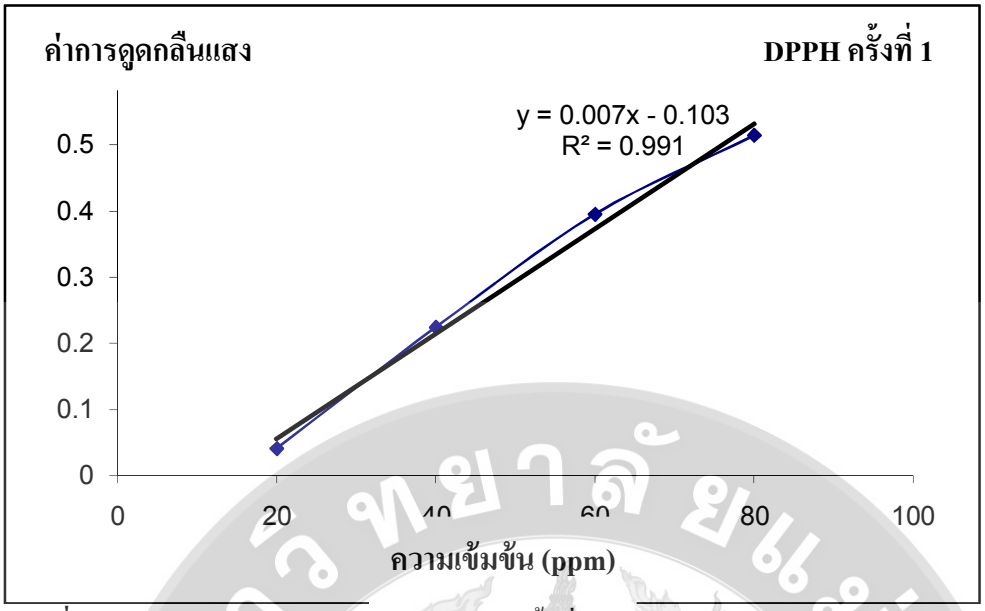
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 พีพีเอ็ม นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH จากนั้นใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร ดังตารางที่ 27 และภาพที่ 13

ตารางที่ 27 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1		
กรดแกลลิก		
ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (mAU) ($A_{control} - A_{sample}$)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช $[(A_{control} - A_{sample})/(A_{control})]100$
20	0.0410	9.92
40	0.2241	54.24
60	0.3948	95.55
80	0.5139	124.37

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 0.0079x - 0.1039$



ภาพที่ 13 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 515 นาโนเมตร)

ตารางที่ 28 ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (control) และสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)

	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
สารควบคุม (control)	0.4132
สารตัวอย่างที่ 1.1	0.3588
สารตัวอย่างที่ 1.2	0.3445

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity) จากค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารตัวอย่าง (A_{sample}) โดยคิดเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม, (A_{ctrl}) ดังสมการข้างล่างนี้

$$\%\text{DPPH radical scavenging activity} = \left(\frac{A_{ctrl} - A_{sample}}{A_{ctrl}} \right) 100$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 28 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปแทนค่า

ในสมการ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ของตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 29

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 1.1 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3588 mAU และสารควบคุม (control) มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.4132 mAU เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.80 เปอร์เซ็นต์

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 1.1 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3445 mAU และสารควบคุม (control) มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.4132 mAU เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.63 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 29 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
DPPH	5	15.80	5	16.63	% การยับยั้งอนุมูลอิสระ

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ยอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 2

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ยอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

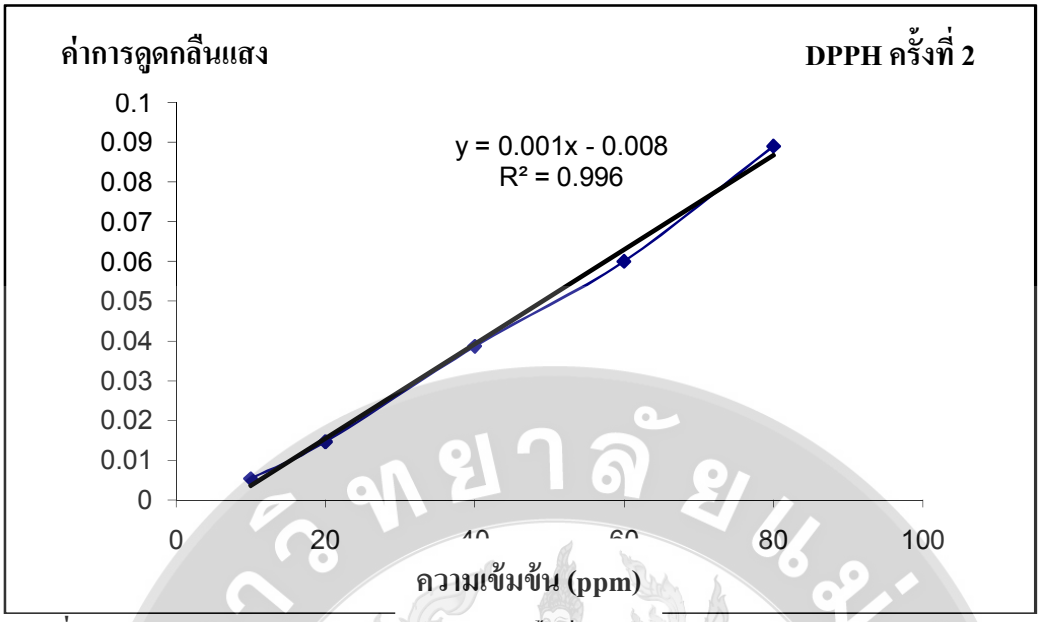
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 10, 20, 40, 60 และ 80 พีพีเอ็ม นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH จากนั้นใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร ดังตารางที่ 30 และภาพที่ 14

ตารางที่ 30 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2		
กรดแกลลิก		
ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (mAU) ($A_{control} - A_{sample}$)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช $[(A_{control} - A_{sample})/ (A_{control})]100$
10	0.0054	3.23
20	0.0147	8.80
40	0.0387	23.17
60	0.0601	35.99
80	0.0891	53.35

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 0.0012x - 0.0083



ภาพที่ 14 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (GAE) ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 515 นาโนเมตร)

ตารางที่ 31 ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (control) และสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)

	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
สารควบคุม (control)	0.1670
สารตัวอย่างที่ 2.1	0.0532
สารตัวอย่างที่ 2.2	0.0672

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%DPPH radical scavenging activity) จากค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารตัวอย่าง (A_{sample}) โดยคิดเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม, (A_{ctrl}) ดังสมการข้างล่างนี้

$$\%\text{DPPH radical scavenging activity} = \left(\frac{A_{ctrl} - A_{sample}}{A_{ctrl}} \right) 100$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 31 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปแทนค่าในสมการ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 32

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 2.1 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.0532 mAU และสารควบคุม (control) มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1670 mAU เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.17 เปอร์เซ็นต์

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างที่ 2.1 มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.0672 mAU และสารควบคุม (control) มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1670 mAU เมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่มีอยู่ในตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.79 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 32 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
DPPH	5	68.17	3	59.79	%การยับยั้งอนุมูลอิสระ

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

โรคเบาหวาน เป็นผลมาจากความอ้วน และการมีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง มีรายงานเกี่ยวกับโรคเบาหวานว่ามีความสัมพันธ์กับความเครียดที่มีออกซิเจนเข้ามาทำปฏิกิริยา หรือที่เรียกว่า “oxidative stress” ดังนั้น สารแอนตี้ออกซิแดนจึงสามารถใช้ในการรักษาโรคเบาหวานได้ [28,29] สารแคโรทีนอยด์ มีอำนาจในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) [30]

Lutein และ zeaxanthin จัดเป็นสารแคโรทีนอยด์ ที่มีสีเหลือง ซึ่งมีคุณสมบัติป้องกันเซลล์จากการทำลายของแสงและปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของดวงตา โดยทั่วไปพบสารทั้งสองในพืชผักใบสีเขียว [31] มีรายงานว่า Astaxanthin เป็นสารที่มีอำนาจในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มากกว่าวิตามิน อี ถึง 500 เท่า ในและช่วยป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายด้วย oxidative damage เนื่องจากมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ปัจจุบันได้มีการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพในหลายประเทศ พบตามธรรมชาติในกุ้งและเคย เป็นต้น [32,33,34,35]

Tomonori Nagao และคณะ ได้รายงานว่า catechin จากเครื่องดื่ม อาจใช้ ป้องกันโรคอ้วน และควบคุมระดับของฮีโมโกลบินได้สัมผัสกับน้ำตาลในเลือด หรือที่เรียกว่า hemoglobin A1C หรือ HbA1C ให้มีระดับต่ำในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่สอง ซึ่งเกิดจากการที่ร่างกายผลิตอินซูลินไม่เพียงพอต่อความต้องการ [36]

Savitree Mongkolsilp และคณะ ได้รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกรวมมีความเข้มข้นสูง จะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนั้นได้รายงานเกี่ยวกับสารแคโรทีนอยด์ และวิตามินซี (ascorbic acid) ว่ามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ [37,38]

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสารสำคัญ ได้แก่ สาร Catechin, สาร Lutein, สาร Beta-carotene, สาร Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin จากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ซึ่งเก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมเป็นตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง ได้แก่

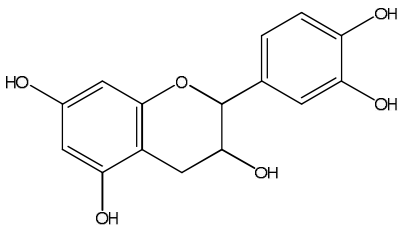
ตัวอย่างที่ 1.1 คือ ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 1.2 คือ ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

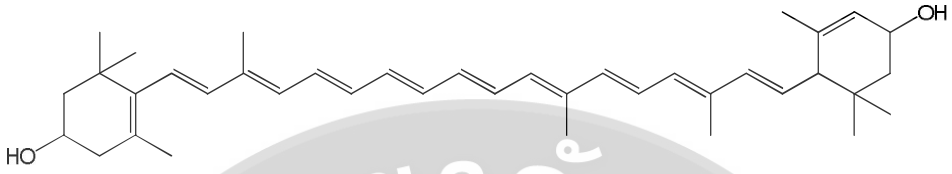
ตัวอย่างที่ 2.1 คือ ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ

ตัวอย่างที่ 2.2 คือ ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

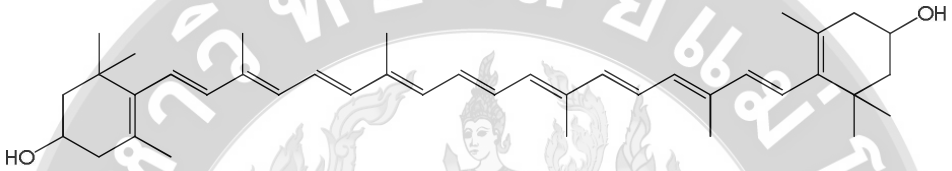
โดยนำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง เราใช้เครื่องโครมาโท กราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ได้แก่ สาร Catechin, สาร Lutein, สาร Beta-carotene, สาร Zeaxanthin, และสาร Astaxanthin แสดงสูตรโครงสร้าง [39,40] ได้ดังนี้



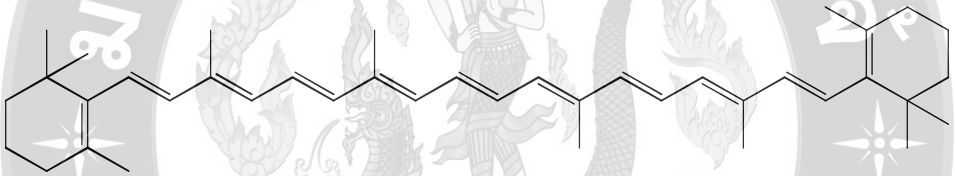
Catechin



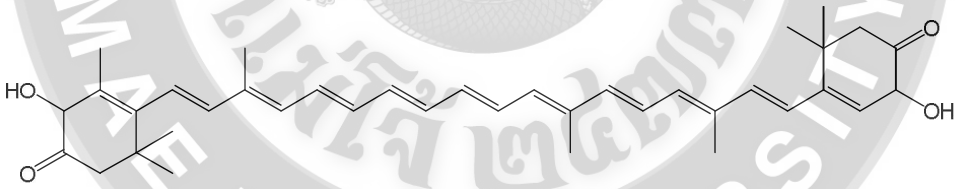
Lutein



Zeaxanthin



β-carotene



Astaxanthin

รายงานสรุปผลจากการทดลอง ได้ดังนี้

1. พบปริมาณสาร Catechin ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) เท่ากับ 12.59, 166.77, 12.60, และ 277.90 mg/kg ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้ แสดงอย่างชัดเจนว่า ในสารสกัดตัวอย่างใบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. มีปริมาณของสาร Catechin สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอดที่อบแห้ง ดังนั้น สารสกัดตัวอย่างที่อบแห้ง มีปริมาณของสาร Catechin มากกว่าสารสกัดตัวอย่างสด

2. พบปริมาณสาร Lutein ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) เท่ากับ 28.50, 9.47, 6.60, และ 3.65

mg/kg ตามลำดับ จากผลการทดลอง แสดงอย่างชัดเจนว่าในสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอดสดมีสาร Lutein มากที่สุด

3. พบปริมาณสาร Beta-carotene ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) เท่ากับ 2.76, 3.94, 6.09, และ 2.85 mg/kg ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดตัวอย่างทั้งสี่ มีปริมาณสาร Beta-carotene ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

4. พบปริมาณสาร Astaxanthin ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) เท่ากับ 47.96 และ 66.86 mg/kg ตามลำดับ แต่ไม่พบสารดังกล่าวในตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) จากผลการทดลอง พบสาร Astaxanthin เฉพาะในส่วนของสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอด

5. ไม่พบปริมาณสาร Zeaxanthin ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสี่มีปริมาณน้อยกว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานต่าง ๆ ที่เตรียมไว้

จากการค้นคว้า ไม่พบการรายงานเกี่ยวกับ การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent (Total phenolics content by Folin-Ciocalteu's reagent) และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical)

ในงานวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษา การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) และ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent จากรายงานของ รัตติกาล ติง ได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของใบชาเมี่ยงสด ด้วยวิธี ABTS และวิธี DPPH พบว่า การสกัดตัวอย่างพืช ด้วยวิธีการรีฟลักซ์และใช้ 100 % เมทานอล เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จะให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นและการสกัดด้วยวิธีวิธีอื่น นอกจากนั้น มีการรายงานว่าวิธีการสกัดดังกล่าวทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Folin-Ciocalteu's reagent) ดังนั้น ในการวิจัยครั้งนี้เราจึงใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีรีฟลักซ์และใช้ 100 % เมทานอล เป็นตัวทำละลาย การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolics compounds) โดยใช้สาร Folin-Ciocalteu's reagent กรดแกลลิกถูกใช้เป็นสารมาตรฐาน ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจึงรายงานโดยมีหน่วยเป็น mg / g เทียบเท่ากรดแกลลิก

6. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu's reagent

จากผลการทดลอง พบว่า ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) มีปริมาณของสารประกอบ

ฟีนอลิกรวม เท่ากับ 2.21, 2.23, 23.98 และ 26.03 มิลลิกรัม GAE ต่อผัก 1 กรัม ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่าในสารสกัดตัวอย่างใบของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ทั้งสดและที่อบแห้ง มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าในตัวอย่างใบผสมยอดสดและใบผสมยอดที่อบแห้ง อย่างชัดเจน

จากผลการทดลองที่ได้ แสดงอย่างชัดเจนว่า ในสารสกัดตัวอย่างใบของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอด ดังนั้น สารสกัดตัวอย่างใบจึงมีอำนาจในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอด

7. การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical)

จากผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.80, 16.63, 68.17, และ 59.79 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้แสดงชี้ชัดว่า ในสารสกัดตัวอย่างใบของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชมากกว่าสารสกัดตัวอย่างใบผสมยอด ประมาณ 4 เท่า เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ของตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) ไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่า ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) มากกว่า 80 ppm ของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก แต่สำหรับตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่าตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) อยู่ในช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ระหว่าง 20 ถึง 40 ppm

เอกสารอ้างอิง

1. *http://www.bangkokhealth.com/kidney_htdoc/kidney_health_detail.asp?Number=9235*
2. a) **การประชุมวิชาการโภชนาการแห่งชาติครั้งที่ 2 เรื่อง "Advancing Nutrition in Diabetes Management Achieving Better Overcomes"** ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ, 3 ตุลาคม 2550 b) ที่ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์, **งานสัมมนา "ระบาดวิทยาของโรคเบาหวาน : ความท้าทายในการรักษาและค่าใช้จ่ายทางสุขภาพที่เพิ่มสูงขึ้นในเอเชีย"**
3. *http://www.thai4u-thailand.com/sick_2.html* (ข้อมูลจากศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ โรงพยาบาล มหาราชนครเชียงใหม่)
4. *http://www.medplant.mahidol.ac.th/pharm/botanic.asp?bc =0861* (ข้อมูลจากสำนักงานข้อมูลสมุนไพร มหาวิทยาลัยมหิดล)
5. สมพร หิรัญรามเดช **สมุนไพรใกล้ตัว อนุสรณ์ ว่าด้วย สมุนไพรเพื่อสุขภาพดีถ้วนหน้า**, 1992.
6. สิงหบุตรา, สุนทรี **สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด**, 2536.
7. *http://thecoffee.multiply.com/journal/item/19*
8. **Chemical abstracts**, 1996, *125*, 668.
9. Roeder, E.; Eckert, A.; Wiedenfeld, H. **Planta Med.**, 1996, *62*, 386.
10. Bingru, R.; Hongjiang, W.; Chengyuan, L.; Min, Z.; Yong, H. **Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao**, 2004, *13*, 55-56.
11. Sheng-Chin, C.; Li-Ling, H.; Chung-Yang, C.; Chun-Jen, C.; Mei-Hua, H.; Yuan-Chao, H.; Tai-Hung, H.; Sheng-Chu, K. **Chiness Phamaceutical Journal,** 2003, *55*, 109-119.
12. Yong, H.; Wei-Lin, L.; Hou-Wen, L.; Min, Z.; Bing-Ru, R. **Zhongguo Tianran Yaowu,** 2006, *4*, 156-158.
13. Qi, H.; Rong-hua, L.; Zhao, Z.; Bing-ying, Y.; Ru-kai, C.; You-qiang, C. **Fujian Shifan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban**, 2006, *22*, 118-120.
14. Xianfeng, Z.; Chunmiao, H.; Heyuan, Q. **Shipin Kexue,** 2005, *26*, 297-299.
15. Xianfeng, Z.; Heyuan, Q. **Yunnan Zhiwu Yanjiu,** 2005, *27*, 321-326.
16. Xian, Y.; Juxian, G. **Shipin Kexue**, 2002, *23*, 121-125.

17. Akowuah, G. A.; Sadikun, A.; Mariam, A. **Pharm. Bio**., 2002, *40*, 405-410.
18. **Chemical abstracts**, 2002, *139*, 282.
19. Aoun, E.; Rima, J.; Chidiac, G.; Hanna, K. High-performance liquid chromatographic and spectrofluorometric determination of α-tocopherol in a natural plant: *Ferula hermonis* (Zalooh root). **J. Food Compos. Anal**, 2005, *18*, 607-615.
20. Chávez-Servín, J.L.; Castellote, A.I.; López-Sabater, M.C. Simultaneous Analysis of vitamin A and E in infant milk-based formulae by normal-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection using a short narrow-bore column. **J. Chromatogr. A**, 2006, *1122*, 138-143.
21. **Determination of ascorbic by HPLC**: No.17 a, International Union of Fruit Juice Producers (IFU).
22. Lakshanasomya, N. **Determination of ascorbic acid in some kinds of food by HPLC**. Division of food, Department of Medical Science, 1998.
23. Cummiff, D. ed. **Official Method of Analysis of AOAC International 16th ed**. V.2 AOAC International MA., 1996.
24. Finglas, P.M.; Faulks, R.M. the HPLC Analysis of Thiamine and Riboflavin, Potatoes. **Food Chem.**, 1984, *15*, 37-44.
25. Dallage, J.J.; Nelson, B.C. **J. Chromatogr. A.**, 2000, *881*, 411.
26. Britton, G. 2005. **Workshop on Carotenoid : The Qualitative and Quantitative Analysis**. Prince of Songkla University.
27. Mukai, K.; Nagai, S.; Ohara, K. **Free radical Biology& Medicine**, 2005, *39*, 752.
28. Sies, H.; Stahl, W.; Alex Sevanian, A. **The journal of Nutrition**, 2005, 969-972.
29. Rosenblat, M.; Hayek, T.; Aviram, M. **Atherosclerosis**, 2006, *187*, 363–371.
30. Ford, E. S.; Will, J. C.; Bowman, B. A.; **American Journal of Epidemiology**, 1999, *149*, 168-176.
31. Jewell1, V.C.; Mayes, C.B.D.; Tubman, T.R.J.; Northrop-Clewes, C.A.; Thurnham, D.I. **European Journal of Clinical Nutrition**, 2004, *58*, 90–97.

32. Aoi W. et al. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2008, *366*, 892-97.

33. Kim T.J. et al. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009; online doi:10.1021/jf9019745

34. Nagaki et al. **Journal of Clinical Therapeutics and Medicines**, 2006; *22*(1), 41-54.

35. Seki T. et al. **Fragrance Journal**, 2001, *12*,98-103.

36. Nagao, T.; Meguro, S.; Hase, T.; Otsuka, K.; Komikado, M.; Tokimitsu, I.; Yamamoto T.; Yamamoto K. **Obesity**, 2009, *17*, 310-317.

37. Mongkolsilp, S.; Pongbupakit, I.; Sae-Lee, N.; Sitthithaworn, W. **SWU J Pharm Sci**, 2004, *9*, 32-35.

38. Sengul, M.; Yildiz, H.; Gungor, N.; Cetin, B.; Eser, Z.; Ercisli, S. **Pak. J. Pharm. Sci.**, 2009, *22*, 102-106.

39. Kijlstra, A.; Tian, Y.; Kelly, E.R.; Berendschot, Tos T.J.M. **Progress in Retinal and Eye Research**, 2012, *31*, 303–315.

40. Shibata, A.; Kiba, Y.; Akati, N.; Fukuzawa, K.; Terada, H. **Chemistry and Physics of Lipids**, 2001, *113*, 11–22.