การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวม
ของสารสกัดอินทผลัม

ภาศิริ ม่วงศิริกุล

สารนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ
มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์
พ.ศ. 2562

Study on antioxidant activity and Total phenolic compound of Phoenix dactylifera Linn

Pasiri Muangsirikul

A Thematic Paper Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science

Department of Anti-Aging and Regenerative Medicine

College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

2019

ใบรับรองสารนิพนธ์

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัม

เสนอโดย นางสาวภาศิริ ม่วงศิริกุล

สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

กลุ่มวิชา วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดยคณะกรรมการสอบสารนิพนธ์แล้ว

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์มาศ ไม้ประเสริฐ)

..... กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกราช บำรุงพืชน์)

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ รับรองแล้ว

..... คณบดีวิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ

(นายแพทย์บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล)

วันที่ 31 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2562

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัม
ชื่อผู้เขียน ภาศิริ ม่วงศิริกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์
สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวมของสาร สกัดอินทผลัม สกัดด้วยเอทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดอินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม (P-PhD-EtOH) มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย เท่ากับ 3,106.20±32.42 mg GEA/ml และศึกษาหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (M-PhD-EtOH) มีปริมาณฟลาโวนอยด์เฉลี่ย เท่ากับ 12,944.00±239.09 mg QE/ml จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (SC50) พบว่า สารสกัดอินทผลัมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (M-PhD-EtOH) (SC50 เท่ากับ 0.09±0.10 mg/ml) ซึ่งมีฤทธิ์มากกว่าสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid) ถึง 2 เท่า (SC50 เท่ากับ 0.60 ± 0.14 mg/ml) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ จากการทดลองนี้แสดงให้ว่า อินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ดีกว่า อินทผลัมที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดอินทผลัมมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับอินทผลัม และในส่วนของเม็ดอินทผลัมด้วย

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม, ปริมาณสารฟลาโวนอยด์, อินทผลัม

Thematic Paper Title	Study on antioxidant activity and Total phenolic compound of Phoenix dactylifera Linn
Author	Pasiri Muangsirikul
Thematic Paper Advisor	Assistant Professor Pansak Sukrararoek, M.D.
Department	Anti-Aging and Regenerative Medicine
Academic Year	2018

ABTRACT

Study on antioxidant activity and Total phenolic compound of Phoenix dactylifera Linn, extracted with ethanol and water. The results showed that grain Phoenix dactylifera Linn extract with ethanol (P-PhD-EtOH) contain highest total phenolic content as 3,106.20±32.42 mg GEA/ml. Pulp phoenix dactylifera Linn extract with ethanol (M-PhD-EtOH) contain highest total flavonoid compound as 12,944.00±239.09 mg QE/ml. Test for free radical scavenging activity by DPPH assay showed highest level in pulp Phoenix dactylifera Linn extract with ethanol (M-PhD-EtOH) with free radical scavenging activity (SC50 = 0.09±0.10 mg/ml) which is more than 2 times of standard ascorbic acid (Vitamin C) solution (SC50 = 0.60 ± 0.14 mg/ml) with statistics significant of ($p < 0.05$). From This study we can conclude that Phoenix dactylifera Linn had potential to develop into a natural product and add value to grain extraction.

Keywords: Antioxidant activity, Total Phenolic, Total flavonoid, Phoenix dactylifera Linn

กิตติกรรมประกาศ

สารนิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยได้รับคำแนะนำและคำปรึกษาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์ ซึ่งได้ให้ความกรุณาสละเวลาให้คำปรึกษาด้วยความเอาใจใส่ ชี้แนะแนวทางในการค้นคว้าข้อมูล

ขอขอบคุณท่านคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ทางวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ แก่ผู้เขียน

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ รุ่น 5 ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจทำให้เกิดแรงผลักดันกับงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณบุคลากร เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกตลอดการศึกษานี้

ท้ายที่สุดนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ผลการศึกษาวิจัยจากวิทยานิพนธ์ครั้งนี้เป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจทั่วไป หากมีสิ่งผิดพลาดหรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับและขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ภาศิริ ม่วงศิริกุล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ฆ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 คำถามการวิจัย	2
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	2
1.5 สมมติฐานการวิจัย	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.7 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย	3
2. แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 อินทผลัม	4
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม	5
2.1.2 ประโยชน์ของอินทผลัม	6
2.1.3 สารอาหารต่าง ๆ ในอินทผาลัม	6
2.1.4 พัฒนาการของผลอินทผลัม	7
2.1.5 สายพันธุ์ของอินทผลัม	8
2.2 อนุมูลอิสระ	9
2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ	19
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
3. วิธีดำเนินการวิจัย	23
3.1 เครื่องมือในการวิจัย	23

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	24
3.2.1 การเตรียมสารสกัด	24
3.2.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Total Phenolic compound)	25
3.2.3 การทดสอบปริมาณฟลาโวนอย Total Flavonoid)	25
3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	25
3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	26
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล	27
4.1 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolics compounds) ของสารสกัดจากอินทผลัม	27
4.2 การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoids) ของสารสกัดจากอินทผลัม	29
4.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity)	32
5. สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ	35
5.1 สรุปผลการวิจัย	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	36
บรรณานุกรม	37
ภาคผนวก	41
ก การสกัดสารอินทผลัม	42
ข การตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	46
ค การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric	51
ง การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid) ด้วยวิธี Alumminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric	54
จ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	57
ฉ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม spss	61
ประวัติผู้เขียน	65

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัม 28
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม 31
4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม 34

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม	5
2.2	การพัฒนาผลของอินทผลัมในระยะต่าง ๆ	7
2.3	วิตามินซี	13
2.4	แอลฟา – โทโคฟีรอล	14
2.5	ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์	15
2.6	บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลลานิโซล	16
2.7	บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลทูลูอีน	16
2.8	โครงสร้างทางเคมีของ กรดแกลลิค	17
2.9	โครงสร้างทางเคมีของ EDTA	18
2.10	โครงสร้างทางเคมีของ EDTA จับกับไอออนของโลหะ	18
2.11	กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	20
2.12	การโอนถ่ายอิเล็กตรอนของ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) แก่อนุมูลอิสระ	21
4.1	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัม	28
4.2	กราฟมาตรฐานของ Gallic acid	30
4.3	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม	31
4.4	กราฟมาตรฐานของ Quercetin	33
4.5	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม	34

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันคนไทยหันมาสนใจสุขภาพกันมากขึ้นมีการเลือกรับประทานอาหาร มีการรณรงค์เรื่องการสูบบุหรี่ การดื่มสุรา และการออกกำลังกาย จากสถิติที่ผ่านมาพบว่าคนไทยและคนทั่วโลกมีอัตราการเสียชีวิตโรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้นมาก สาเหตุที่สำคัญเกิดจากความไม่สมดุลของการรับประทานอาหารและการออกกำลังกาย นอกจากนั้นยังทำให้เกิดโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง กระดูกพรุน โรคอ้วนและโรคมะเร็งบางชนิด การได้รับประทานอาหารที่มีคุณภาพร่วมกับการออกกำลังกายอย่างเหมาะสมจะทำให้มีสุขภาพที่ดี สมาคมโภชนาการ สมาคมความดันโลหิตสูงได้ร่วมกันกำหนดแนวทางการรับประทานอาหารซึ่งไม่เน้นเฉพาะพลังงานอย่างเดียว แต่จะเน้นเรื่องสารอาหาร และการออกกำลังกาย เป็นที่ทราบกันดีว่าผักและผลไม้นั้นมีประโยชน์มากมายมหาศาล เพราะเป็นแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีคุณสมบัติของการเป็นแหล่งใยอาหาร ซึ่งเป็นสารที่ช่วยลดการดูดซึมของคอเลสเตอรอลและไขมัน และยังช่วยทำให้ระบบการย่อย ระบบการขับถ่ายทำงานได้อย่างปกติอีกด้วย นอกจากนี้ผักและผลไม้บางชนิดยังมีสารพิเศษที่ช่วยทำหน้าที่คล้ายยาป้องกัน และรักษาโรคบางชนิด

อินทผลัม เป็นผลไม้และพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่คนทั่วโลกต้องการบริโภคโดยเฉพาะในประเทศไทย มีความต้องการไม่น้อยกว่าประเทศอื่น อินทผลัม มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Date Palm และมีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Phoenix dactylifera* เป็นพืชในตระกูลปาล์มชนิดหนึ่ง มีหลากหลายพันธุ์ มีถิ่นกำเนิดในแถบตะวันออกกลาง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในภูมิภาคที่มีอากาศร้อนและแห้งแล้งแบบทะเลทราย โดยผู้ผลิตอินทผลัมรายใหญ่ ได้แก่ ซาอุดีอาระเบีย แอลจีเรีย และประเทศในแถบอาหรับ ผลของ อินทผาลัม จะมีทั้งขนาดเล็กและใหญ่แตกต่างกันออกไป มีรสหวาน อุดมไปด้วยวิตามินที่จะช่วยบำรุงร่างกาย ในคุณแม่ที่ให้นมลูกจะช่วยให้มีน้ำนมคงที่และสร้างภูมิคุ้มกันให้กับทารกอีกด้วย อินทผลัมสามารถรับประทานได้ทั้งผลสุกและผลดิบ โดยจะแกะเมล็ดออก นำมาทานแต่ส่วนของเนื้อ ส่วนใหญ่ผลสุกจะนิยมนำไปตากแห้ง เป็นการถนอมอาหารในรูปแบบหนึ่ง แต่รสชาติก็ยังคงหวานฉ่ำอยู่เช่นเดิม ในการรับประทานผลสดจึงอาจจะ

ไม่เหมาะกับผู้ป่วยเบาหวานหรือการรับประทานปริมาณมาก ๆ เพื่อให้ได้วิตามินที่ร่างกายต้องการที่เพียงพอ

ในปัจจุบัน อินทผลัม ได้รับความนิยมปลูกในประเทศไทยมากขึ้น แต่ก็ยังถือว่ามีจำนวนน้อย เนื่องจากสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสม ประเทศไทยเป็นเขตร้อนชื้นทำให้การเจริญเติบโตไม่เต็มที่ ราคาของผลไม้ชนิดนี้ในประเทศไทยจึงยังคงมีราคาสูง

ดังนั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวม คือ สารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดอินทผลัมโดยการนำสารสกัดอินทผลัมทั้งจากเนื้อและเมล็ดมาทำการศึกษา เพื่อที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ โดยผู้วิจัยได้นำผลอินทผลัมจากสวนเพาะปลูกและจำหน่ายอินทผลัม ที่อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี โครงการวิจัยนี้ยังสามารถช่วยลดการนำเข้าสินค้ากลุ่มวัตถุดิบสารออกฤทธิ์ และผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคมและส่งเสริมการปลูกพืชธรรมชาติเพื่อเป็นรายได้เสริมรองจากพืชเศรษฐกิจ เป็นต้น หลังจากเสร็จสิ้นโครงการวิจัยนี้สามารถนำผลงานวิจัยที่ได้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

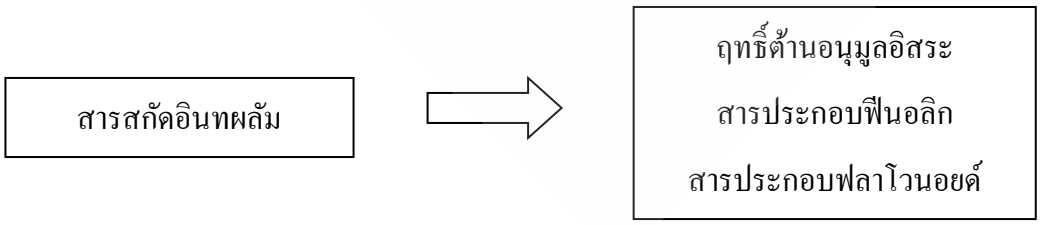
1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัม

1.2.2 เพื่อศึกษาสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัม

1.3 คำถามการวิจัย

สารสกัดอินทผลัมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลรวมหรือไม่

1.4 กรอบแนวความคิด



1.5 สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สารสกัดอินทผลัมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลรวมที่ดี

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ผลที่คาดว่าจะได้รับหลังจากโครงการวิจัยนี้เสร็จสิ้น คือจะได้สารสกัดอินทผลัม ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัมที่ดีที่สุดและสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ นอกจากนี้ยังสามารถนำผลงานวิจัยที่ได้จากโครงการนี้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้รวมถึงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนและเป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติและภูมิปัญญาไทยที่บรรพบุรุษได้สืบทอดกันมาให้คงอยู่ต่อไป รวมทั้งทำให้เกิดการสร้างงานเพื่อเป็นพื้นฐานการพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของประเทศให้สู่ระบบอันเป็นสากลได้

1.7 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารสกัดอินทผลัม, ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์

Antioxidant, *Phoenix dactylifera* Extract, Phenolic, flavonoids

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อินทผลัม

อินทผลัม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phoenix dactylifera* มีชื่อวงศ์ Palmae (Arecaceae) และชื่อสามัญคือ Date Palm เป็นพืชในตระกูลปาล์มชนิดหนึ่ง มีหลากหลายพันธุ์ มีถิ่นกำเนิดในแถบตะวันออกกลาง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในภูมิภาคที่มีอากาศร้อน และแห้งแล้งแบบทะเลทราย ส่วนใหญ่นิยมปลูกในแถบประเทศ ซาอุดีอาระเบีย แอลจีเรีย และประเทศในแถบอาหรับ อินทผลัมเป็นผลไม้ที่มีปลูกในประเทศไทยเป็นจำนวนน้อย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้น ทำให้ประเทศไทยต้องนำเข้าอินทผลัมควบคู่ไปด้วย ซึ่งอินทผลัมส่วนใหญ่ที่นำเข้ามักอยู่ในรูปทั้งผลไม้สดและแปรรูปแล้ว นอกจากนี้ อินทผลัม มีหลากหลายสายพันธุ์ทั้ง ชนิดปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับ ซึ่งมีรูปทรงต้นที่สวยงาม ผลผลิตมีขนาดเล็ก เนื้อมีปริมาณน้อย รับประทาน ไม่ได้และอีกชนิดหนึ่งเป็นชนิดปลูกเพื่อรับประทานผล ผลมีขนาดใหญ่ รสชาติหวาน อุดมด้วยน้ำตาลและวิตามินต่าง ๆ มากมาย อินทผลัมเป็นผลไม้ที่ดีต่อสุขภาพ ประกอบไปด้วย วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ มากมาย อีกทั้งยังเป็นอาหาร ช่วยระบายท้อง (Laxatine food) มีสรรพคุณทางยาช่วยรักษาโรคได้หลาย อย่าง เนื่องจาก ในผลอินทผลัมมีส่วนประกอบของสารแทนนิน มีเส้นใยช่วยรักษาอาการท้องผูก ช่วยชำระ ล้างร่างกายและช่วยรักษา และทำความสะอาดลำไส้ ในผลมีธาตุเหล็กสูง ช่วยรักษาโรคโลหิตจาง ช่วยลด สาเหตุการเกิดโรคมะเร็ง ระดับน้ำตาลในเลือดสูง และอัตราการเกิดโรคหัวใจ นอกจากนี้อินทผลัมเป็นผลไม้ ที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของชาวไทยที่นับถือศาสนาอิสลาม โดยเฉพาะในเดือนแห่งการถือศีลอด (รอมฎอน) มักจะนิยมบริโภคและมอบผลอินทผลัมแก่กัน เพื่อใช้ทดแทนพลังงานที่สูญเสียไปในแต่ละวัน จากการถือศีลอด เนื่องจากว่าในผลอินทผลัมนั้นประกอบด้วยน้ำตาลในปริมาณสูงถึง 77% ของน้ำหนัก แห้ง ทำให้ผู้บริโภครู้สึกว่าร่างกายหายจากการอ่อนเพลีย อินทผลัมเรียกขานเป็นภาษาท้องถิ่นว่า Khajji หรือ Khajoor

ประเทศไทยมีหลายจังหวัดที่มีสภาพภูมิอากาศและสภาพดินที่สามารถปลูกต้นอินทผลัมได้ ดี แต่ในช่วงที่ผลผลิตแก่ (ประมาณเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม) เป็นฤดูฝนจะทำให้เกิดปัญหาผลเน่า ดังนั้น แนวทางที่จะผลิตเป็นการค้าสำหรับประเทศไทย คือ การรวบรวมพันธุ์จากแหล่งปลูกต่าง ๆ มาปลูกศึกษา ลักษณะสัณฐานวิทยา การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิต และ

นำเมล็ดลูกผสมจากต้นพ่อพันธุ์ แม่พันธุ์ที่ ให้เปอร์เซ็นต์ช่อผล และละอองเกสรสูง มาปลูกทำการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม เพื่อจำหน่ายผลสด ซึ่งต้อง มีผลขนาดใหญ่ เนื้อกรอบ รสชาติหวาน มันเหมือนกับพันธุ์ Hilali, พันธุ์ Khalasra ซึ่งหากว่ามีการปลูก ต้นอินทผลัมที่สามารถให้ผลผลิตที่มีคุณภาพได้ในประเทศไทยจะช่วยลดการนำเข้าได้อย่างมหาศาล อีก ทั้งยังเป็นการเพิ่มทางเลือกในอาชีพ และรายได้ให้แก่เกษตรกร ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพชีวิต และความมั่นคงของรายได้ต่อไป

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม

อินทผลัมเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลปาล์ม มีความสูงประมาณ 30 เมตร ลำต้นมีขนาดประมาณ 30-50 เซนติเมตร มีใบติดอยู่บนต้นประมาณ 40-60 ก้าน ทางใบยาว 3-4 เมตร ใบเป็นแบบขนนก ใบย่อยพุ่งออกหลายทิศทาง ช่อดอกจะออกจากโคนใบ ผลทรงกลมรี ยาวประมาณ 2-4 เซนติเมตร ออกเป็นช่อรสหวานฉ่ำ ต้นอินทผลัมจะเริ่มให้ผลครั้งแรกเมื่ออายุ 5–7 ปี และมีอายุยืนยาวถึงกว่า 100 ปี โดยจะให้ผลผลิตต่อปีเฉลี่ยประมาณ 7,000–8,000 ลูกต่อปี หรือ ประมาณ 100–150 กิโลกรัม ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับขนาดและความสมบูรณ์ของต้น อินทผลัมสามารถทานได้ทั้งผลดิบและสุก โดยผลจะมีสีเหลืองจนถึงสีส้มและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มเมื่อแก่จัด ผลสุกจัดมักนิยมนำไปตากแห้ง ทำให้สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลาหลายปี และมักมีคนเข้าใจผิดว่ารสหวานจัดของอินทผลัมเกิดนั้นการแปรรูปด้วยการนำไปเชื่อมด้วยน้ำตาล (ภาพที่ 2.1)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม

ที่มา : https://www.google.co.th/search?q=อินทผลัม&source

2.1.2 ประโยชน์ของอินทผลัม

ประสิทธิ์ โนรี (2550) กล่าวว่า มีประโยชน์ 2 ด้าน คือ ด้านคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน 1.75-2.75 เปอร์เซ็นต์แร่ธาตุและวิตามิน ได้แก่ ซัลเฟอร์ ธาตุเหล็ก โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส น้ำมันโวลาไดท์ และวิตามิน A, B1, B2 และ B6 เป็นต้น มีเส้นใยมาก ช่วยลดอาการท้องผูกและทำให้ย่อยง่ายรวมทั้งให้พลังงานสูง บำรุงกล้ามเนื้อมดลูกและสร้าง น้ำนมแม่ด้วย ในผลอินทผลัมสดมีฮอร์โมน “ไบโตซีน” ซึ่งมีสรรพคุณในการทำให้บาดแผลที่มดลูกหดหรือลด ขนาดลงและห้ามเลือดออกที่มดลูกได้ ด้านการรักษาโรค ได้แก่ บำรุงร่างกาย บำรุงสายตา ลดความหิว แก้ กระหาย แก้โรควิงเวียนศีรษะ ช่วยลดเสมหะ ทำให้กระดูกแข็งแรง ลดระดับน้ำตาลในเลือดและความดัน โลหิตสูง ฆ่าเชื้อโรค พยาธิและสารพิษที่ตกอยู่ในลำไส้และระบบทางเดินอาหาร เพราะมีฤทธิ์ในการกำจัด สารพิษ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคอันเป็นสารก่อมะเร็งในช่องท้องได้

ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของอินทผลัม ดังนี้

ผล: บริโภคในรูปผลสด หรือผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น ผลอินทผลัมสุก ตากแห้ง น้ำเชื่อม จากผลอินทผลัม อินทผลัมแผ่น อินทผลัมผง แยม คุกกี้ ส่วนผสมของซอส ส่วนผสมของอาหารเช้า ผลิตเป็นสุรา ทำเป็นเครื่องดื่มเรียกว่า อินทผลัมเชค

เมล็ด: ใช้เป็นอาหารสัตว์ (ตากแห้งและบดละเอียด) ใช้ทำสบู่และเครื่องสำอางจากน้ำมันที่สกัดจากเมล็ด

ราก: ใช้รักษาอาการปวดฟัน

ลำต้น: ใช้ทำท่อส่งน้ำ สร้างบ้าน รักษาท้องเสีย และอาการเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะจากยางของลำต้น

ใบ ก้านใบ และกาบช่อดอก: ใช้ทำเสื่อ ตะกร้า เครื่องจักสาน สร้างบ้าน

2.1.3 สารอาหารต่าง ๆ ในอินทผาลัม

วิตามินและแร่ธาตุ

โพแทสเซียม อินทผาลัมเป็นแหล่งโพแทสเซียมซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีบทบาทสำคัญต่อร่างกายหลายประการ เช่น ช่วยสร้างกล้ามเนื้อ รักษาสมดุลของเหลวในร่างกาย ควบคุมอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือด รวมทั้งช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดสมองและโรคหัวใจ โดยอินทผาลัม 4 ผลมีโพแทสเซียมประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่ร่างกายต้องการในแต่ละวัน

ธาตุเหล็ก นอกจากโพแทสเซียมแล้ว อินทผาลัมยังเป็นแหล่งของธาตุเหล็กซึ่งเป็นสารสำคัญที่ช่วยสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนไปยังเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกาย โดยอินทผาลัม 4 ผลมีธาตุเหล็กประมาณ 11 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่แนะนำในแต่ละวัน

วิตามิน อินทผาลัมอุดมไปด้วยวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ทั้งวิตามินบี 3 ที่ช่วยควบคุมการทำงานของระบบประสาท และระบบย่อยอาหารให้ทำงานเป็นปกติ รวมถึงช่วยบำรุงให้ผิวหนังมีสุขภาพดี วิตามินบี 6 ที่ช่วยพัฒนาสมอง เสริมสร้างระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกันให้แข็งแรง และวิตามินเอ ที่ช่วยบำรุงสายตา เสริมสร้างสุขภาพผิวหนังและเยื่อเมือกบุผิว ทั้งยังมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของเซลล์ในร่างกายด้วย

เส้นใยอาหาร

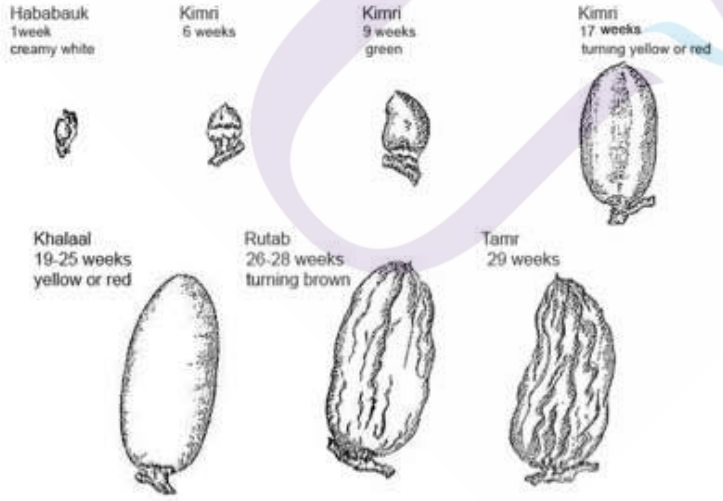
เส้นใยอาหารจะช่วยให้การขับถ่ายสะดวกขึ้น โดยช่วยเพิ่มปริมาณของเนื้ออุจจาระ ป้องกันอาการท้องผูกและช่วยทำให้อุจจาระนิ่มจนเคลื่อนตัวผ่านลำไส้ได้ง่าย นอกจากนี้ เส้นใยอาหารยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และช่วยลดน้ำหนักได้ เนื่องจากอาหารที่มีเส้นใยอาหารสูงจะช่วยให้รู้สึกอิ่มท้องได้นานขึ้น โดยปริมาณของเส้นใยอาหารที่แนะนำให้บริโภคอยู่ที่ 25 กรัม/วัน

2.1.4 พัฒนาการของผลอินทผลัม

การพัฒนาของผลอินทผลัมจะมี 4 ช่วงดังนี้

1. ช่วงผลดิบ (ภาษาอารบิก - Kimri)
2. ช่วงผลโตเต็มที่และเนื้อมีความกรอบ (ภาษาอารบิก - Khlaal บางครั้งเรียกว่า Bisr)
3. ช่วงผลสุกและมีเนื้อนิ่ม (ภาษาอารบิก - Rutab)
4. ช่วงผลแห้ง (ภาษาอารบิก - Tarm หรือ Tarmar)

โดยระยะเวลาตั้งแต่เริ่มออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 150-240 วันแล้วแต่สายพันธุ์



ภาพที่ 2.2 การพัฒนาผลของอินทผลัมในระยะต่าง ๆ

ที่มา: http://www.flowersinisrael.com/Phoenixdactylifera_page.htm

ในช่วง Kimri ผลอินทผลัมจะเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนไปถึงช่วงของ Khalal ซึ่งเมื่อถึงช่วงของ Khalal แล้ว สีของผลอินทผลัมจะเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียว ไปเป็นสีที่เป็นไปตามแต่ละสายพันธุ์ของอินทผลัม โดยผลจะยังคงแข็งและมีรสฝาดเนื่องจากมีแทนนินผสมอยู่มาก อัตราการเจริญเติบโตของผลและน้ำหนักในช่วง Khalal จะลดลงและน้อยกว่าช่วง Kimri และเมื่อผลมีขนาดโตและน้ำหนักมากจนเต็มที่ก็จะเริ่มเข้าสู่ช่วง Rutab ซึ่งในช่วง Rutab นี้ สีผิวจะมีลักษณะเข้มขึ้นเป็นสีเหลืองอำพัน หรือสีน้ำตาลหรือเกือบดำ ขึ้นกับสายพันธุ์ ผลจะมีลักษณะเริ่มสุกและนิ่มขึ้น ผิวเริ่มเหี่ยวย่น และมีแทนนินเพิ่มมากขึ้น ส่วนในช่วง Tamar ปริมาณน้ำในผลจะลดลง และมีอัตราส่วนของน้ำต่อน้ำตาลสูงพอที่ไม่ให้เกิดการหมัก ผลของอินผลัมเมื่อยังอ่อนอยู่ จะมีปริมาณน้ำอยู่ประมาณ 75-80% และจะลดลงอย่างรวดเร็วเหลือประมาณ 40-60% เมื่อผลเริ่มสุก ส่วนปริมาณน้ำตาลของผลอินทผลัมเมื่อตากแห้งในช่วงเริ่มต้นของ Kimri จะมีอยู่ประมาณ 20% และจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็น 50% เมื่อถึงช่วงเริ่มต้นของ Khalal จากนั้นปริมาณน้ำตาลจะสะสมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วไปจนถึง 72- 88% เมื่อผลแก่เต็มที่ ทั้งนี้ลักษณะและขนาดของผลอินทผลัมจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ การดูแลรักษา และสภาพแวดล้อม

2.1.5 สายพันธุ์ของอินทผลัม

2.1.5.1 อินทผลัมพันธุ์ Ajwa หรือ Ajwah (อัจวะ หรือ อัจวะห์ หรือออกเสียงเร็ว ๆ ว่า (อัจ - จะ - วะห์) เป็นพันธุ์ทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ประเทศซาอุดิอาระเบีย โดยเฉพาะจากเมืองมาดินะห์ ถือว่าเป็นอินทผลัมที่มีชื่อเสียงมาก เป็นพันธุ์ที่ปรากฏในคัมภีร์ของอัลกุรอานของศาสนาอิสลาม ลักษณะผล มีลักษณะกลมรี แต่ไม่ยาวเหมือนพันธุ์เดกเลทนัวร์ เมื่อสุกแล้วสีของผลแห้งจะเริ่มเปลี่ยนสีน้ำตาลเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำ มีลายสีขาว ๆ อยู่บริเวณก้นของผล เนื้อเหนียวหนึบ เมื่อแก่ใหม่ ๆ รสชาติจะนุ่ม ไม่หวานเหมือนความหวานของอินทผลัมพันธุ์อื่น

2.1.5.2 อินทผลัมพันธุ์ Barhee หรือ Barhi (บาร์ฮี หรือ "บัรฮี) เป็นพันธุ์ทานผลสด โดยเฉพาะ มีแหล่งกำเนิดในประเทศอิรัก ปัจจุบันมีการปลูกกันแพร่หลายในหลายประเทศ กล่าวกันว่า พันธุ์ Barhi เป็น "แอบเปิ้ลแห่งตะวันออกกลาง" ลักษณะผลของอินทผลัมพันธุ์นี้ มีลักษณะกลมรีเล็กน้อย ออกไปทางกลมมากกว่ารี เหมาะสำหรับทานผลสด โดยเมื่อผลแก่จะมีลักษณะผลสีเหลือง และเมื่อแก่เต็มที่จะมีลักษณะสีของผลออกสีเหลืองแก่ เป็นช่วงที่เหมาะแก่การทาน มีรสชาติมัน กรอบ หวานเล็กน้อย ไม่ติดฝาด (เมื่อแก่เต็มที่)

2.1.5.3 อินทผลัมพันธุ์ Deglet Nour (เดกเล็ท นัวร์) เป็นพันธุ์ทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดจากประเทศแอลจีเรียและประเทศตูนีเซีย ในวงการอินทผลัมถือว่าเป็น “ราชินีแห่งอินทผลัม” เป็นพันธุ์ที่นิยมส่งออกไปขายต่างประเทศทั่วโลกมากที่สุด รสชาติไม่หวานมาก หวานปนมัน

ไม่แข็งกระด้าง เหนียวเล็กน้อย นุ่ม เมื่อแก่จะเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีแดงออกน้ำตาล เมื่อสุกเต็มที่จะออกสีเหลืองทองและเมื่อแห้งไปเรื่อย ๆ สีผิวจะใสโปร่งแสงคล้ายสีของน้ำผึ้ง

2.1.5.4 อินทผลัมพันธุ์ Mabroom (อ่านว่า มับรูป หรืออ่านออกเสียงเร็ว ๆ ว่า มับ – บะ - รูม) แหล่งกำเนิดที่มีชื่อเสียงมาจากเมืองมาดินะห์ ประเทศซาอุดิอาระเบีย ลักษณะเนื้อเหนียว หนึบ หวาน และไม่เหนะหนะ นิยมนำมาแกะเมล็ดออกแล้วนำมะม่วงหิมพานต์ ถั่วอัลมอนต์ มาสอดใส้ เป็นอินทผลัมพันธุ์หนึ่งที่มีลักษณะต้นใหญ่ สวย เหมาะสำหรับปลูกในเชิงประดับได้อีกด้วย

2.1.5.5 อินทผลัมพันธุ์ Medjool หรือ Medjhol หรือ Medjull (เมดจูล) หรือบางครั้งเรียกว่าพันธุ์ Ambatt (อัมบาต) หรือ นิยมเรียกกันว่า “พันธุ์ 7 เม็ดศอก” เพราะเป็นพันธุ์ที่มีผลขนาดใหญ่ที่สุด เป็นพันธุ์ทานผลแห้ง มีแหล่งกำเนิดในประเทศโมรอคโค ในวงการอินทผลัมถือว่าเป็น “ราชาแห่งอินทผลัม” เป็นพันธุ์ดีที่นิยมส่งขายไปทั่วโลกเช่นเดียวกัน เนื้อนุ่ม ไม่เหนียวหนึบมาก (เนื้อทราย) รสชาติหวานฉ่ำ และหวานมาก

2.1.5.6 อินทผลัม พันธุ์ Zahidi - Zehdi - Zahdi (อ่านว่า ซาฮิดิ) มีแหล่งกำเนิดในประเทศอีรัก และอีหร่าน ปัจจุบันถือว่า สองประเทศนี้เป็นแหล่งใหญ่ที่ส่งออกไปจำหน่ายยังทั่วโลก เนื่องจากมีการนำเข้ามาขายน้อยในประเทศไทย ลักษณะเนื้อเมื่อสุกจะออกสีทอง เปลือกแข็ง (คล้ายกับ Barhi เมื่อสุก) เนื้อเหนียว หนึบ หวานมาก ไม่เหนียวแบบเหนะหนะ พันธุ์นี้นิยมนำไปแปรรูป เพราะมีรสชาติหวานมาก

2.2 อนุมูลอิสระ

2.2.1 สารอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้าและอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลหรืออนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $A^{\cdot}$ อนุมูล $A^{\cdot\cdot}$ และ อนุมูล $A^{+\cdot}$ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่อิเล็กตรอนเดี่ยวกัน ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพ ได้แก่

อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O^{\cdot-}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\cdot}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\cdot}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\cdot}$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\cdot}NO$) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. การแตกตัวของพันธะโควาเลนท์แบบโฮโมไลซิส

$$A : B \longrightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$$

ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง ทางไฟฟ้า

$$A + e^- \longrightarrow A^{\cdot-}$$

ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\cdot} + e^-$$

2.2.2 กระบวนการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระเป็นกระบวนการปกติที่เกิดขึ้นในร่างกาย รวมถึงการได้รับสารจากภายนอกโดยจะเข้ามากระตุ้นภายในร่างกายให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ โดยจะกล่าวถึงภาวะที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเท่านั้น

2.2.2.1 อนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการหายใจและกระบวนการสร้างพลังงานภายในร่างกาย

ไมโตรคอนเดรียเป็นแหล่งที่สร้างพลังงานและเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นคืออนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออน อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เมื่อสร้างพลังงานให้กับร่างกายโดยออกซิเดทีฟฟอสโฟรีเลชัน (oxidative phosphorylation) พบว่าออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้สร้างพลังงานจะมีการรีดิวซ์ไม่สมบูรณ์ประมาณ 2-10% ได้เป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ซึ่งจะนำไปสู่อนุมูลอิสระตัวอื่น คือ อนุมูลไฮดรอกซี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยที่อนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออนในสภาวะที่มี Fe^{2+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\cdot} + OH^-$) นอกจากปฏิกิริยาเฟนตันแล้วยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซี โดยปฏิกิริยาฮาเบอร์ไวส์ (Haberweiss) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($Fe^{2+} + O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + O_2 + HO^{\cdot} + OH^-$) อนุมูลอิสระที่หลุดออกมาจากโมเลกุลอื่นเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ซึ่งทำให้มีอนุมูลอิสระตัวใหม่เกิดขึ้น เป็นจุดเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่เพื่อสร้างอนุมูลอิสระ หากไม่มีการยับยั้งให้มีการสร้างลดลงของอนุมูลตัวใหม่

จะทำให้เกิดปฏิกิริยา เช่น ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ซึ่งเป็นการสร้างอนุมูลอิสระภายในเยื่อหุ้มเซลล์

2.2.2.2 อนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

เมื่อเซลล์ในร่างกายของเราพบว่ามีแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายจะมีการสร้างอนุมูลอิสระมาทำลายแบคทีเรียนั้น ๆ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายจะควบคุมการสร้างอนุมูลอิสระ แต่ถ้าเมื่อใดที่ระบบภูมิคุ้มกันไม่สามารถควบคุมการสร้างได้ จะทำให้เกิดโทษต่อร่างกายโดยอนุมูลอิสระที่มีการสร้างขึ้นมากมายจะไปทำลายเซลล์ร่างกาย เช่น การเป็นโรคออโต้อิมมูน (autoimmune diseases)

2.2.2.3 อนุมูลอิสระเป็นผลผลิตที่มาจากการทำงานของเอนไซม์หรือปฏิกิริยาเคมีในร่างกาย

อนุมูลอิสระจะถูกสร้างจากกระบวนการย่อยสลายของอะดีนาลีน (adrenaline) กระบวนการเมแทบอ ริซึมของไขมัน (lipid metabolism) และ เหล็ก (iron metabolism)

2.2.3 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรค ทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมีพัฒนาการอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาทในสมอง และสภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต คือ หัวใจ และสมอง นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไร้คู่ ดังนั้นจึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค คือ ชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ รีเซพเตอร์ และสารสื่อประสาท และ ดีเอ็นเอ

2.2.4 การป้องกันอันตรายและความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

โดยธรรมชาติแล้วจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายหลายชนิด มีทั้งที่เป็นประโยชน์และให้โทษประกอบด้วย เซลล์และร่างกายจะเป็นอันตรายและเสียหายหากมีอนุมูลอิสระจำนวนมากเกินสมดุล ดังนั้นเซลล์ร่างกายจึงมีกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้สูงจนเกินอันตราย กลไกสำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระมีกลไกอิสระอยู่สามกลไก โดยทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายของอนุมูลต่อเซลล์ ในภาวะปกติกลไกเหล่านี้ถือว่าเพียงพอต่อการรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้กลไกที่สำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้แก่

2.2.4.1 เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant enzymer)

1. เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase, SOD) เอนไซม์ SOD จะทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่เกิดขึ้นในร่างกาย คืออนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน โดนแรงปฏิกิริยาดิสมิวเตสในการเปลี่ยนอนุมูล ซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-\bullet}$) ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$2O_2^{-\bullet} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

2. เอนไซม์คาตาเลส (Catalase, CAT) เอนไซม์คาตาเลสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ในเปอร์ออกซิโซม มีฮีม คือ ferriprotoporphyrin เป็นองค์ประกอบ โครงสร้างเอนไซม์คาตาเลสประกอบด้วยหน่วยย่อยของโปรตีนอีก 4 หน่วยย่อยที่เหมือนกัน เอนไซม์คาตาเลสทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นโมเลกุลของน้ำและออกซิเจน

$$2H_2O_2 + 2H^+ \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

3. เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกไซด์ (Glutathione peroxidase ,GP**x)** เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะมีธาตุซีเลเนียมเป็นองค์ประกอบสำคัญอยู่ในโครงสร้างของเอนไซม์ เอนไซม์ GPx ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีการออกซิไดส์กลูตาไทโอน (GSH) ร่วมในปฏิกิริยาด้วย เป็นการสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่ให้เกิดปฏิกิริยาเฟนตันซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เอนไซม์นี้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่ให้ถูกทำลายหรือเสียหายจากภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไป

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + H_2O$$

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GPx} ROH + GSSG + H_2O$$

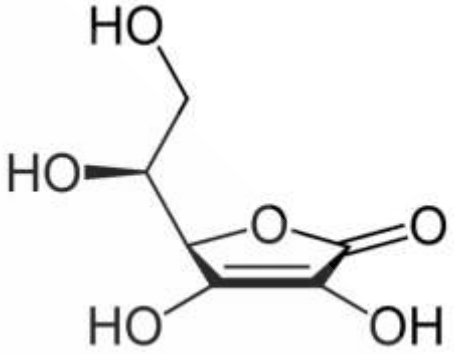
2.2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ

1. สารอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น

1.1 วิตามินซี มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงมีหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก ($AscH_2$) มีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ปฏิกิริยาโดยรวมคือ การให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจน

แก่อนุมูลอิสระ เป็นการกำจัดหรือขยายอนุมูลอิสระคือ $R^{\cdot}$ ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ $ACS^{\cdot-}$ แสดงดังภาพที่ 2.3



รูปที่ 2.3 วิตามินซี

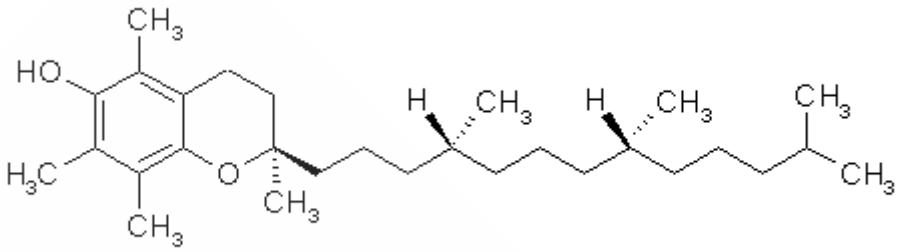
ที่มา : http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/09/Ascorbic-acid-2D-skeletal.png&imgrefurl

1.2 วิตามินอี หรือ tocopherol เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ โดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชัน ตัวอื่น ๆ เช่น วิตามินซีและซิลิเนียมเป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่ว ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอล และ โทโคไทอินอล แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อย ๆ อีก 4 ชนิด ได้แก่ อัลฟ่า (α-) เบต้า (β-) แกมม่า (γ-) และเดลต้า (δ-) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูล peroxyl ดังสมการ (ภาพที่ 2.4)

$$\alpha\text{- tocopherol} + LOO\bullet \longrightarrow \alpha\text{- tocopherol}\bullet + LOOH$$

อนุมูล α- tocopherol• ที่เกิดขึ้น สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxyl ตัวอื่นทำให้ได้สารที่มีความเสถียร (LOO-α- tocopherol) ดังสมการ เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุดลง (Basu *et al*., 1999)

α- tocopherol• + LOO• ⟶ LOO- α- tocopherol



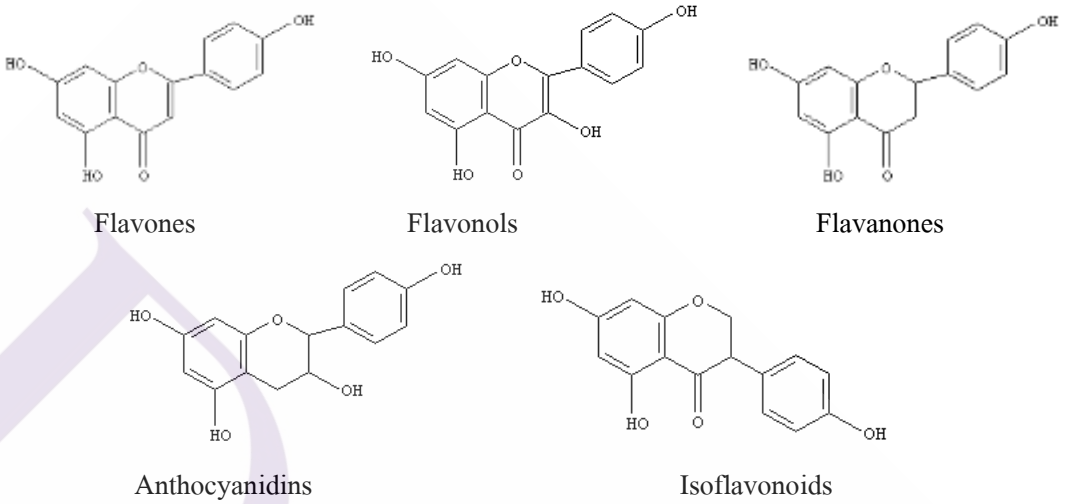
รูปที่ 2.4 แอลฟา – โทโคฟีรอล

ที่มา: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR_alpha-tocopherol.png&imgrefurl

1.3 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟีนิลโปพานอยด์ (phenylpopanoid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน (lignin) เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม -1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารประกอบโพฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติ การเป็นสารต้านอนุมูล โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอยด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญได้แก่ ฟลาโวนอยด์

1.4 สารกลุ่มฟลาโนวอยด์ (flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อีเทอร์คีโตน รวมทั้ง การมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโนวอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (flavanes) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนน (flavanons) ฟลาวานอล

(flavonols) ฟลาโวน (flavonoes) และแอนโทไซยานนิดิน (anthocyanidins) เป็นต้น โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิดดังภาพที่ 2.5

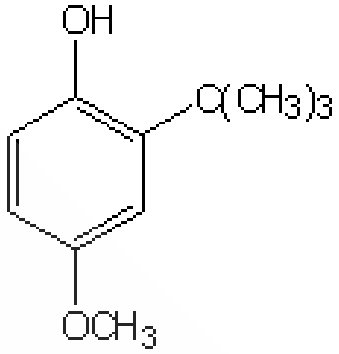


รูปที่ 2.5 ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา: http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html

2. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants)

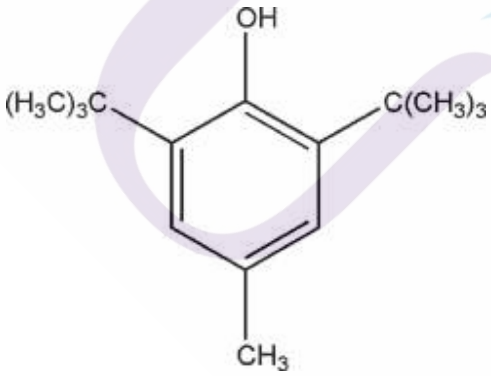
2.1 บีเอชเอ (butylated hydroxylanisole,BHA) เป็นวัตถุกันหืนที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบที่มีผลึกสีขาวหรือมีสีเหลือง มีกลิ่นฉุน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารผสม 2- และ 3- tert –butyl -4 -hyfroxyanisole หรืออาจใช้ร่วมกับแกลเลตหรือบีเอชที เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นดังภาพที่ 2.6



รูปที่ 2.6 บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลลานิโซล

ที่มา: http://www.promma.ac.th/chemistry/boonrawd_site/radicy_files/image002.gif

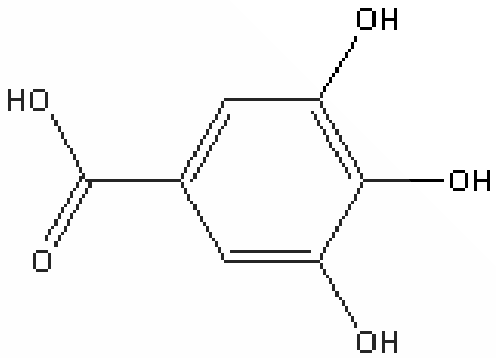
2.2 บีเอชที (butylated hydroxytoluene,BHT) เป็นวัตถุกันหืนชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันเช่นเดียวกับบีเอชเอ แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย บีเอชทีเป็นสารประกอบที่เป็นผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน ไม่ละลายน้ำ และ propane-1,2-diol แต่ละลายในแอลกอฮอล์ และให้กลิ่นฟีนอล (phenol) เช่นเดียวกัน มักนิยมให้ผสมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่น เพื่อเสริมให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น นิยมใช้ในอาหารประเภท ไขมันสัตว์ น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์ปลา และน้ำมันหอมระเหย ดังภาพที่ 2.7



รูปที่ 2.7 บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลทูลูอีน

ที่มา: http://www.medicinescomplete.com/excipients/2009/images /ExcButylatedHydroxytoluene C001

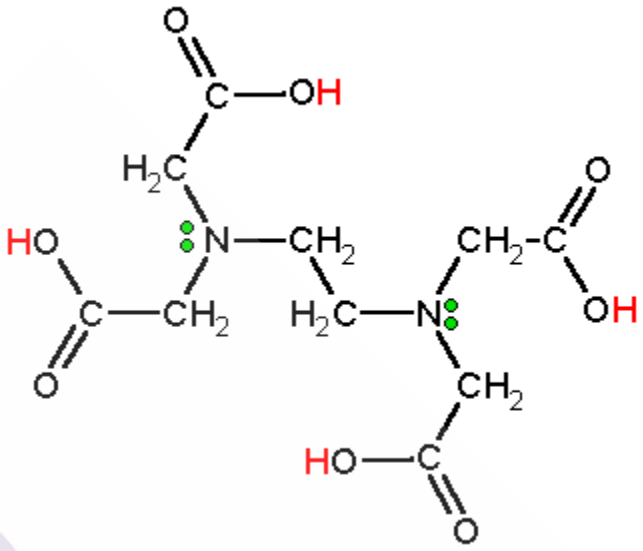
2.3 กรดแกลลิค หรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_7H_6O_5$ Gallic acid เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่น ๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของ กรดแกลลิค คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี ดังภาพที่ 2.8



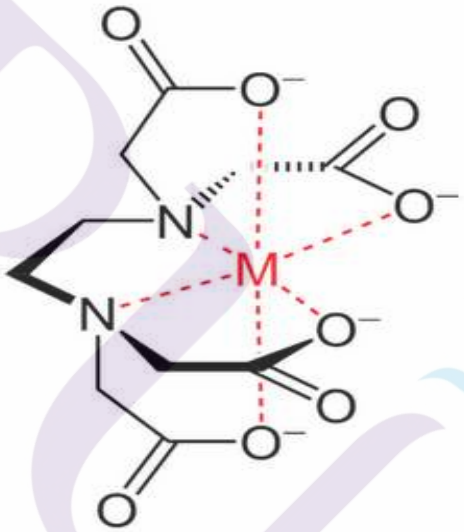
รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของ กรดแกลลิค

ที่มา: http://www.phytochemicals.info/pictures/phytochemicals/gallic-acid

2.4 อีดีทีเอ หรือ (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_{10}H_{16}N_2O_8$ มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลท โดยการจับกับธาตุโลหะที่มีประจุ เช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แคดเมียม แมงกานีส และทองแดง ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่าง ๆ ได้ดังภาพที่ 2.9 และ ภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของ EDTA (Sinex, 2007)



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างทางเคมีของ EDTA จับกับไอออนของโลหะ

ที่มา: http://curxcom2.blogspot.com/2009_08_01_archive.html

2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

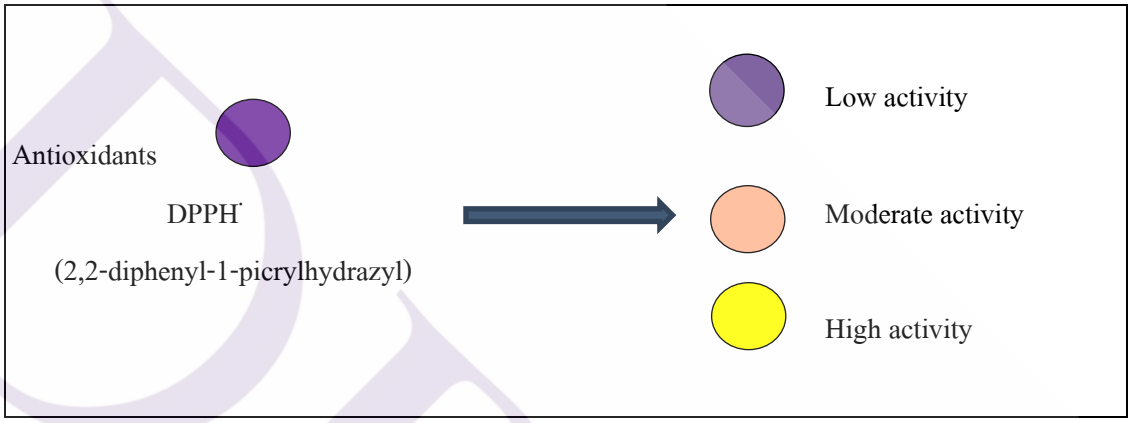
2.3.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Anti-oxidation activity)

ในสิ่งมีชีวิตต้องการใช้พลังงานเพื่อประกอบกิจกรรมต่าง ๆ ซึ่งจะต้องใช้ออกซิเจนเพื่อการสร้างพลังงาน โดยใช้โมเลกุลของออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในขั้นสุดท้าย และจะถูกรีดิวซ์เป็นน้ำซึ่งเป็นสารที่ไม่ก่อปฏิกิริยา ส่วนปฏิกิริยาของออกซิเจนนั้นสามารถก่อสารอนุมูลอิสระ และอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ reactive oxygen species หรือ ROS ซึ่งการเพิ่มสารเหล่านี้จะทำให้มีผลทำลายสารชีว-โมเลกุล ได้แก่ โปรตีน กรดนิวคลีอิก หรือลิปิด ซึ่งจะทำให้การทำงานบกพร่องไปและไม่สามารถกลับมาทำงานได้อีก ภาวะนี้เรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารออกซิเดชัน เช่น การเกิดเปอร์ออกซิเดชันของลิปิด (lipid peroxidation) ทำให้เกิดการทำลายเซลล์เมมเบรนอย่างต่อเนื่อง สารภายในเซลล์รั่วไหล และทำให้เซลล์ตายในที่สุด นอกจากนี้โลหะบางประเภท เช่น เหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) ที่มีอยู่ในร่างกายสามารถที่จะก่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นกัน (อุไรวรรณ และคณะ, 2552)

สารต้านออกซิเดชัน(antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase,glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม โปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล(ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือ สารต้านออกซิเดชัน ในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซีubiquinone, uric acid, bilirubin,albumin, sulfhydryl groups ในกรดอะมิโนcysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีโนลิก(phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavanoids ที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันอีกด้วย (อุไรวรรณ และคณะ, 2552)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

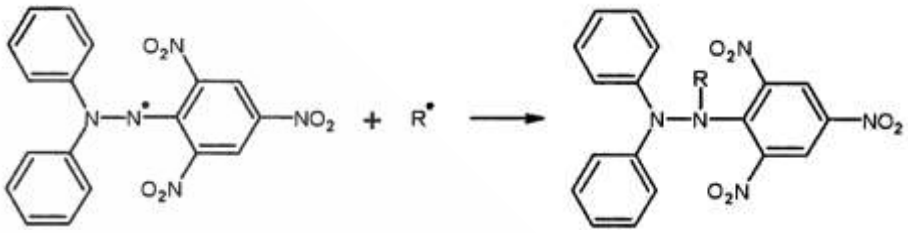
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH: H ติดตามผลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH (Yamasaki et al., 1994)



ภาพที่ 2.11 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่ายโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+o}$ นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติอย่างไรก็ตามอนุมูล $DPPH^{o}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

สารต้านอนุมูลอิสระใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ (Scavenging activity) เช่น วิตามินซี



สีม่วงอมน้ำเงิน สีเหลือง

ภาพที่ 2.12 การโอนถ่ายอิเล็กตรอนของ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) แก่อนุมูลอิสระ

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จารุฉัตร และคณะ (2558) ได้รวบรวมพันธุ์และศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัมจากแหล่งปลูกอินทผลัมต่าง ๆ ใน ภาคเหนือตอนบน ได้รวบรวมจากแหล่งปลูกอินทผลัมทั้งหมด 2 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ และลำปาง ระหว่าง พ.ศ. 2555-2558 รวบรวมไว้ทั้งหมด 60 สายต้น เป็นต้นที่รวบรวมได้จากการเพาะเมล็ดทั้งหมด ได้บันทึกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม พบว่า มีชื่อสามัญว่า Date Palm ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phoenix dactylifera* L. เป็นพืชตระกูลปาล์ม มีทั้งอินทผลัมสายพันธุ์ประดับ บริโภคผลสด และบริโภค ผลแห้ง เริ่มให้ผลผลิตได้เมื่อต้นมีอายุ 4-7 ปีขึ้นไป ต้น ลักษณะเป็นต้นเดี่ยวและแตกหน่อทางด้านข้าง มี กาบก้านใบห่อหุ้มต้น ใบลักษณะเป็นแบบขนนก ทางใบชี้ตรงขึ้นไป ไม่โค้งลง ปลายใบแหลมคม ใบสีเขียว อ่อน ใต้ใบสีเทา ใบย่อยพุ่งออกหลายทิศทาง ก้านทางใบมีหนามแหลมยาวและแข็งมาก ดอก ช่อดอก ออกเป็นจั่นทางโคนใบ เป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศ ดอกตัวผู้และตัวเมียแยกกันอยู่คนละต้น ลักษณะของดอกตัวผู้กลีบดอกเป็นแฉก ๆ สีขาวคล้ายหางกระรอก ดอกตัวเมียเป็นช่อเม็ดกลม ๆ สีเขียวอ่อน ผลมีลักษณะ เป็นช่อผล ผลมีหลายลักษณะทั้งรูปทรงกลม กลมรี และเรียวยาว ผลยาวประมาณ 2-4 เซนติเมตร สีผลมี หลายสีทั้งเหลือง น้ำตาล ส้ม แดง ไปจนถึงดำขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ผลสุกมีสีเหลืองจนถึงสีส้มและเปลี่ยนเป็น สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มเมื่อแก่จัด ผลสดมีรสหวาน ติดฝาดเล็กน้อย ผลแห้งรสหวานฉ่ำ

ซัมซัม อัรอูร (2559) อินทผาลัมนั้นเป็น ผลไม้ที่มีคอเรสเทอรัลและไขมันต่ำ อุดมไปด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย และยังช่วยบำรุงร่างกาย รักษาโรคทางกระเพาะ

อาหาร และโรคต่าง ๆ จากการศึกษางานวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศได้ระบุคุณสมบัติของน้ำมันเมล็ดอินทผาลัม (Date Palm oil) ซึ่งมีคุณสมบัติในการลดเลือนริ้วรอย ยกกระชับผิวหน้า ลดรอยดำ รอยแดง ลดรอยหมองคล้ำใต้ตา ซึ่งเห็นผลได้จริง เมื่อใช้เป็นประจำอย่างต่อเนื่อง

กฤติยา ไชยนอก (2559) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอินทผลัม โดยพบว่าผลของอินทผลัมมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ลดไขมันและน้ำตาลในเลือด ช่วยปกป้องตับไต หัวใจ และป้องกันการ ตายของเซลล์หัวใจ ซึ่งส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในระดับเซลล์และสัตว์ทดลองสำหรับการศึกษาทาง คลินิกพบว่า เมื่อให้อาสาสมัครสุขภาพดีรับประทานผลอินทผลัมในขนาด 100 ก./วัน นาน 4 สัปดาห์ จะ ทำให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ลดลง โดยไม่ส่งผลเสียต่อระดับน้ำตาลในเลือด อีกทั้งยังช่วยป้องกันภาวะ หลอดเลือดแข็งตัวด้วย และการศึกษาในชายที่มีภาวะเสื่อมสมรรถภาพทางเพศพบว่า สารสกัดจาก ละอองเกสรของอินทผลัม (Date Palm Pollen; DPP) ซึ่งอุดมไปด้วย amino acids, fatty acids, flavonoids, saponins และ estroles สามารถช่วยให้จำนวนอสุจิและการเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้น รวมทั้งทำให้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้ DPPH ยังช่วยป้องกันการอักเสบจาก การฉายแสงรักษามะเร็งด้วย

พรประภา และคณะ (2557) ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำอินทผลัมที่ได้จากผลอ่อนและผลแก่ คุณภาพด้านสี ความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรด ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แทนนิน วิตามินซี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH inhibition และ FRAP พบว่าน้ำอินทผลัมที่ได้จากผลแก่มีความเหมาะสมต่อ การรับประทานสดมากที่สุด โดยน้ำอินทผลัมจากผลแก่มีความเป็นสีเหลือง มีความเข้มสีและมีเฉดสีส้มมากกว่าน้ำอินทผลัม จากผลอ่อน ค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของน้ำอินทผลัมจากผลแก่มีค่าสูงกว่า แต่ มีปริมาณกรดทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แทนนิน วิตามินซี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH inhibition) น้อยกว่าน้ำอินทผลัมจากผลอ่อน แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริค (FRAP) มากกว่าน้ำอินทผลัมจาก ผลอ่อน อินทผลัมผลแก่ที่มีสีเหลือง มีรสหวานมากกว่า และมีรสเปรี้ยวและฝาดน้อยกว่าน้ำอินทผลัมจากผลอ่อน ดังนั้น น้ำอินทผลัมจากผลแก่ จึงเหมาะสมต่อการรับประทานสด

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือในการวิจัย

3.1.1 วัสดุ – อุปกรณ์

- Beaker ขนาด 100, 200, 500 ml (Pyrex, Germany)
- Centrifuge tube (Isolab, Germany)
- Cylinder (Pyrex, Germany)
- Dropper (Pyrex, Germany)
- Erlenmeyer flask ขนาด 250, 500, 1000 ml (Pyrex, Germany)
- Forceps (Isolab, Germany)
- Funnel (Pyrex, Germany)
- Micropipette (Pyrex, Germany)
- Micropipette tipe (Pyrex, Germany)
- Multichannel micropipette (Biopette, USA)
- Test tube (Pyrex, Germany)
- 96 well microtiter plate (Thermo Scientific, UK)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- Aluminium trichloride, $AlCl_3$ (Merck, Germany)
- Ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)
- Dimethyl sulfoxide (DMSO, Fisher Scientific, Inc, UK)
- Ethanol 95% (C_2H_5OH) (Prolabo chemicals, USA)
- Folin-Ciocalteu's reagent (Carlo erba, Germany)
- Gallic acid (Fluka, Germany)
- Hydrochloric acid (HCl) (Hannong Chemicals Inc, KOREA)
- Potassium Dihydrogen Phosphate (Prolabo chemicals, Belgium)
- Quercetin (Merck, Germany)

- Sodium chloride (Prolabo chemicals, Belgium)
- Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Carlo erba, Germany)
- 2,2- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, Sigma-Aldrich, USA)

3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- Filter paper (Whatman, UK)
- Hot air oven (Modell 100-800, Memmert, Germany)
- Hot plate (HTS-1003, LMS, Japan)
- Microplate reader (Promega,USA)
- pH meter (ExStik, China)
- Vacum pump (LR37697, China)
- Water bath (Memmert, Germany)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารสกัด

3.2.1.1 การสกัดด้วยวิธีการต้ม

ทำการแยกแต่ละส่วนของอินทผลัม ทั้ง 2 ส่วน จากนั้นนำทุกส่วนของอินทผลัมอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 °C แล้วนำมาบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบด จากนั้นชั่งแต่ละส่วนของอินทผลัมอย่างละ 30 g ต้มในน้ำกลั่นที่ร้อนปริมาตร 300 ml บน Hot plate ที่อุณหภูมิ 80-100 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำสารสกัดมากรองหยาบด้วยสำลี และกรองละเอียดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้น นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator โดยกำหนดความเร็วรอบในการหมุน 65-80 rpm/min ที่อุณหภูมิในอ่างน้ำ 45 °C ความดัน 70-90 mbar เมื่อสารสกัดแห้งนำมาเก็บในขวดสีชา แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบต่อไป (ดัดแปลงวิธีจาก Rattana et. Al., 2011)

3.2.1.2 การสกัดด้วย 95 % เอทานอล

นำตัวอย่างจากส่วนของอินทผลัม ทั้ง 2 ส่วน ตากแห้งแล้วนำมาบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบด จากนั้นชั่งแต่ละตัวอย่างของอินทผลัมอย่างละ 30 g ลงในขวดรูปชมพู่ เติม 95 % เอทานอล ปริมาตร 300 ml นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าที่มีความเร็วเท่ากับ 200 rpm เป็นระยะเวลา 2 วัน เมื่อครบระยะเวลาให้นำมากรองด้วยเครื่องสุญญากาศ ซึ่งแบ่งเป็นสองขั้นตอน คือ กรองแบบหยาบ ซึ่งเป็นการกรองผ่านใช้สำลี และกรองแบบละเอียดเป็นการกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator โดยกำหนด

ความเร็วรอบในการหมุน 65-80 rpm/min ที่อุณหภูมิในอ่างน้ำ 45 ℃ ความดัน 70-90 mbar และเก็บสารสกัดในขวดสีชา แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 ℃ เพื่อนำไปทดสอบต่อไป (ดัดแปลงวิธีจาก Rattana et. Al., 2011)

3.2.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Total Phenolic compound)

การหาปริมาณฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric (Anna Pekal, Krystyna Pyrzynska. 2004) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) วัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้สารมาตรฐาน Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 mg/ml ในเอทานอล และสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 mg/ml จากนั้นเติมสารสกัดตัวอย่างลงใน 96-well plate ปริมาตร 50 µl เติมสารละลาย 7% Na_2CO_3 ปริมาตร 70 µl และ สารละลาย Folin Ciocalteu reagent ปริมาตร 50 µl ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader นำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยการเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid และแสดงผลเป็นค่า Gallic acid ต่อน้ำหนักสารสกัดหนัก 1 g (GAE/g crude extract)

3.2.3 การทดสอบปริมาณฟลาโวนอย (Total Flavonoid)

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยวิธี aluminum chloride colorimetry (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak et al., 2008) โดยใช้เคอร์ซิตินเป็นสารมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 mg/ml ละลายด้วยเอทานอล จากนั้นเติมสารตัวอย่าง 25 µl น้ำกลั่น 100 µl และ 5% $NaNO_2$ 10 µl ทำปฏิกิริยาใน 96-well microplate บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาเติม 10% $AlCl_3$ 15 µl บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เติม 1 M NaOH 50 µl และ น้ำกลั่น 50 µl บ่มที่อุณหภูมิห้องครบ 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานเคอซิติน ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน นำเสนอเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอซิติน ในสารสกัด 1 กรัม (mgQE/g extract)

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.2.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging assay) ด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 mg/ml จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 µl ลงใน 96-well plate เติมสารละลาย 0.1

mg/ml DPPH ปริมาตร 100 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ 50% (SC_{50}) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซนต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant et al., 2012)

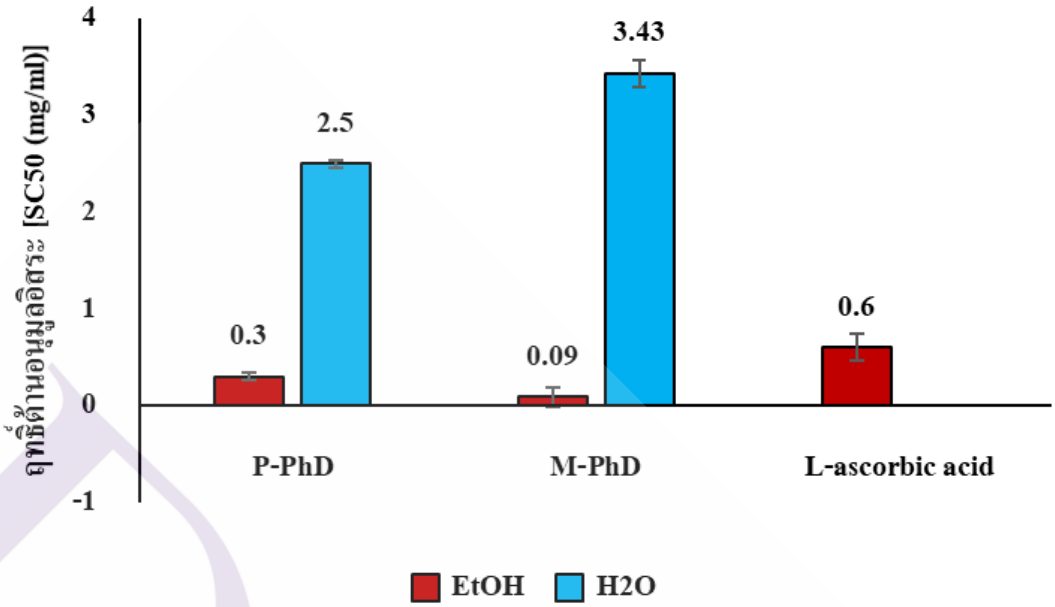
3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัม โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (n=3) และทำการหาค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) และหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) พร้อมทั้งนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี *ANOVA* และคำนวณหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 0.05 ($p<0.05$)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity) ด้วยวิธี DPPH ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่เสถียร และมีสีม่วง แต่เมื่อสารทดสอบหรือสารสกัดที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน กับ DPPH จะทำให้ DPPH เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Sharma et al., 2009) จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดอินทผลัมทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดอินทผลัมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (M-PhD-EtOH) (SC_{50} เท่ากับ 0.09±0.10 mg/ml) รองลงมาคือ สารสกัดเม็ดอินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (P-PhD-EtOH) (SC_{50} เท่ากับ 0.30±0.04 mg/ml) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1) ซึ่งพบว่า สารสกัดอินทผลัมทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์มากกว่าสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid) ถึง 2 เท่า (SC_{50} เท่ากับ 0.60 ± 0.14 mg/ml) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พรประภา และคณะ (2557) ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำอินทผลัมที่ได้จากผลอ่อนและผลแก่ คุณภาพด้านสี ความเป็นกรดด่าง ปริมาณกรด ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แทนนิน วิตามินซี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH inhibition และ FRAP พบว่าน้ำอินทผลัมที่ได้จากผลแก่มีความเหมาะสมต่อ การรับประทานสดมากที่สุด โดยน้ำอินทผลัมจากผลแก่มีความเป็นสีเหลือง มีความเข้มสีและมีเฉดสีส้มมากกว่าน้ำอินทผลัม จากผลอ่อน ค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของน้ำอินทผลัมจากผลแก่มีค่าสูงกว่า แต่ มีปริมาณกรดทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แทนนิน วิตามินซี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH inhibition) น้อยกว่าน้ำอินทผลัมจากผลอ่อน แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริค (FRAP) มากกว่าน้ำอินทผลัมจาก ผลอ่อน อินทผลัมผลแก่ที่มีสีเหลือง มีรสหวานมากกว่า และมีรสเปรี้ยวและฝาดน้อยกว่าน้ำอินทผลัมจากผลอ่อน ดังนั้น น้ำอินทผลัมจากผลแก่ จึงเหมาะสมต่อการรับประทานสด และงานวิจัยของ กฤติยา ไชยนอก (2559) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอินทผลัม โดยพบว่าผลของอินทผลัมมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ลดไขมันและน้ำตาลในเลือด ช่วยปกป้องตับไต หัวใจ



ภาพที่ 4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัม

ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัม

สารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [SC_{50} (mg/ml)]
P-PhD-EtOH	0.30 ± 0.04^{b}
M-PhD-EtOH	0.09 ± 0.10^{a}
P-PhD-H_2O	2.50 ± 0.04^{d}
M-PhD-H_2O	3.43 ± 0.14^{e}
L-ascorbic acid	0.60 ± 0.14^{c}

หมายเหตุ : $^{a-e}$ คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

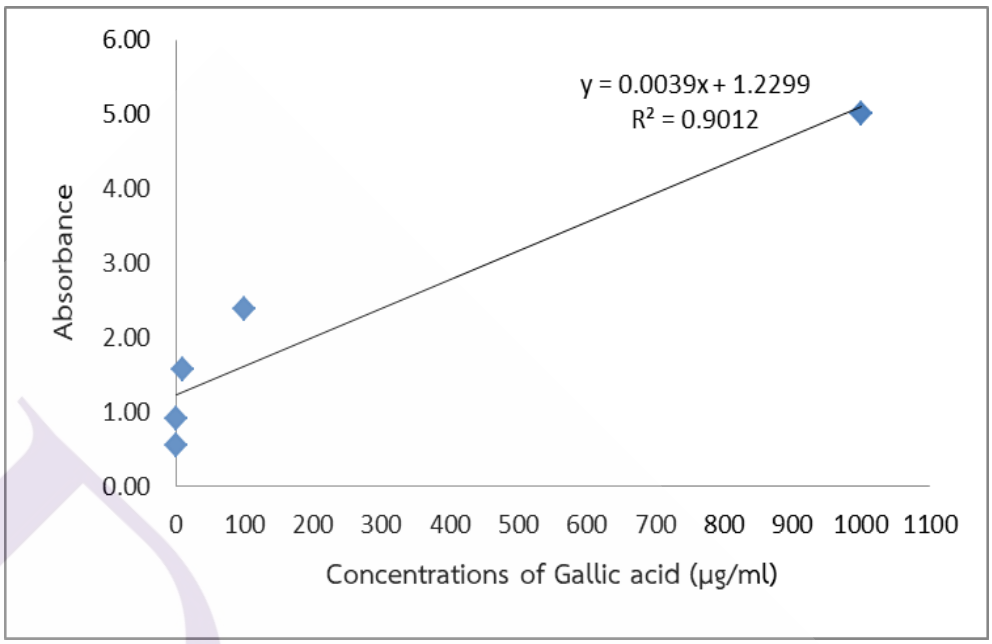
P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม

EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

4.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolics compounds) ของสารสกัดจากอินทผลัม

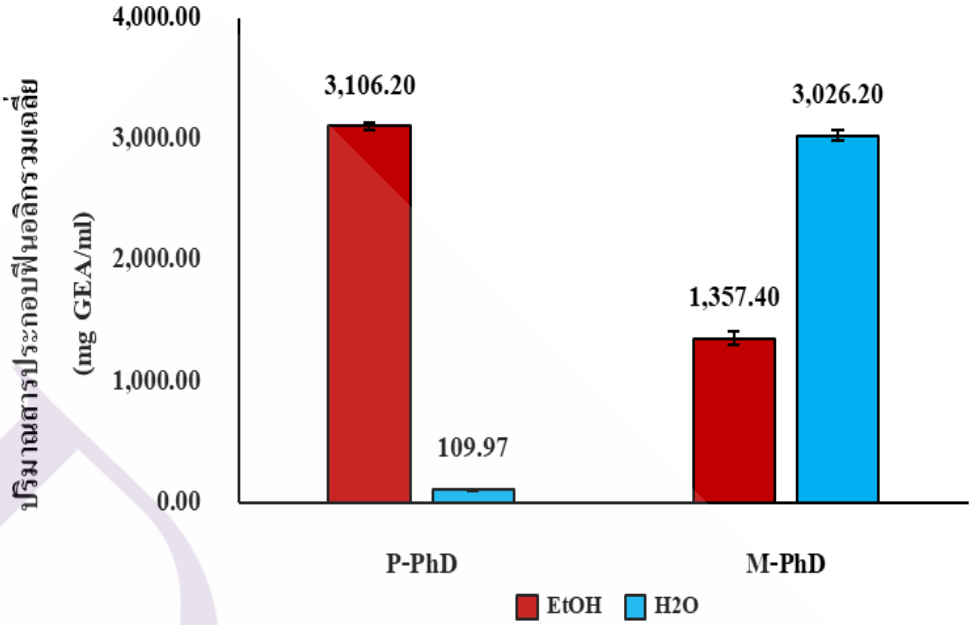
สารประกอบฟีนอลิค (Phenolic compound) เป็นสารที่พบได้ในพืช มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล อย่างนอ้ยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น ละลายน้ำได้ พบทั่วไปรวมกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) ในธรรมชาติพบสารประกอบฟี นอลิคได้หลายชนิด ที่พบมากสุดจะเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และโพลิฟีนอลิค เช่น ลิกนิน (Lignin) และ แทนนิน (Tannin) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคในอาหารและเครื่องดื่มที่มาจากพืชผักและผลไม้จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช วิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษา (ปรียนันท์, 2549)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของโมลิบโดทังสเตตไอออน (Molybdotungstate ion) รีเอเจนท์ประกอบด้วยโซเดียมทังสเตต (Sodium tungstate) โซเดียมโมลิบเดต (Sodium bolybdate) กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และ โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของไอออน Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และรายงานค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในรูปของ มิลลิกรัมของกรดแกลลิค (Gallic acid equivalent, mg/g GAE) (Tsai et al., 2005) ในการทดลองนี้ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน จากผลการทดลองทำการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ซึ่งทำการทดสอบ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 μg/ml พบว่า ได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ซึ่งมีสมการ $y = 0.0039x + 1.2299$, $R^2 = 0.9012$ แสดงในภาพที่ 4.2 จากนั้นนำสมการ y ของกราฟมาตรฐาน คำนวณผลการหาปริมาณฟีนอลิกของสารสกัด



ภาพที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของ Gallic acid

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากอินทผลัม สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักส่วนสกัดแห้ง 1 กรัม (mgGAE/g extract) พบว่าสารสกัดอินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม (P-PhD-EtOH) มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเท่ากับ 3,106.20±32.42 mg GEA/ml รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยน้ำ (M-PhD-H_2O) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ย (mg GEA/ml)
P-PhD-EtOH	3,106.20±32.42[d]
M-PhD-EtOH	1,357.40±58.58[b]
P-PhD-H_2O	109.97±4.70[a]
M-PhD-H_2O	3,026.20±42.41[c]

หมายเหตุ : [a-d] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

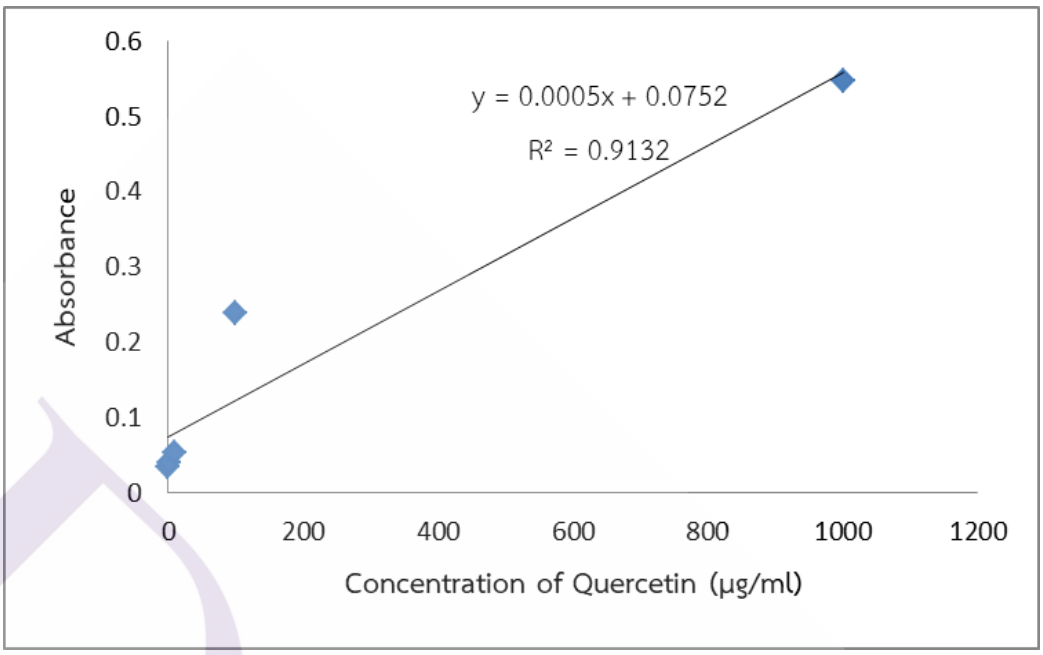
P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม

EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

4.3 การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoids) ของสารสกัดจากอินทผลัม

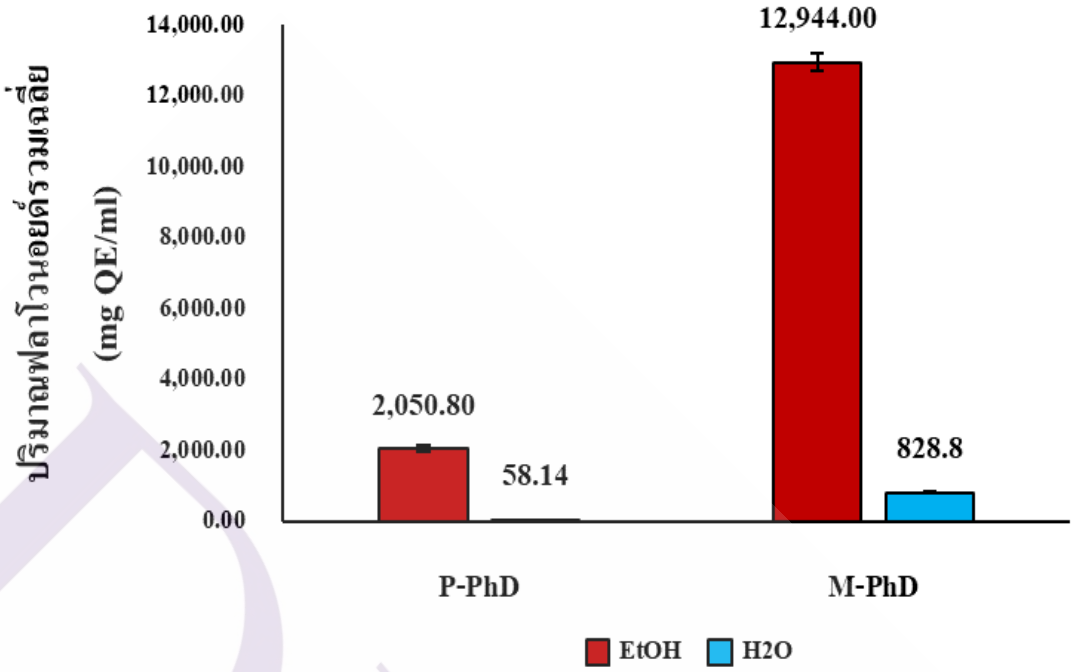
สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในอาหารที่เป็นพืช เช่น ผักและผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ในธรรมชาติสารประกอบฟลาโวนอยด์มีมากกว่า 4,000 ชนิด ส่วนใหญ่ อยู่ในรูปฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ หรือมากกว่าในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ จะเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (glucose) แรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) และไซโลส (xylose) (Narikawa, Shinoyama & Fujii, 2000) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่าง ของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่ วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้ง การมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้แก่ฟลาแวน (flanvanes), ฟลาวาโนน (flavanols), ฟลาวานอล (flavanols), ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาโวน (flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นต้น ฟลาโวนอยด์ เป็นสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระพบในเม็ดสีชนิดละลายในน้ำของผัก ผลไม้เมล็ดธัญพืช ใบไม้และเปลือกไม้ฟลาโวนอยด์มีอยู่มากมายหลายชนิด และพืชแต่ละชนิดมีฟลาโวนอยด์ แต่ละประเภทในความเข้มข้นที่ต่างกัน

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยวิธี aluminum chloride colorimetry (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak et al., 2008) โดยใช้เคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ $AlCl_3$ จะทำ ปฏิกิริยากับ Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร จากผลการทดลองทำการสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ซึ่งทำการทดสอบ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 μg/ml พบว่า ได้กราฟมาตรฐาน เคอร์ซิติน ซึ่งมีสมการ $y = 0.0005x + 0.0752$, $R^2 = 0.9132$) แสดงในภาพที่ 4.3 จากนั้นนำสมการ y ของกราฟมาตรฐาน คำนวณผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัด



ภาพที่ 4.4 กราฟมาตรฐานของ Quercetin

ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากอินทผลัม สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ในหน่วยมิลลิกรัมของเคอร์ซิติน ต่อน้ำหนักส่วนสกัดแห้ง 1 กรัม (mg Quercetin/g extract) พบว่าสารสกัดจากเนื้ออินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (M-PhD-EtOH) มีปริมาณฟลาโวนอยด์เฉลี่ย เท่ากับ 12,944.00±239.09 mg QE/ml รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัมทีสกัดด้วยเอทานอล (P-PhD-EtOH) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 จากงานวิจัยของ กฤติยา ไชยนอก (2559) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของอินทผลัม โดยพบว่าผลของอินทผลัมมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ลดไขมันและน้ำตาลในเลือด และพบว่า สารสกัดจาก ละอองเกสรของอินทผลัม (Date Palm Pollen; DPP) ซึ่งอุดมไปด้วย amino acids, fatty acids, flavonoids, saponins และ estroles และจากงานวิจัยของ Awad และ Al-Qurashi (2012) และ Biglari et al. (2008) ได้ รายงานว่าพบปริมาณฟลาโวนอยด์มีค่าเท่ากับ 1.62- 81.79 mg CE/100 g



ภาพที่ 4.5 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยของสารสกัดจากอินทผลัม

สารสกัด	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ย (mg QE/ml)
P-PhD-EtOH	2,050.80±85.13[c]
M-PhD-EtOH	12,944.00±239.09[d]
P-PhD-H_2O	58.14±1.79[a]
M-PhD-H_2O	828.80±36.92[b]

หมายเหตุ : [a-d] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม

EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดอินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอล และน้ำ ประกอบด้วย สารสกัดเม็ดอินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (P-PhD-EtOH), สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (M-PhD-EtOH) สารสกัดเม็ดอินทผลัมที่สกัดด้วยน้ำ (P-PhD-H_2O) และ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยน้ำ (M-PhD-H_2O) นำมาทำการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม พบว่า สารสกัดอินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม (P-PhD-EtOH) มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย เท่ากับ 3,106.20±32.42 mg GEA/ml รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมทีสกัดด้วยน้ำ (M-PhD-H_2O) ตามลำดับ และศึกษาหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (M-PhD-EtOH) มีปริมาณฟลาโวนอยด์เฉลี่ย เท่ากับ 12,944.00±239.09 mg QE/ml รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัมทีสกัดด้วยเอทานอล (P-PhD-EtOH) ตามลำดับ จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (SC_{50}) พบว่า สารสกัดอินทผลัมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (M-PhD-EtOH) (SC_{50} เท่ากับ 0.09±0.10 mg/ml) รองลงมาคือสารสกัดเม็ดอินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล (P-PhD-EtOH) (SC_{50} เท่ากับ 0.30±0.04 mg/ml) และมีฤทธิ์มากกว่าสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid) ถึง 2 เท่า (SC_{50} เท่ากับ 0.60 ± 0.14 mg/ml) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิธีการสกัดที่แตกต่างกันทำให้ได้กลุ่มสารที่แตกต่างกัน เนื่องจากในการสกัดพืใช้หลักของ คุณสมบัติในการละลายของสารพฤกษเคมีที่พบในพืชต่อตัวทำละลาย เช่น สารกลุ่มมีขั้วสูง (สามารถละลายในน้ำ) สารกลุ่มกึ่งมีขั้ว (สามารถละลายในแอลกอฮอล์) และสารกลุ่มไม่มีขั้ว (ไม่สามารถละลายในน้ำ) ดังนั้นในการสกัดพืชโดยการต้มจะทำให้ได้สารพฤกษเคมีที่ละลายได้ดีในน้ำ และสามารถทนความร้อนได้ เช่น สารในกลุ่มไกลโคไซด์ (แทนนิน ซาโปนิน และฟลาโวนอยด์) แอนทราควิโนน กรดอินทรีย์ และสารประกอบฟีนอลิก หรือถ้าเป็นการสกัดด้วยการหมักในตัวทำละลายเอทานอล จะทำให้ได้สารพฤกษเคมีที่มีขั้ว

แต่ขั้วไม่สูงมาก เช่น สารในกลุ่มไกลโคไซด์ อะไกลโคน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก เทอร์ปีน และเรซิน

ดังนั้น จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า อินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ดีกว่าอินทผลัมที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การนำอินทผลัมมาผ่านกระบวนการสกัดสาร ให้ปริมาณสารสำคัญ มากกว่าการนำมารับประทานผลสด และสารสกัดอินทผลัมมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับอินทผลัม และในส่วนของเม็ดอินทผลัมด้วย ยังสามารถช่วยลดการนำเข้าสินค้ากลุ่มวัตถุดิบ สารออกฤทธิ์ และผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคม สามารถนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำสารสกัดอินทผลัม ไปทำศึกษาทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตภัณฑ์สุขภาพ เพื่อประเมินถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพของสารสกัดอินทผลัม และอาจทำการทดสอบเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านเบาหวานหรือฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดอินทผลัม เพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัย ซึ่งจะทำให้สามารถต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดอินทผลัมต่อไปได้

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

กฤติยา ไชยนอก. (2559). *อินทผลัม ผลไม้เพิ่มพลัง* (บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล). สืบค้นจาก https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/320/%E0%B8%AD%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%97%E0%B8%9C%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%A1%E0%B8%9C%E0%B8%A5%E0%B9%84%E0%B8%A1%E0%B9%89%E0%B9%80%E0%B8%9E%E0%B8%B4%E0%B9%88%E0%B8%A1%E0%B8%9E%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%87

โครงสร้างทางเคมีของ EDTA จับกับไอออนของโลหะ. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://curxcom2.blogspot.com/2009_08_01_archive.html

โครงสร้างทางเคมีของ กรดแกลลิค. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://www.phytochemicals.info/pictures/phytochemicals/gallic-acid

จารุฉัตร เขนยทิพย์ และคณะ. (2558). *วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม*. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

ฉัตราภรณ์ และคณะ. (2551). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21*(3), 282-284.

ซัมซัม อัรอูร. (2559). *ผลิตภัณฑ์ลดเลือนริ้วรอยฮาลาล ด้วยสาระสำคัญจากน้ำมันเมล็ดอินทผลัม* (บริหารธุรกิจมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการนวัตกรรม). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์.

นิรนาม. (2549). อินทผลัม ปลูกในประเทศไทยได้ผลดีหรือไม่. *เทคโนโลยีชาวบ้าน, 18*(380).

นิรนาม. (2549). อินทผลัมกินผลที่เชียงใหม่. *ว. เคหการเกษตร, 61,* 67-68.

บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลทูลูอีน. สืบค้นเมื่อ 25 มิถุนายน 2561, จาก http://www.medicinescomplete.com/excipients/2009/images/ExcButylatedHydroxytol ueneC001

บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลลานิโซล. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://www.promma.ac.th/chemistry/boonrawd_site/ radicy_files/image002.gif

ปรียนันท์ บัวสด. (2549). *การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ของเครื่องดื่มชาโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี* (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พรประภา ชุนถนอม, หทัยรัตน์ บุญทวี, นรินธร อาจวาที, เสาวรส ร้องขาน, วิวัฒน์ ศรีวิชา, และคณะ. (2557). คุณภาพน้ำอินทผลัมสดในจังหวัดสกลนคร. *แก่นเกษตร,* 42, ฉบับพิเศษ 1.

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก https://www.google.co.th/search?q=อินทผลัม&source

วิตามินซี. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/09/Ascorbic-acid-2D-skeletal.png&imgrefurl

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html

สุภกร บุญยืน. (2559). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสสระและฤทธิ์ต้านแบคคทีเรีย ปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดพืชหางนกยูง (ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 5*(1), 20-28.

อุไรวรรณ เกศสวัสดิ์สกุล และคณะ. (2552). *ฤทธิ์ของสารสกัดจากข่าและว่านนางคำที่มีสาร antioxidant phenolics ต่อการสร้างเม็ดสีผิวเมลานินของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต* (ห้องสมุดแพทยศาศตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. พฤษภาคม 2552). เชียงใหม่: ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

แอลฟา-โทโคฟีรอล. สืบค้น 25 มิถุนายน 2561, จาก http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR_alpha-tocopherol.png&imgrefurl

โอภา วัชระคุปต์. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

ภาษาต่างประเทศ

Awad, M.A., and A.D. Al-Qurashi. (2012). Gibberellic acid spray and bunch bagging increase bunch weight and improve fruit quality of ‘Barhee’ date palm cultivar under hot arid conditions. *Sci.Hort.,* 138, 96-100.

Biglari, F., AlKarkhi, A. F.M., and Easa, A. M. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date Palm (Phoenix dactylifera) fruits from Iran. *Food Chem,* 107, 1636-1641. Botes, A., and Zaid, A., 1999.

Boonpisuttinant, K., Sodamook U., Ruksiriwanich W., and Winitchai, S., (2014). In vitro anti-melanogenesis and collagen biosynthesis stimulating activities of Star Grass (*Hypoxis aurea* Lour.) extracts. *Asian Journal of Applied Sciences, 2*(4), 405-413.

Khan, M., Ganie, S.A., Wani, I.H., Ganai, B.A., Masood, A., Zargar, M.A., Malik, A.H. & Hamid. R. (2012). Free radical scavenging activity of *Elsholtzia densa*. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 5*(3), 104-111.

Kim YH., Kim KH., Han CS., Park SH., Yang HC., Lee BY., Eom SY., Kim YS., Kim JH. and Lee NH., 2 0 0 8 . Anti-inflammatory activity of Crinum asiaticum Linne var. japonicum extract and its application as a cosmeceutical ingredient, *Journal of cosmetic science, 59*(5), 419-430.

Moon, J.K. & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57, 1655-1666.

Narikawa, Shinoyama & Fujii. (2000). A β-rutinosidase from Penicillium ruglosum IFO 7242. That is a Peculiar Flavonoid Glycosidase, 64, 1317-1319

Poudel, P.R., Tamura, H., Kataoka, I. & Mochioka, R. (2 0 0 8). Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Skins and Seeds of Five Wild Grapes and Two Hybrids Native to Japan. *Journal of food composition and analysis*, 21, 622- 625.

Rattana K., Orathai S., and Manuntara H. (2011). Anti-oxidant effects of the extracts from the leaves of Chromolaena odorata on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes against hydrogen peroxide and hypoxanthine–xanthine oxidase.

Sharma, O.P. and Bhat, T.K., 2009, DPPH antioxidant assay revisited, *Food Chem,* 113, 1202-1205.

Tsai., T.H., Tsai, P.J. and Ho, S.C. 2005. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Several Commonly Species. *Journal of Food Science, 70*(1), 93 – 97.

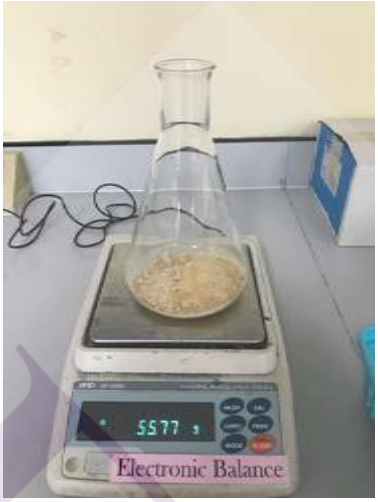
Zhu, M.Z., Wu, W., Jiao, L.L., Yang, P.F. & Guo, M.Q. (2015). Analysis of Flavonoids in Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaves and Their Antioxidant Activity Using Macroporous Resin Chromatography Coupled with LC-MS/MS and Antioxidant Biochemical Assays. *Molecules, 20*(6), 10553-10565.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การสกัดสารอินทผลัม

ก.1 การบดตัวอย่างอินทผลัมทั้ง 2 ส่วน และชั่งอินทผลัม ตามอัตราส่วนการสกัด



ก.2 การหมักอินทผลัมด้วยเอทานอล และการต้มน้ำ

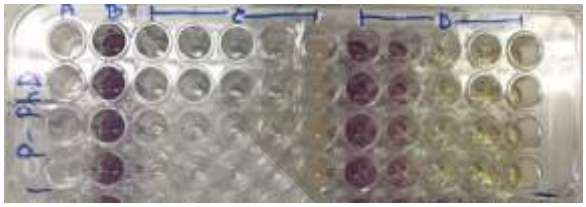
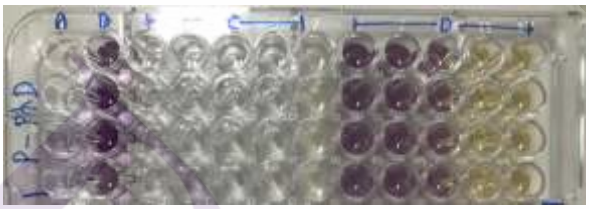
ก.3 นำมากรองด้วยสำลีและกระดาษกรองละเอียด

ก.4 นำมาทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporater

ภาคผนวก ข

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ข.1 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH)

P-PhD-EtOH	
M-PhD-EtOH	
P-PhD-H_2O	
M-PhD-H2O	
L-ascorbic acid	

ภาพที่ ข.1.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น L-ascorbic acid คือ วิตามินซี

ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\% \text{ Radical scavenging activity } = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

ยกตัวอย่างการการคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสมการสารสกัดอินทผลัม ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml

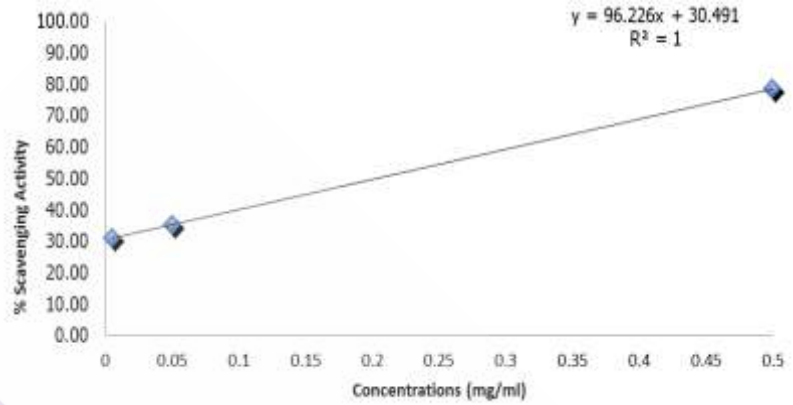
แทนค่า B=0.37 A=1.03

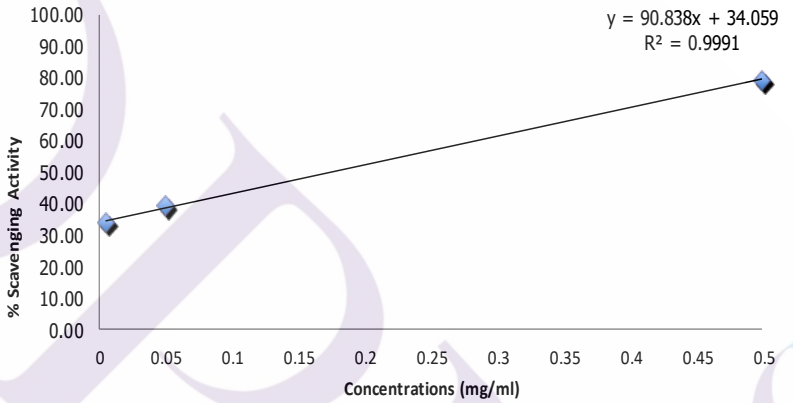
D=0.36 C=0.41

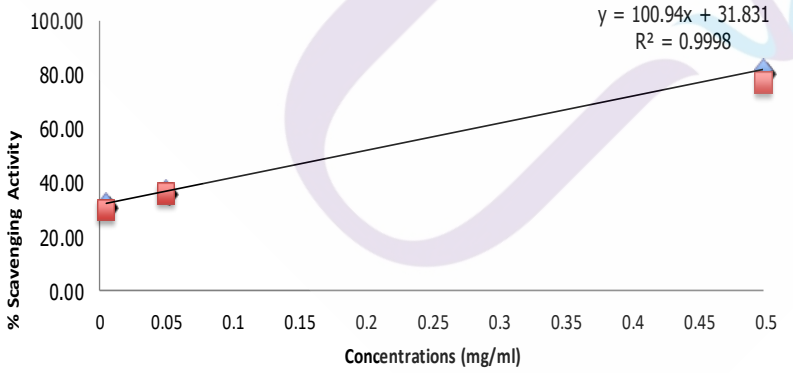
$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{[(1.03-0.37) - (0.41-0.36)] \times 100}{(1.03-0.37)}$$

$$= 92.42$$

หลังจากนั้นหาค่า % Free radical scavenging activity สารสกัดอินทผลัมที่ความเข้มข้นที่เหลือ โดยคำนวณตามสมการกับตัวอย่างที่เหลือจากนั้นนำไปสร้างเป็นกราฟโดยแทนแกน Y คือ ค่า % Free radical scavenging activity และ แกน X คือ ค่าความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml) ดังภาพที่ ข.1.2







ภาพที่ ข.1.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดอินทผลัม

ตัวอย่างการคำนวณหาค่า SC_{50} ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากสมการ	y	=	96.226x + 30.491
ให้ y = 50 ;	50	=	96.226x + 30.491
	50-30.491	=	96.226x
	x	=	0.20

จากสมการ	y	=	90.838x + 34.059
ให้ y = 50 ;	50	=	90.838x + 34.059
	50-34.059	=	90.838x
	x	=	0.17

จากสมการ	y	=	100.94x + 31.831
ให้ y = 50 ;	50	=	100.94x + 31.831
	50-31.831	=	100.94x
	x	=	0.17

	$x_{รวม}$	=	0.19
	SD	=	0.01

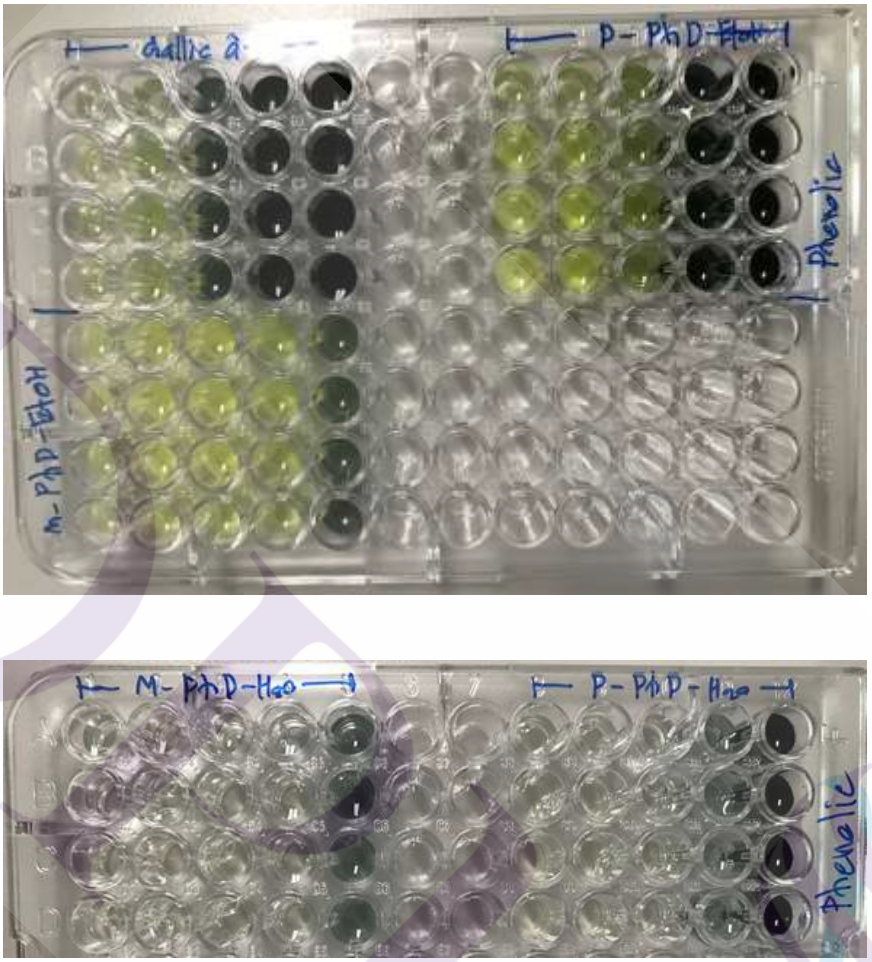
ดังนั้น ค่า SC_{50} ของสารสกัด เท่ากับ 0.19 ± 0.01 mg/ml

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic)

ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

ค.1 การตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric



ภาพที่ ค.1.1 ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ของ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก คือ

$y = 0.0039x + 1.2299$ $R^2 = 0.9012$

ค่าการดูดกลืนแสงของของสารสกัด P-PhD-EtOH คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัมที่สกัดด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 10.00 mg/mL ครั้งที่ 1 = 2.42 จะได้ว่า

จากสมการ $y = 0.0039x + 1.2299$

แทนค่า $y = 2.42$

$2.42 = 0.0039x + 1.2299$

$x = 305.99$

ในส่วนของสารสกัด P-PhD-EtOH ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL มีปริมาณฟีนอลิกรวม 305.99µgGAE

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในหน่วย mgGAE/g

สารสกัดตัวอย่าง 10.00 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก 305.99 µgGAE

ถ้าสารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก $= \frac{305.99 \ \mu gGAE \times 1000 \ mg}{10 \ mg}$

$= 3059938.46$ µgGAE/g

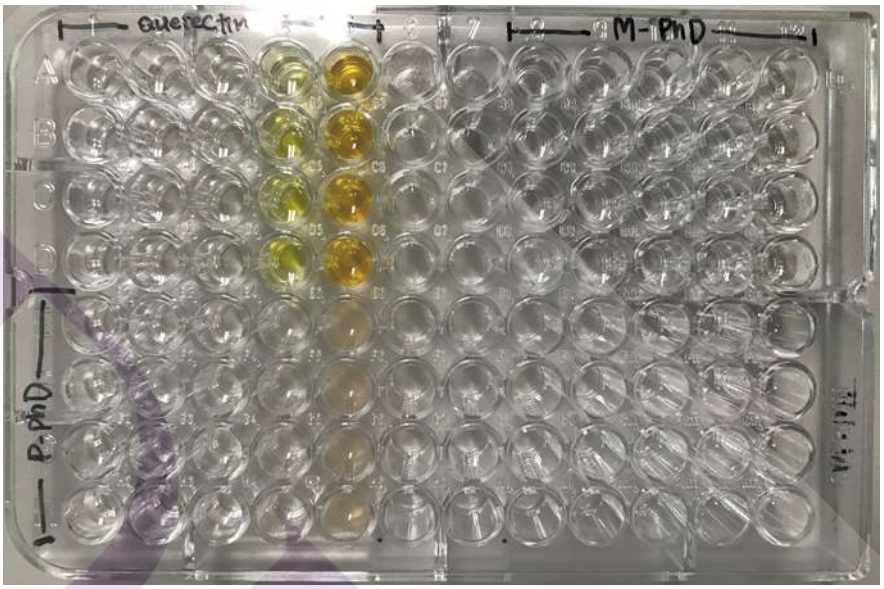
$= 3059.46$ mgGAE/g

ดังนั้น สารสกัด P-PhD-EtOH มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 3059.46 mgGAE/g

ภาคผนวก ง

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid) ด้วยวิธี Alumminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric

ง.1 การตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Alumminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric



รูปที่ ง.1.1 ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Alumminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric ของ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซิติน คือ

$y = 0.0005x + 0.0752$ $R^2 = 0.9132$

ค่าการดูดกลืนแสงของของสารสกัด M-PhD-EtOH ที่ความเข้มข้น 10.00 mg/mL ครั้งที่ 1 = 0.72 จะได้ว่า

จากสมการ $y = 0.0005x + 0.0752$

แทนค่า $y = 0.72$

$0.72 = 0.0005x + 0.0752$

$x = 1284.9$

ในส่วนของสารสกัด M-PhD-EtOH ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม 1284.9 µgQE

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในหน่วย mgQE/g

สารสกัดตัวอย่าง 10.00 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน 1284.9 µgQE

ถ้าสารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน $= \frac{1284.9\ \mu gQE \times 1000\ mg}{10\ mg}$

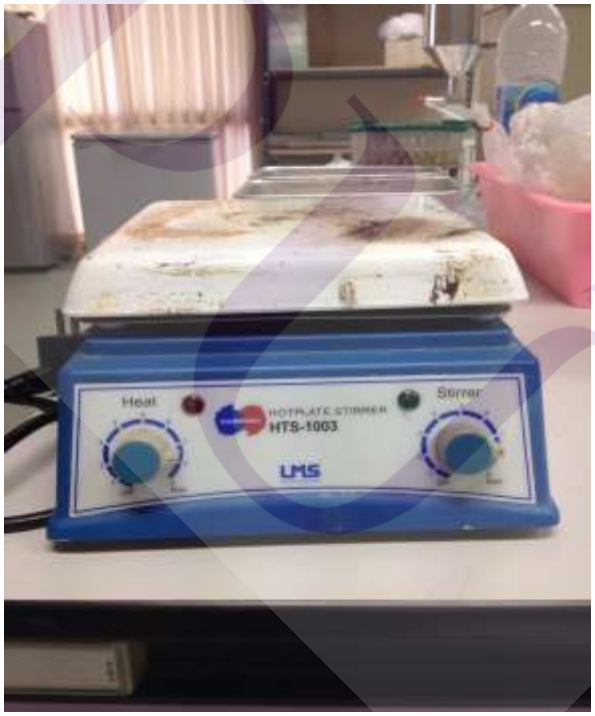
$= 12849000\ \mu gGAE/g$

$= 12849.00\ mgQE/g$

ดังนั้น สารสกัด M-PhD-EtOH มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 12849.00 mgQE/g

ภาคผนวก จ
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ภาพที่ จ-1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (XT 120A, Precisa instruments Ltd, Switzerland)



ภาพที่ จ-2 Hot plate (HTS-1003, LMS, Japan)

ภาพที่ จ-3 Rotary evaporator (R-205, Buchi, England)

ภาพที่ จ-4 water bath (WiseBath, USA)

ภาพที่ จ-5 Microplate reader (Promega, USA)

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ด้วยโปรแกรม spss

ตารางที่ ฉ-1 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

VAR00002

	VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05				
			a	b	c	d	e
Tukey HSD[a]	M-PhD-E	3	.0967				
	P-PhD-E	3	.3000				
	Vit C	3		.6067			
	P-PhD-W	3			2.5033		
	M-PhD-W	3				3.4267	
	Sig.		.073	1.000	1.000	1.000	
Duncan[a]	M-PhD-E	3	.0967				
	P-PhD-E	3		.3000			
	Vit C	3			.6067		
	P-PhD-W	3				2.5033	
	M-PhD-W	3					3.4267
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ: [a-d] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

ตารางที่ ฉ-2 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

VAR00002

	VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05			
			a	b	c	d
Tukey HSD[a]	P-PhD-W	3	111.6800			
	M-PhD-E	3		1380.3833		
	M-PhD-W	3			3040.0100	
	P-PhD-E	3				3121.6200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan[a]	P-PhD-W	3	111.6800			
	M-PhD-E	3		1380.3833		
	M-PhD-W	3			3040.0100	
	P-PhD-E	3				3121.6200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ: [a-d] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

ตารางที่ ฉ-3 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มสารสกัดอินทผลัมด้วยวิธี Alumminium trichloride ($AlCl_3$) colorimetric

VAR00002

	VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05			
			a	b	c	d
Tukey HSD[a]	P-PhD-W	3	57.2500			
	M-PhD-W	3		810.9067		
	P-PhD-E	3			2026.9467	
	M-PhD-E	3				13038.1200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan[a]	P-PhD-W	3	57.2500			
	M-PhD-W	3		810.9067		
	P-PhD-E	3			2026.9467	
	M-PhD-E	3				13038.1200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ: [a-d] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ P-PhD คือ สารสกัดจากเม็ดอินทผลัม; M-PhD คือ สารสกัดจากเนื้ออินทผลัม; EtOH คือ เอทานอล; H_2O คือ น้ำกลั่น

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ภาศิริ ม่วงศิริกุล
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 บริหารธุรกิจบัณฑิต (การจัดการ) สาขาวิชาบริหารธุรกิจและเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก (วิทยาเขตจักรพงษภูวนารถ)
ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน	ประกอบธุรกิจส่วนตัว