การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม

ภัชชัญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล

สารนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ
มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

พ.ศ. 2562

Study on antioxidant activity of tea Moringa Oleifera Lam

Patchanya Kritsiriphongkul

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 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม

เสนอโดย นางสาวภัชชัญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล

สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

กลุ่มวิชา วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดยคณะกรรมการสอบสารนิพนธ์แล้ว

.... ประธานกรรมการ

(นายแพทย์ไกรสร อัมมวรรธน์)

.... กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์)

พ.ท. .... กรรมการ

(พันโท นายแพทย์ธรณัส กระต่ายทอง)

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ รับรองแล้ว

.... คณบดีวิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ

(นายแพทย์บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล)

วันที่ 31 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2562

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม
ชื่อผู้เขียน ภัชชัญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุมที่สกัดด้วยการต้มชา จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 3 กลไกของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง พบว่าชามะรุม A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Lipid Peroxidation Activity) ด้วยวิธี Ferric-Thiocyanate ดีที่สุด (ร้อยละ 36.06±2.13) นอกจากนี้ชามะรุม A มีฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity) ด้วยวิธี Ferric Metal Chelating ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24±2.98 รองลงมาคือ ชามะรุม B, C และ D ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไกของชามะรุมทั้ง 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าชามะรุมแต่ละตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์เภสัชวิทยาของชามะรุมได้

คำสำคัญ: ชามะรุม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ

Thematic Study Title	Study on antioxidant activity of Tea Moringa Oleifera Lam
Author	Patchanya Kritsiriphongkul
Thematic Study Advisor	Assistant Professor Dr.Pansak Sukraroek
Department	Anti-Aging and Regenerative Medicine
Academic Year	2018

ABSTRACT

Study on antioxidant activity of tea Moringa oleifera Lam. which were extracted with water. The results show that all the recipes have 3 models of antioxidant activity for all Moringa tea. A tea at 100 percent concentration of free radical scavenging activity by DPPH assay up to 78.95±1.08 percentage and lipid peroxidation activity with Ferric-Thiocyanate assay (36.06±2.13 percentage). In addition to A tea metal chelating activity by Ferric Metal Chelating assay found most of extracts was 91.24 ± 2.98 percent, the secondary of B tea, C tea and D tea, respectively. This study has been suggested that the 3 mechanisms of Moringa tea 4 brands of the anti-oxidation activities might be related to bioactivities and pharmaceutical activities of Moringa tea.

Keywords: Moringa tea, Antioxidant activity, lipid peroxidation activity, Metal chelating activity

กิตติกรรมประกาศ

สารนิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับคำแนะนำและคำปรึกษาจากผู้ช่วยศาตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์ ในเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม

ขอขอบคุณท่านคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ ที่ได้ให้ความรู้ทางวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพแก่ผู้เขียน

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากร มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ รวมถึงเพื่อนในคณะรุ่น 5 ทุกท่านที่ให้ความกรุณาสิ่งอำนวยความสะดวก ตลอดจนการให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือเกี่ยวกับงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ยังได้รับความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกจากห้องแล็ปปฏิบัติการ ในด้านเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัยการทำสารนิพนธ์ครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาวิจัยจากสารนิพนธ์ครั้งนี้เป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจทั่วไป หากมีสิ่งผิดพลาดหรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับและขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ภัชชัญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล

DPU

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ฆ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ง
กิตติกรรมประกาศ .... จ
สารบัญตาราง .... ซ
สารบัญภาพ .... ฌ
บทที่
1. บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4
1.3 คำถามการวิจัย 4
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย 4
1.5 สมมติฐานการวิจัย 4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
1.7 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย 4
2. แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5
2.1 มะรุม 5
2.2 ชามะรุม 6
2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ 8
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 12
3. วิธีดำเนินการวิจัย 15
3.1 เครื่องมือในการวิจัย 15
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 16
3.2.1 การเตรียมชามะรุม 16
3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน 16
3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 18

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล 19
4.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุม 19
4.1.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 19
4.1.2 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน 21
4.1.3 การศึกษาฤทธิ์คีเลชันของโลหะ 22
5. สรุปผลการทดลอง 25
5.1 สรุปผลการวิจัย 25
5.2 ข้อเสนอแนะ 25
บรรณานุกรม 27
ภาคผนวก 30
ก. การสกัดชามะรุม 31
ข. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน 33
ค. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 43
ง. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ด้วยโปรแกรม spss 46
ประวัติผู้เขียน 49

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ส่วนประกอบชามะรุมของแต่ละยี่ห้อ.. 19
4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชามะรุม 21
4.3 ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดชามะรุม................................ 22
4.4 ฤทธิ์คีเลชันของโลหะของสารสกัดชามะรุม... 23

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะรุม 6

2.2 แสดงปฏิกิริยาของ antioxidant กับ DPPH 9

2.3 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 9

2.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด 10

2.5 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Lipid-peroxidation ด้วยวิธี Ferric-thiocyanate 11

2.6 การเกิดคีเลชันของโลหะ 11

2.7 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating 12

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญในการดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้นจนทำให้พฤติกรรมในการบริโภคเปลี่ยนไปอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะกลุ่มประชากรที่มีการศึกษาและอาศัยอยู่ในเมืองใหญ่เป็นกลุ่มประชากรที่มีความฉลาดและเลือกสินค้าที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพอยู่ในอันดับที่ 19 ของโลก รองจากประเทศในกลุ่ม AEC อย่างอินโดนีเซีย เพียงชาติเดียว ประเทศเพื่อนบ้านอย่างเช่น เวียดนามและกัมพูชา อยู่ในอันดับที่ 20 และ 21 รองจากไทยเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ประเทศที่มีประชากรสูง เช่น อินเดีย ญี่ปุ่น ก็เป็นตลาดที่น่าสนใจ เพราะมีมูลค่าตลาดอาหารเพื่อสุขภาพอยู่ในอันดับต้น ๆ ของเอเชีย ซึ่งเป็นตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย "อาหารเพื่อสุขภาพ" เป็นคำที่ตั้งขึ้นมาเรียกอาหาร เพื่อให้ผู้บริโภคตระหนักว่าการทานอาหารครบ 5 หมู่ ถูกหลักโภชนาการ ปลอดภัย ไม่มีสารปนเปื้อน เลือกใช้วัตถุดิบขัดสีน้อยที่สุด ปรุงแต่งอาหารเท่าที่จำเป็น เพื่อแสดงความเป็นมิตรกับสุขภาพ หยุดสุขภาพเสื่อมแบบเร่งด่วนจากสารเคมีสังเคราะห์ในอาหาร

สมุนไพร (Medicinal Plant หรือ Herb) เป็นพืชที่กำเนิดจากธรรมชาติและนับเป็นเทคโนโลยีพื้นบ้านที่สำคัญ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น เป็นยารักษาโรค บริโภคเป็นอาหาร อาหารเสริมสุขภาพ สีผสมอาหาร สีย้อม เครื่องสำอาง ตลอดจนนำมาทำเป็นเครื่องดื่มได้อีกด้วย โดยเฉพาะการนำสมุนไพรมาเป็นเครื่องดื่มที่ใช้รูปแบบในการบริโภคเช่นเดียวกับการชงชาโดยการชงชาเป็นการสกัดสารที่เป็นตัวยาสำคัญด้วย ความร้อนในช่วงเวลาสั้น ๆ เพื่อไม่ให้สารที่ไม่พึงประสงค์ถูกสกัดออกมา หรือเพื่อป้องกันไม่ให้สารที่ต้องการถูกทำลายด้วยความร้อนที่นานเกินไป รวมทั้งสามารถรักษากลิ่นรส ที่ต้องการของสมุนไพรชนิดนั้น ๆ เอาไว้ด้วย สมุนไพรที่ใช้รูปแบบในการบริโภคเช่นเดียวกับชา มักจะเรียก ชาสมุนไพร โดยส่วนใหญ่มักจะเป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นที่ต้องการคงไว้ไม่ให้สูญเสียไปกับความร้อนที่มากเกินไป เช่น ผลมะตูม ดอกกระเจี๊ยบ ขิง ใบหม่อน ใบบัวบก ใบเตย ดอกเก๊กฮวย เป็นต้น

มะรุม เป็นพืชพื้นบ้านที่มีทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทำให้มีการเรียกชื่อมะรุมแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น คำว่ามะรุมนี้ เป็นคำเรียกขานของคนภาคกลาง ในขณะที่ภาคอีสาน

เรียกว่า "ผักอีฮุม หรือ บักฮุ้ม" ส่วนภาคเหนือเรียกว่า "บะค้อนก้อม" ส่วนชาวกะเหรี่ยงแถบกาญจนบุรี เรียก "กาแน้งเดิง" ด้านชายขอบจังหวัดแม่ฮ่องสอนกลับให้ชื่อแก่มันอย่างชวนให้ลิ้มรสว่า "ผักเนื้อไก่" ครัวไทยแต่โบราณนำมะรุมมาปรุงเป็นอาหารหลากรสหลายตำรับ ในขณะที่ภูมิปัญญาด้านการแพทย์แผนไทยก็นำแทบทุกส่วนของมะรุม ใบ ดอก ฝัก เมล็ด เปลือก ราก ฝัก ฯลฯ โดยสรรพคุณทางสมุนไพรในแต่ละส่วนก็มีต่าง ๆ กันไป ปัจจุบันขณะนี้ได้มีการโฆษณาสรรพคุณของมะรุมอย่างแพร่หลาย บ้างก็ว่าช่วยต้านมะเร็ง ช่วยรักษาเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยบำรุงสุขภาพ และสรรพคุณอื่น ๆ อีกร้อยแปดพันประการ

ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม โดยการนำสารสกัดจากมะรุม ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและนิยมนำมารับประทาน เป็นพืชพื้นบ้านที่มีทั่วทุกภาคของประเทศไทย มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชาชงมะรุม โครงการวิจัยนี้ยังสามารถช่วยลดการนำเข้าสินค้ากลุ่มวัตถุดิบสารออกฤทธิ์และผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคมส่งเสริมการปลูกพืชพื้นเมืองเพื่อเป็นรายได้เสริมรองจากพืชเศรษฐกิจและเพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้ที่ไม่ชอบรับประทานผัก แต่อยากได้คุณประโยชน์ด้านสมุนไพร รวมถึงผู้ที่ไม่ค่อยมีเวลาบำรุงสุขภาพ แต่อยากได้อาหารเสริมเพื่อเป็นการบำรุงทางลัด เป็นต้น หลังจากเสร็จสิ้นโครงการวิจัยนี้สามารถนำผลงานวิจัยที่ได้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

ข้อควรระวังในการบริโภคมะรุม

1. หญิงตั้งครรภ์หากรับประทานในปริมาณที่มากจนเกินไปก็อาจจะทำให้แท้งบุตรได้
2. ผู้ป่วยโรคเลือด ก็ไม่ควรรับประทานมะรุมเช่นกัน เพราะจะทำให้เม็ดเลือดแตกง่าย
3. ผู้ที่เป็นโรคเก๊าท์ก็ไม่ควรรับประทานในปริมาณที่มากจนเกินไป เพราะมะรุมมีโปรตีนที่ค่อนข้างสูงมาก

แต่ทั้งนี้ก็ไม่ได้ความว่ามันจะเป็นพิษกับทุก ๆ คนที่รับประทาน เพราะคนไทยนิยมนำมาประกอบอาหารมานานมากแล้ว ซึ่งสำหรับผู้ที่คิดจะดูแลสุขภาพด้วยการซื้อมะรุมสกัดแคปซูลมารับประทานนั้น ก็ควรจะต้องระมัดระวังและควรเลือกซื้อมะรุมแคปซูลที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาด้วย

ในส่วนของใบมะรุมนั้นควรรับประทานใบสดที่ไม่แก่มากหรืออ่อนเกินไปโดยนำมาทำให้สุก แต่ไม่ควรถูกความร้อนนานเกินไป เพื่อให้ได้ประโยชน์จากสารอาหารอย่างเต็มที่ ซึ่งการใช้ใบนำมาประกอบอาหารสิ่งที่ต้องระวังก็คือไม่ควรให้เด็กทารกในวัยเจริญเติบโตถึง 2 ขวบรับประทานในปริมาณที่มาก เพราะในใบมะรุมมีธาตุเหล็กที่สูงมากหรือเด็กที่อายุ 3-4 ขวบ

ควรรับประทานแต่เพียงเล็กน้อย และไม่ว่าจะวัยไหนก็ตามก็ไม่ควรรับประทานในปริมาณมากเกินไป เพราะอาจจะทำให้ท้องเสียได้ (ไม่ได้เกิดกับทุกคน) ควรเลือกรับประทานอาหารให้หลากหลาย

ความเป็นพิษของมะรุม

มีรายงานฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากส่วนรากและเมล็ดของมะรุมในสัตว์ทดลอง แต่ข้อมูลในปัจจุบันยังไม่มีรายงานในคนว่ามีฤทธิ์ดังกล่าว และการรายงานความเป็นพิษพบว่าสารสกัดเมล็ดมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายรวมตัวกัน และเมื่อให้หนูแรทกินผงของเมล็ดดิบที่แก่ของมะรุมพบว่าทำให้ความอยากอาหาร การเจริญเติบโตและการใช้โปรตีนลดลง ขนาดของกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ตับอ่อน ไต หัวใจและปอดใหญ่ขึ้น ในขณะที่ต่อมไทมัสและม้ามมีลักษณะฝ่อลงและมีรายงานว่าทำให้เกิดการแท้ง ดังนั้นควรระมัดระวังการใช้ส่วนต่าง ๆ ของมะรุมในสตรีมีครรภ์

ความเป็นพิษมีการรายงานความเป็นพิษของมะรุมในระดับเซลล์และในสัตว์ทดลองว่า

1. สาระสำคัญ 4 (alpha-L-rhamnosyloxy) phenylacetonitrile จากเมล็ด แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ใน Micronucleus test

2. สารสกัดน้ำจากใบหรือ 90% เอทานอลในขนาด 175 มก./กก. ของน้ำหนักแห้งเมื่อป้อนให้หนูแรทที่มีการผสมพันธุ์สามารถทำให้เกิดการแท้งได้

3. สารสกัดน้ำของรากขนาด 200 มก./กก. น้ำหนักตัว เมื่อให้กับหนูแรทจะเหนี่ยวนำให้เกิดทารกฝ่อ (Foetal Resorption) ในการตั้งครรภ์ระยะสุดท้าย

4. สารสกัดเมล็ดด้วย 0.5 M borate buffer มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายรวมตัวกัน เมื่อให้หนูแรทกินผงของเมล็ดดิบที่แก่ของมะรุม โดยไม่จำกัดจำนวนเป็นเวลา 5 วัน พบว่าทำให้ความอยากอาหาร การเจริญเติบโตและการใช้โปรตีนลดลง ขนาดของกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ตับอ่อน ไต หัวใจและปอดใหญ่ขึ้น ในขณะที่ต่อมไทมันและม้ามมีลักษณะฝ่อลง โดยเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไข่ขาวเป็นส่วนประกอบ

การทดสอบความเป็นพิษโดยให้หนูเม้าส์กินส่วนราก หรือฉีดสารสกัดไม่ระบุชนิดตัวทำละลายเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 10 กก. น้ำหนักตัว ไม่พบความเป็นพิษ

การทดลองในสัตว์เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่มีประโยชน์เพื่อการทำวิจัยต่อยอดไปยังการทดลองในมนุษย์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าตัวทำละลายที่นักวิจัยใช้ในการสกัดจะมีทั้ง น้ำและแอลกอฮอล์ เพื่อให้สะดวกต่อการป้อนสัตว์ทดลอง ซึ่งข้อมูลข้างต้น เป็นความรู้ที่จะทำให้สามารถหาส่วนสกัดที่มีสาระสำคัญได้ หากจะรับประทานใบ เนื้อในฝักหรือดอกมะรุมซึ่งเราใช้เป็นอาหารมานานแล้วก็อาจทำได้แต่อย่าหวังผลมากนัก และไม่ควรรับประทานในปริมาณมากหรือติดต่อกันนานเกินไป

ซึ่งอาจมีการสะสมสารบางอย่างและอาจเป็นพิษได้ และจากรายงานความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่าทำให้เกิดการแท้ง ดังนั้นควรระมัดระวังการใช้ส่วนต่าง ๆ ของมะรุมในสตรีมีครรภ์

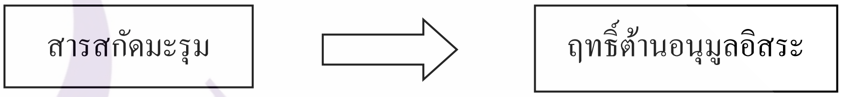
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม

1.3 คำถามการวิจัย

ชามะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือไม่

1.4 กรอบแนวความคิด



1.5 สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ชามะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ผลที่คาดว่าจะได้รับหลังจากโครงการวิจัยนี้เสร็จสิ้น คือจะได้ชามะรุมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดและสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเป็นชาสำหรับดื่มเพื่อสุขภาพ นอกจากนี้ยังสามารถนำผลงานวิจัยที่ได้จากโครงการนี้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้รวมถึงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนและเป็นการอนุรักษ์พืชสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่บรรพบุรุษได้สืบทอดกันมาให้คงอยู่ต่อไป รวมทั้งทำให้เกิดการสร้างงานเพื่อเป็นพื้นฐานการพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของประเทศให้สู่ระบบอันเป็นสากลได้

1.7 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, มะรุม, ชา

Antioxidant, *Moringa oleifera* Lam., Tea

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะรุม (Moringa Oleifera Lam)

มะรุม เป็นผักสมุนไพรพื้นบ้าน ที่มีประโยชน์มากมาย ไม่ว่าจะเป็นเรื่องอาหาร ยา และด้านอุตสาหกรรม โดยธรรมชาติแล้วมะรุมเป็นไม้ยืนต้นที่เติบโตได้เร็ว ทนความแห้งแล้ง สามารถปลูกได้ในเขตร้อน เนื่องจากการเจริญเติบโตจะดีในแถบเอเชียซึ่งมีอาการร้อน การเติบโตอาจสูงได้ถึง 4 เมตร และสามารถออกดอกในระยะเวลาปีแรกหลังจากที่ปลูก มะรุมในภาษาอังกฤษเรียกว่า Moringa และมะรุม ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Moringa Oleifera Lam* มะรุมจะมีการเรียกต่างกันตามแต่ภูมิภาค เช่น ชาวอีสานเรียกกันอยู่สองอย่างคือ “ผักอีฮุม” และ “บักฮุ้ม” ชาวเหนือเรียกกันว่า “บะค้อนก้อม”

มะรุมมีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียบางประเทศ เช่น ศรีลังกา และอินเดีย นอกจากนี้ยังมีในทวีปแอฟริกา สามารถปลูกได้ง่าย เจริญเติบโตดี ได้ในดินทุก ๆ ประเภท มีความต้องการน้ำความชื้นปานกลาง สามารถขยายพันธุ์มะรุมด้วยวิธีเพาะการเมล็ด และวิธีการปักชำ ประมาณ 2 สัปดาห์หลังการปลูก ต้นมะรุมจะมีความสูงประมาณ 10-20 ซม. (วิมล ศรีสุข, 2552)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังแสดงในภาพที่ 2.1

ใบมะรุม : เป็นใบประกอบเหมือนขนนกลักษณะใบจะแตกใบย่อยเป็น 3 ชั้น มีความยาว 20-40 ซม. เรียงกันแบบสลับ ใบย่อยมีความยาวประมาณ 1-3 ซม. ลักษณะเป็นรูปไข่ ปลายและฐานของใบ มีลักษณะมน ผิวใบบริเวณด้านล่างจะมีสีอ่อนกว่าด้านบน ขณะที่ใบยังอ่อนจะมีขนเล็กน้อย รสชาติใบจะมีรสหวานและมัน

ผล : ลักษณะเป็นฝักยาวมีเปลือกเป็นสีเขียวและมีส่วนคอด ส่วนมนเป็นช่วง ๆ ตามความยาวฝัก ฝักปกติจะยาวประมาณ 20-50 ซม. ฝักจะมีรสชาติหวาน

ดอก : ออกในช่วงฤดูหนาว บางพันธุ์จะมีลักษณะเด่นคือ สามารถออกดอกได้หลาย ๆ ครั้งต่อรอบปี ดอกมีลักษณะเป็นช่อขาว มีกลีบเรียงกันทั้งหมด 5 กลีบแยกกัน รสชาติดอกมีความขม มันเล็กน้อยและความหวาน

เมล็ด : เป็นรูปเรขาคณิต 3 เหลี่ยม มีปีกซึ่งมีความบางหุ้มอยู่ 3 ปีก เส้นผ่านศูนย์กลางเมล็ดมีความยาวประมาณ 1 ซม.

ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะรุม

ที่มา : http://siamherbs.blogspot.com/2014/09/moringa.html

2.2 ชามะรุม

มะรุม เป็นพืชที่รักษาทุกโรค ใบมะรุมมีโปรตีนสูงกว่านมสด 2 เท่า การกินใบมะรุมตามชนบทของประเทศกำลังพัฒนาและประเทศต่าง ๆ เป็นการเพิ่มโปรตีนคุณภาพสูงราคาถูกให้กับอาหารพื้นบ้าน ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจกับคุณสมมบัติของมะรุมอย่างมากและนิยมนำมาประกอบอาหารกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศฝั่งตะวันออกและตะวันตก และสามารถนำมาทำเป็นชาชงดื่มได้ดีอีกด้วย เช่น ในญี่ปุ่นมีการผลิตชาใบมะรุมออกจำหน่ายโดยระบุว่าใช้แก้ไขปัญหาโรคปากนกกระจอก หอบหืด อาการปวดหูและปวดศรีษะ ช่วยบำรุงสายตา ระบบทางเดินอาหารในประเทศอินเดีย หญิงตั้งครรภ์จะกินใบมะรุมเพื่อเสริมธาตุเหล็ก แต่ที่ประเทศที่ฟิลิปปินส์และบอสวานา หญิงที่เลี้ยงลูกด้วยนมจะกินใบมะรุม (ภาษาฟิลิปปินส์ เรียก “มาลังเก”) เพื่อเพิ่มน้ำนมและเพิ่มแคลเซียมให้กับน้ำนมแม่เหมือนกับคนไทย

คุณค่าทางโชนาการและคุณค่าทางอาหาร

สำหรับคุณค่าของมะรุม แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ คุณค่าทางโภชนาการและคุณค่าทางอาหาร ซึ่งสาเหตุที่ต้องแบ่งออกเป็นสองประเภทเนื่องจาก การแบ่งประเภททางอาหารจะนำคุณค่าทางอาหารของมะรุมมาเทียบกับคุณค่าทางอาหารของนมและผักผลไม้ชนิดอื่นที่ได้รับ

การยอมรับว่าเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ส่วนการแบ่งตามคุณค่าทางโภชนาการนั้น แจกแจงรายละเอียดของมะรุมว่า มีส่วนประกอบของโปรตีน ไขมัน ใยอาหาร วิตามิน เท่าไหร่บ้าง ดังนี้

คุณค่าทางโภชนาการ

สำหรับคุณค่าทางโภชนาการของใบมะรุมปริมาณ 100 g. มีดังนี้

1. พลังงาน (Energy) 26 cal.
2. โปรตีน (Protein) 6.7 g.
3. ใยอาหาร (Dietary Fiber) 0.1 g.
4. ไขมัน (Lipids) 4.8 g.
5. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) 3.7 g.
6. วิตามินเอ (Vitamin A) 6,780 µg
7. วิตามินซี (Vitamin C) 220 mg.
8. แคโรทีน(Carotene) 110 µg.
9. แคลเซียม(Calcium) 400 mg
10. ฟอสฟอรัส (Phosphorus) 110 mg.
11. เหล็ก (Ferrum) 0.18 mg
12. แมกนีเซียม (Magnesium) 28 mg.
13. โพแทสเซียม (Potassium) 259 mg.

คุณค่าทางอาหาร

1. วิตามินเอ (Vitamin A) ซึ่งมีส่วนช่วยในการบำรุงสายตามากกว่าแครอตถึง 4 เท่า
2. วิตามินซี (Vitamin C) ซึ่งมีส่วนช่วยป้องกันโรคหวัด มากกว่าส้มถึง 7 เท่า
3. แคลเซียม (Calcium) ซึ่งมีส่วนช่วยบำรุงกระดูกและฟัน มากกว่านมสด 4 เท่า
4. โพแทสเซียม (Potassium) ซึ่งมีส่วนช่วยบำรุงสมองและระบบประสาทมากกว่ากล้วยถึง 3 เท่า
5. โปรตีน (Protein) ช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย มากกว่าโยเกิร์ต 2 เท่า

การคัดเลือกชามะรุม

การศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับการจำหน่ายชามะรุมตามท้องตลาดออนไลน์ชามะรุมที่มีการจำหน่ายอย่างแพร่หลายที่สามารถค้นพบได้และมีขายตามท้องตลาดทั่วไป สามารถคัดเลือกได้จำนวน 4 ยี่ห้อ ได้แก่ A, B, C และ D ซึ่งเป็นยี่ห้อที่มีการวางจำหน่ายอย่างแพร่หลายและมีตัวแทนจำหน่ายมากมายตามลำดับ

2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.3.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Anti-oxidation activity)

ในสิ่งมีชีวิตต้องการใช้พลังงานเพื่อประกอบกิจกรรมต่าง ๆ ซึ่งจะต้องใช้ออกซิเจนเพื่อการสร้างพลังงาน โดยใช้โมเลกุลของออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในขั้นสุดท้ายและจะถูกรีดิวซ์เป็นน้ำซึ่งเป็นสารที่ไม่ก่อปฏิกิริยา ส่วนปฏิกิริยาของออกซิเจนนั้นสามารถก่อสารอนุมูลอิสระ และอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ Reactive Oxygen Species หรือ ROS ซึ่งการเพิ่มสารเหล่านี้จะทำให้มีผลทำลายสารชีวโมเลกุลได้แก่ โปรตีน กรดนิวคลีอิกหรือลิปิด ซึ่งจะทำให้การทำงานบกพร่องไปและไม่สามารถกลับมาทำงานได้อีก ภาวะนี้เรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชั่น (Oxidative Stress) นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารออกซิเดชัน เช่น การเกิดเปอร์ออกซิเดชันของลิปิด (Lipid Peroxidation) ทำให้เกิดการทำลายเซลล์เมมเบรนอย่างต่อเนื่องสารภายในเซลล์รั่วไหลและทำให้เซลล์ตายในที่สุด นอกจากนี้โลหะบางประเภท เช่น เหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) ที่มีอยู่ในร่างกายสามารถที่จะก่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นกัน (อุไรวรรณ และคณะ, 2552)

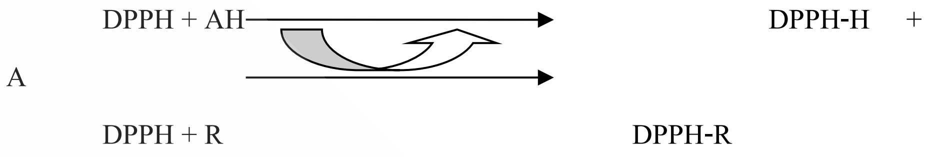
สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, Catalase, Peroxidase, Cytochrome C Peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม โปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (Ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารต้านออกซิเดชัน ในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ได้แก่ วิตามินอี เบต้าแคโรทีน วิตามินซี Ubiquinone, Uric Acid, Bilirubin, Albumin, Sulfhydryl Groups ในกรดอะมิโน Cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิกและสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันอีกด้วย (อุไรวรรณ และคณะ, 2552)

2.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

2.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

เป็นการทดสอบทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระคือ DPPH (Diphenly-Picryhydrazyl Radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องมือสเปกโตโฟโตรมิตอร์ (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 nm เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอลจะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลืองซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์สามารถหาสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลง

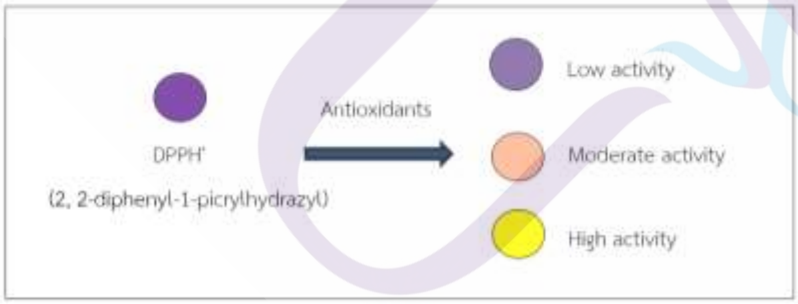
ของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (บุหรัน, 2556) โดย DPPH จะเกิดปฏิกิริยากับ Antioxidant (AH) หรือกับ Radical Species (R) ได้ดังสมการแสดงใน **(ภาพที่ 2.2)**



ภาพที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาของ Antioxidant กับ DPPH

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com

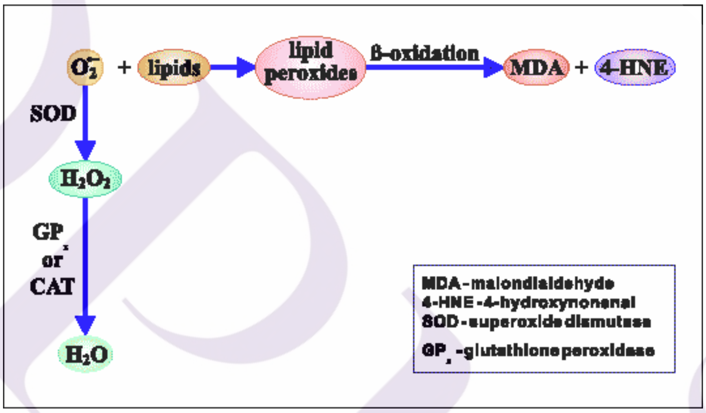
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH:H ติดตามผลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Yamasaki *et al*., 1994) ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

2.3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน

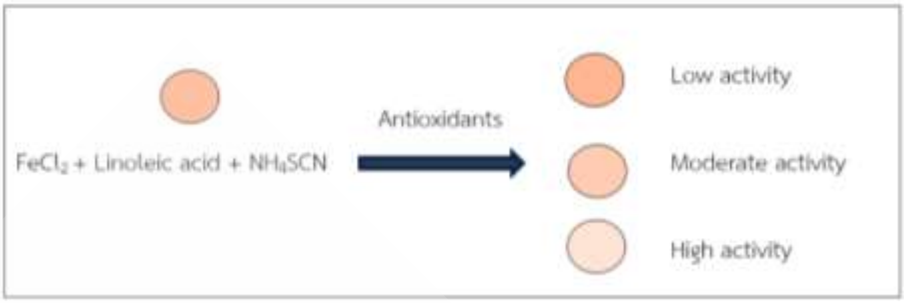
เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์จำนวนหลายร้อยโมเลกุลเนื่องจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Lipid Peroxidation) เกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วยลิปิด 2 ชั้น การเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน กับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไปและส่งผมกระทบต่อเอนไซม์ และรีเซพเตอร์ทำให้การทำงานเสียไป เป็นเหตุให้เกิดโรคต่าง ๆ ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจากเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีทีนและเพนเทน รวมถึงสารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิปิด ทำให้เกิดอนุมูลลิปิด (โอภา, 2549) (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด

ที่มา: http://jpp.krakow.pl

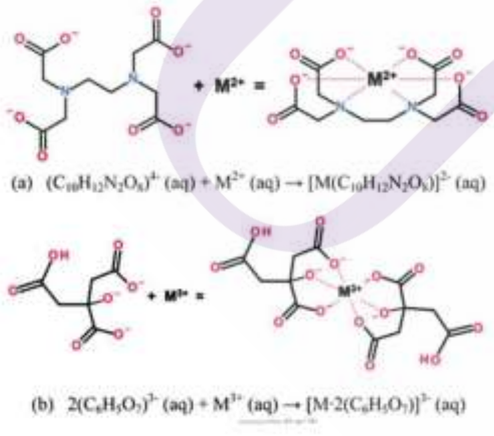
การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Lipid-peroxidation ด้วยวิธี Ferric-thiocyanate เป็นการทดสอบกลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เป็นการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ Linoleic Acid โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวทำปฏิกิริยากับอนุมูล ROS ซึ่ง ROS นี้จะเข้าไปดึงไฮโดรเจนอะตอมของหมู่ Methylene ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระ Peroxyl Radical (Moon & Shibamoto, 2009) ดังแสดงในภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Lipid-peroxidation ด้วยวิธี Ferric-thiocyanate

2.3.2.3 การทดสอบฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ

เป็นการทดสอบการต้านออกซิเดชันโดยวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ เนื่องจากโลหะไอออนมีความสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่าง ๆ โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัสหรือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical (O^{2}) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ ต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะเฟอร์รัสของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสารเฟอร์โรซีนลงไป สารนี้จะไปจับกับเฟอร์รัสแล้วอยู่ในรูป Ferrozine-Fe^{2+}Complex ซึ่งจะให้สีแดงและถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสารถในการแย่งจับกับเฟอร์รัสจะอยู่ในรูป Antioxidant-Fe^{2+}Complex ซึ่งจะทำให้สีแดงของ Ferrozine-Fe^{2+} Complex จางลงได้ (ปริยานุช, 2551) (**ภาพที่ 2.6)**



ภาพที่ 2.6 การเกิดคีเลชันของโลหะ

ที่มา: http://pubs.rsc.org

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating เป็นการทดสอบการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่าง ๆ มากมายโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัสหรือ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide Anion Radical ซึ่งเป็นอนุมูลตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการจับโลหะ Fe^{2+} ของสารที่ต้องการทดสอบนั้นอาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 nm ที่มีค่าลดลงโดยเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ Fe^{2+} แล้วอยู่ในรูป Ferrozine – Fe^{2+} Complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกัน Fe^{2+} จะอยู่ในรูป Antioxidant – Fe^{2+} Complex แล้วจะทำให้สีแดงของ Ferrozine – Fe^{2+} Complex จางลงได้ (Denis et al., 1994) ดังแสดงในภาพที่ 2.7

ภาพที่ 2.7 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บัลกีส มามะและคณะ (2560) ได้ทำการทดสอบสารสกัดใบมะรุมสกัดด้วยน้ำแสดงฤทธิ์ต้านนออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP สูงสุด ให้ค่า IC_{50}, VEAC และ FRAP value เท่ากับ 99.28 ± 3.47 µg/mL, 2.40 ± 0.01 mM ascorbic acid/g และ 14.80 ± 0.59 mM Fe2+ /g ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำสารสกัดน้ำจากใบมะรุมมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิวต้านอนุมูลอิสระและศึกษาความคงตัวของตำรับในสภาวะ เร่ง ด้วยวิธี Hot And Cold Temperature Cycle และสภาวะเร่งระยะยาวที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะเร่งในรอบที่ 8 ตำรับมีความคงตัวทางเคมีโดยให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันกับค่าเริ่มต้น (IC50 = 138.04 ± 3.84 µg/mL) และในสภาวะเร่งระยะยาว ตำรับที่ผสมสารสกัดใบมะรุมมีความคงตัวทางเคมีและทางกายภาพดีเมื่อเทียบกับตำรับควบคุม มีค่า IC50 อยู่ในช่วง 97.72 - 123.89 µg/mL

ในระหว่างเวลา 90 วัน โดย ณ วันที่ 90 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของเจล (IC50 = 104.71 ± 4.83 μg/mL) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับเริ่มต้น (IC50 = 97.72 ± 5.25 μg/mL) ดังนั้นตำรับนี้จะมีความคงตัวในช่วงระยะเวลา 3 เดือน

รัชพล พะวงศ์รัตน์และคณะ (2557) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรจากใบมะรุม โดยใช้วิธีการทดสอบ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) และจากการทดลองพบว่าผู้บริโภคให้คะแนนความชอบสูงที่สุดในเครื่องดื่มสมุนไพรที่ประกอบด้วยใบ มะรุมและเก๊กฮวยในอัตราส่วน 1 ต่อ 1.5 โดยน้ำหนัก สำหรับผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อเปลี่ยนแปลงค่าการต้าน อนุมูลอิสระและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการต้านอนุมูลอิสระ ($p\leq0.05$) อย่างไร ก็ตามเครื่องดื่มสมุนไพรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 35 องศาเซลเซียส มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 29.62, 29.09 และ 20.00 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic Acid ในขณะที่มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 29.09, 28.44 และ 19.13 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน α-tocopherol สำหรับการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ ได้มีค่าเกินมาตรฐานเครื่องดื่มสมุนไพรที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) กำหนด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะในการเก็บรักษาหรือกระบวนการผลิตที่ยังได้มาตรฐาน ดังนั้นควรต้องมีการพัฒนาต่อยอดเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับและได้มาตรฐาน

ชมพูนุท (2558) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคและชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชง จำนวน 4 ชนิด คือ ชามะตูม ชากระเจี๊ยบ ชาเก๊กฮวย และชาตะไคร้ โดยเตรียมตัวอย่างชาชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชงให้อยู่ในรูปพร้อมบริโภคแล้วนำน้ำชาที่ได้และน้ำชาชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภค ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มชาสมุนไพรชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคและชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชงพบว่าชามะตูมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชากระเจี๊ยบ ชาเก๊กฮวยและชาตะไคร้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

ศรัญญา (2559) ได้ศึกษาการสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีการทาลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช พืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดด้วยตัวทาละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol และผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50 และ60 องศาเซลเซียส ที่เวลา30 60 และ 120 นาที ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay ผลการศึกษาพบว่า

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH มีค่าเท่ากับ 0.568 ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ทาให้ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ลดลงเท่ากับ 0.119 0.140 0.131 และ 0.074 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าพืชทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดรองลงมาคือ ผักโขม มะระขี้นก และผักปลัง ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพืชพบว่า ผักโขม ผักปลัง และผักแพว ใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและมะระขี้นก ใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

เข็มทอง (2560) ได้ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาเมล็ดเพกาผสมดอกไม้ การเรียงลำดับคุณภาพทางประสาทสัมผัสถูกใช้เพื่อเลือกดอกไม้สำหรับผสมในชา ผลการทดลองพบว่าดอกมะลิได้รับการยอมรับมากที่สุด ซึ่งอัตราส่วนระหว่างชาและดอกมะลิที่ศึกษา คือ 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 และ 0:100 สำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยพบว่า 50:50 มีแนวโน้มได้รับการยอมรับมากที่สุด คะแนนได้สี กลิ่นรส และความชอบโดยรวมเท่ากับ 6.60, 6.42 และ 6.22 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่าง 100:0 และ 50:50 ผลการทดลองพบว่า 50:50 มีปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่า 100:0 ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ของ 50:50 มีค่าน้อยกว่า 100:0 ส่วนฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยFRAP ไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง 50:50 และ 100:0

ภาวดี (2560) ได้ศึกษาชาสมุนไพรในด้านคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในชาสมุนไพร 5 ชนิด คือ ชาขิง ชาตะไคร้ ชากระเจี๊ยบ ชามะตูม และชาใบเตยพบว่าในแง่ของคุณสมบัติการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 1-diphenyl-2-picryl hydrazyl หรือ DPPH ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ พบว่าชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ชาขิง ชากระเจี๊ยบ ชาตะไคร้ ชาใบเตย และชามะตูม ตามลำดับ

สุดาทิพย์ (2560) ได้ศึกษาสีและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของใบชามะม่วงหาวมะนาวโห่ (ใบอ่อน ใบเพสลาด และใบแก่) และวิธีการทำชา (ชาเขียว ชาจีน และชาดำ) ต่อสี (CIE L*a*b*) ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความ สามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก) ของใบชามะม่วงหาวมะนาวโห่ จากผลการทดลองพบว่าชาที่ทำจากใบอ่อนมีค่า ความสว่าง (L*) และความเป็นสีเหลือง (b*) ต่ำกว่าแต่มีค่าความเป็นสีแดงสูงกว่าชาอื่น ๆ ชาใบอ่อนที่ถูกคั่วโดยไม่ผ่าน การลวกและทำแห้ง (วิธีการทำแบบชาดำ) มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ในขณะที่ชาจากใบแก่ที่ใช้วิธีการ ทำแบบชาดำกลับมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกสูงที่สุด

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือในการวิจัย

3.1.1 วัสดุ-อุปกรณ์

1. Beaker ขนาด 100, 200, 500 ml (Pyrex, Germany)
2. Centrifuge tube (Isolab, Germany)
3. Cylinder (Pyrex, Germany)
4. Dropper (Pyrex, Germany)
5. Erlenmeyer flask ขนาด 250, 500, 1000 ml (Pyrex, Germany)
6. Forceps (Isolab, Germany)
7. Funnel (Pyrex, Germany)
8. Micropipette (Pyrex, Germany)
9. Micropipette tips (Pyrex, Germany)
10. Multichannel micropipette (Biopette, USA)
11. Test tube (Pyrex, Germany)
12. 96 well microtiter plate (Thermo Scientific, UK)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. Ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)
2. Dimethyl sulfoxide (DMSO, Fisher Scientific, Inc, UK)
3. Ethanol 95% (C_2H_5OH) (Prolabo chemicals, USA)
4. Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA, LObalChemie, India)
5. Ferrozene (TCI, USA)
6. Ferrous chloride (Prolabo chemicals, Belgium)
7. Hydrochloric acid (HCl) (Hannong Chemicals Inc, KOREA)
8. Linoleic acid (Sigma-Aldrich, USA)
9. Methanol (Merck, Germany)
10. Potassium hydroxide (KOH) (Prolabo chemicals, Belgium)

11. Potassium Dihydrogen Phosphate (Prolabo chemicals, Belgium)
12. Sodium chloride (Prolabo chemicals, Belgium)
13. Tocopherol (Fluka, Switzerland)
14. 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, Sigma-Aldrich, USA)

3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

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

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมชามะรุม

การสกัดด้วยวิธีการต้มชา โดยการต้มน้ำร้อนในเดือด จากนั้นเติมน้ำร้อนลงไปในบิกเกอร์ปริมาณ 100 ml และนำผงชาแต่ละยี่ห้อเทลงไปในบิกเกอร์ คนให้ผงชาละลายจนหมดแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศา เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่อไป

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.2.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Assay) ด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เตรียมชาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 µl ลงใน 96-well plate เติมสารละลาย 0.1 mg/ml DPPH ปริมาตร 100 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ Control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

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

3.2.3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation)

เตรียมชาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย Linoleic acid emulsion 1 mg/ml ใน 50% DMSO ปริมาตร 50 µl จากนั้นเติมสารละลาย NH_4SCN 1 mg/ml ใน1% HCl ปริมาตร50 µl จากนั้นเติม $FeCl_2$ 1 mg/ml ใน1% HCl ปริมาตร 50 µlเขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 490 nm ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน จากสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของชาตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ 50% (LC_{50}) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซนต์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant *et al.*, 2012)

3.2.3.3 การทดสอบฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ (Chelation Activity) ด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating

เตรียมชาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย Ferrozene 1 mg/ml ใน 1% HClปริมาตร 50 µl จากนั้นเติม $FeCl_2$ 1 mg/ml ใน1% HCl ปริมาตร 50 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 nm ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะจากสมการ

$$\%\ \text{Metal chelating activity} = \frac{\left[(A-B) - (C-D)\right]}{(A-B)} \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของชาตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ 50% (MC_{50}) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซนต์การยับยั้งการเกิดคีเลชันของโลหะและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant *et al.*, 2012)

3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (n=3) และทำการหาค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) และหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ *ANOVA* โดยค่า p-value ที่น้อยกว่า 0.5 จึงถูกจัดว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ พร้อมทั้งนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยวิธี T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 0.05 ($p<0.05$)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

4.1 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุม

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันในส่วนผสมของชามะรุม ดัง**ตารางที่ 4.1** ในส่วนของการเตรียมชามะรุมโดยได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน และฤทธิ์คีเลชันของโลหะ

ตารางที่ 4.1 ส่วนประกอบชามะรุมของแต่ละยี่ห้อ

ตัวอย่าง/ยี่ห้อ	ส่วนประกอบ
ชามะรุม A	ผงมะรุม 100 %
ชามะรุม B	ฝักมะรุม 90% ต้นแห้ง 5% และ น้ำตาล 5%
ชามะรุม C	มะรุม 80% และ หญ้าหวาน 20%
ชามะรุม D	มะรุม 90% และ น้ำตาลกรวด 10%

4.1.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Activity)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Activity) ด้วยวิธี DPPH ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่เสถียรและมีสีม่วง แต่เมื่อสารทดสอบหรือสารสกัดที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจนกับ DPPH จะทำให้ DPPH เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Sharma et al., 2009) จากผลการทดลองพบว่าชามะรุมทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยชามะรุมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ชามะรุม A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 รองลงมาคือ ชามะรุม C และชามะรุม D สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้เท่ากับร้อยละ 64.97±1.55 และ 55.53±1.80 ตามลำดับ นอกจากนี้ ชามะรุม B มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ได้น้อยที่สุด ซึ่งอาจเกิดจากส่วนผสมของชาที่มีความเข้มข้นน้อย และมีส่วนประกอบอื่น ๆ จึงทำให้ชามีฤทธิ์ในการต้าน

อนุมูลอิสระได้น้อย (ตารางที่ 4.2) จากงานวิจัยของ บัลกีส มามะและคณะ (2560) ได้ทำการทดสอบสารสกัดใบมะรุมสกัดด้วยน้ำแสดงฤทธิ์ต้านนออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP สูงสุด ให้ค่า IC_{50}, VEAC และ FRAP value เท่ากับ 99.28 ± 3.47 μg/mL, 2.40 ± 0.01 mM ascorbic acid/g และ 14.80 ± 0.59 mM Fe^{2+} /g ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำสารสกัดน้ำจากใบมะรุมมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิวต้านอนุมูลอิสระและศึกษาความคงตัวของตำรับในสภาวะเร่งด้วยวิธี hot and cold temperature cycle และสภาวะเร่งระยะยาวที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะเร่งในรอบที่ 8 ตำรับมีความคงตัว ทางเคมีโดยให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันกับค่าเริ่มต้น (IC50 = 138.04 ± 3.84 μg/mL) และในสภาวะเร่งระยะยาว ตำรับที่ผสมสารสกัดใบมะรุมมีความคงตัวทางเคมีและทางกายภาพดีเมื่อเทียบกับตำรับควบคุม มีค่า IC50 อยู่ในช่วง 97.72 - 123.89 μg/mL ในระหว่างเวลา 90 วัน โดย ณ วันที่ 90 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของเจล (IC50 = 104.71 ± 4.83 μg/mL) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับเริ่มต้น (IC50 = 97.72 ± 5.25 μg/mL) ดังนั้นตำรับนี้จะมีความคงตัวในช่วงระยะเวลา 3 เดือน นอกจากนี้ งานวิจัยของ ศิริพล และคณะ (2546) พบว่า ชาสมุนไพร 12 ชนิดได้แก่ เก๊กฮวย, ขิง คำฝอย ชาเขียว ชาอูลอง ชาฝรั่ง มะตูม รางจืด หญ้าหวาน หม่อน แห้มและเห็ดหลินจือ โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แล้วตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging assay โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) พบว่าสารสกัดจากชาเขียว ชาอูลอง ชาฝรั่ง รางจืด หญ้าหวาน หม่อน เก๊กฮวย ขิง มะตูม เห็ดหลินจือ แห้มและคำฝอย ให้ค่า EC50 7.04, 7.19, 7.37, 21.31, 34.42, 70.50, 75.08, 92.50, 104.10, 110.79, 129.33 และ 129.83 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากชาเขียวให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดและดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Butylated Hydroxytoluene (BHT) ซึ่งมีค่า EC50 18.73 แต่ต่ำกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Vitamin C ซึ่งมีค่า EC50 5.05 สรุปได้ว่าสารสกัดจากชาเขียวให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับชาอูลองและชาฝรั่ง

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชามะรุม

สารสกัด	**ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [ร้อยละ]**
A	78.95 ± 1.08^{b}
B	3.47 ± 0.92^{e}
C	64.97 ± 1.55^{c}
D	55.53 ± 1.80^{d}

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

4.1.2 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation Activity)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation Activity) ด้วยวิธี Ferric thiocyanate เป็นการศึกษาสารสกัดที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของไขมันจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Linoleic Acid กับโลหะไอออน (Fe^{2+}) (Kim et al., 2008) จากการทดลองพบว่าชามะรุมทุกตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันโดยพบว่า ชามะรุมA ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้มากที่สุด (ร้อยละ 36.06±2.13) รองลงมาคือ ชามะรุม C สามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้ร้อยละ 12.89±1.21 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้พบว่าชามะรุม D และชามะรุม B มีความสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้น้อยร้อยละ 9.23±1.00 และ 6.99±0.60 ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ จากงานวิจัยของ Fan และคณะ (2013) พบว่าสารกลุ่มแทนนิน มีผลในการลดการสะสมของไขมัน และลดการแตกตัวของกรดไขมันจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันและงานวิจัยของ รัชพล พะวงศ์รัตน์ (2557) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรจากใบมะรุม โดยใช้วิธีการทดสอบ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) และ จากการทดลองพบว่าผู้บริโภคให้คะแนนความชอบสูงที่สุดในเครื่องดื่มสมุนไพรที่ประกอบด้วยใบมะรุมและเก็กฮวยในอัตราส่วน 1 ต่อ 1.5 โดยน้ำหนัก สำหรับผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อเปลี่ยนแปลงค่าการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการต้านอนุมูลอิสระ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเครื่องดื่มสมุนไพรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 35 องศาเซลเซียส มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยมีค่า

การต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 29.62, 29.09 และ 20.00 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic Acid ในขณะที่มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 29.09, 28.44 และ 19.13 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน α-tocopherol สำหรับการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ ได้มีค่าเกินมาตรฐานเครื่องดื่มสมุนไพรที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) กำหนด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะในการเก็บรักษาหรือกระบวนการผลิตที่ยังไม่ได้มาตรฐาน ดังนั้นควรต้องมีการพัฒนาต่อยอดเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับและได้มาตรฐาน

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดชามะรุม

สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน [ร้อยละ]
A	36.06 ± 2.13^{a}
B	9.23 ± 1.00^{c}
C	12.89 ± 1.21^{b}
D	6.99 ± 0.60^{c}

หมายเหตุ : $^{a\text{-}c}$ คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$;

4.1.3 การศึกษาฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity)

การศึกษาฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity) ด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating เป็นตรวจสอบหาสารสกัดที่สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาของสารเฟอร์โรซีน (Ferrozine) กับไอออนของโลหะ (Kim et al., 2008) ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าชามะรุมทุกตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์คีเลชันของโลหะโดยพบว่าชามะรุม A มีฤทธิ์คีเลชันของโลหะดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24±2.98 รองลงมาคือชามะรุม B และชามะรุม C ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยองค์ประกอบของมะรุมพบว่ามะรุมมีสารฟลาโวนอยด์สำคัญคือ รูทินและเควอเซทิน (Rutin และ Quercetin) สารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) สารลูทีนและกรดแคฟฟีโอลิลควินิก (Lutein และ Caffeoylquinic Acids) จากงานวิจัยของ Ebrahimzadeh และ คณะ (2008) พบว่าสารประเภทฟลาโวนอยด์และแทนนินมีฤทธิ์ในการจับโลหะได้ดี อีกทั้งงานวิจัยของ Mohan และคณะ (2012) ยังพบว่าที่มีสารกลุ่มแทนนินและฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการจับโลหะได้เช่นกันและงานวิจัยของภาวดี (2560) ได้ศึกษาชาสมุนไพรในด้านคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณ

สารประกอบโพลีฟีนอลในชาสมุนไพร 5 ชนิด คือ ชาขิง ชาตะไคร้ ชากระเจี๊ยบ ชามะตูม และชาใบเตยพบว่าในแง่ของคุณสมบัติการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 1-diphenyl-2-picryl hydrazyl หรือ DPPH ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ พบว่า ชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ชาขิง ชากระเจี๊ยบ ชาตะไคร้ ชาใบเตย และชามะตูม ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์คีเลชันของโลหะของสารสกัดชามะรุม

สารสกัด	ฤทธิ์คีเลชันของโลหะ [ร้อยละ]
A	91.24±2.98[a]
B	83.63±0.64[b,c]
C	80.05±2.31[c]
D	69.94±1.34[d]

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

มะรุมมีสารฟลาโวนอยด์สำคัญคือรูทินและเควอเซทิน (Rutinและ Quercetin) สารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) สารลูทีนและกรดแคฟฟีโอลิลควินิก (Lutein และCaffeoylquinic Acids) จากงานวิจัยของ ภาวดี (2560) ได้ศึกษาชาสมุนไพรในด้านคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในชาสมุนไพร 5 ชนิด คือ ชาขิง ชาตะไคร้ ชากระเจี๊ยบ ชามะตูมและชาใบเตย พบว่าในแง่ของคุณสมบัติการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1-diphenyl-2-picryl hydrazyl หรือ DPPH ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ พบว่าชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ชาขิง ชากระเจี๊ยบ ชาตะไคร้ ชาใบเตย และชามะตูม ตามลำดับ และงานวิจัยของ อธิกา จารุโชติกมลและคณะ (2556) สารสกัดใบมะรุม ที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเอทานอล ต่อการสลายไขมันในเซลล์ไขมันจากหนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้โดยแบ่งหนู 16 ตัว ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว เลี้ยงด้วยอาหารที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ อาหารปกติ (Normal Pellet Diet; NPO) และอาหารที่มีไขมันสูง (High Fat Diet; HFD) เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นตัดแยกเนื้อเยื่อไขมันบริเวณอัณฑะมาเตรียมเซลล์ไขมันโดยใช้วิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ Collagenase ทดสอบสารสกัดใบมะรุมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดใบมะรุมที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 1 และ 3 mg/mL เพิ่มการสลายไขมันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$; n=4) ที่สภาพวะ basal lipolysis ทั้งในกลุ่มหนู NFD และ

HFD ในขณะที่สารสกัดใบมะรุมที่สกัดด้วยเอทานอลเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงสุด คือ 3 mg/mL ที่เพิ่มการสลายไขมันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$; n=4) ที่สภาวะ Basal Lipolysis ในกลุ่มหนู NFD แต่ไม่มีผลในกลุ่มหนู HFD ฤทธิ์ของสารสกัดกับใบมะรุมต่อการสลายไขมันที่เกิดขึ้นนี้อาจมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบมะรุมในการลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ งานวิจัยของ ชมพูนุท (2558) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคและชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชง จำนวน 4 ชนิด คือ ชามะตูม ชากระเจี๊ยบ ชาเก๊กฮวย และชาตะไคร้ โดยเตรียมตัวอย่างชาชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชงให้อยู่ในรูปพร้อมบริโภคแล้วนำน้ำชาที่ได้และน้ำชาชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภค ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มชาสมุนไพรชนิดปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคและชนิดอบแห้งบรรจุซองพร้อมชงพบว่าชามะตูมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชากระเจี๊ยบ ชาเก๊กฮวยและชาตะไคร้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย ชามะรุม A, B , C และชามะรุม D ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันในส่วนผสมของชามะรุม ในส่วนของการเตรียมชามะรุม โดยได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน และฤทธิ์คีเลชันของโลหะ พบว่าชามะรุม A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน พบว่าชามะรุม A ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้มากที่สุด (ร้อยละ 36.06±2.13) และชามะรุม A มีฤทธิ์คีเลชันของโลหะดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24±2.98 รองลงมาคือ ชามะรุม B และชามะรุม C ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไก ของชามะรุมแต่ละตัวอย่างทั้งหมด 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าชามะรุมแต่ละตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ ซึ่งมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาดูแลสุขภาพและเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยได้ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคม และส่งเสริมการปลูกพืชพื้นเมืองเพื่อเป็นรายได้เสริมรองจากพืชเศรษฐกิจ เป็นต้น สามารถนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรนำชามะรุม ไปทำศึกษาทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตภัณฑ์สุขภาพ ซึ่งเป็นการทดสอบในรูปแบบชาเพื่อประเมินถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพของชามะรุม

5.2.2 ทำการทดสอบเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านเบาหวานหรือฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษของชามะรุม เพื่อยืนยัน

ประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของสมุนไพร ซึ่งจะทำให้สามารถต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาเพื่อสุขภาพต่อไปได้ต่อไป

5.2.3 เมื่อต้องการกินอาหารให้เป็นยา ต้องไม่กินอาหารตามค่านิยมหรือความเชื่อ แต่ควรเลือกกินโดยใช้ความรู้ และรับข้อมูลจากหลาย ๆ แหล่ง พร้อมศึกษาและชั่งน้ำหนักข้อมูลให้ดี ใช่ว่าเมื่อกินอาหารชนิดนั้นในปริมาณมากแล้วจะส่งผลในด้านดีทั้งหมด จึงต้องพิจารณาด้วยว่ากินส่วนไหน ปริมาณเท่าใด ความถี่มากน้อยเพียงไรและในรูปแบบใด จึงจะสามารถป้องกันและรักษาโรคได้

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

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

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,* 21(3), 282-284.

บัลกีส มามะ, นูรีชัน นิสัน, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, และ สุชาดา มานอก, (2560). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากใบมะรุมที่พบในชุมชนศรีภูมิในพื้นที่ฝั่งธนบุรี, *ว.เภสัชศาสตร์อีสาน 2560,* 13(2), 80-89.

พัชรี สิริตระกูลศักดิ์, ประสิทธิ์ ชุติชูเดช, เบ็ญจวรรณ ชุติชูเดช, มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย, และ เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง. (2556). *กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้ 15 ชนิดในจังหวัดมหาสารคาม.* มหาสารคาม: คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

พัชรี ขุนหลัด, ยงยุทธ ตัณฑลเวสส, ธารารัตน์ ศุภศิริ, และ วราดุล ฉัตรทอง. (2551). การยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสของสารประกอบเคอร์คิวมอยด์ จากผงขมิ้นชัน *(Curcuma longa Linn)*, *วารสารวิทยาศาสตร์,* 24 (1).

ภูริชยา หอสุวรรณ. (2556). *การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ และอิทธิพลของอาหารที่ส่งผลต่อมนุษย์* (ปริญญานิพนธ์มหาบัณฑิต). สงขลา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

รัชพล พะวงศ์รัตน์, ผกามาศ แดงชอบกิจ, และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล. (2557). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรจากใบมะรุม, *Agricultural Sci. J.*, 45(2) (Suppl.), 277-280

วิไลพร ปองเพียร. (2551). *การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในฟักแม้ว* (ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี). เพชรบูรณ์: มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

อุไรวรรณ เกศสวัสดิ์สกุล. (2552). *ฤทธิ์ของสารสกัดจากข่าและว่านนางคำที่มีสาร antioxidant phenolics ต่อการสร้างเม็ดสีผิวเมลานินของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต.* เชียงใหม่: ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อธิกา จารุโชติกมล, ปวิตรา พูลบุตร, จริยาพร เพริศแก้ว, ปรีณ์สุดา สามสี่, รุ่งนภา ปาพรม, และ ศิวากรณ์ แดนรักษ์. (2556). ฤทธิ์ของสารสกัดใบมะรุมต่อการสลายไขมันในเซลล์ไขมันหนูขาว, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม,* 32 (2), 129.

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

ภาษาต่างประเทศ

Boonpisuttinant, K., Manosroi, A., Rahmat, D. & Manosroi, J. (2012). Enhancement of *In Vitro* Anti-Proliferative Activity and Intestinal Membrane Permeation of Thai Medicinal Plant Extracts Selected from the MANOSROI II Database by Loading in Chitosan-Thioglycolic Acid (TGA) Nanoparticles. *Advanced science letters*, 17(1), 206-216.

Shabbir, M., Khan, M.R. & Saeed, N. (2013). Assessment of phytochemicals, antioxidant, anti-lipid peroxidation and anti-hemolytic activity of extract and various fractions of *Maytenus royleanus* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(143), 1-13

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

Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. & Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effect of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 42, 1663–1665.

Zheng C, Dongb Q., Chenb H., Congb Q., Dingb K., 2015. Structural characterization of a polysaccharide from *Chrysanthemum morifolium* flowers and its antioxidant activity. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, 113-121.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การสกัดชามะรุม

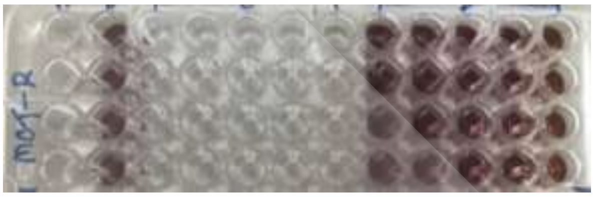
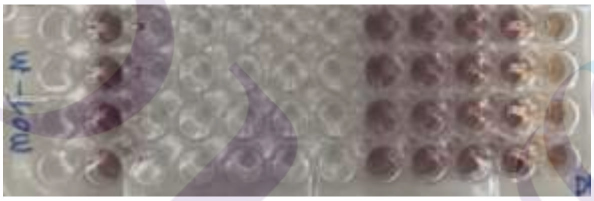
DPU

ก.1 การเตรียมชามะรุม

กา

ภาคผนวก ข
การตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

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

A	
B	
C	
D	

ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

ยกตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการชามะรุม

แทนค่า B=0.40 A=0.13

D=0.20 C=0.14

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{[(0.13-0.40) - (0.14-0.20)] \times 100}{(0.13-0.40)}$$

$$= 77.77 \text{ ------------------------- } (X_1)$$

แทนค่า B=0.41 A=0.12

D=0.19 C=0.14

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{[(0.12-0.41) - (0.14-0.19)] \times 100}{(0.12-0.41)}$$

$$= 79.87 \text{ ------------------------- } (X_2)$$

แทนค่า B=0.41 A=0.13

D=0.20 C=0.14

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{[(0.13-0.40) - (0.14-0.20)] \times 100}{(0.13-0.40)}$$

$$= 79.21 \text{ ------------------------- } (X_3)$$

แทนค่า B=0.41 A=0.12

D=0.21 C=0.14

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{[(0.13-0.40) - (0.14-0.20)] \times 100}{(0.13-0.40)}$$

$= 72.77$ ------------------------- (X_4)

หลังจากนั้นหาค่าเฉลี่ยของ % Free radical scavenging activity **ชามะรุม**

$X_1+X_2+X_3+X_4$ = 77.77+79.87+79.21+72.77

$x_{รวม}$ = 309.61

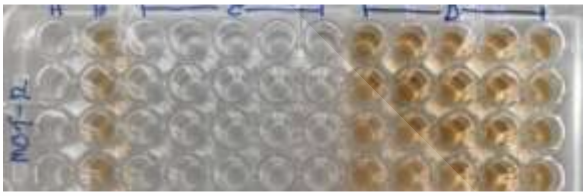
$x_{เฉลี่ย}$ = 78.95

SD = 1.08

ดังนั้น % Free radical scavenging activity **ชามะรุม เท่ากับ** 78.95 ± 1.08 mg/ml

DPU

ข.2 การตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of lipid peroxidation) ด้วยวิธี Ferric-thiocyanate

A	
B	
C	
D	

รูปที่ ข.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ด้วยวิธี Ferric-thiocyanate ของชามะรุมยี่ห้อ A, B, C และ D

ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมันจากสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

ยกตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ ชามะรุม

แทนค่า B=0.24 A=0.38

D=0.26 C=0.35

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activiity} = \frac{[(0.38\text{-}0.24) - (0.35\text{-}0.26)] \times 100}{(0.38\text{-}0.24)}$$

= 37.24 ------------------------- (X_1)

แทนค่า B=0.24 A=0.38

D=0.26 C=0.36

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activiity} = \frac{[(0.38\text{-}0.24) - (0.36\text{-}0.26)] \times 100}{(0.38\text{-}0.24)}$$

= 33.41 ------------------------- (X_2)

แทนค่า B=0.24 A=0.40

D=0.26 C=0.36

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activiity} = \frac{[(0.40\text{-}0.24) - (0.36\text{-}0.26)] \times 100}{(0.40\text{-}0.24)}$$

= 38.22 ------------------------- (X_3)

แทนค่า B=0.24 A=0.39

D=0.26 C=0.36

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activiity} = \frac{[(0.39-0.24) - (0.36-0.26)] \times 100}{(0.39-0.24)}$$

$$= 35.36 \text{ ------------------------- } (X_4$$

หลังจากนั้นหาค่าเฉลี่ยของ % Lipid peroxidation inhibition activiity ชามะรุม

$X_1+X_2+X_3+X_4$ = 37.24+33.41+38.22+35.36

$X_{รวม}$ = 144.23

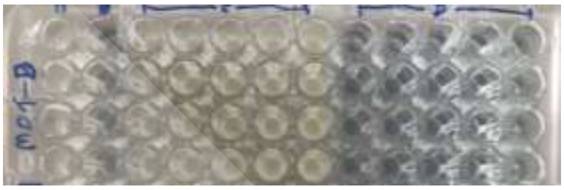
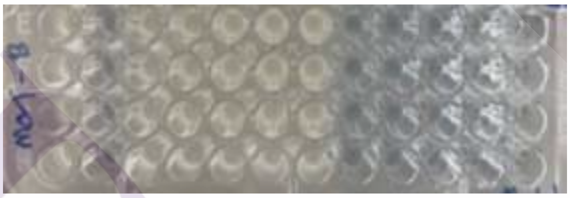
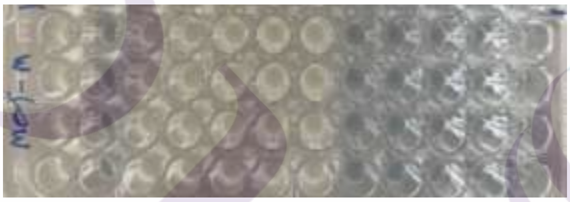
$X_{เฉลี่ย}$ = 36.06

SD = 2.13

ดังนั้น % Lipid peroxidation inhibition activiity ชามะรุม เท่ากับ 36.06 ± 2.13 mg/ml

DPU

ข.3 การตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดคีเลชันของโลหะ (Metal chelation activity) ด้วยวิธี Ferrous metal chelating

A	
B	
C	
D	

รูปที่ ข.3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดคีเลชันของโลหะด้วยวิธี Ferrous Metal chelating ของ MOT-D คือ ชามะรุมยี่ห้อ A, B, C และ D

ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์คีเลชันของโลหะจากสมการ

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

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $FeCl_2$

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง

D =ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี $FeCl_2$

ยกตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการชามะรุม

แทนค่า B=0.09 A=0.18

D=0.20 C=0.21

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(0.18\text{-}0.09) - (0.21\text{-}0.20)] \times 100}{(0.18\text{-}0.10)}$$

= 88.70 ------------------------- (X_1)

แทนค่า B=0.08 A=0.19

D=0.20 C=0.21

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(0.19\text{-}0.08) - (0.21\text{-}0.20)] \times 100}{(0.19\text{-}0.08)}$$

= 92.71 ------------------------- (X_2)

แทนค่า B=0.08 A=0.19

D=0.19 C=0.21

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(0.19\text{-}0.08) - (0.21\text{-}0.19)] \times 100}{(0.19\text{-}0.08)}$$

= 86.90 ------------------------- (X_3)

แทนค่า B=0.08 A=0.19

D=0.20 C=0.21

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(0.19-0.08) - (0.21-0.20)] \times 100}{(0.19-0.08)}$$

$$= 96.65 \quad \text{-------------------------} \quad (X_4)$$

หลังจากนั้นหาค่าเฉลี่ยของ % Metal chelating activity **ชามะรุม**

$X_1+X_2+X_3+X_4$ = 88.70+92.71+86.90+96.65

$X_{รวม}$ = 364.96

$X_{เฉลี่ย}$ = 91.24

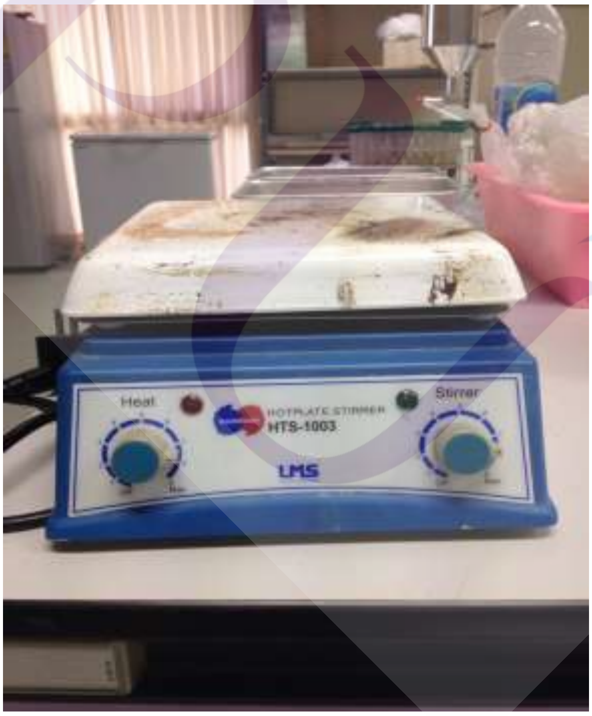
SD = 2.98

ดังนั้น % Metal chelating activity **ชามะรุม เท่ากับ** 91.24 ± 2.98 mg/ml

ภาคผนวก ค

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

รูปที่ ค-1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (XT 120A, Precisa instruments Ltd, Switzerland)



รูปที่ ค-2 Hot plate (HTS-1003, LMS, Japan)

รูปที่ ค-3 Microplate reader (Promega, USA)

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ
ด้วยโปรแกรม spss

ตารางที่ ง-1 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH						
Equal Variances Assumed	ชามะรุม	N	Subset for alpha = 0.05			
			a	b	c	d
Tukey HSD[a]	B	4	3.4675			
	D	4		55.5300		
	C	4			64.9650	
	A	4				77.4025
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

หมายเหตุ: [a] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ตารางที่ ง-2 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ด้วยวิธี Ferric thiocyanate

ฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน					
Equal Variances Assumed	ชามะรุม	N	Subset for alpha = 0.05		
			a	b	c
Tukey HSD[a]	D	4	6.9875		
	B	4	9.2275		
	C	4		12.8875	
	A	4			36.0575
	Sig.		.144	1.000	1.000

หมายเหตุ: [a] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ตารางที่ ง-3 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Anova ของฤทธิ์คีเลชันของโลหะ ด้วยวิธี Ferrous Metal chelating

ฤทธิ์คีเลชันของโลหะ					
Equal Variances Assumed	ชามะรุม	N	Subset for alpha = 0.05		
			a	b	c
Tukey HSD[a]	D	4	69.9400		
	C	4		80.0550	
	B	4		83.6325	83.6325
	A	4			91.2400
	Sig.		1.000	.580	.071

หมายเหตุ: [a-b] คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

DPU

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ภัชชัญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2550 เศรษฐศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยรามคำแหง
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2555-ปัจจุบัน ประกอบธุรกิจส่วนตัว