โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด

The study of antioxidant and antityrosinase of *Borassus flabellifer* Linn. pulp extracts

โดย

นสภ.รัชชา	เอื้อบูรณานนท์	57210211
นสภ.สุพรรษา	ปกป้อง	57210256
นสภ.อจลา	ชัยวิชาชาญ	57210257

โครงงานวิจัยเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม

หลักสูตรปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด

The study of antioxidant and antityrosinase of *Borrassus flabellifer* Linn. pulp extracts

โดย

นสภ.รัชชา	เอื้อบูรณานนท์	57210211
นสภ.สุพรรษา	ปกป้อง	57210256
นสภ.อจลา	ชัยวิชาชาญ	57210257

โครงงานวิจัยเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม

หลักสูตรปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

รายงานวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด (the study of antioxidant and antiyrosinase of *Borassus flabellifer* Linn. pulp extracts) คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวเนื่องจากตาลโตนดเป็นพืชพื้นถิ่น ของประเทศไทยพบได้มากในภาคตะวันตก มีการใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้านไม่ว่าจะเป็นการนำลำต้นมาทำเป็นเสาบ้าน การนำใบตาลมาทำเป็นเครื่องจักรสาน การนำเปลือกตาลมาทำเป็น เชื้อเพลิง รวมถึงการนำส่วนผลมาทำเป็นขนม อาหาร และลูกตาลเชื่อม สำหรับการศึกษา ฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของส่วนเนื้อผลต้นตาลโตนดยังพบการศึกษาน้อย จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจนำส่วนเนื้อผลต้นตาลโตนดมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมี เพื่อพัฒนาต่อยอดแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการดูแลสุขภาพต่อไป

คณะผู้วิจัย

นสภ.รัชชา เอื้อบูรณานนท์ 57210211

นสภ.สุพรรษา ปกป้อง 57210256

นสภ.อจลา ชัยวิชาชาญ 57210257

26 พฤศจิกายน 2561

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2561

เรื่องการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด

ผู้จัดทำโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ.รัชชา เอื้อบูรณานนท์ รหัส 57210211
2. นสภ.สุพรรษา ปกป้อง รหัส 57210256
3. นสภ.อจลา ชัยวิชาชาญ รหัส 57210257

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ภญ.อ.ดร.ธันย์ชนก ศิริรักษ์
2. ภญ.อ.ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเนื้อผลตาลโตนด โดยนำเนื้อผลตาลโตนดมาสกัดเป็น 2 วิธีคือ สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แล้วสกัดแยกด้วยเทคนิค liquid-liquid extraction ได้สารสกัด hexane (BF-05) dichloromethane (BF-04) buthanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) และสกัดด้วยวิธีการเดียวกับกระบวนการทำแป้งตาลโตนดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายแล้วกรองแยกส่วนแป้งด้วยผ้าขาวบางได้สารสกัดส่วนที่ไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) และน้ำที่ได้จากการกรอง (BF-03) นำสารสกัดทั้ง 7 ส่วน ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assay และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าไม่มีสารสกัดใดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากค่า IC_{50} ของสารสกัดทุกส่วนมีค่ามากกว่า 500 µg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธีการ ABTS และ FRAP assay พบว่าสารสกัดมีค่าIC_{50} มากกว่า 500 µg/mL เช่นกัน ยกเว้นสารสกัด dichloromethane (BF-04) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อย โดยเมื่อทดสอบด้วย ABTS assay มีค่า IC_{50} 301.40±14.31 mg/mL และเทคนิค FRAP assay สารสกัด 1 กรัมเทียบเท่ากับ trolox 14.45±2.15 mg ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วยน้ำยาทดสอบพบว่าเนื้อผลของตาลโตนดพบสารกลุ่ม saponins, phenolic, unsaturated lactones, deoxy sugars, steroids, triterpenoids และน้ำตาล เป็นองค์ประกอบ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก.....

Senior Project Academic Year 2018

: The study of antioxidant and antityrosinase of *Borrassus flabellifer* Linn. pulp extracts

By

1. Miss Ratcha Eurboorananon ID 57210211
2. Miss Supansa Pokpong ID 57210256
3. Miss. Ajala Chaivichachan ID 57210257

Advisor:

1. Dr. Thanchanok Sirirak Ph.D
2. Dr. Nadechanok Jiangseubchatveera Ph.D

ABSTRACT

The study of antioxidant and antiyrosinase activities of *Borassus flabellifer* Linn. pulp extract which was extracted with two methods. The freezed dried pulp was extracted with methanol then separated by liquid-liquid extraction yield dichloromethane fraction (BF-04) hexane fraction (BF-05) butanol fraction (BF-06) and water fraction (BF-07). For starch method extraction using water as solvent, the water extract was yield unfiltered part (BF-01) sieved through cheesecloth yield starch (BF-02) and fitrate (BF-03) extracts. All seven extracts were determined antioxidant activities by DPPH, ABTS and FRAP assay. In addition, all extracted were tested for antiyrosinase activity.

According to study by DPPH assay, all extracts had no antioxidant activity at concentration of 500 mg/mL. ABTS and FRAP assays also had no antioxidant activity at concentration of 500 mg/mL as well except dichloromethane (BF-04) has slightly antioxidant by using ABTS assay with IC_{50} 301.40±14.31 mg/mL and FRAP assay 1 g equivalent to trolox 14.45± 2.15 mg. All of extracts have no antiyrosinase activity. For phytochemical screening, the extracts composted of saponins, phenolic, unsaturated lactones, deoxy sugars, steroids, triterpenoids and sugar.

Major Advisor……

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจาก ภญ.ดร.นภัสสร ฉันทธำรงศิริ ภญ.อ.ดร.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ และ ภญ.อ.ดร.ธันย์ชนก ศิริรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้คำปรึกษา ช่วยแนะแนวทางในการค้นคว้า คอยแนะนำ ให้ความรู้ ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ และคอยดูแลในการทำโครงงานวิจัย และตรวจสอบแก้ไข ข้อบกพร่องในการเขียนโครงงานวิจัยทำให้โครงงานวิจัยนี้สำเร็จตามความคาดหมาย

ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญที่ให้คำแนะนำ กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบโครงงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ผู้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ขอขอบพระคุณ ภก.ผศ.ดร.บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์ คุณกนกพร ก้อนทรัพย์ และนักวิทยาศาสตร์ที่อนุเคราะห์และช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่คอยให้กำลังใจ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ คณะเภสัชศาสตร์และเพื่อน ๆ รวมถึงผู้ที่เกี่ยวข้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ในการทำโครงงานวิจัยนี้ตลอดมา จนทำให้โครงงานวิจัยนี้สำเร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

นสภ.รัชชา	เอื้อบูรณานนท์	57210211
นสภ.สุพรรษา	ปกป้อง	57210256
นสภ.อจลา	ชัยวิชาชาญ	57210257

26 พฤศจิกายน 2561

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
คำนำ	**ข**
บทคัดย่อ	**ค**
กิตติกรรมประกาศ	**จ**
ABTSTRACT	**ง**
สารบัญ	**ฉ**
สารบัญตาราง	**ซ**
สารบัญภาพ	**ฎ**
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
1. ข้อมูลทั่วไปของต้นตาลโตนด	4
2. ประโยชน์ของต้นตาลโตนด	10
3. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของต้นตาลโตนด	11
4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	19
1. พืชที่ใช้ในการศึกษา	19
2. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี	19
3. วิธีวิจัย	21
บทที่ 4 ผลการวิจัย	37
1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	37
2. การทดสอบฤทธิ์ยั้งยังเอนไซม์ไทโรซิเนส	54
3. ผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี	56

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	70
เอกสารอ้างอิง	72
เอกสารอ้างอิงรูปภาพ	75
ภาคผนวก	76
ภาคผนวก (1) การเตรียมสาร	77
ภาคผนวก (2) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	80
ภาคผนวก (3) อักขราวิสุทธิ์	99
ภาคผนวก (4) แบบฟอร์มรายงานการเงิน	101

สารบัญตาราง

เรื่อง **หน้า**

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของวิธีทดสอบ DPPH, ABTS และ FRAP 16
ตารางที่ 2 แสดงตัวทำละลายของสารตัวอย่าง 24
ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน trolox โดยใช้ DPPH assay 37
ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน vitamin C โดยใช้ DPPH assay 38
ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี DPPH assay 39
ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแป้ง (BF-02) โดยวิธี DPPH assay 40
ตารางที่ 7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกรอง (BF-03) โดยวิธี DPPH assay 40
ตารางที่ 8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hexane (BF-04) โดยวิธี DPPH assay 41
ตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด dichloromethane (BF-05) โดยวิธี DPPH assay 41
ตารางที่ 10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด butanol (BF-06) โดยวิธี DPPH assay 42
ตารางที่ 11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำ (BF-07) โดยวิธี DPPH assay 42
ตารางที่ 12 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay 43
ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay 44
ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay 45
ตารางที่ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี ABTS assay 46
ตารางที่ 16 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแป้ง (BF-02) โดยวิธี ABTS assay 47
ตารางที่ 17 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกรอง (BF-03) โดยวิธี ABTS assay 47
ตารางที่ 18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hexane (BF-04) โดยวิธี ABTS assay 48
ตารางที่ 19 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด dichloromethane (BF-05) โดยวิธี ABTS assay 48
ตารางที่ 20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด butanol (BF-06) โดยวิธี ABTS assay 49
ตารางที่ 21 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำ (BF-07) โดยใช้ ABTS assay 49
ตารางที่ 22 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay 50
ตารางที่ 23 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ trolox ด้วยวิธี FRAP assay 51
ตารางที่ 24 กรัมสารสกัดเทียบเท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของ trolox โดยวิธี FRAP assay 52

สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 25 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay	53
ตารางที่ 26 %Inhibition ของสารมาตรฐาน kojic acid โดยวิธี anti-tyrosinase assay	54
ตารางที่ 27 %Inhibition ของสารตัวอย่างโดยวิธี anti-tyrosinase assay	55
ตารางที่ 28 ผลการทดสอบสารกลุ่ม tannins	56
ตารางที่ 29 ผลการทดสอบ foam test	57
ตารางที่ 30 ผลการทดสอบ ferric chloride test	58
ตารางที่ 31 ผลการทดสอบ Shinoda's test	60
ตารางที่ 32 ผลการทดสอบ Molisch's test	61
ตารางที่ 33 ผลการทดสอบ Kedde's reagent test	62
ตารางที่ 34 ผลการทดสอบ Modified Borntrager's test	63
ตารางที่ 35 ผลการทดสอบ Killini's test	64
ตารางที่ 36 ผลการทดสอบ Liebermann-Burchard test	66
ตารางที่ 37 ผลการทดสอบสารกลุ่ม alkaloids	67
ตารางที่ 38 สรุปผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening)	68
ตารางที่ 39 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี DPPH assay	80
ตารางที่ 40 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี DPPH assay	81
ตารางที่ 41 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี DPPH assay	82
ตารางที่ 42 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี DPPH assay	83
ตารางที่ 43 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี DPPH assay	84
ตารางที่ 44 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี DPPH assay	85
ตารางที่ 45 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี DPPH assay	86
ตารางที่ 46 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี DPPH assay	87
ตารางที่ 47 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง water (BF-07) โดยวิธี DPPH assay	88
ตารางที่ 48 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay	89
ตารางที่ 49 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay	90

สารบัญตาราง

เรื่อง **หน้า**

ตารางที่ 50 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี ABTS assay 91

ตารางที่ 51 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี ABTS assay 91

ตารางที่ 52 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี ABTS assay 92

ตารางที่ 53 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี ABTS assay 92

ตารางที่ 54 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี ABTS assay 93

ตารางที่ 55 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี ABTS assay 94

ตารางที่ 56 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างน้ำ (BF-07) โดยวิธี ABTS assay 95

ตารางที่ 57 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี FRAP assay 96

ตารางที่ 58 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง โดยวิธี FRAP assay 96

ตารางที่ 59 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน kojic acid โดยวิธี Anti-tyrosinase assay 97

ตารางที่ 60 ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบสารตัวอย่าง โดยวิธี Anti-tyrosinase assay 98

สารบัญภาพ

เรื่อง **หน้า**

รูปที่ 1 ลักษณะลำต้นของต้นตาลโตนด 5

รูปที่ 2 ลักษณะต้นตาลโตนด [A] ต้นตาลระยะกำลังเจริญเติบโตเป็นต้นใหญ่ [B] ต้นตาลที่เติบโตเต็มที่ 5

รูปที่ 3 ลักษณะใบของต้นตาลโตนด 6

รูปที่ 4 งวงตาล 7

รูปที่ 5 ต้นตาลตัวผู้ 7

รูปที่ 6 ปลีตาล 8

รูปที่ 7 ทะลายตาลอ่อนที่เก็บลงมาจากต้น 9

รูปที่ 8 ผลตาลอ่อนภายในมีลอนตาลหรือลูกตาลสด 9

รูปที่ 9 การออกซิไดซ์ ABTS เป็นสารอนุมูลอิสระที่ไม่มีสี ($ABTS^{\bullet}+$) 15

รูปที่ 10 กลไกปฏิกิริยากระบวนการสร้างเม็ดสี (melanogensis synthesis) 17

รูปที่ 11 Dopachrome เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น DHI โดยกระบวนการ decarboxylation และเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น DHICA โดยกระบวนการ tautomerization 18

รูปที่ 12 กระบวนการทดสอบฤทธิ์ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome 18

รูปที่ 13 แผนผังขั้นตอนงานวิจัย 21

รูปที่ 14 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบ liquid/liquid extraction 23

รูปที่ 15 วิธีการวิเคราะห์โดย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ $DPPH^{\bullet}$ scavenging assay 25

รูปที่ 16 วิธีการวิเคราะห์โดย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid 27

รูปที่ 17 วิธีการวิเคราะห์โดย ferric reducing antioxidant power assay หรือ FRAP 29

รูปที่ 18 วิธีการทดสอบการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ไทโรซิเนส 30

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นอะตอมหรือโมเลกุลขนาดเล็กของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอนไปหนึ่งตัว ซึ่งปกติใน orbital หนึ่งจะต้องมีอิเล็กตรอนครบสองตัว ทำให้โมเลกุลอนุมูลอิสระเกิดการไม่เสถียรและมีช่วงชีวิตที่สั้น เป็นเหตุให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับอะตอม หรือเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายได้อย่างรวดเร็วเพื่อรับอิเล็กตรอนให้ครบสองอิเล็กตรอน (1) อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นในร่างกายโดยธรรมชาติ และยังมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการต่าง ๆ เช่น กระบวนการเผาผลาญน้ำตาล การปล่อยเอนไซม์ย่อยอาหาร หรือการออกกำลังกาย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยภายนอกที่เป็นสาเหตุทำให้เกิด อนุมูลอิสระ เช่น รังสียูวี ควันรถ ควันบุหรี่ สารเคมีปนเปื้อน ยาฆ่าแมลง การรับประทานอาหารที่ผ่านการทอดด้วยอุณหภูมิสูง หรืออาหารปิ้งย่าง (2) หากสารอนุมูลอิสระมีความเข้มข้นที่สูงขึ้น อาจเป็นอันตรายต่อร่างกาย และสร้างความเสียหายต่อส่วนประกอบของเซลล์ ดีเอ็นเอ และโปรตีน ทำให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย ซึ่งจะแสดงออกมาในรูปแบบของริ้วรอย การแก่ก่อนวัย และพัฒนาให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ อัลไซเมอร์ พาร์กินสัน เบาหวาน ต้อกระจก และจอประสาทตาเสื่อม เป็นต้น (1,2)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่ใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย มีกลไกช่วยปกป้องหรือยับยั้งความเสียหายของเซลล์ที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ ปกติร่างกาย สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นเองได้ และสามารถรับจากอาหารที่รับประทานในแต่ละวัน แต่ด้วยอายุที่มากขึ้นรวมกับความเครียด และวิถีชีวิตในปัจจุบัน ทำให้การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระลดน้อยลงไม่เพียงพอต่อการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในแต่ละวันเป็นปัจจัยทำให้เกิดการแก่ก่อนวัยริ้วรอยบริเวณใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณ รวมทั้งยังเป็นปัจจัยทำให้เกิดโรคต่าง ๆ (3) สำหรับในยุคปัจจุบันที่คนหันมาดูแลสุขภาพกันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นเด็กหรือผู้ใหญ่ต่างเกรงกลัวการแก่ก่อนวัย และโรคต่าง ๆ ทำให้มีความต้องการผลิตภัณฑ์ที่สามารถตอบโจทย์การดูแลสุขภาพ โดยจะเห็นได้ว่าอุตสาหกรรมอาหารเสริม และเครื่องสำอางมีการแข่งขันในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดดูได้จากโฆษณาตามสื่อต่าง ๆ ไม่ว่าเป็นสื่อทีวีหรือสื่อออนไลน์ นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยเพื่อหาพืชหรือสมุนที่มีส่วนประกอบของสารต้านอนูมูลอิสระเพิ่มขึ้นจำนวนมาก สำหรับตาลโตนดนั้นมีการทำวิจัยศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน ในปี 2017 M.V.Reshma และคณะ (4) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารจากตาลโตนดในรูปแบบ palm syrup โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดที่แตกต่างกัน พบว่าตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า ascorbic acid

หรือ vitamin C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Prasad G. และคณะในปี 2016 (5) ได้รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตาลโตนดไว้เช่นกัน

ดั้งเดิมตาลโตนดเป็นพืชของทวีปแอฟริกา แต่ภายหลังได้มีการขยายพันธุ์ไปเรื่อย ๆ จนมีอยู่ทั่วไปในเอเชียเขตร้อนแล้วรวมทั้งประเทศไทยด้วยซึ่งประเทศไทยสามารถพบตาลโตนดได้มากในภาคตะวันตก เช่น จังหวัดเพชรบุรี สุพรรณบุรี อยุธยา และนครปฐม โดยตาลโตนดเป็นต้นไม้ยืนต้นที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในหลาย ๆ ด้าน เช่น ลำต้นนำมาทำเสาและไม้กระดานสำหรับสร้างบ้าน ทำเฟอร์นิเจอร์ไม้ โต๊ะเก้าอี้ ไม้เท้า และสามารถนำมาทำเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ ส่วนเปลือกตาลหรือส่วนกะลานำมาทำเป็นเชื้อเพลิง ใบตาลนำมาทำเป็นเครื่องจักรสาน มุงหลังคาบ้าน และทำของเล่นสำหรับเด็ก ส่วนผลนำมาทำเป็นขนม อาหาร และลูกตาลเชื่อม (6)

สำหรับภูมิปัญญาชาวบ้านมีการนำผลตาลโตนดมาใช้ประโยชน์ในการทำเป็นแป้งเพื่อเป็นส่วนประกอบใช้ในการทำขนมโดยขั้นตอนการทำขนมมีส่วนน้ำที่เหลือหลังจากกรองแยกส่วนแป้งทำให้มีส่วนน้ำเหลือทิ้งจำนวนมาก (7) จากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่มีรายงานใดที่ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส่วนนี้ดังกล่าว ผู้วิจัยได้สนใจนำสารสกัดส่วนดังกล่าวมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อพัฒนาต่อยอดแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เกี่ยวกับการดูแลสุขภาพต่อไป

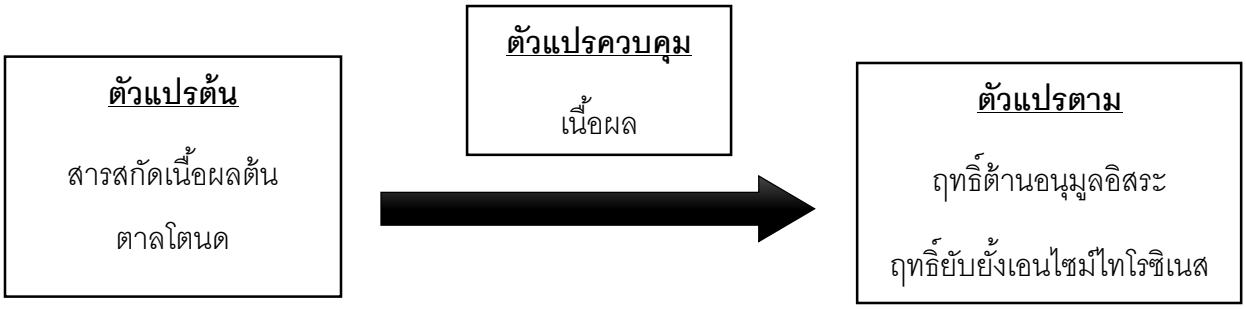
2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของเนื้อผลต้นตาลโตนด

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของเนื้อผลต้นตาลโตนด

4. กรอบแนวคิด



5.ขอบเขตงานวิจัย

5.1 ลูกตาลโตนด (*Botassus flabellifer* Linn.) ที่สุกเต็มที่นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และสกัดด้วยวิธีการทำแป้งตาล

5.2 การศึกษามุ้งเน้นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของเนื้อผลต้นตาลโตนด

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. ข้อมูลทั่วไปของต้นตาลโตนด

1.1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ (6)

1.1.1 **ชื่อสามัญ**: Palmyra Palm, Lontar, Fan Plam

1.1.2 **ชื่อทางพฤกษศาสตร์**: *Botassus flabellifer* Linn.

1.1.3 **สกุล**: *Borassus*

1.1.4 **วงศ์**: ปาล์ม (Palmae)

1.1.5 **ชื่อทั่วไป**:

ภาคกลาง: ตาล ตาลโตนด ตาลใหญ่ ตาลนา ต้นโหนด

ภาคใต้: ตะโหนด ปอเก๊าะตา โนด

ภาคเหนือ: ปลีตาล

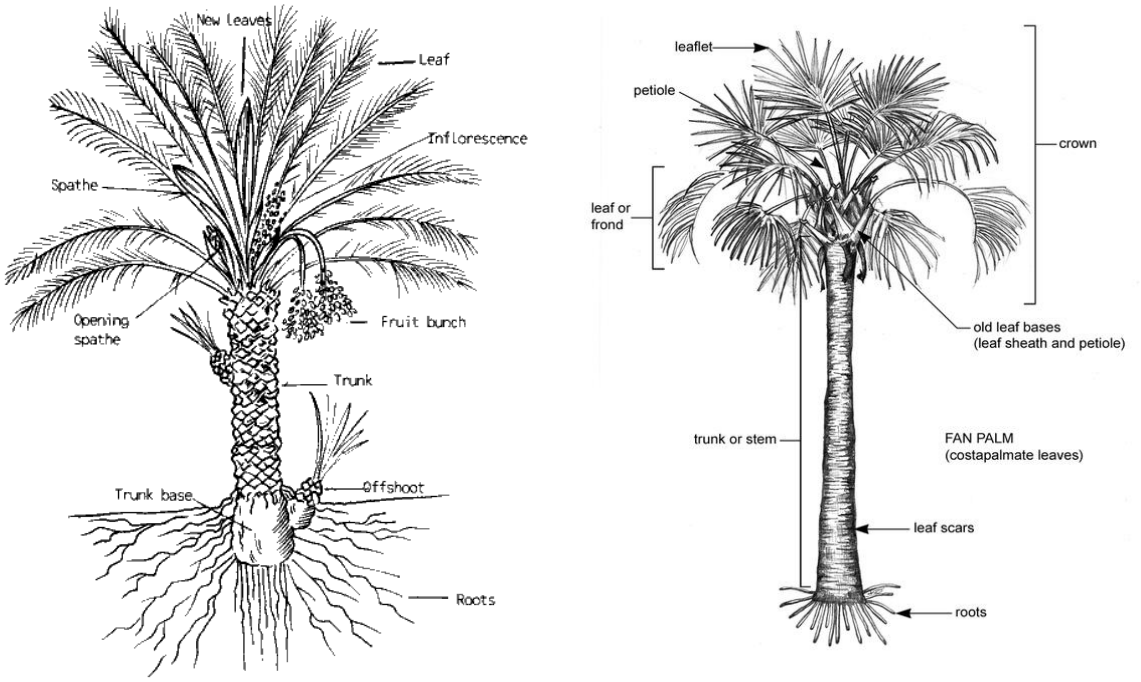
ภาคอีสาน: ตาล

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (6)

1.2.1 **ลำต้น**

ตาลโตนดเป็นพืชลำต้นเดี่ยว ไม่มีหน่อ ลำต้นมีขนาดใหญ่ และสูงชะลูด เติบโตเต็มที่จะสูงประมาณ 25-27 เมตร บางต้นอาจสูงถึง 30 เมตร ลำต้นมีลักษณะตรง หรือโค้งเล็กน้อย โคนต้นอวบใหญ่วัดขนาดโดยรอบได้ประมาณ 50 เซนติเมตร มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 ฟุต เปลือกลำต้นขรุขระ และเป็นวงปล้องซ้อน ๆ กันเกิดจากใบที่หลุดออกไปแล้ว ดังรูปที่ 1 และ 2 ลำต้นเป็นเสี้ยนสีดำแข็งมาก เหนียว ไม่หักง่าย แต่ไส้กลางลำต้นอ่อน

รูปที่ 1 ลักษณะลำต้นของต้นตาลโตนด



[A] [B]

รูปที่ 2 ลักษณะต้นตาลโตนด [A] ต้นตาลระยะกำลังเจริญเติบโตเป็นต้นใหญ่ [B] ต้นตาลที่เติบโตเต็มที่

1.2.2 ใบ

ใบตาลเป็นใบประกอบสีเขียวเข้ม มีลักษณะคล้ายฝ่ามือ ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อยหรือรูปพัด (fan leaf) รัศมีประมาณ 4 เมตร ความกว้างของใบวัดได้ 50-70 เซนติเมตร แต่ละใบจะมีใบย่อยเรียกว่า เซกเมนท์ (segment) ซึ่งจะแตกออกจากจุด ๆ เดียวกันที่ปลายก้านใบ ตามทางจะมีหนามทู่สีดำติดอยู่ ยอดตาลจะมีใบตาลประมาณ 25-40 ใบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุของตาลเป็นหลัก ถ้าตาลต้นใดไม่ได้ใช้ใบเป็นประโยชน์ ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งใบแก่มีสีน้ำตาลอ่อน ใบแก่จะห้อยแนบลำต้นคลุมบริเวณคอตาลเป็นรัศมีครึ่งวงกลม แต่ละใบจะมีอายุไม่เกิน 3 ปี ตาลโตนดต้นหนึ่ง ๆ สามารถให้ใบตาลได้ 12-15 ใบต่อปี ส่วนที่เป็นก้านใบหรือทางตาลยาวประมาณ 1-2 เมตร ก้านใบจะมีความแข็งแรง ทางตาลจะหนาโค้งตามความยาว และมีหนามแหลมรอบทั้งสองด้าน ลักษณะเป็นพันเลื่อยขนาดไม่สม่ำเสมอกัน ตาลโตนดจะผลิตใบได้ 1 ใบ ต้องใช้เวลาประมาณ 2 เดือน

รูปที่ 3 ลักษณะใบของต้นตาลโตนด

1.2.3 ดอก

ตาลโตนดจะออกดอกเป็นช่อ โดยดอกตัวผู้และดอกตัวเมียจะแยกกันอยู่คนละต้น ช่อดอกตัวผู้เรียกว่า “งวงตาล” ยาวประมาณ 1.5-2 เมตร ต้นตัวผู้จะไม่ติดผล แต่สามารถผลิตน้ำตาลจากช่อดอกได้ในขณะที่ช่อดอกยังอ่อนอยู่ ความแตกต่างระหว่างต้นตัวผู้และตัวเมียยากที่จะแยกได้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน เนื่องจากไม่พบลักษณะเฉพาะเจาะจง ยกเว้นเมื่อต้นออกดอกและติดผลเท่านั้น ช่อดอกของต้นตัวผู้แตกแขนงออกเป็น 2-4 งวงต่อก้านข้อ ยาวงวงละประมาณ 30-40 เซนติเมตร ในแต่ละงวงจะมีดอกเล็ก ๆ จำนวนมาก ต้นตัวผู้ต้นหนึ่ง ๆ จะมีช่อดอกประมาณ 3-9 ช่อ

ส่วนช่อดอกของต้นตัวเมียเรียก “ปลีตาล” จะมีดอกน้อยกว่าดอกตัวผู้ประมาณ 10 ดอก ในช่อกลุ่มมีงวง 3 งวง ต้นตัวเมียจะออกช่อหลังต้นตัวผู้เล็กน้อย แต่จะมีช่อดอกที่มีขนาดใหญ่และชุ่มน้ำหวานมากกว่า ในแต่ละช่อของทั้งต้นตัวผู้และต้นตัวเมียจะทยอยออกช่อดอกเรื่อยๆ แม้จะมีจำนวนน้อย แต่ก็สามารถเก็บรองน้ำตาลได้ตลอดปี ตาลโตนดที่มีอายุ 12-15 ปี สามารถเริ่มรองน้ำหวานมาทำน้ำตาลได้ โดยอาจเริ่มปาดตาลเมื่อมีดอกเป็นปีแรก แต่จะได้น้ำหวานในปริมาณน้อย และมีปริมาณความหวานอยู่ระหว่าง 9-16.59 เปอร์เซ็นต์ ตาลหนึ่งต้นสามารถรองน้ำหวานติดต่อกันได้นาน 22 เดือน เป็นอย่างน้อย และรองน้ำหวานได้ทุกปีติดต่อกัน 3-4 ช่วงอายุคน หรือประมาณ 80 ปี

รูปที่ 4 งวงตาล

รูปที่ 5 ต้นตาลตัวผู้

รูปที่ 6 ปลีตาล

1.2.4 **ผล**

ผลตาลมีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน

1) Exocarp เป็นเปลือกชั้นนอก มีผิวเรียบเป็นมัน

2) Mesocarp เป็นเส้นใยละเอียด

3) Endocarp เป็นเปลือกหรือกะลาแข็งหุ้มเมล็ด

ผลอ่อนมีสีเขียวติดอยู่บนทะลายคล้ายมะพร้าว ผลแก่จัดมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำเป็นมัน ผลโตขนาดเท่าผลส้มโอภายในเป็นเส้นละเอียด เมื่อสุกจะมีสีเหลืองแก่ และมีกลิ่นหอม เนื้อผลประกอบไปด้วยแป้ง และน้ำตาล ทะลายหนึ่งมีประมาณ 10-15 ผล ตาลลูกหนึ่งมักมีเต้าตาลอ่อนอยู่ 2-3 เต้า เมื่อปาดเปลือกตาลออกเพื่อแคะเต้าตาล ที่เรียกกันว่า “ลูกตาลอ่อน” “ลูกตาลสด” หรือ “ลอนตาล” จะมีเนื้อสีขาวใส นิ่ม รสหวานเย็น และเปลือกบางกว่าลองกอง มีลักษณะแบน ๆ ยาวประมาณ 3 นิ้ว กว้าง 2 นิ้ว และหนาประมาณ 0.5 นิ้ว

ผลตาลจะออกเฉพาะต้นตัวเมียเท่านั้น ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บผลอ่อนจะใช้เวลาประมาณ 75-80 วัน โดยผลจะออกเวียนรอบต้นตามก้านใบ ซึ่ง 1 ก้านใบจะออก 1 ปลีใน 1 ปลีจะให้ช่อดอกประมาณ 3 ช่อ ซึ่งแต่ละช่อดอกก็จะให้ผลผลิตจำนวน 1 ทะลาย และทุก ๆ 1 ทะลาย จะมีผลตาลประมาณ 10-20 ผล ส่วนเมล็ดลูกตาลสามารถนำไปเพาะได้ พอเริ่มงอก ต้นในเมล็ดจะเปลี่ยนเป็นจาวตาล มีสีเหลืองอ่อน มีเนื้อแข็งคล้ายจาวมะพร้าว แต่แน่นกว่า และมีรสชาติที่อร่อย

รูปที่ 7 ทะลายตาลอ่อนที่เก็บลงมาจากต้น

รูปที่ 8 ผลตาลอ่อนภายในมีลอนตาลหรือลูกตาลสด

1.2.5 ราก

รากมีลักษณะเป็นเสี้ยนกลมยาวเป็นกระจุกคล้ายมะพร้าว แต่จะไม่แผ่ไปตามผิวดินเหมือนรากมะพร้าว จึงไม่รบกวนต้นข้าวเมื่อปลูกลงบนคันนา เนื่องจากรากของต้นตาลจะหยั่งลึกลงไปในดินได้ลึกมาก จึงยึดติดดินได้ดี โอกาสที่ต้นตาลจะโค่นล้มหรือถอนรากจึงเป็นไปได้ยาก

2. ประโยชน์ของต้นตาลโตนด (6)

2.1 ใบ

ใบอ่อนสามารถนำมาจักสานให้เป็นรูปแบบต่าง ๆ ได้มากมาย เช่น ตะกร้า หมวก เสื่อ กระเป๋า พัด ใบแก่ใช้มุงหลังคาบ้าน และใช้ทำพัดขนาดใหญ่ ที่เรียกว่า “ตาลปัตร” เพื่อถวายพระภิกษุในประเทศ ศรีลังกาและพม่า

2.2 ช่อดอกตัวผู้ (งวงตาล)

ใช้เป็นยาสมุนไพร ต้มน้ำกินแก้ตานขโมยในเด็ก แก้พิษตานซาง แก้ร้อนใน ปากเป็นแผล และขับพยาธิ ช่อดอกตัวผู้ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ และตากแห้งต้มกับส่วนผสมอื่นเป็นยาบำรุงกำลัง ช่อดอกตากแห้งสามารถใช้เป็นฟืน หรือเชื้อเพลิงในการหุงต้มได้

2.3 ช่อดอกตัวเมีย (ปลีตาล)

จะให้น้ำหวานที่เรียกว่า “น้ำตาลใส” หรือ “น้ำตาลสด” หากนำน้ำหวานไปเคี่ยวไฟก็จะได้น้ำตาลเข้มข้นในรูปแบบต่าง ๆ เช่น น้ำผึ้ง น้ำตาลปี๊บ น้ำตาลปึก น้ำตาลแว่น น้ำตาลผง เครื่องดื่ม เป็นต้น และหากนำน้ำตาลสดไปหมักแปรรูปก็จะได้น้ำส้มสายชู สำหรับปรุงแต่งรสชาติอาหาร

2.4 ผล

ผลตาลอ่อนมาก ๆ เนื้อลูกตาลด้านติดขั้วที่เรียกว่า “หัวตาล” นำมาปอกเปลือกออก เอาเฉพาะเนื้อข้างใน สามารถใช้แทนผักจิ้มน้ำพริกและทำแกงคั่ว เรียกว่า “แกงหัวตาล” ผลแก่ส่วนเนื้อของลูกตาลมีสีเหลืองสด เมื่อเอาเส้นใยออกแล้วนำมาคั้นจะได้เนื้อที่มีกลิ่นหอม และมีสีเหลืองจากสารแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นกลุ่มสีธรรมชาติที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในวงการอุตสาหกรรมอาหาร นิยมใช้สารแคโรทีนอยด์แต่งสีขนมต่าง เช่น ขนมตาล ขนมเค้ก ขนมขี้หนู ไอศกรีม เป็นต้น

2.5 ลูกตาลสด

ใช้กินสด ๆ หรือนำไปลอยแก้ว ใส่น้ำเชื่อม เติมน้ำแข็ง ใช้รับประทานแก้กระหายน้ำ ช่วยลดอุณหภูมิความร้อนในร่างกาย แก้ไข้ตัวร้อน ละลายเสมหะในลำคอ และบรรเทาอาการไอเรื้อรัง

2.6 เปลือกหุ้มเมล็ดลูกตาล

สามารถทำเชื้อไฟได้เป็นอย่างดี เพราะถ่านที่ได้จากส่วนเปลือกชั้นในของเมล็ดตาล เป็นถ่านที่ให้ความร้อนดี มีคุณภาพสูง ในวงการอุตสาหกรรมได้นำถ่านตัวนี้ไปใช้กับหน้ากากกรองอากาศ (activated carbon) และใช้เป็นปรับค่า pH ของน้ำให้คงที่ เพื่อใช้ในการอนุบาลตัวอ่อนในอุตสาหกรรมการเกษตรเลี้ยงสัตว์น้ำ

2.7 เมล็ดลูกตาล

หากนำไปเพาะพอเริ่มงอกต้นในเมล็ดจะเปลี่ยนเป็นจาวตาล ใช้เชื่อมกับน้ำตาลทราย เป็นจาวตาลเชื่อม กินกับข้าวเหนียวมูน หรือจะนำจาวตาลเชื่อมน้ำตาลโตนดมาชุบแป้งทอด เรียกว่า “โตนดทอด” ซึ่งเป็นของกินเล่นของคนเมืองเพชร หรือจะนำจาวตาลไปทำแกงส้มก็ได้

2.8 ลำต้น

สามารถนำมาทำเก้าอี้ โต๊ะ ฝาบ้าน เฟอร์นิเจอร์ เครื่องตกแต่งบ้านที่มีราคาสูง ต้นตาลแก่นิยมใช้ทำเสาบ้าน นอกจากนั้นลำต้นยังสามารถเผาเป็นเถ้าใช้ในแปลงนา เพื่อเพิ่มธาตุอาหารให้แก่ดิน เนื่องจากต้นตาลมีธาตุโพแทสเซียมสูงนอกจากน้ำยังมีลำต้นที่แข็งแรง เนื้อไม้สามารถแช่อยู่ในน้ำเป็นเวลานาน ไม่ผุง่าย ทนแดด ทนฝน และลดการเสียดสีได้ดีมาก เหมาะแก่การใช้ทำเสาท่าเทียบเรือ หรือสะพานปลา ผู้ที่มีอาชีพเลี้ยงหอยนางรม สามารถใช้ต้นตาลตัดเป็นท่อน ๆ ผ่าซีกวางไว้ให้หอยนางรมเกาะเป็นที่เลี้ยงหอยได้อีกด้วย

ไม้ตาลถูกนำมาสร้างมูลค่าเพิ่มในลักษณะเป็นของใช้งานในบ้าน ของโชว์ และของชำร่วย ต่าง ๆ มากมาย เช่น กาน้ำ กำไลข้อมือ แก้วแชมเปญ แก้วไวน์ แก้วน้ำ พวงกุญแจ กรอบรูป ช้อนส้อม ตะเกียบ ที่รองแก้ว ถาด ถ้วยกาแฟ กล่องตะเกียบ ตะหลิว ทัพพี ที่ปักธูป ถ้วยน้ำจิ้ม จาน ไม้เกาหลัง ไม้ตีพริก ฯลฯ ภาคใต้นิยมนำไม้ตาลมาใช้ทำหุ่นกลองแขก หุ้นกลองมลายู หุ่นกลองตุ๊ก เป็นต้น และในบางพื้นที่ก็นำไม้ตาลทำขลุ่ยเพียงออ ส่วนในตาลนำมาใช้ทำลิ้นปี่

2.9 โคนต้นตาล

ใช้ทำเรือชนิดหนึ่งที่เรียกว่า “เรืออีโปง” เส้นใยใช้ประโยชน์ทางช่างฝีมือ เช่น ใช้ทำกระดาษ เส้นใยบริเวณโคนใบจะแข็ง ใช้ทำแปรง ไม้กวาด และเชือก เส้นใยชั้นใสที่นุ่มสามารถผลิต เป็นเครื่องจักสาน และผูกใบจากมุงหลังคาได้

2.10 ราก

นำรากมาต้มน้ำใช้เป็นยาขับปัสสาวะ เป็นยาชูกำลัง ขับเลือด และแก้พิษตานซาง ก้านใบ หรือทางตาล นำก้านใบสดย่างไฟ และคั้นเอาแต่น้ำ สามารถใช้แก้อาการโรคท้องร่วงและแก้ปวดเมื่อยได้

3. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของต้นตาลโตนด

ในปี 2014 Prasad Govindrao Jamkhande และคณะ ได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ถ่ายพยาธิ (anthelmintic) จากใบของต้นตาลโตนดโดยทำการทดลองกับไส้เดือนดิน ในการทดสอบจะนำไส้เดือนดินใส่ลงใน agar disc ที่บรรจุสารละลายแตกต่างกันคือ normal saline ใช้เป็น control ยา albendazole รูปแบบน้ำความเข้มข้น 10 mg/mL ใช้เป็นยามาตราฐานอ้างอิง และ สารละลายของใบตาลโตนดที่สกัดด้วย methanol

ความเข้มข้น 10, 20 และ 50 mg/mL พบว่าสารสกัดใบตาลโตนดจาก methanol ความเข้มข้น 50 mg/mL มีฤทธิ์ถ่ายพยาธิที่ดีกว่ายา albendazole อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า paralysis time 13.3 นาที และ death times 17.92 นาที (8)

ในปี 2016 Prasad G.Jamkhande และคณะ มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพจากส่วนต่างๆของต้นตาลโตนด พบว่า สารสกัดจากใบด้วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ methanol, *n*-butanol, chloroform และ acetone มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า ascorbic acid ซึ่งเป็นสารมาตราฐาน เมื่อทดสอบด้วยวิธีการ DPPH (IC_{50} เท่ากับ 21.80 และ 40.19 mg/mL ตามลำดับ) และ H_2O_2 (IC_{50} เท่ากับ 18.85 และ 30.92 mg/mL ตามลำดับ) (5)

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้ agar disc เพื่อทดสอบ inhibitory zone ค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และค่าminimal bactericidal concentration (MBC) ด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* โดยใช้ amoxicillin และ ciprofloxacin เป็นสารมาตราฐานอ้างอิง พบว่าสารสกัดใบตาลโตนดที่สกัดด้วย methanol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (MIC 50 µg/mL, MBC 60 µg/mL) ได้ดีกว่า amoxicillin (MIC 125 µg/mL, MBC 125 µg/mL) (5)

ในการทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อราด้วยวิธีการ disk diffusion พบว่าสารสกัดเมธานอลจากใบตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยทดสอบเชื้อ *Aspergillus flavus*, *Microsporum canis*, *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Vestilago myditis*, *Candida albicans*, *Candida blanki* และ *Aspergillus niger* ใช้ ciprofloxacin เป็นสารมาตราฐานอ้างอิง (5)

ในปี 2017 M.V. Reshma และคณะ ได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ จากจาวของต้นตาลโตนดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ chloroform, ethyl acetate และ *n*-butanol พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า ascorbic acid ซึ่งเป็นสารมาตราฐาน เมื่อทดสอบด้วยวิธีการ DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.02±0.14 µM และ 22.59±0.30 µM ตามลำดับ (4)

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ agar disc เพื่อทดสอบ inhibitory zone ค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และค่า minimal bactericidal concentration (MBC) โดยทดสอบเชื้อ *Bacillus Cereus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *Staphylococcus simulans* ใช้ ampicillin เป็นสารมาตรฐาน พบว่าตาลโตนดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* (MIC 62.5 µg/mL, MBC 125 µg/mL), *M. smegmatis* (MIC 125 µg/mL, MBC 250 µg/mL), *S. aures*

(MIC 62.5 µg/mL, MBC 125 µg/mL) และ *S. simulans* (MIC 250 µg/mL, MBC 250 µg/mL) ได้ดีกว่า ampicillin (MIC 312.5 µg/mL, MBC 625 µg/mL) (4)

4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 อนุมูลอิสระ และ สารต้านอนุมูลอิสระ (9)

อนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่าง ต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถยับยั้งกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมาย หลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไปซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์ และไม่เป็นเอนไซม์สารประกอบที่ละลายในน้ำ และสารประกอบที่ละลายในไขมันโดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการ สร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระ

4.1.1 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ (10)

การเกิดอนุมูลอิสระมีทั้งหมด 3 ระยะ

1) Initiation เป็นระยะแรกเริ่มในการเกิดอนุมูลอิสระโดยมีตัวกระตุ้นคือ ความร้อน แสง รังสีที่มีพลังงานสูงและโลหะหนักต่างๆ ซึ่งจะเกิดจากการที่อะตอมไฮโดรเจนหลุดออกมาแล้วทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ดังสมการ

$$RH + O_2 \longrightarrow R^* + HO_2^*$$

2) Propagation เป็นระยะเพิ่มจำนวนของสารอนุมูลอิสระ โดยสารอนุมูลอิสระไปจับกับออกซิเจนกลายเป็น peroxy ดังสมการ

$$R^* + O_2 \longrightarrow ROO^*$$

3) Termination เป็นระยะสิ้นสุดของกระบวนการเกิดสารอนุมูลอิสระโดย peroxy จะไม่เกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระแต่จะเข้าไปแย่งจับไฮโดรเจนทำให้โมเลกุลเสถียร ดังสมการ

$$ROO^* + RH \longrightarrow ROOH^* + R^*$$

4.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (11)

สารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยชะลอ ควบคุม หรือยับยั้งกระบวนการเกิดออกซิเดชันของสารตั้งต้นได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 ประเภท คือ chain breaking (primary antioxidant) และ hydroperoxide decomposer (secondary antioxidant)

Primary antioxidant จะไปรบกวนกระบวนการในขั้น propagation โดยสารต้านอนุมูลอิสระรบกวนการรับอะตอมไฮโดรเจนของ peroxyl ซึ่งอะตอมไฮโดรเจนส่วนใหญ่มาจาก –OH และ –NH และกลุ่มของสารที่ต้านอนุมูลอิสระคือ phenolic, secondary aromatic amines และ thiophenols

Secondary antioxidant จะช่วยในการเติมไฮโดรเจนในสายโซ่ การพยายามไล่อะตอมออกซิเจน โลหะหนัก และ per-oxidative enzymes สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ aminophenols, hydroxyhydro quinolines และ hydroxyl benzimidazole จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ จากสารต้านอนุมูลอิสระ primary antioxidant จะไม่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากแสงได้ (photooxidation) แต่ secondary antioxidant สามารถจับอนุมูลอิสระที่เกิดจากแสง UV ได้

4.1.3 การวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay (2,2-diphenylpicryl hydrazyl free radical) assay

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็น stable free radical สารละลายมีสีม่วง DPPH เป็นไฮโดรโฟบิกซึ่งมักจะเกิดปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์ (12) เกิดปฏิกิริยากับ radicals อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนอะตอนทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นไม่มีสี ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร ดังสมการ (13)

$$DPPH^{\cdot} + Phe\text{-}OH \longrightarrow DPPH(H) + Phe\text{-}O^{\cdot}$$

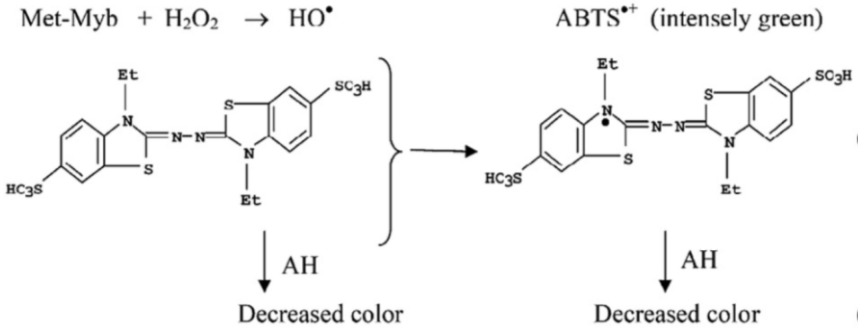
$$DPPH^{\cdot} + Phe\text{-}O^{-} \longrightarrow DPPH^{-} + Phe\text{-}O^{\cdot}$$

$$DPPH^{\cdot} + Phe\text{-}OH \longrightarrow DPPH^{-} + Phe\text{-}O^{+}$$

4.1.5 การวิเคราะห์ด้วยวิธี TEAC/ABTS$^{\bullet+}$ – trolox equivalent antioxidant capacity/2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) assay

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของการลดลงของสี ABTS$^{\bullet+}$ โดยรบกวนการเกิดออกซิเดชั่นและป้องกันการผลิต ABTS$^{\bullet+}$ หรือทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ ABTS$^{\bullet+}$

กลไกคือ 1) ใช้เมทไมโอโกลบิน-ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลซึ่งทำให้ออกซิไดซ์ ABTS ไปเป็นสารอนุมูลอิสระที่ไม่มีสี (ABTS$^{\bullet+}$) เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ทำให้สีเขียวลดลงดัง



รูปที่ 9 การออกซิไดซ์ ABTS เป็นสารอนุมูลอิสระที่ไม่มีสี (ABTS$^{\bullet+}$)

2) ABTS$^{\bullet+}$ ใช้โพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟตเป็นตัวออกซิไดซ์ สารต้านอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยาเฉพาะกับ ABTS$^{\bullet+}$ และสีจะลดลง ดังสมการ

$$\text{ABTS} + \underset{\text{(oxidizing agent)}}{\text{ammonium persulfate}} \longrightarrow \underset{\text{blue-green}}{\text{ABTS}^{\bullet+}} \xrightarrow{\text{AH/Ar-OH}} \underset{\text{decreased color}}{\text{ABTS}}$$

(734 nm)

สำหรับปฏิกิริยาจากสารละลายที่เจือจางของ ABTS$^{\bullet+}$ มีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.0 ที่ 734 นาโนเมตรซึ่งจะถูกบันทึกเป็นจุดเริ่มต้น (13)

4.1.6 การวิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric reducing-antioxidant power (FRAP) assay

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อลดเหล็ก ขึ้นกับการลดลงของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก และ 2,3,5-triphenyl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta-1,4-diene chloride (TPTZ) วัดการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนที่ 593 nm (14)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของวิธีทดสอบ DPPH, ABTS และ FRAP (15)

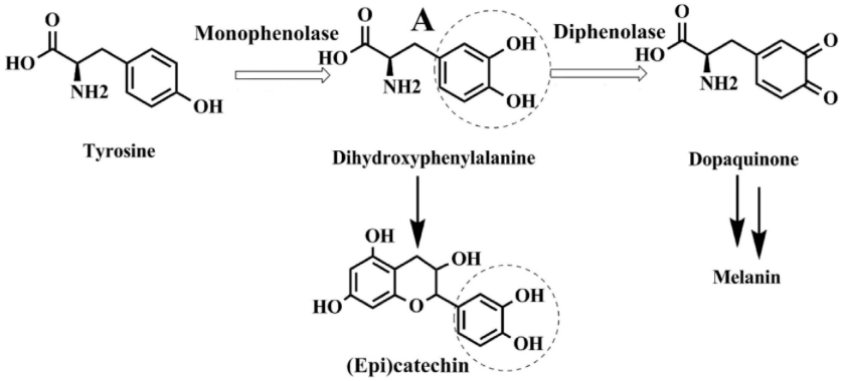
Method (วิธีการทดสอบ)	Mechanism (กลไก)	ข้อดี	ข้อเสีย
1. ABTS	HAT	1. ใช้ทดสอบได้หลายช่วง pH และจะไวต่อสารละลายที่เป็นกรด 2. เกิดปฏิกิริยาไวกว่า DPPH	1. ราคาแพง
2. DPPH	SET (single electron transfer)	1. เกิดปฏิกิริยาไว 2. มีประสิทธิภาพ และง่ายต่อการทดสอบ	1. สารสำคัญสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของสาร DPPH ทำให้ค่า absorbance ลดลง
3. FRAP	SET (single electron transfer)	1. เกิดปฏิกิริยาไว 2. ไม่แพง และง่ายต่อการทดสอบ	1. ไม่สามารถวัดการขนส่งโปรตอน (hydrogen atom transfer) ของสารต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น SH group (thiol) 2. ไม่สามารถวัดกลไกทางชีวภาพของร่างกายได้ (ค่า blood หรือ plasma ของ FRAP จะน้อยกว่าค่าความเป็นจริงที่วัดได้)

DPPH ต่างจาก ABTS ที่ DPPH ไม่ต้องผ่านการทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเหมือนกับ ABTS และ FRAP เนื่องจากอนุมูลอิสระของ DPPH ที่มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัวสูงมาก

4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome

เอมไซม์ไทโรซิเนส หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า polyphenol oxidase เป็นเอมไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา ออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล ภายในโครงสร้างของเอมไซม์จะประกอบไปด้วยทองแดง (Cu) ซึ่งมีหน้าที่ทำงานร่วมกับออกซิเจนเพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น สามารถพบเอมไซม์ได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อของพืช และสัตว์ เอมไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอมไซม์ชนิดหนึ่งในกระบวนการสร้างเม็ดสี (melanogensis synthesis) ซึ่งกระบวนการนี้จะทำให้ผลไม้และพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือ ผิวหนังมีสีหมองคล้ำลง (16)

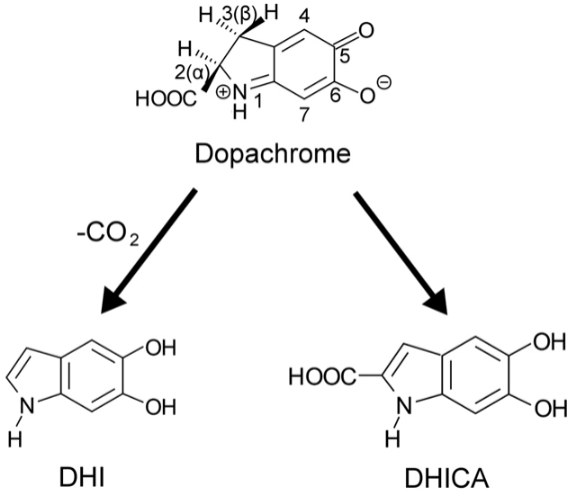
เอมไซม์ไทโรซิเนสจะเร่งกระบวนการสร้างเม็ดสีโดยเร่งการเกิดปฏิกิริยาของ tyrosine ให้เปลี่ยนเป็น L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) และได้ dopaquinone ในขั้นตอนสุดท้าย ซึ่ง dopaquinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาล จะทำให้สังเกตเห็นสิ่งต่างๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เช่น ทำให้เกิดผมสีน้ำตาล ผิวหนังมีสีหมองคล้ำลง ผลไม้ และพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เป็นต้น (17)



รูปที่ 10 กลไกปฏิกิริยากระบวนการสร้างเม็ดสี (melanogensis synthesis)

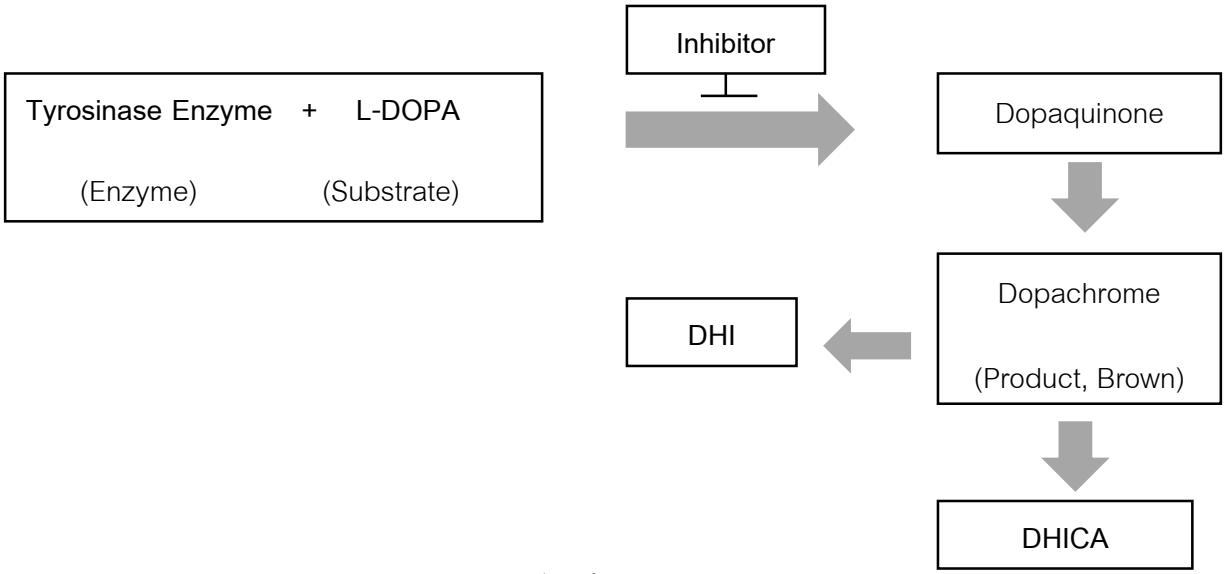
กระบวนการยั้บยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibitors) มีความสำคัญเป็นอย่างมาก ในการป้องกันการเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีเป็นสีน้ำตาล (anti-browning agents) อีกทั่งยังนิยมใช้เป็นสารถนอมอาหารในอุตสาหกรรมอาหารด้วยเช่นกัน (18) จากการศึกษางานวิจัย พบว่า alkyl 3,4-dihydroxybenzoates (19), chlorobenzaldehyde thiosemi-carbozones (20) และ cardol triene (21) มีฤทธิ์ในการยั้บยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีเป็นอย่างมากจากการทดสอบเอมไซม์ไทโรซิเนสในเห็ด

Dopachrome สังเคราะห์มาจากสารตั้งต้นคือ dopaquinone เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น 5,6-dihydroxyindole (DHI) โดยกระบวนการ decarboxylation และเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น 5,6-dihydroxyindole-2- carboxylic acid (DHICA) โดยกระบวนการ tautomerization ซึ่งสาร DHI และ DHICA จะสามารถกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ เปลี่ยนแปลงของเม็ดสีได้ดีมากขึ้น ดังนั้นเราจะต้องยับยั้งการสร้าง dopachrome เพื่อลดการเกิดสาร DHI และ DHICA (22)



รูปที่ 11 Dopachrome เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น DHI โดยกระบวนการ decarboxylation และเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น DHICA โดยกระบวนการ tautomerization

จากกระบวนการสร้างเม็ดสี L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) เป็นสารตั้งต้นของ dopaquinone และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาล (dopachrome) ซึ่งสารละลายนี้จะดูดกลืนคลื่นแสงที่ 492 นาโนเมตร เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome ถ้าตัวอย่างมีความสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูง ความเข้มข้นของสารละลายสีน้ำตาลก็จะลดลง หมายถึง dopachrome ลดลง การเกิดการสร้างสาร DHI และ DHICA ก็จะลดลงตามไปด้วย (22,23)



รูปที่ 12 กระบวนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. พืชที่ใช้ในการศึกษา

ลูกตาลโตนด (*Botassus flabellifer* Linn.) ที่สุกเต็มที่

2. เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

2.1 สารเคมี

2.1.1 2,2′-Azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid chromophore diammonium salt (ABTS) Calbiochem® Lot#28884827

2.1.2 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Sigma-aldrich® Lot#STBG8547

2.1.3 Acetic acid, glacial for analysis CARLOERBA®

2.1.4 Ferric chloride

2.1.5 Hexane QReC®

2.1.6 Kojic acid Sigma-aldrich®

2.1.7 L-Ascorbic acid Sigma-aldrich® Lot#BCBT6894)

2.1.8 Methanol Scharlab S.L.

2.1.9 Potassium persulfate Sigma-aldrich® Lot#BCBN9478V

2.1.10 Potassium phosphate dibasic ($H2Na_2O_4P$) EMD Millipore Corp.

2.1.11 Trolxol Sigma-aldrich®

2.1.12 Tyrosinase from mushroom Sigma-aldrich®

2.1.13 Buthanol

2.1.14 Dichloromethane Honeywell Burdick

2.1.15 Ethanol (absolute for analysis) EMSURE®

2.1.16 L-3-(3,4-Dihydroxyphenylalanine) ACROS Loy A029815

2.1.17 Potassium phosphate monobasic (H_2NaO_4P) Sigma-aldrich®

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 เครื่อง Microplate reader Accu reader® Serial NO: 96501182 made in taiwan

2.2.2 เครื่อง Ultraviolet–visible spectrophotometry (UV Spectrophotometer) HITACHI U-2900 Spectrophotometer

2.2.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง Mettler toledo® เครื่องหมายเลข 12 ห้อง PH202RX

2.2.4 ตู้บ่มเชื้อ redline®

2.2.5 เครื่องวัดค่า pH (pH meter) Mettler toledo®

2.2.6 เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicator) Wiseclean®

2.2.7 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง Mettler toledo® Model: MS 3002S/01 เครื่องหมายเลข 6 ห้อง PH202RX

2.2.8 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) LABCONCO®

2.2.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง MPW-260R

2.2.10 เครื่องระเหยแห้ง (evaporator) Buchi® รุ่น v-750

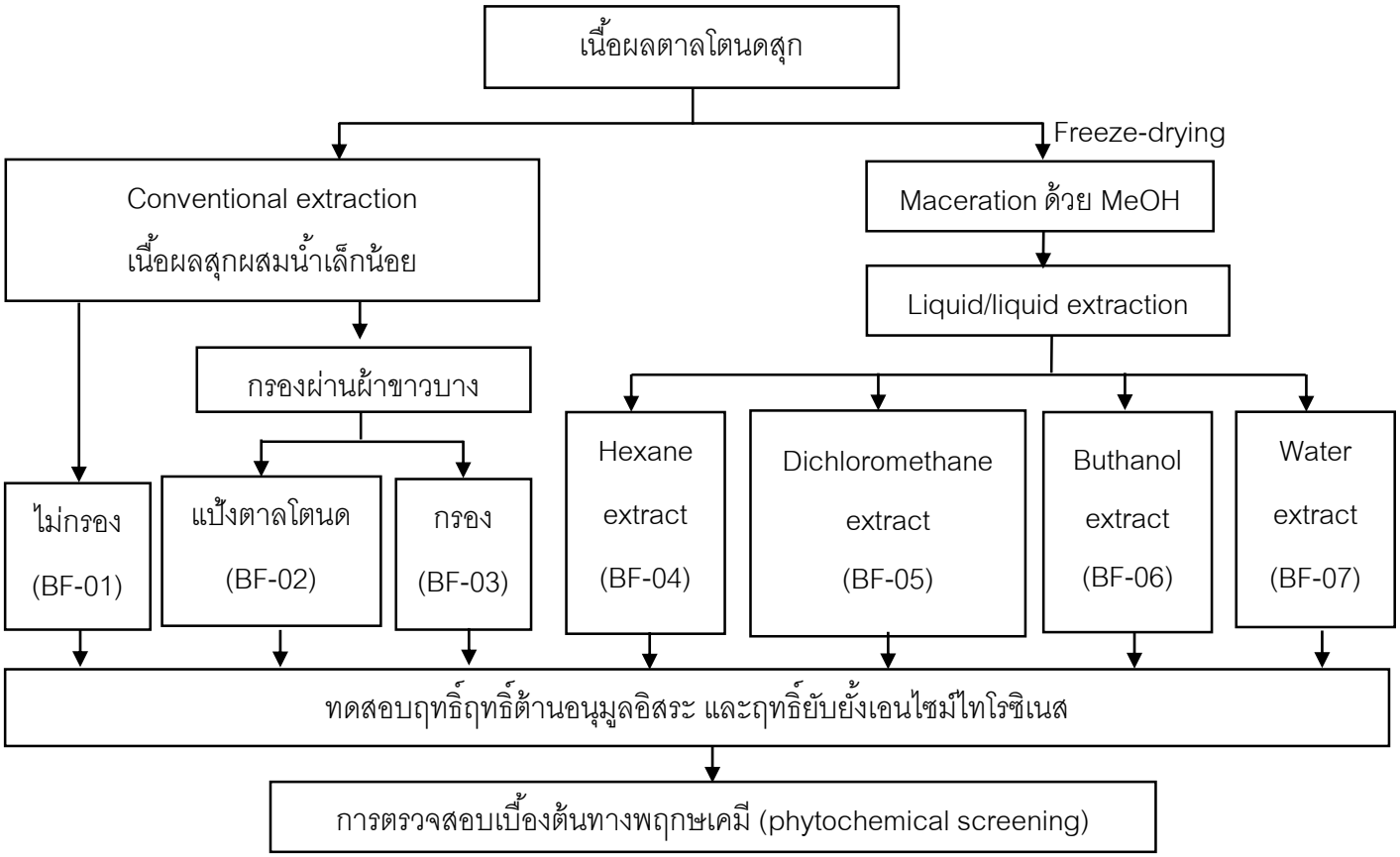
2.2.11 จานหลุม (95 well plates)

2.2.12 แผ่น TLC (SILICYCLE® ultrapure silica gels lot#310314 siliaplate TLC aluminium backed TLC C18(13%), lot#310115 siliaplate TLC aluminium backed TLC:SiO_2)

2.2.13 ไมโครปิเปต (micropipette) Thermoscientific

3. วิธีวิจัย

สกัดสารจากส่วนของเนื้อผลตาลโตนดสุกมาโดยนำผลตาลโตนดแยกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปสกัดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการเตรียมแป้งตาลคือนำส่วนเนื้อผลมาผสมน้ำเล็กน้อยแล้วปั่นละเอียดจากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบางแล้วนำมาแยกส่วนแป้งตาลโตนดและส่วนน้ำ และมีการนำส่วนผลสุกส่วนที่ 2 ไปทำแห้งโดยเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freezedry) แล้วนำผลแห้งมาหมักด้วย methanol เป็นเวลา 1 วัน (24) กรองเก็บตัวทำละลายออกแล้วเติมตัวทำละลายใหม่ลงไป สกัดจนกว่าสารจะหมด นำส่วนที่เป็นสารสกัดทั้งหมดรวมกันแล้วทำให้แห้ง จากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธี liquid/liquid extraction โดยใช้สารละลายทั้งหมด 3 รายการ ได้แก่ hexane, dichloromethane และ butanol นำสารสกัดทั้งหมดที่ได้จากทั้งการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากนั้นนำไปทดสอบการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening) ด้วยน้ำยาทดสอบ



รูปที่ 13 แผนผังขั้นตอนงานวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.1.1 ปอกเปลือกลูกตาลโตนดบริเวณที่เป็นเปลือกแข็งที่น้ำตาลออก

3.1.2 ปอกเนื้อผลเฉพาะที่มีสีเหลืองล้างทำความสะอาดเพื่อใช้ในการสกัดต่อไป

3.1.3 นำเนื้อผลสีเหลืองแยกเป็น 2 ส่วนให้เท่า ๆ กัน

3.1.4 นำเนื้อผลสดส่วนที่ 1 ไปทำแห้งโดยเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้งจากนั้นนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

3.1.5 นำเนื้อผลสดส่วนที่ 2 ไปสกัดด้วยวิธีการเตรียมแป้งตาล

3.2 การสกัดด้วยวิธีการเตรียมแป้งตาล

3.1.1 นำเนื้อผลส่วนที่ 2 ไปผสมกับน้ำแล้วคั้นน้ำจากเนื้อผลได้เนื้อผลที่ไม่กรอง (BF-01)

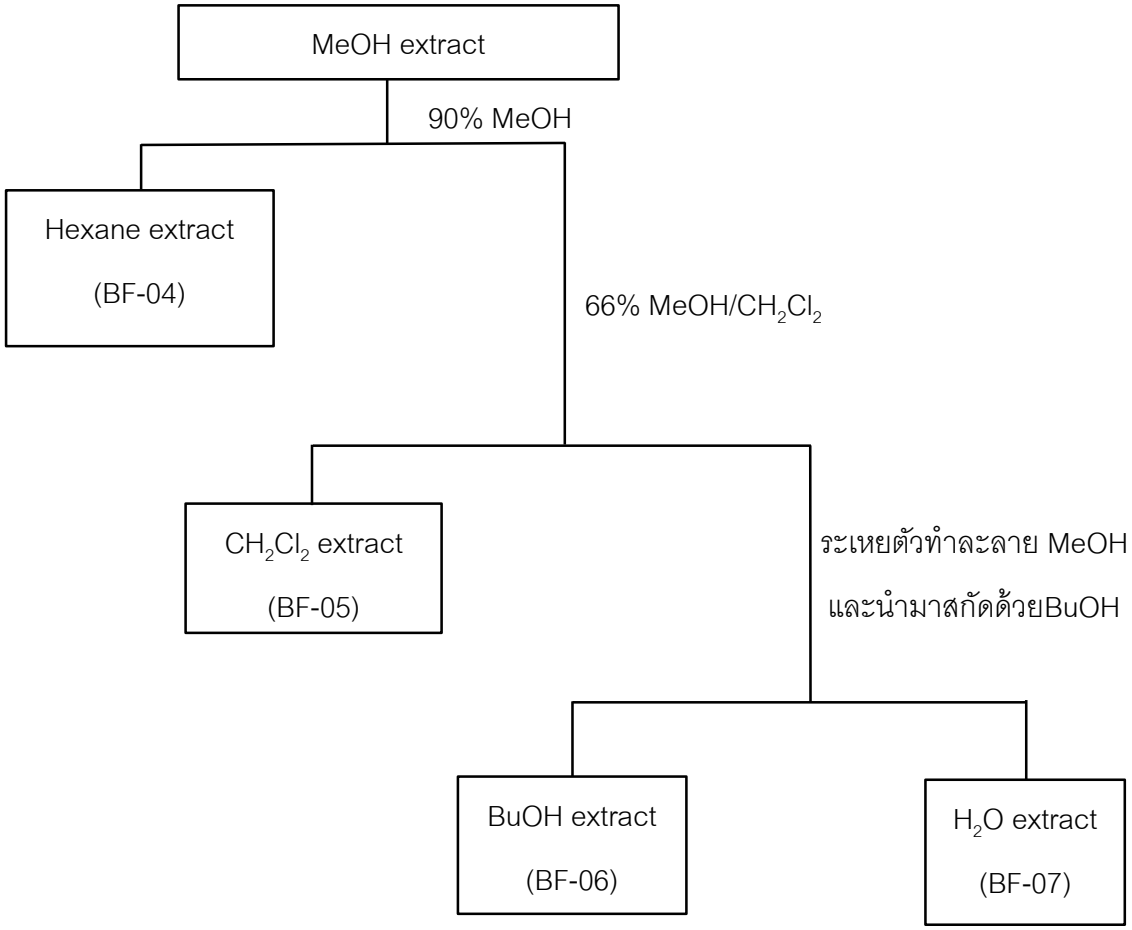
3.1.2 นำส่วนที่คั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง เก็บส่วนแป้ง (BF-02) และส่วนน้ำ (BE-03)

3.1.3 นำไปทำแห้งโดยเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้ง

3.3 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

นำสารตัวอย่างจากการเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) มาหมักด้วย methanol เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (24) โดยขณะที่หมักนั้นเก็บไว้ในที่มืดเพื่อป้องกันไม่ให้สารสลายตัว จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองแยกกาก และทำการหมักซ้ำจนกว่าตัวทำละลายที่ใช้หมักจะใส จากนั้นนำสารสกัดที่ได้รวมกัน และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารสกัดหยาบ MeOH

สารสกัดที่ได้หยาบ MeOH สกัดแยกด้วยวิธีการ liquid/liquid extraction โดยนำสารสกัด MeOH ละลายด้วย 90% MeOH ใส่ลงในกรวยแยก (separating funnel) สกัดแยกด้วยตัวทำละลาย hexane ทำการสกัดซ้ำจนตัวทำละลายชั้น hexane ใสจากนั้นนำสารละลาย hexane ทั้งหมดมารวมกันแล้วระเหยให้แห้งด้วย rotary evaporator ได้สารสกัดชั้น hexane (BF-04) จากนั้นนำเอาชั้น 90% MeOH เจือจางด้วยน้ำให้มีความเข้มข้น 66% MeOH แล้วจึงทำการสกัดสารตัวอย่างด้วย dichloromethane จนสารละลายใส จากนั้นจึงนำชั้น dichloromethane ทั้งหมดรวมกัน ระเหยแห้งจะได้สารสกัดในชั้น dichloromethane (BF-05) นำสารละลาย 66% MeOH ที่เหลือไประเหยตัวทำละลาย methanol ออกจนหมด แล้วนำสารละลายที่เหลือมาสกัดแยกด้วย butanol จนกว่าสารละลายชั้น butanol ใส ได้สารสกัดชั้น butanol (BF-06) และสารสกัดชั้นน้ำ (BF-07) ตามลำดับ



รูปที่ 14 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบ liquid/liquid extraction

3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1) การวิเคราะห์โดย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH˙ scavenging assay (25)

เตรียมสารละลาย 1,1-diphenyl-2-pycrylhydrazyl (DPPH) reagent โดยเตรียมสาร 1,1-diphenyl-2-pycrylhydrazyl (DPPH) 6.6 mg ปรับปริมาตรด้วย absolute ethanol ให้ครบ 100 mL

เตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ชั่ง ascorbic acid 5 mg ปรับปริมาตรด้วย absolute ethanol ให้ครบ 10 mL จะได้ stock solution ความเข้มข้น 0.50 mg/mL จากนั้นนำ stock solution มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเป็น 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 และ 0.30 mg/mL

เตรียมสารละลายมาตรฐาน trolox ชั่ง trolox 2 mg ปรับปริมาตรด้วย absolute ethanol ให้ครบ 10 mL จะได้ stock solution ความเข้มข้น 0.20 mg/mL จากนั้นนำ stock solution มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 และ 0.18 mg/mL

เตรียม positive control คือ absolute ethanol 20 µL ผสมกับ DPPH reagent 180 µL

เตรียม negative control คือ absolute ethanol 200 µL

เตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางความเข้มข้นทั้งหมด 8 ความเข้มข้น มีช่วงตั้งแต่ 5.6 µL/mL ถึง 10000 µL/mL โดยใช้ตัวทำละลายดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2 แสดงตัวทำละลายของสารตัวอย่าง

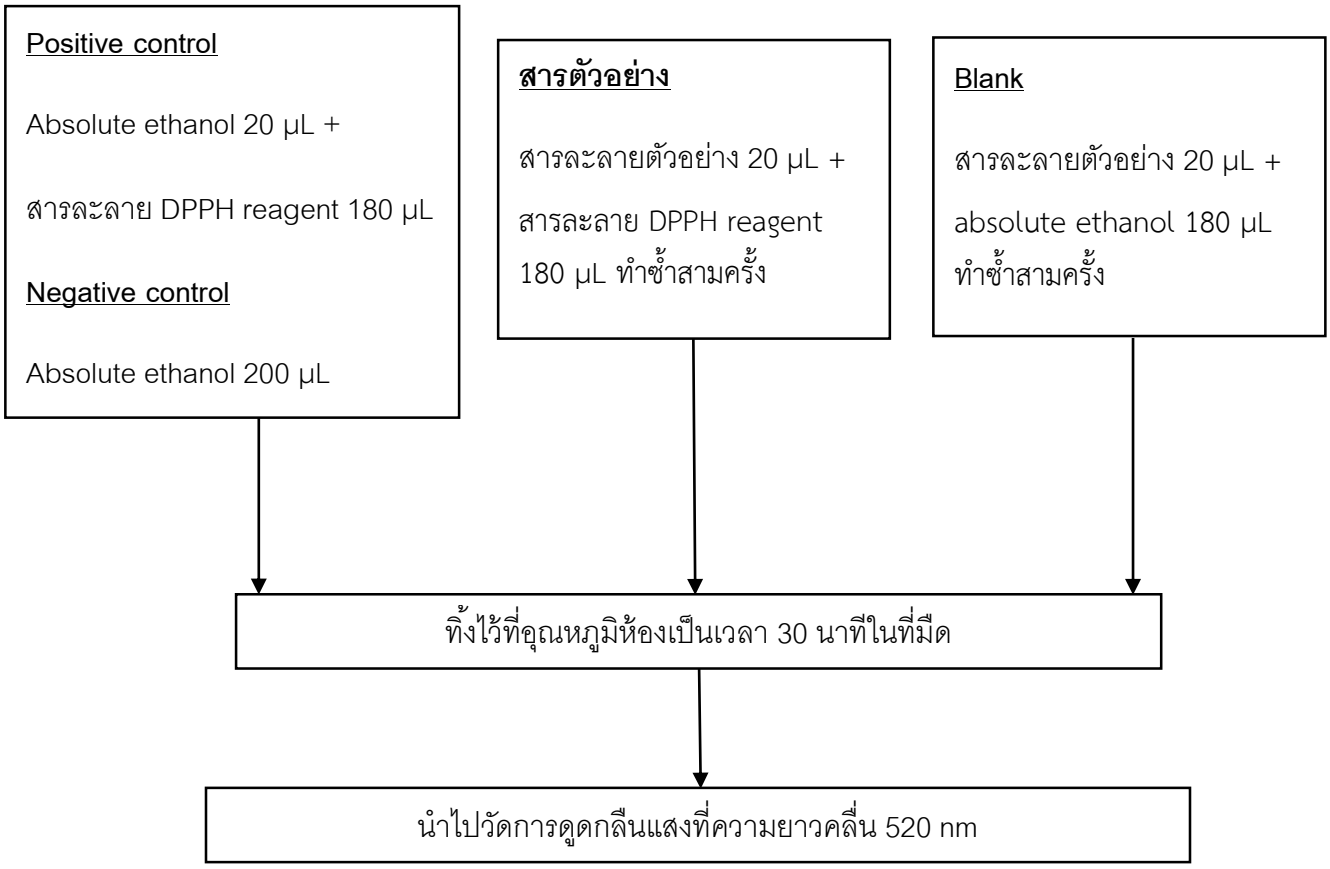
รหัส	สารตัวอย่าง	ตัวทำละลาย
BF-01	ไม่กรอง	DI water
BF-02	แป้ง	DI water + absolute ethanol
BF-03	กรอง	DI water
BF-04	hexane	absolute ethanol
BF-05	dichloromethane	absolute ethanol
BF-06	butanol	DI water
BF-07	น้ำ	DI water

นำสารละลายตัวอย่าง 20 µL ผสมกับสารละลาย DPPH reagent 180 µL ทำการผสมลงใน 96 wells plate โดย 1 ความเข้มข้นทำสามซ้ำ ตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด ใช้ blank คือ สารละลายตัวอย่าง 20 µL ผสมกับ absolute ethanol 180 µL ทำซ้ำสามหลุม จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm

คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

Scavenging effect (%) = (Absorbance of blank - Absorbance of sample)X100

สารละลายมาตรฐาน คือ ascorbic acid ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 µg/mL ความสามารถในต้านอนุมูลอิสระของสารละลาย methanol แสดงเป็น IC_{50}



รูปที่ 15 วิธีการวิเคราะห์โดย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ $DPPH^{\cdot}$ scavenging assay

2) การวิเคราะห์โดย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid หรือ ABTS scavenging assay (26)

เตรียมสารละลาย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) reagent จากการนำสาร ABTS 0.0180 g ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ 5 mL

เตรียมสารละลาย potassium persulfate ชั่ง potassium persulfate 0.0041 g ละลายใน DI water 6.25 mL ดูด potassium persulfate 2.5 mL ใส่ลงในสารละลาย ABTS ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ให้เจือจางสารละลาย ABTS ด้วย DI water นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.1-0.9

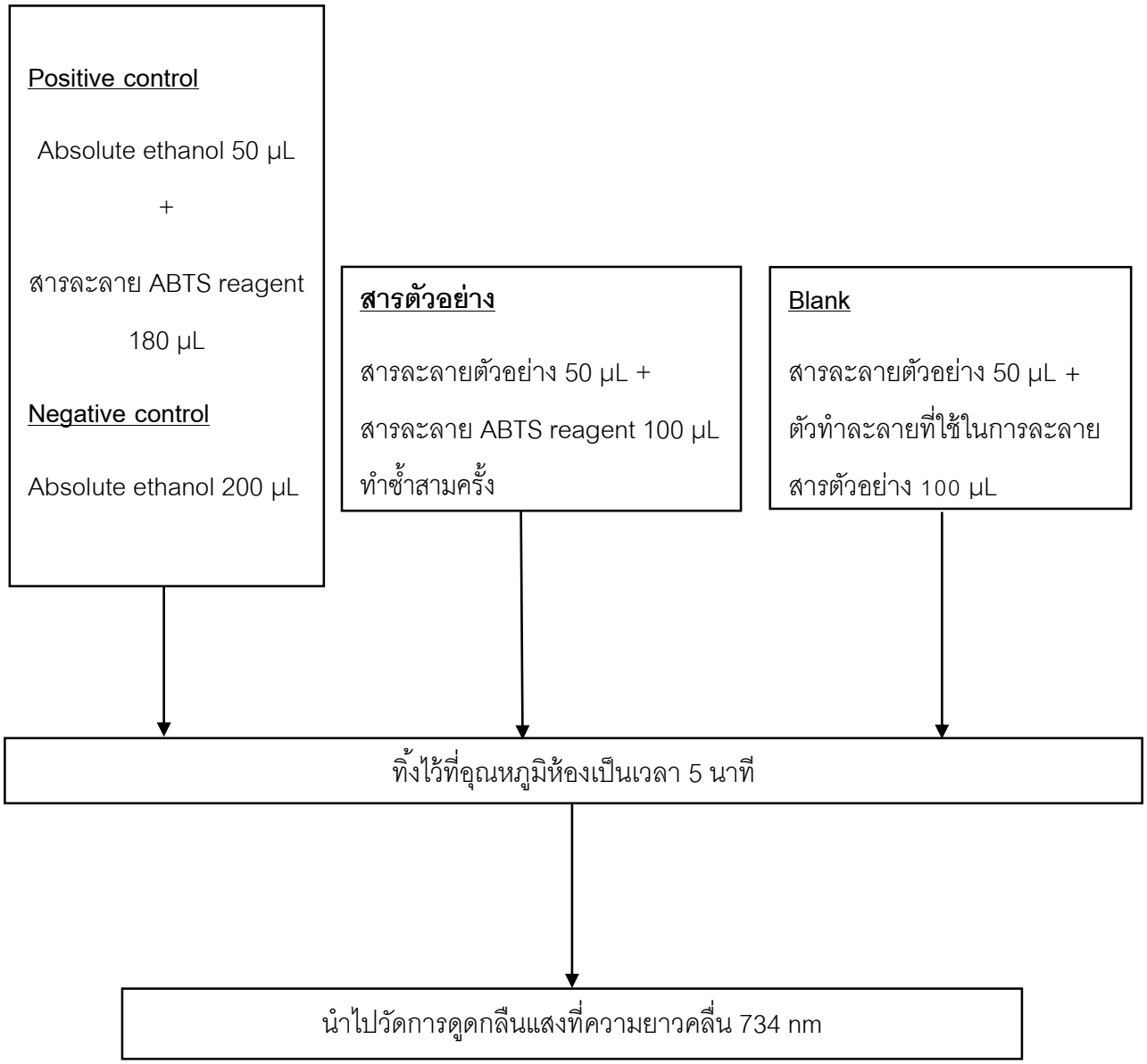
เตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid และ trolox ความเข้มข้น 25 mM จากนั้นทำการเจือจางด้วย absolute ethanol ให้ได้ความเข้มข้น 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.19 mM

เตรียม positive control คือ absolute ethanol 50 µL ผสมกับสารละลาย ABTS 100 µL

เตรียม negative control คือ absolute ethanol 150 µL

เตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางความเข้มข้นทั้งหมด 8 ความเข้มข้น มีช่วงตั้งแต่ 15.63 µL/mL ถึง 10000 µL/mL โดยใช้ตัวทำละลายดังตารางที่ 2

นำสารละลายตัวอย่าง 50 µL ผสมกับสารละลาย ABTS reagent 100 µL ทำการผสมลงใน 96 wells plate โดย 1 ความเข้มข้นทำสามซ้ำ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ใช้ blank คือ สารละลายตัวอย่าง 50 µL ผสมตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายสารตัวอย่าง 100 µL จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm จากนั้นนำมาคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) เปรียบเทียบกับสารมาตราฐานของสารละลาย ascorbic acid และ trolox



รูปที่ 16 วิธีการวิเคราะห์โดย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

3) การวิเคราะห์โดย ferric reducing antioxidant power assay หรือ FRAP (27)

เตรียม 300 mM acetate buffer (pH 3.6) โดยชั่งสารมาตราฐาน sodium acetate-3-hydrate 4.08 g นำไปละลายในน้ำกลั่นปริมาตร ปรับปริมาตร pH ด้วย glacial acetic acid ให้ได้มี pH เท่ากับ 3.6

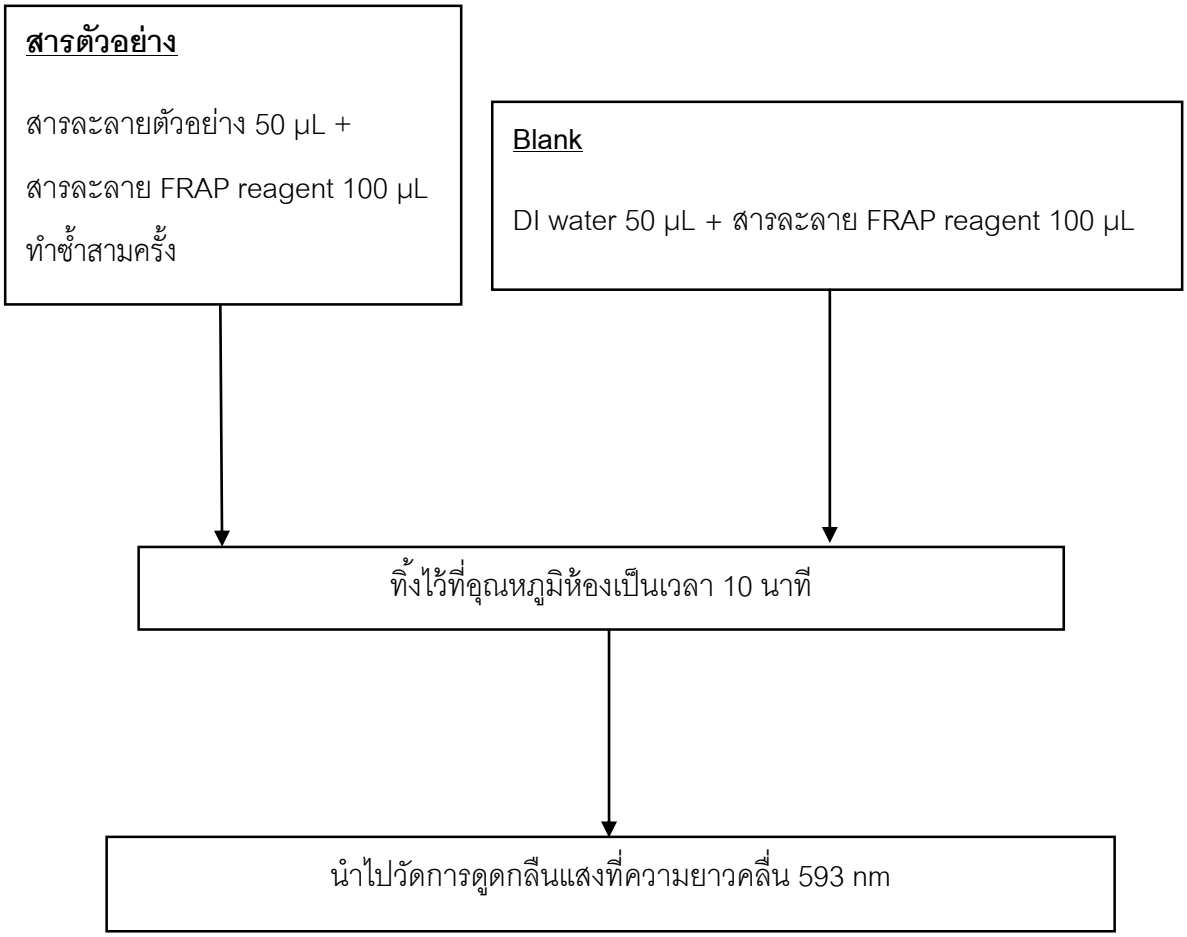
เตรียม 20 mM ferric chloride solution โดยชั่งสารมาตราฐาน ferric chloride 0.0540 g นำไปละลายในน้ำกลั่น 10 mL

เตรียม 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine)) solution โดยชั่งสารมาตราฐาน TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) 0.0780 g นำไปละลายใน 40 mM HCl 25 mL ปรับปริมาตรด้วย glacial acetic acid ด้วย pH meter ให้ได้มี pH เท่ากับ 3.6

เตรียม ferric reducing antioxidant reagent (FRAP reagent) โดยนำสารละลาย 300 mM acetate buffer (pH 3.6) ผสมกับ 20 mM ferric chloride solution และ 10 mM TPTZ solution ในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ แล้วเก็บสารละลาย ในที่ปราศจากแสง

เตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางความเข้มข้น มีช่วงตั้งแต่ 1000.00 µL/mL ถึง 2563.33 µL/mL โดยใช้ตัวทำละลายดังตารางที่ 2

นำสารละลายตัวอย่าง 50 µL ผสมกับสารละลาย FRAP reagent 100 µL ทำการผสมลงใน 96 wells plate โดย 1 ความเข้มข้นทำสามซ้ำ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ใช้ blank คือ DI water 50 µL ผสมกับสารละลาย FRAP reagent 100 µL จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากนั้นนำมาคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ferric reducing antioxidant power เปรียบเทียบกับสารมาตราฐาน trolox



รูปที่ 17 วิธีการวิเคราะห์โดย ferric reducing antioxidant power assay หรือ FRAP

3.4.2 **การวิเคราะห์ฤทธิ์ยั้งยังเอนไซม์ไทโรซิเนส** (Anti-tyrosinase)

1) **วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ไทโรซิเนส** (Anti-tyrosinase assay) (28)

เตรียมสารละลายตัวอย่างเจือจางความเข้มข้นมีช่วงตั้งแต่ 100 µL/mL ถึง 769 µL/mL โดยใช้ตัวทำละลายดังตารางที่ 2

นำสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน kojic acid ปริมาตร 20 µL มาผสมกับเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ละลายใน 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.8 จนได้ความเข้มข้นเท่ากับ 500 units/mL ปริมาตร 40 µL ในจานหลุม (96 well plates) และเติม 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 100 µL แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที หลังจากนั้น

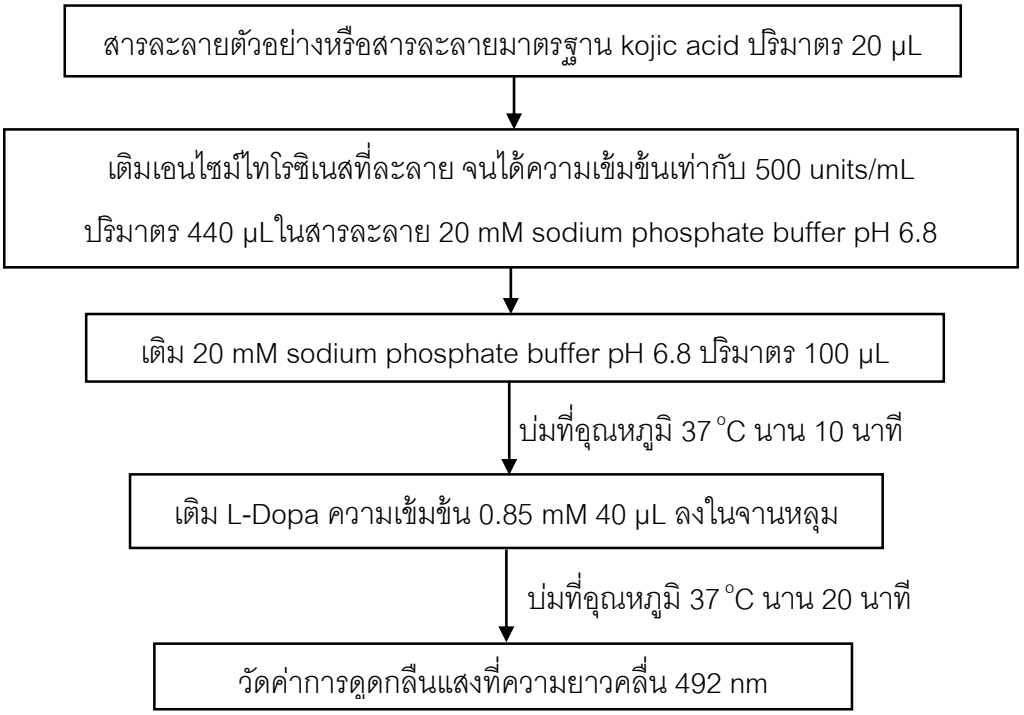
เติม L-DOPA ที่ละลายใน 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.8 จนได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.85 mM ปริมาตร 40 µL แล้วนำไปบ่มซ้ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 nm แต่ละตัวอย่างทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง สามารถคำนวณหาร้อยละในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{[\, Ac - (As - Ab) \,]}{Ac} \times 100$$

เมื่อ Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ไม่มีสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง หรือสารมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไทโรซิเนส

Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง หรือสารมาตรฐานที่ไม่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไทโรซิเนส



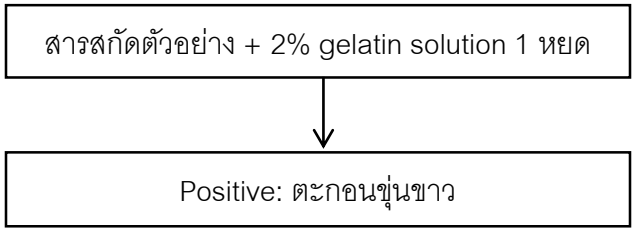
รูปที่ 18 วิธีการทดสอบการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ไทโรซิเนส

3.5 **การตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี** (phytochemical screening)

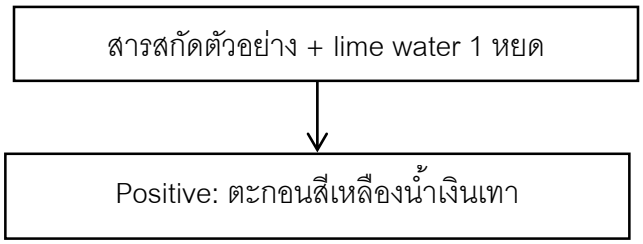
นำสารสกัดตาลโตนดไม่กรอง (BF-01) ชั้นแป้งตาลโตนด (BF-02) ส่วนน้ำทิ้งจากแป้งตาลโตนด (กรอง , BF-03) สารสกัด hexane (BF-04) สารสกัด dichloromethane (BF-05) สารสกัด butanol (BF-06) และสารสกัดน้ำ (BF-07) ไปทดสอบด้วยน้ำยาทดสอบ

3.5.1 การทดสอบสารกลุ่ม tannins

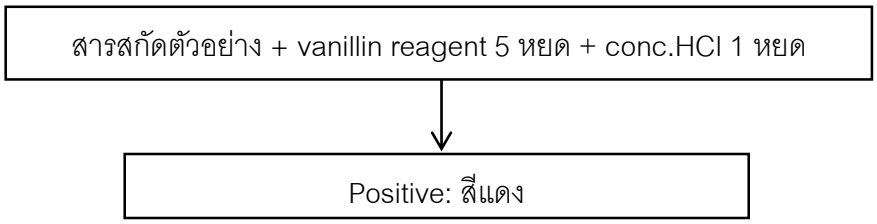
1) วิธีการทดสอบ gelatin solution test



2) วิธีการทดสอบ lime water test

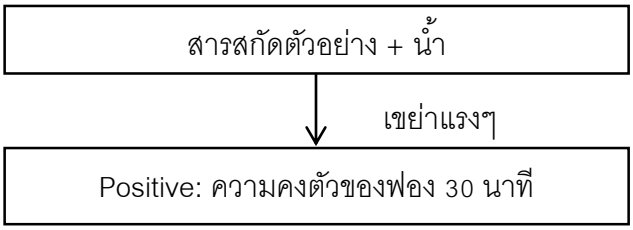


3) วิธีการทดสอบ vanillin reagent test



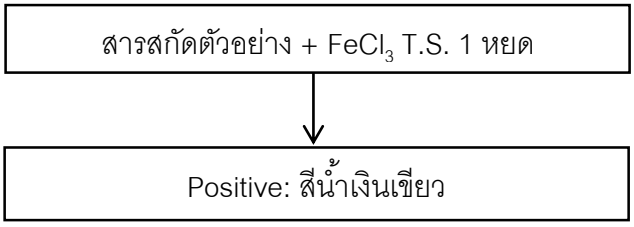
3.5.2 การทดสอบสารกลุ่ม saponins

1) วิธีการทดสอบ foam test



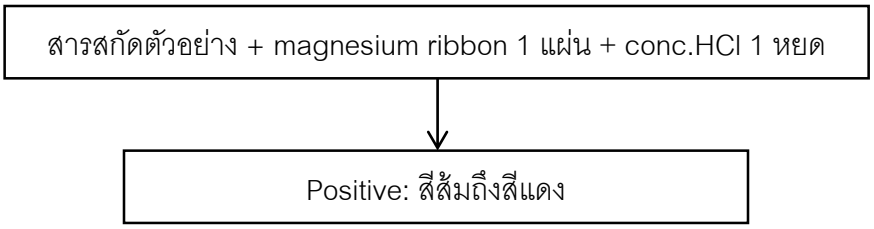
3.5.3 การทดสอบสารกลุ่ม phenolic

1) วิธีการทดสอบ ferric chloride test



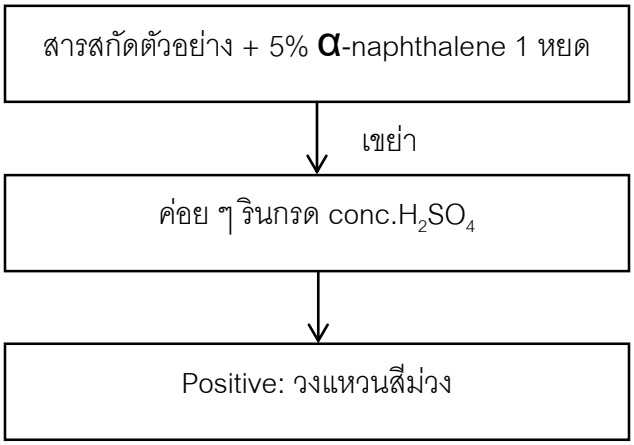
3.5.4 การทดสอบสารกลุ่ม flavonoids

1) วิธีการทดสอบ Shinoda's test



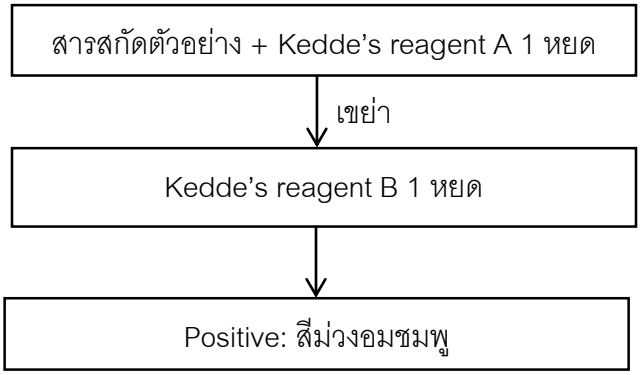
3.5.5 การทดสอบสารกลุ่มน้ำตาล

1) วิธีการทดสอบ Molisch's test



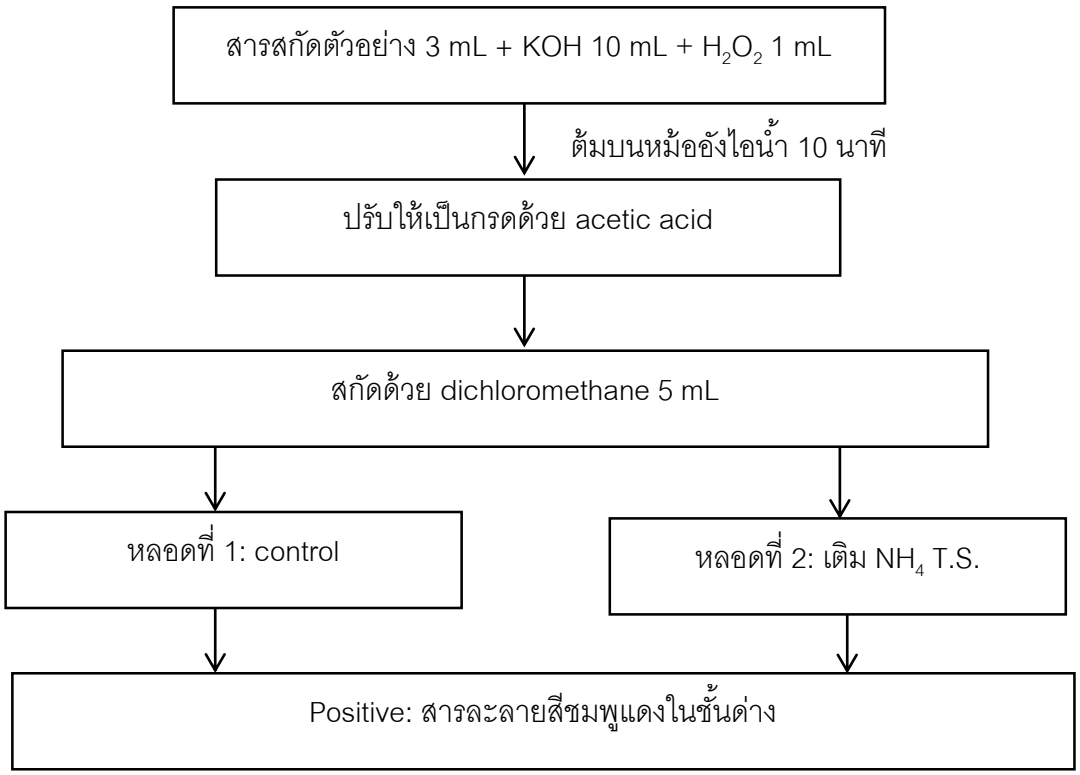
3.5.6 การทดสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring

1) วิธีการทดสอบ Kedde's reagent test



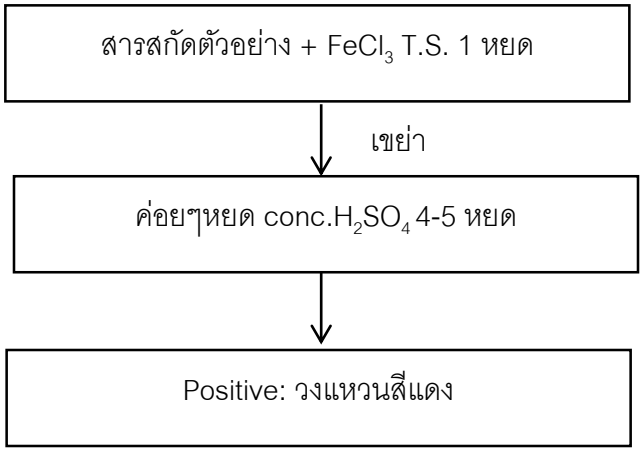
3.5.7 การทดสอบสารกลุ่ม anthraquinones

1) วิธีการทดสอบ Modified Borntrager's test



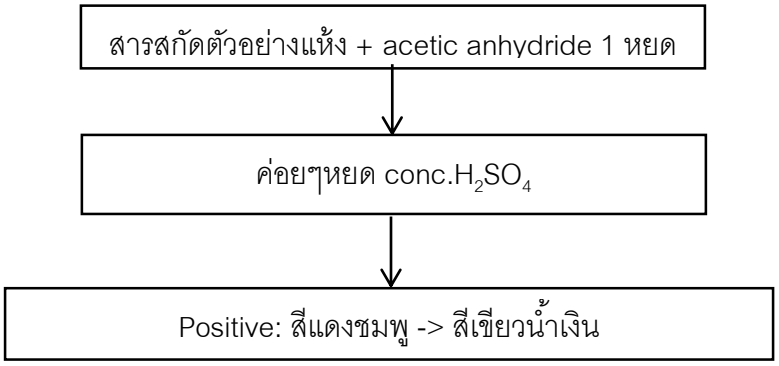
3.1.8 การทดสอบสารกลุ่ม deoxy sugars

1) วิธีการทดสอบ Killini's test



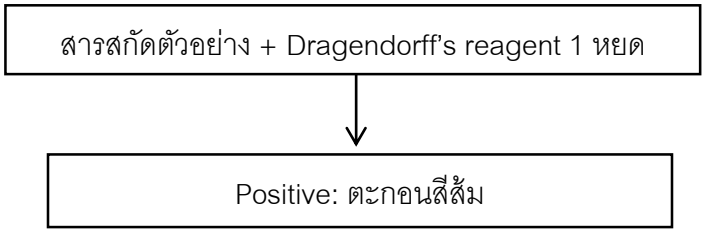
3.5.9 การทดสอบสารกลุ่ม triterpenoids และสารกลุ่ม steroids

1) วิธีการทดสอบ Liebermann-Burchard test

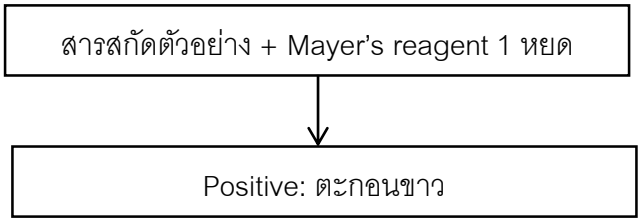


3.5.10 การทดสอบสารกลุ่ม alkaloids

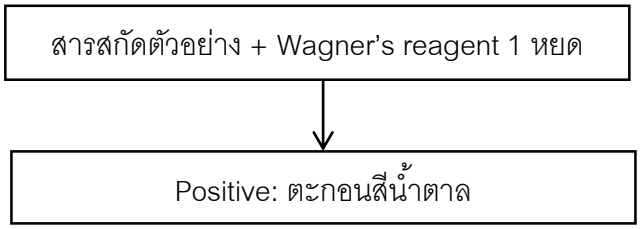
1) วิธีการทดสอบ Dragendorff's reagent test



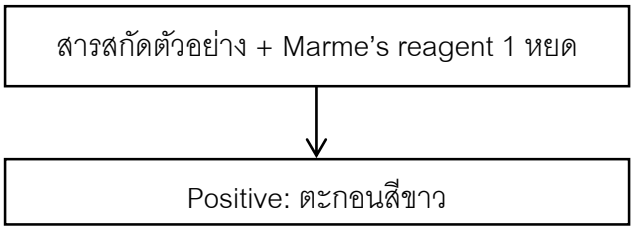
2) วิธีการทดสอบ Mayer's reagent test



3) วิธีการทดสอบ Wagner's reagent test



4) วิธีการทดสอบ Marme’s reagent test



บทที่ 4

ผลการวิจัย

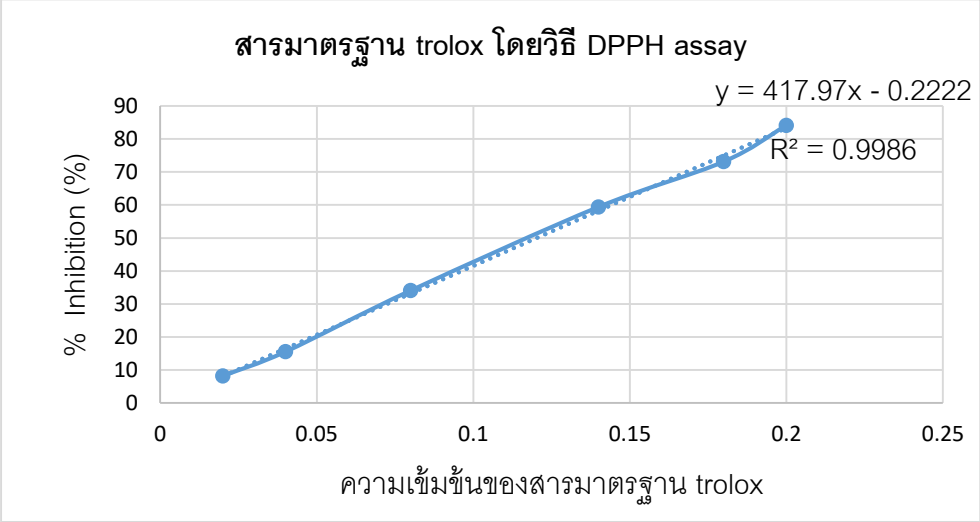
1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) dichloromethane (BF-04) hexane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) ของผลตาลโตนดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox และ vitamin C ด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดไม่กรอง (BF-01) มีค่า IC_{50}เท่ากับ 1013.60±208.88 µg/mL แป้ง (BF-02) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1228.26±13.05 µg/mL กรอง (BF-03) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 12470.65±2555.55 µg/mL dichloromethane (BF-04) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1252.08±40.52 µg/mL hexane (BF-05) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4185.45±355.24 µg/mL butanol (BF-06) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1742.94±7.16 µg/mL และน้ำ (BF-07) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10535.40±3265.74 µg/mL มีค่าตามตารางที่ 3 -11

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน trolox โดยใช้ DPPH assay

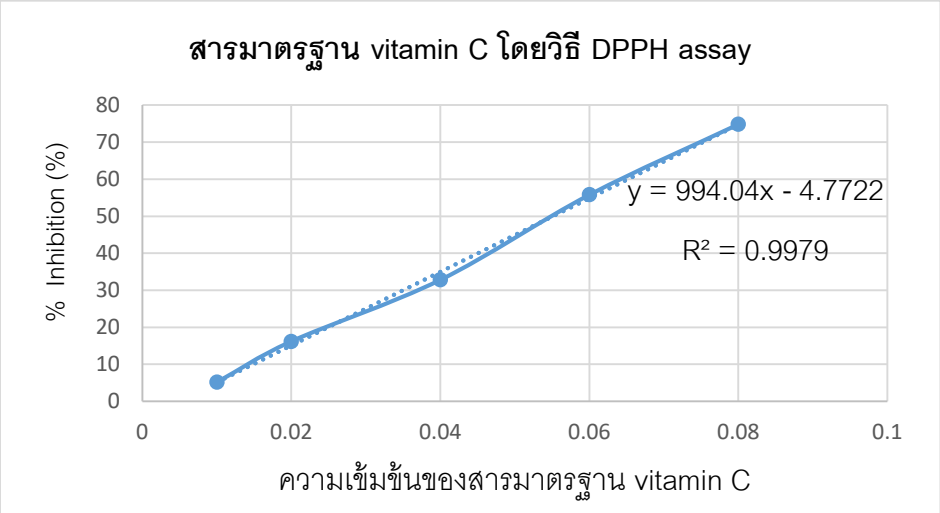
ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน trolox (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50}			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50}	SD
	1	2	3	1	2	3		
0.50	80.10	81.34	84.11	0.12	0.11	0.12	0.11	0.0046
0.30	73.68	73.01	73.13					
0.10	56.56	60.82	59.40					
0.08	48.26	51.28	46.57					
0.06	41.28	45.23	44.71					
0.04	32.36	31.34	34.10					
0.02	16.57	16.57	15.57					
0.01	5.33	10.00	8.23					



รูปที่ 19 กราฟสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน vitamin C โดยใช้ DPPH assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน vitamin c (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50}			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
0.50	95.93	95.82	95.64	0.055	0.055	0.057	0.056	0.0010
0.30	95.00	94.82	94.54					
0.10	87.44	86.35	86.67					
0.08	75.09	74.85	72.31					
0.06	55.03	55.81	51.21					
0.04	33.23	32.83	33.79					
0.02	18.56	16.22	18.01					
0.01	10.24	5.18	10.50					



รูปที่ 20 สารมาตรฐาน vitamin C โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
769.00	32.61	28.76	34.24	1181.64	779.74	1079.40	1013.60	208.88
384.50	21.59	23.75	23.55					
192.25	17.58	13.92	5.65					
96.13	4.87	5.04	5.15					
48.06	2.03	3.13	3.60					
24.03	0.86	0.46	0.00					
12.02	0.89	0.95	0.00					
6.01	2.44	0.00	0.00					

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแป้ง (BF-02) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัดแป้ง (BF-02) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
717.00	29.78	28.17	28.76	1220.31	1243.32	1221.15	1228.26	13.05
358.50	19.07	18.07	19.75					
179.25	15.91	9.15	14.04					
89.63	5.04	2.26	4.60					
44.81	4.30	3.55	7.61					
22.41	1.21	0.00	1.80					
11.20	1.01	0.00	2.42					
5.60	0.00	0.00	1.31					

ตารางที่ 7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกรอง (BF-03) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัดกรอง (BF-03) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
10000.00	35.37	43.29	41.54	15421.46	11014.13	10976.37	12470.65	2555.55
5000.00	24.73	30.13	31.77					
2500.00	16.49	18.52	19.16					
1250.00	11.49	9.08	9.58					
625.00	12.15	5.74	7.43					
312.50	4.30	0.20	3.06					
156.25	3.45	0.44	2.97					
78.13	2.59	0.71	0.00					

ตารางที่ 8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hexane (BF-04) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัด hexane (BF-04) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
8000.00	84.34	85.82	85.02	4464.88	4305.81	3785.67	4185.45	355.24
4000.00	50.31	49.49	56.88					
2000.00	28.98	31.06	38.19					
1000.00	11.47	12.80	22.69					
500.00	7.48	8.36	16.52					
250.00	2.24	3.32	8.18					
125.00	1.52	1.28	6.37					
62.50	0.00	0.30	3.55					

ตารางที่ 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด dichloromethane (BF-05) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัด dichloromethane (BF-05) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
2000.00	71.81	69.01	65.33	1208.35	1259.52	1288.36	1252.08	40.52
1000.00	47.72	48.28	48.52					
500.00	30.96	27.35	33.43					
250.00	19.32	18.12	19.68					
125.00	14.65	16.30	13.82					
62.50	6.40	11.11	6.79					
31.25	4.60	2.41	5.00					
15.63	0.37	1.32	2.13					

ตารางที่ 10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด butanol (BF-06) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัด butanol (BF-06) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
8000.00	92.15	91.98	93.51	1750.89	1740.91	1737.00	1742.94	7.16
4000.00	76.91	80.09	80.64					
2000.00	55.32	54.98	55.78					
1000.00	32.12	33.90	33.07					
500.00	21.58	21.82	20.69					
250.00	10.24	11.04	11.39					
125.00	7.39	7.65	9.43					
62.50	3.19	3.39	3.28					

ตารางที่ 11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำ (BF-07) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำ (BF-07) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
10000.00	40.68	36.80	63.89	11845.53	12942.65	6818.04	10535.40	3265.74
5000.00	26.05	26.14	46.38					
2500.00	14.62	11.65	30.66					
1250.00	8.37	5.59	16.34					
625.00	8.89	6.58	10.23					
312.50	6.57	1.37	2.91					
156.25	1.00	0.00	1.04					
78.13	1.38	3.70	0.00					

ตารางที่ 12 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

IC_{50} (µg/mL)						
ไม่กรอง (BF-01)	แป้ง (BF-02)	กรอง (BF-03)	Hexane (BF-04)	Dichloro methane (BF-05)	Butanol (BF-06)	น้ำ (BF-07)
1013.60 ±208.88	1228.26 ±13.05	12470.65 ±2555.55	4185.45± 355.24	1252.08 ±40.52	1742.94 ±7.16	10535.40 ±3265.74

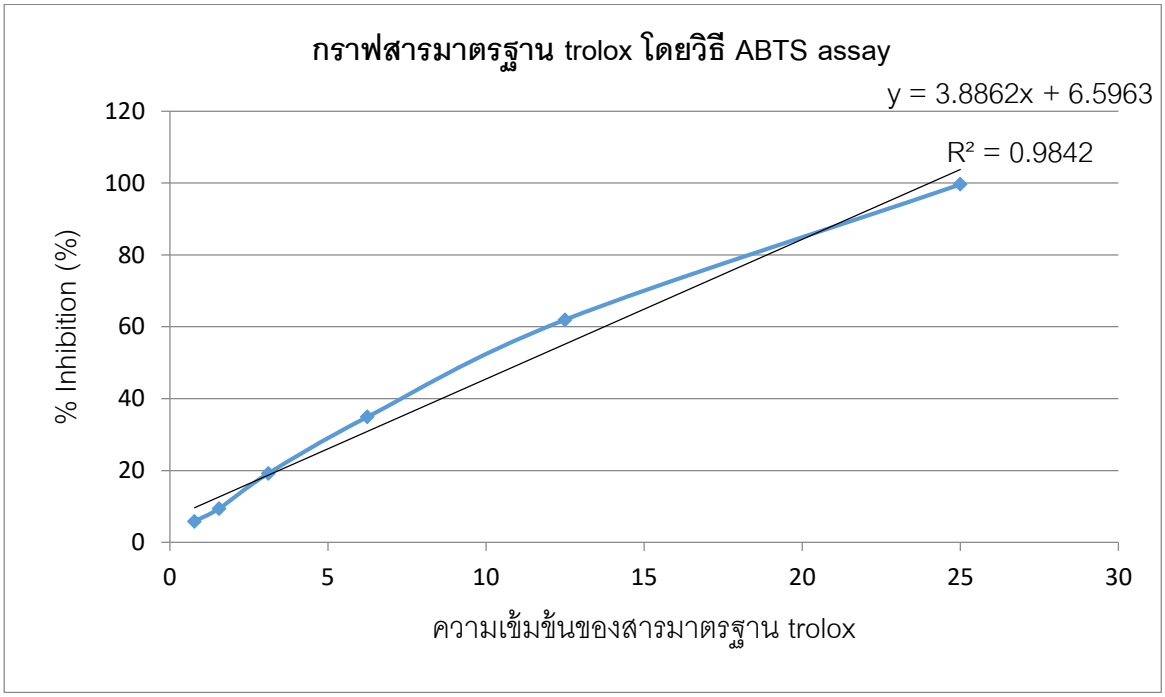
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) dichloromethane (BF-05) butanol (BF-06) hexane (BF-04) น้ำ (BF-07) และกรอง (BF-03) ตามลำดับ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1013.60±208.88 µg/mL 1228.26±13.05 µg/mL 1252.08±40.52 µg/mL 1742.94±7.16 µg/mL 4185.45±355.24 µg/mL 10535.40±3265.74 µg/mL และ12470.65±2555.55 µg/mL ตามลำดับ เมื่อนำผลการทดสอบเปรียบเทียบกับตารางการแสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่อ้างอิงจากในปี 2013 Pramod H.J. และคณะได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้นตาลโตนด (30) โดยจุดความเข้มข้นที่ใช้อ้างอิงการมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารที่ความเข้มข้น 500 µg/mL เป็นจุดกำหนดว่าสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี และตารางที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดส่วนที่ไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) และกรอง (BF-03) พบว่าการทดสอบที่ ณ ความเข้มข้นสูงสุดแล้วยังไม่พบว่าค่า IC_{50} จึงไม่สามารถสรุปค่า IC_{50} ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ แล้วสำหรับสารสกัด dichloromethane (BF-04) และ butanol (BF-06) ถือว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อย แต่สำหรับสารสกัด hexane (BF-05) และน้ำ (BF-07) ถือว่าไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากต้องใช้ความเข้มข้นสูงมากถึงจะสามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้

1.2 การวิเคราะห์โดย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid หรือ ABTS$^{\bullet}$ scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) dichloromethane (BF-04) hexane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) ของผลตาลโตนดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox และ vitamin C ด้วยวิธี ABTS assay พบว่าสารสกัดไม่กรอง (BF-01) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 929.34±103.38 µg/mL แป้ง (BF-02) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1664.74±84.86 µg/mL กรอง (BF-03) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 6518.24±227.28 µg/mL dichloromethane (BF-04) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 301.40±14.31 µg/mL hexane (BF-05) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 909.65±139.87 µg/mL butanol (BF-06) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 967.52±70.91 µg/mL และน้ำ (BF-07) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 9474.81±1987.21 µg/mL มีค่าตามตารางดังนี้

ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay

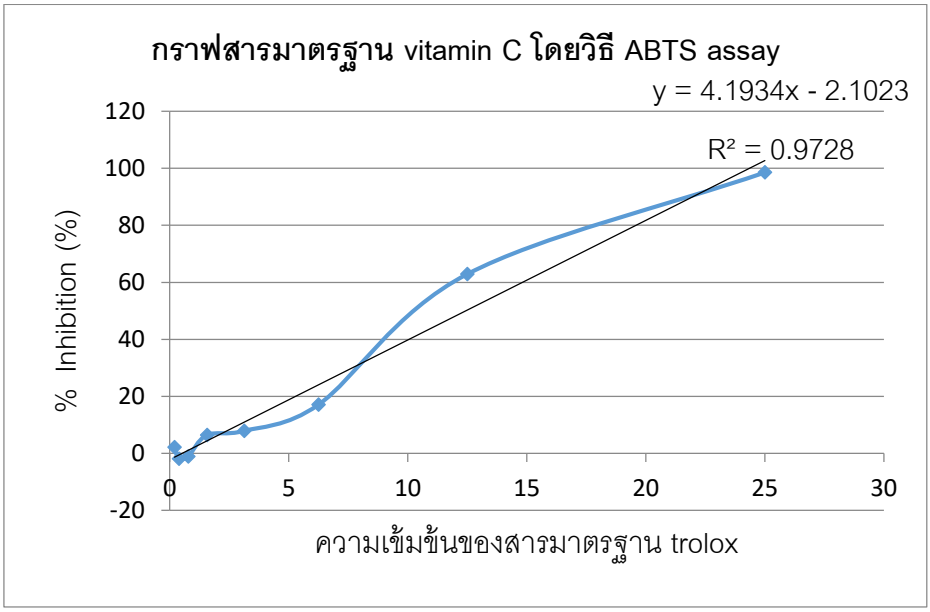
ความเข้มข้นของสารมาตราฐาน trolox (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50}	SD
	1	2	3	1	2	3		
25.00	99.67	99.63	99.76	10.89	11.17	11.26	11.11	0.19
12.50	64.55	61.95	62.03					
6.25	36.02	34.88	34.63					
3.13	20.28	19.19	17.40					
1.56	11.42	9.39	8.54					
0.78	5.65	5.81	5.41					
0.39	4.35	3.05	3.01					
0.20	0.69	1.34	2.07					



รูปที่ 21 กราฟสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารมาตราฐาน vitamin c (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50}	SD
	1	2	3	1	2	3		
25.00	100.00	100.00	98.54	10.53	10.10	11.42	10.68	0.68
12.50	47.27	72.64	62.89					
6.25	57.03	46.10	17.07					
3.13	28.21	22.72	7.89					
1.56	16.83	11.67	6.42					
0.78	9.51	6.46	0.00					
0.39	4.76	7.07	0.00					
0.20	6.46	1.46	2.15					



รูปที่ 22 สารมาตรฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัดไม่กรอง (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
2563.33	98.17	99.34	100.39	926.66	827.33	1034.03	929.34	103.38
1281.67	72.35	70.12	63.96					
640.83	50.98	43.12	54.65					
320.42	35.91	34.99	35.52					
160.21	19.53	27.39	23.72					
80.10	9.31	13.11	14.02					
40.05	14.68	8.65	11.80					
20.03	8.26	7.47	6.16					

ตารางที่ 16 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแป้ง (BF-02) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัดแป้ง (BF-02) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
2390.00	65.53	68.55	61.34	1576.03	1673.04	1745.14	1664.74	84.86
1195.00	45.22	36.04	43.38					
597.50	37.09	36.57	41.15					
298.75	23.46	27.26	29.10					
149.38	20.45	14.15	17.43					
74.69	14.42	15.20	12.45					
37.34	10.22	10.75	10.09					
18.67	6.82	7.86	1.44					

ตารางที่ 17 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกรอง (BF-03) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัดกรอง (BF-03) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
10000.00	69.33	76.54	71.04	6638.10	6256.12	6660.50	6518.24	227.28
5000.00	40.76	39.58	38.79					
2500.00	32.24	30.80	30.93					
1250.00	19.92	18.09	20.05					
625.00	14.94	17.04	14.02					
312.50	12.32	9.83	11.01					
156.25	7.34	7.47	8.39					
78.13	7.60	12.98	3.93					

ตารางที่ 18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด hexane (BF-04) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัด hexane (BF-04) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
4000.00	58.98	69.72	67.63	918.96	765.35	1044.63	909.65	139.87
2000.00	58.98	63.04	72.61					
1000.00	51.25	57.80	59.90					
500.00	36.83	47.18	36.04					
250.00	22.54	20.31	22.80					
125.00	14.55	14.42	18.87					
62.50	12.19	10.75	6.68					

.

ตารางที่ 19 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด dichloromethane (BF-05) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัด dichloromethane (BF-05) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
2000.00	98.95	96.46	98.17	309.50	284.89	309.83	301.40	14.31
1000.00	94.10	94.50	94.10					
500.00	71.17	72.87	72.08					
250.00	45.22	50.98	47.84					
125.00	30.93	31.98	26.08					
62.50	20.45	23.59	19.66					
31.25	12.32	16.78	8.26					
15.63	6.42	2.88	4.59					

ตารางที่ 20 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด butanol (BF-06) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัด butanol (BF-06) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
2000.00	88.34	81.78	85.58	910.17	1046.80	945.59	967.52	70.91
1000.00	54.39	50.07	46.13					
500.00	37.35	39.45	39.45					
250.00	25.82	31.06	27.92					
125.00	22.41	17.69	23.59					
62.50	16.25	18.35	12.32					
31.25	18.74	13.50	11.14					
15.63	10.48	2.10	0.52					

ตารางที่ 21 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำ (BF-07) โดยใช้ ABTS assay

ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำ (BF-07) (µg/mL)	% Inhibition (%)			IC_{50} (µg/mL)			ค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (µg/mL)	SD
	1	2	3	1	2	3		
10000.00	53.87	64.48	43.12	9347.47	7554.34	11522.63	9474.81	1987.21
5000.00	28.31	33.03	23.72					
2500.00	20.31	24.90	15.33					
1250.00	11.14	16.12	7.86					
625.00	9.04	10.75	6.68					
312.50	6.03	9.83	3.80					
156.25	4.33	6.95	3.28					
78.13	1.31	4.06	0.00					

ตารางที่ 22 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

IC_{50} (µg/mL)						
ไม่กรอง (BF-01)	แป้ง (BF-02)	กรอง (BF-03)	Hexane (BF-04)	Dichloro methane (BF-05)	Butanol (BF-06)	น้ำ (BF-07)
929.34 ±103.38	1664.74 ±84.86	6518.24 ±227.28	909.65 ±139.87	301.40 ±14.31	967.52 ±70.91	9474.81 ±1987.21

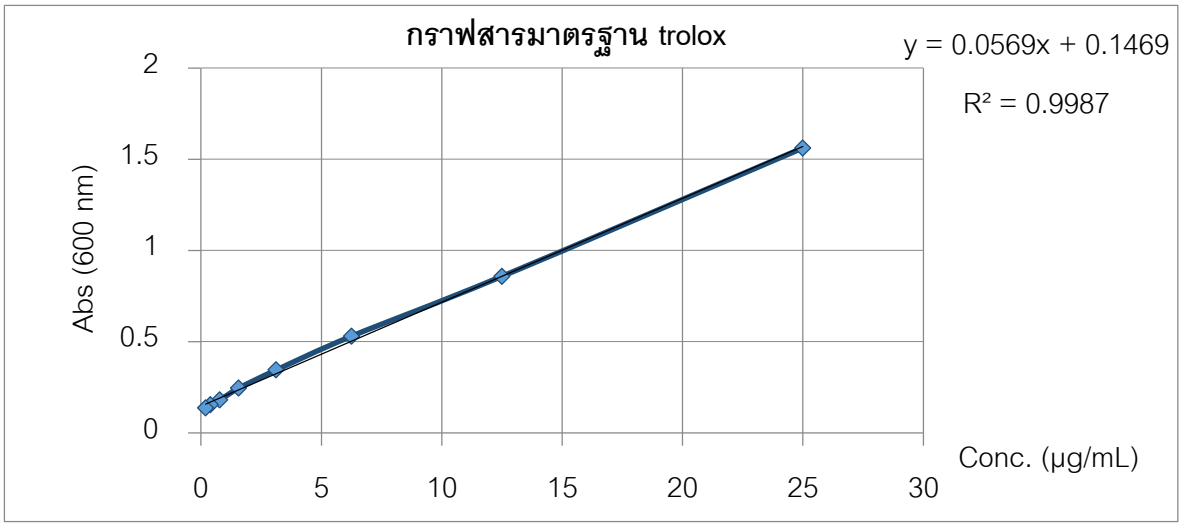
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-04) hexane (BF-03) ไม่กรอง (BF-01) butanol (BF-06) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07) ตามลำดับ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 301.40±14.31 µg/mL 909.65±139.87 µg/mL 929.34±103.38 µg/mL 967.52±70.91 µg/mL 1664.74±84.86 µg/mL 6518.24±227.28 µg/mL และ 9474.81±1987.21 µg/mL เมื่อนำผลการทดสอบเปรียบเทียบกับตารางการแสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่อ้างอิงจากในปี 2013 Pramod H.J. และคณะได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้นตาลโตนด (30) โดยจุดความเข้มข้นที่ใช้อ้างอิงการมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารที่ความเข้มข้น 500 µg/mL เป็นจุดกำหนดว่าสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี และตารางที่ 13 และ 14 ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดส่วน dichloromethane (BF-04) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และสำหรับสารสกัด hexane (BF-05) ไม่กรอง (BF-01) butanol (BF-06) และแป้ง (BF-02) ถือว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อย แต่สำหรับสารสกัดส่วนกรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07) ถือว่าไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากต้องใช้ความเข้มข้นสูงมากถึงจะสามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้

1.3 Ferric reducing antioxidant power assay หรือ FRAP assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีการเปรียบเทียบมิลลิกรัมสมมูลของ trolox ของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) dichloromethane (BF-04) hexane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) โดยวิธี FRAP assay พบว่า 1 กรัมสารสกัดเทียบเท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของ trolox ของส่วนไม่กรอง (BF-01) มีค่าเท่ากับ 1.587±0.193 mg แป้ง (BF-02) มีค่าเท่ากับ 2.5665±0.060 mg กรอง (BF-03) มีค่าเท่ากับ 0.658±0.133 mg dichloromethane (BF-04) มีค่าเท่ากับ 14.448±2.146 mg hexane (BF-05) มีค่าเท่ากับ 13.329±0.727 mg butanol (BF-06) มีค่าเท่ากับ 5.749±1.065 mg และน้ำ (BF-07) มีค่าเท่ากับ 1.027±0.159 mg มีค่าตามตารางดังนี้

ตารางที่ 23 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ trolox ด้วยวิธี FRAP assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน trolox (µg/mL)	Absorption (600 nm)
25.00	1.561
12.50	0.858
6.25	0.530
3.13	0.345
1.56	0.245
0.78	0.181
0.39	0.154
0.20	0.136



รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm กับความเข้มข้นของ trolox (µg/mL) โดยวิธี FRAP assay

ตารางที่ 24 กรัมสารสกัดเทียบเท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของ trolox โดยวิธี FRAP assay

รหัส	สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น	mg.TE/g. extract			ค่าเฉลี่ยของ mg.TE/g. extract	SD
			1	2	3		
BF-01	ไม่กรอง	2563.33 µg/mL	1.434	1.804	1.523	1.587	0.0193
BF-02	แป้ง	2390.00 µg/mL	2.633	2.538	2.523	2.565	0.060
BF-03	กรอง	1000.00 µg/mL	0.564	0.810	0.599	0.658	0.133
BF-04	Hexane	1000.00 µg/mL	12.866	12.954	14.167	13.329	0.727
BF-05	CH_2Cl_2	1000.00 µg/mL	16.030	15.309	12.005	14.448	2.146
BF-06	BuOH	1000.00 µg/mL	4.571	6.030	6.645	5.749	1.065
BF-07	Water	1000.00 µg/mL	0.880	1.004	1.197	1.027	0.159

ตารางที่ 25 สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

mg.TE/g. extract						
ไม่กรอง (BF-01)	แป้ง (BF-02)	กรอง (BF-03)	Hexane (BF-04)	Dichloro methane (BF-05)	Butanol (BF-06)	น้ำ (BF-07)
1.587 ±0.193	2.5665 ±0.060	0.658 ±0.133	13.329 ±0.727	14.448 ±2.146	5.749 ±1.065	1.027 ±0.159

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-04) hexane (BF-03) butanol (BF-06) แป้ง (BF-02) ไม่กรอง (BF-01) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07) ตามลำดับ โดย 1 กรัมสารสกัดเทียบเท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของ trolox เท่ากับ 14.448±2.146 mg 13.329±0.727 mg 5.749±1.065 mg 2.5665±0.060 mg 1.587±0.193 mg 1.027±0.159 mg และ 0.658±0.133 mg ตามลำดับ

2. การทดสอบฤทธิ์ยั้งยังเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) dichloromethane (BF-04) hexane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) ของผลตาลโตนดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid พบว่า ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสส่วนไม่กรอง (BF-01) มีค่าร้อยละ 11.21 แป้ง (BF-02) มีค่าร้อยละ 13.69 กรอง (BF-03) มีค่าร้อยละ 7.73 dichloromethane (BF-04) มีค่าร้อยละ 18.79 hexane (BF-05) มีค่าร้อยละ 13.30 butanol (BF-06) มีค่าร้อยละ 11.63 และน้ำ (BF-07) มีค่าร้อยละ 6.61 มีค่าตามตารางที่ 26-27

ตารางที่ 26 %Inhibition ของสารมาตรฐาน kojic acid โดยวิธี anti-tyrosinase assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน kojic acid (µg/mL)	%inhibition (%)				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1000.00	83.54	86.37	86.02	86.19	0.25
500.00	82.48	80.88	83.36	82.92	0.63
250.00	75.75	74.69	74.34	74.51	0.25
125.00	66.55	63.36	66.55	66.55	0.00
62.50	48.32	39.47	47.61	47.96	0.50
31.25	20.88	13.98	18.23	19.56	1.88
15.63	3.54	3.01	9.56	3.27	0.38
7.81	3.19	0.00	3.19	3.19	0.00

ตารางที่ 27 %Inhibition ของสารตัวอย่างโดยวิธี anti-tyrosinase assay

รหัส	สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น (µg/mL)	%inhibition (%)			ค่าเฉลี่ยของ %inhibition (%)	SD
			1	2	3		
BF-01	ไม่กรอง	769	12.21	12.74	8.67	11.21	2.21
BF-02	แป้ง	717	12.28	12.62	16.16	13.69	2.15
BF-03	กรอง	300	6.90	6.55	9.73	7.73	1.75
BF-04	hexane	100	13.67	11.80	14.42	13.30	1.35
BF-05	dichloromethane	100	17.97	14.98	23.41	18.79	4.27
BF-06	butanol	300	10.44	16.64	7.79	11.63	4.54
BF-07	น้ำ	600	4.42	8.14	7.26	6.61	1.94

จากการทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสโดยมีการเปรียบเทียบกับตารางที่ 26 แสดง %Inhibition ของสารมาตรฐาน kojic acid พบว่าที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน kojic acid ที่เท่ากับ 125 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 66.55 เป็นจุดอ้างอิงที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบที่บ่งบอกถึงการมีฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ดี เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างพบว่าสารสกัดไม่กรอง (BF-01) ที่ความเข้มข้น 769 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 11.21 แป้ง (BF-02)ที่ ความเข้มข้น 717 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 13.69 กรอง (BF-03) ที่ความเข้มข้น 300 µg/mLสามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 7.73 dichloromethane (BF-04) ที่ความเข้มข้น 100 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 18.79 hexane (BF-05) ที่ความเข้มข้น 100 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 13.30 butanol (BF-06) ที่ความเข้มข้น 300 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 11.63 และน้ำ (BF-07) ที่ความเข้มข้น 600 µg/mL สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 6.61 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานพบว่าสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แต่สำหรับ dichloromethane (BF-04) และ hexane (BF-05) ความเข้มข้นที่ใช้ยังน้อยกว่าจุดอ้างอิงสารมาตรฐาน แต่ค่าความสามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสถือว่าได้น้อยมาก

3. ผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening)

3.1 การทดสอบสารกลุ่ม tannins

การทดสอบ gelatin test, lime water test และ vanillin test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม tannins พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนด ให้ผลการทดสอบเป็น negative ทั้งหมดโดยทดสอบ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงเป็นตะกอนขุ่นขาว ตะกอนสีเหลืองน้ำเงินเทา หรือสารละลายสีแดงหลังการทำปฏิกิริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม tannins มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 28 ผลการทดสอบสารกลุ่ม tannins

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ gelatin test*	ผลการทดสอบ limewater test**	ผลการทดสอบ vanillin test***
BF-01	ไม่กรอง	-	-	-
BF-02	แป้ง	-	-	-
BF-03	กรอง	-	-	-
BF-04	hexane	-	-	-
BF-05	dichloromethane	-	-	-
BF-06	butanol	-	-	-
BF-07	น้ำ	-	-	-

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดตะกอนขุ่นขาว

++ หมายถึง เกิดตะกอนสีเหลืองน้ำเงินเทา

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดง

- หมายถึง ไม่เกิดตะกอนขุ่นขาว ตะกอนสีเหลืองน้ำเงินเทา หรือสารละลายสีแดง

* Gelatin solution test หลังการทำปฏิกริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนขุ่นขาว

** Limewater test หลังการทำปฏิกิริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนสีเหลืองน้ำเงินเทา

*** Vanillin test หลังการทำปฏิกิริยา ได้ผล positive คือ เกิดสารละลายสีแดง

3.2 การทดสอบสารกลุ่ม saponins

1) ผลการทดสอบ foam test

การทดสอบ foam test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม saponins พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive และ negative สารสกัดที่ให้ผลเป็น positive คือ สารสกัดแป้ง (BF-02) hexane (BF-04) dichloromethane (BF-05) และ butanol (BF-06) โดยจะเกิดฟองที่คงตัวหลังทำปฏิกิริยา แสดงว่าพบสารในกลุ่ม saponins สารสกัดที่ให้ผลเป็น negative คือ สารสกัดไม่กรอง (BF-01) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07) โดยจะเกิดฟองที่ไม่คงตัวหลังทำปฏิกิริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม saponins มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 29 ผลการทดสอบ foam test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	-
BF-02	แป้ง	++
BF-03	กรอง	-
BF-04	hexane	++
BF-05	dichloromethane	++++
BF-06	butanol	++++
BF-07	น้ำ	-

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดความคงตัวของฟองน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดความคงตัวของฟองน้อย

+++ หมายถึง เกิดความคงตัวของฟองปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดความคงตัวของฟองมาก

+++++ หมายถึง เกิดความคงตัวของฟองมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดความคงตัวของฟอง

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม saponins ด้วยวิธี foam test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม saponins มากที่สุดคือ ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05) และ butanol (BF-06) สารสกัดส่วนที่พบสารกลุ่ม saponins น้อย คือส่วนสารสกัดแป้ง (BF-02) และ hexane (BF-04) สารสกัดส่วนที่ไม่พบสารกลุ่ม saponins คือส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07)

3.3 การทดสอบสารกลุ่ม phenolic

1) ผลการทดสอบ ferric chloride test

การทดสอบ ferric chloride test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม phenolic พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive และ negative สารสกัดที่ให้ผลเป็น positive คือ สารสกัด dichloromethane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) โดยจะเกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าพบสารในกลุ่ม phenolic สารสกัดที่ให้ผลเป็น negative คือ สารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) และ hexane (BF-04) โดยไม่เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม phenolic มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 30 ผลการทดสอบ ferric chloride test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	-
BF-02	แป้ง	-
BF-03	กรอง	-
BF-04	hexane	-
BF-05	dichloromethane	+++++
BF-06	butanol	+++
BF-07	น้ำ	++

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวน้อย

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวมาก

+++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียวมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีน้ำเงินเขียว

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม phenolic ด้วยวิธี phenolic test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม phenolic มากที่สุดคือ ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม phenolic ปานกลาง คือ ส่วนสารสกัด butanol (BF-06) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม phenolic น้อย คือ ส่วนสารสกัดน้ำ (BF-07) และสารสกัดที่ไม่พบสารกลุ่ม phenolic คือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) และ hexane (BF-04)

3.4 การทดสอบสารกลุ่ม flavonoids

1) ผลการทดสอบ Shinoda's test

การทดสอบ Shinoda's test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม flavonoids พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น negative ทั้งหมด โดยทดสอบไม่พบการเกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม flavonoids มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 31 ผลการทดสอบ Shinoda's test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	-
BF-02	แป้ง	-
BF-03	กรอง	-
BF-04	hexane	-
BF-05	dichloromethane	-
BF-06	butanol	-
BF-07	น้ำ	-

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงน้อย

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงมาก

+++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดงมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีส้มถึงสีแดง

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม flavonoids ด้วยวิธี Shinoda's test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดไม่พบสารกลุ่ม flavonoids

3.5 การทดสอบสารกลุ่มน้ำตาล

1) ผลการทดสอบ Molisch's test

การทดสอบ Molisch's test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่มน้ำตาล พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive ทั้งหมด โดยเกิดวงแหวนสีม่วงหลังการทำปฏิกิริยา แสดงว่าพบสารในกลุ่มน้ำตาล มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 32 ผลการทดสอบ Molisch's test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	+++++
BF-02	แป้ง	+++
BF-03	กรอง	++++
BF-04	hexane	++
BF-05	dichloromethane	+
BF-06	butanol	++
BF-07	น้ำ	++

หมายเหตุ

\+ หมายถึง เกิดวงแหวนสีม่วงน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดวงแหวนสีม่วงน้อย

+++ หมายถึง เกิดวงแหวนสีม่วงปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดวงแหวนสีม่วงมาก

+++++ หมายถึง เกิดวงแหวนสีม่วงมากที่สุด

\- หมายถึง ไม่เกิดวงแหวนสีม่วง

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่มน้ำตาลด้วยวิธี Molisch's test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่มน้ำตาลมากที่สุด คือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) สารสกัดที่พบน้ำตาลมาก คือ ส่วนสารสกัดกรอง (BF-03) สารสกัดที่พบน้ำตาลปานกลาง คือ ส่วนสารสกัดแป้ง (BF-02) สารสกัดที่พบน้ำตาลน้อย คือ ส่วนสารสกัด hexane (BF-04) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) สารสกัดที่พบน้ำตาลน้อยที่สุด คือ ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05)

3.6 การทดสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring

1) ผลการทดสอบ Kedde's reagent test

การทดสอบ Kedde's reagent test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม unsaturated lactone ring พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive ทั้งหมด โดยเกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูหลังการทำปฏิกิริยา แสดงว่าพบสารในกลุ่ม unsaturated lactone ring มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 33 ผลการทดสอบ Kedde's reagent test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	+
BF-02	แป้ง	+
BF-03	กรอง	+
BF-04	hexane	+
BF-05	dichloromethane	+++++
BF-06	butanol	+++
BF-07	น้ำ	+

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูน้อย

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูมาก

+++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพูมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีม่วงอมน้ำเงินหรือม่วงอมชมพู

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring ด้วยวิธี Kedde's reagent test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring มากที่สุดคือ dichloromethane (BF-05) สารสกัดที่พบ unsaturated lactone ring ปานกลางคือ ส่วนสารสกัด butanol (BF-06) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม unsaturated

lactone ring น้อยมากคือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) hexane (BF-04) และน้ำ (BF-07)

3.7 การทดสอบสารกลุ่ม anthraquinones

1) ผลการทดสอบ Modified Borntrager's test

การทดสอบ Modified Borntrager's test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม anthraquinones พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น negative ทั้งหมด โดยทดสอบไม่พบการเกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม anthraquinones มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 34 ผลการทดสอบ Modified Borntrager's test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	-
BF-02	แป้ง	-
BF-03	กรอง	-
BF-04	hexane	-
BF-05	dichloromethane	-
BF-06	butanol	-
BF-07	น้ำ	-

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างน้อย

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างมาก

+++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่างมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีชมพูแดงในชั้นด่าง

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม anthraquinones ด้วยวิธี modified Borntrager's test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดไม่มีสารในกลุ่ม anthraquinones

3.8 การทดสอบสารกลุ่ม deoxy sugars

1) ผลการทดสอบ Killini's test

การทดสอบ Killini's test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม deoxy sugars พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive และ negative สารสกัดที่ให้ผลเป็น positive คือ สารสกัด hexane (BF-04) dichloromethane (BF-05) และ butanol (BF-06) โดยจะเกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าพบสารในกลุ่ม deoxy sugars สารสกัดที่ให้ผลเป็น negative คือ สารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07) โดยไม่เกิดสารละลายสีแดงหรือ สีเขียวน้ำเงินหลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม deoxy sugars มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 35 ผลการทดสอบ Killini's test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ
BF-01	ไม่กรอง	-
BF-02	แป้ง	-
BF-03	กรอง	-
BF-04	hexane	+++
BF-05	dichloromethane	+++
BF-06	butanol	+++++
BF-07	น้ำ	-

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินน้อยมาก

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินน้อย

+++ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินปานกลาง

++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินมาก

+++++ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงินมากที่สุด

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีแดงหรือสีเขียวน้ำเงิน

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม deoxy sugars ด้วยวิธี Killini's test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม deoxy sugars มากที่สุดคือ ส่วนสารสกัด butanol (BF-06) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม deoxy sugars ปานกลางคือ ส่วนสารสกัด hexane (BF-04) และ dichloromethane (BF-05) ส่วนสารสกัดที่ไม่พบสารกลุ่ม deoxy sugars คือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) และน้ำ (BF-07)

3.9 การทดสอบสารกลุ่ม triterpenoids และสารกลุ่ม steroids

1) ผลการทดสอบ Liebermann-Burchard test

การทดสอบ Liebermann-Burchard test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม triterpenoids และสารในกลุ่ม steroids พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น positive และ negative สารสกัดที่ให้ผลเป็น positive โดยเกิดสารละลายสีแดงชมพู หลังทำปฏิกิริยาคือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) และ dichloromethane (BF-05) แสดงว่าพบสารในกลุ่ม triterpenoids สำหรับสารสกัดที่ให้ผลเป็น positive โดยเกิดสารละลายสีเขียวน้ำเงินหลังทำปฏิกิริยา คือ ส่วนสารสกัด hexane (BF-04) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) แสดงว่าพบสารในกลุ่ม steroids สารสกัดที่ให้ผลเป็น negative คือ ส่วนสารสกัดแป้ง (BF-02) และกรอง (BF-03) โดยไม่เกิดการเปลี่ยนสีของสารละลาย หลังการทำปฏิกริยา แสดงว่าไม่พบสารในกลุ่ม triterpenoids และ steroids มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 36 ผลการทดสอบ Liebermann-Burchard test

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ	สีที่สังเกตเห็น
BF-01	ไม่กรอง	+	ชมพู
BF-02	แป้ง	-	สีเหลืองอ่อน
BF-03	กรอง	-	สีเหลือง
BF-04	hexane	++	สีเขียวน้ำเงิน
BF-05	dichloromethane	+	สีแดง
BF-06	butanol	++	สีน้ำเงิน
BF-07	น้ำ	++	สีน้ำเงิน

หมายเหตุ

+ หมายถึง เกิดสารละลายสีแดงชมพู

++ หมายถึง เกิดสารละลายสีเขียวน้ำเงิน

- หมายถึง ไม่เกิดสารละลายสีแดงชมพูหรือสีเขียวน้ำเงิน

จากการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม triterpenoids และสารกลุ่ม steroids ด้วยวิธี Liebermann-Burchard test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม triterpenoids คือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) และ dichloromethane (BF-05) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม steroids คือ ส่วนสารสกัด hexane (BF-04) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) สำหรับสารสกัดที่ไม่พบสารทั้งในกลุ่ม triterpenoids และสารกลุ่ม steroids คือ ส่วนสารสกัดแป้ง (BF-02) และกรอง (BF-03)

3.10 การทดสอบสารกลุ่ม alkaloids

การทดสอบ Dragendorff's test Mayer's test Wagner's test และ Marme's test เป็นการทดสอบหาสารในกลุ่ม alkaloids พบว่า สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดให้ผลการทดสอบเป็น negative ทั้งหมด แสดงว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดไม่พบสารในกลุ่ม alkaloids มีผลการทดสอบดังนี้

ตารางที่ 37 ผลการทดสอบสารกลุ่ม alkaloids

รหัส	สารตัวอย่าง	ผลการทดสอบ Dragendorff's test*	ผลการทดสอบ Mayer's test**	ผลการทดสอบ Wagner's test***	ผลการทดสอบ Marme's test****
BF-01	ไม่กรอง	-	-	-	-
BF-02	แป้ง	-	-	-	-
BF-03	กรอง	-	-	-	-
BF-04	hexane	-	-	-	-
BF-05	dichloromethane	-	-	-	-
BF-06	butanol	-	-	-	-
BF-07	น้ำ	-	-	-	-

หมายเหตุ

\+ หมายถึง เกิดตะกอน

\- หมายถึง ไม่เกิดตะกอนสีส้ม

* Dragendorff's test หลังการทำปฏิกริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนสีส้ม

** Mayer's test หลังการทำปฏิกิริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนสีขาว

*** Wagner's test หลังการทำปฏิกิริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนสีน้ำตาล

****Marme's test หลังการทำปฏิกริยา ได้ผล positive คือ เกิดตะกอนขุ่นขา

ตารางที่ 38 สรุปผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening)

รหัส	สารตัวอย่าง	การทดสอบสารกลุ่ม tannins	Foam test	Ferric chloride test	Shinoda's test	Molisch's test	Kedde's reagent test	modified Borntrager's test	Killini's test	Liebermann-Burchard test (สีที่สังเกตเห็น)	การทดสอบสารกลุ่ม alkaloids
BF - 01	ไม่กรอง	-	-	-	-	+++++	+	-	-	+ (ชมพู)	-
BF- 02	แป้ง	-	++	-	-	+++	+	-	-	- (สีเหลืองอ่อน)	-
BF- 03	กรอง	-	-	-	-	+++++	+	-	-	- (สีเหลือง)	-
BF- 04	hexane	-	++	-	-	++	+	-	+++	++ (สีเขียวน้ำเงิน)	-

รหัส	สารตัวอย่าง	การทดสอบสารกลุ่ม tannins	Foam test	Ferric chloride test	Shinoda's test	Molisch's test	Kedde's reagent test	modified Borntrager's test	Killini's test	Liebermann-Burchard test (สีที่สังเกตเห็น)	การทดสอบสารกลุ่ม alkaloids
BF-05	dichloromethane	-	++++	++++	-	+	+++++	-	+++	+ (สีแดง)	-
BF-06	butanol	-	++++	+++	-	++	+++	-	++++	++ (สีน้ำเงิน)	-
BF-07	น้ำ	-	-	++	-	++	+	-	+	+ (สีน้ำเงิน)	-

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระจากส่วนเนื้อผลของตาลโตนดและสารสกัดส่วนเนื้อผลของตาลโตนดได้แก่ ไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) dichloromethane (BF-04) hexane (BF-05) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) โดยมีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay การวิเคราะห์ผลการทดลองค่า IC_{50} ของวิธี DPPH assay ยังไม่พบว่าสารตัวอย่างใดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเนื่องจากต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงมากในการที่จะสามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ซึ่งถือได้ว่าไม่มีฤทธิ์

การวิเคราะห์ผลการทดลองค่า IC_{50} ของวิธี ABTS assay พบว่า สารสกัด dichloromethane (BF-04) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนสกัดอีก 6 ส่วนที่เหลือ โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 301.40±14.31µg/mL ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

การวิเคราะห์ผลการทดลอง FRAP assay โดยรายงานค่าเป็น 1 กรัมสารสกัดเทียบเท่ากับมิลลิกรัมสมมูลของ trolox พบว่า สารสกัด dichloromethane (BF-04) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนสกัดอีก 6 ส่วนที่เหลือ โดยสารสกัด dichloromethane (BF-04) 1 g เทียบเท่ากับ 14.448±2.146 mg trolox

จากการวิเคราะห์การยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid พบว่าสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) แป้ง (BF-02) กรอง (BF-03) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07)ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แต่สำหรับสารสกัด dichloromethane (BF-04) และ hexane (BF-05) มีสามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสถือว่าได้น้อยมาก เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่สามารถยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้ดี แต่ควรเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสกับสารมาตรฐาน

จากการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening) การศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม tannins ด้วยวิธี gelatin solution test, lime water test และ vanillin reagent test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดไม่พบสารในกลุ่ม tannins เช่นเดียวกันกับการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม flavonoids ด้วยวิธี shinoda test การศึกษาสารกลุ่ม anthraquinones ด้วยวิธี modified Borntrager's

การศึกษาสารกลุ่ม alkaloids ด้วยวิธี Dragendorff's reagent test Mayer's reagent test Wagner's reagent test และ Marme's reagent test พบว่าสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดไม่พบสารกลุ่ม flavonoids, anthraquinones และ alkaloids

สำหรับการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม saponins ด้วยวิธี foam test พบว่า ส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05) และ butanol (BF-06) พบสารในกลุ่ม saponins มากที่สุด ต่อมาเป็นการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม phenolic ด้วยวิธี phenolic test พบว่าส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05) พบสารกลุ่ม phenolic มากที่สุด โดยการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่มน้ำตาลด้วยวิธี Molisch's test พบว่า ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) พบสารกลุ่มน้ำตาลมากที่สุด การศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม unsaturated lactone ring ด้วยวิธี Kedde's reagent test พบส่วนสารสกัด dichloromethane (BF-05) พบ unsaturated lactone ring มากที่สุด สำหรับการศึกษาการตรวจสอบสารกลุ่ม deoxy sugars ด้วยวิธี Killini's test พบว่าส่วนสารสกัด butanol (BF-06) พบสารกลุ่ม deoxy sugars มากที่สุด และสุดท้ายการศึกษาการตรวจสอบสารสารกลุ่ม triterpenoids และสารกลุ่ม steroids ด้วยวิธี Liebermann-Burchard test พบสารสกัดจากส่วนเนื้อผลของต้นตาลโตนดที่พบสารกลุ่ม triterpenoids คือ ส่วนสารสกัดไม่กรอง (BF-01) และ dichloromethane (BF-05) สารสกัดที่พบสารกลุ่ม steroids คือ ส่วนสารสกัด hexane (BF-04) butanol (BF-06) และน้ำ (BF-07) จากการตรวจสอบสารพฤกษศาสตร์เคมี พบว่ามีสาร phenolic และ saponin ตามการศึกษาวิจัยที่อ้างอิงจากในปี 2013 Pramod H.J. และคณะได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้นตาลโตนด (30)

จากการเตรียมตัวอย่างจะมีไฟเบอร์ของสารต้องมีการกรองหรือปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนไฟเบอร์ไม่ละลายออกจากสารตัวอย่างก่อนนำไปทดสอบ ส่วนการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสควรใช้สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นเท่ากันเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบประสิทธิ์ภาพของฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนสได้

ถึงแม้เนื้อผลของตาลโตนดจะไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพใด ๆ ในการศึกษาครั้งนี้แต่จากสีเหลืองสดที่ไม่ติดพื้นผิว และกลิ่นหอมที่คงทนตลอดกระบวนการสกัด ผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะในการใช้เนื้อผลของตาลโตนดประยุกต์ใช้ในการแต่งสี หรือกลิ่นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเนื่องจากเป็นสิ่งที่รับประทานได้ ซึ่งจะทำให้ไม่เกิดอันตรายกับผู้ใช้

เอกสารอ้างอิง

(1) รศ.อธิป ลิขิตลิลิต. อนุมูลอิสระแหล่งกำเนิดและการเกิดโรค. กรุงเทพมหานคร: บริษัท พี.เอ.ลีฟวิ่ง จำกัด; 2015.

(2) โรสวัณย์ พิริยะสมบูรณ์. อาหารต้านอนุมูลอิสระตัวการโรคร้ายปัจจัยความเสื่อม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ Feel good; 2011.

(3) พนิดา กุลประสูติดิลก. วิธีต้านอนุมูลอิสระในตัวคุณ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์สุขภาพใจ บริษัท ตถาตา พับลิเคชั่น จำกัด; 2011.

(4) M.V. Reshma, Jubi Jacob, V.L. Syamnath, V.P. Habeeba, B.S. Dileep Kumar, Ravi S. Lankalapalli. First report on isolation of 2,3,4-trihydroxy-5-methylacetophenone from

(5) Prasad G. Jamkhande, Vikas A. Suryawanshi, Tukaram M. Kaylankar, Shailesh L. Patwekar. Biological activities of leaves of ethnomedicinal plant, Borassus flabellifer Linn. (Palmyra palm): An antibacterial, antifungal and antioxidant evaluation. Bulletin of Faculty of Pharmacy.2016;54:59-66

(6) ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. ตาลโตนดมรดกพืชจากบรรพบุรุษแหล่งสร้างงานสร้างชีวิต. กรุงเทพมหานครฯ: บริษัท สำนักพิมพ์เพชรกะรัต จำกัด;2550.

(7) อาฒยา สันตะกุล. ขนมตาล.กรุงเทพมหานครฯ:สำนักพิมพ์แม่บ้าน; 2550.

(8) Prasad Govindrao Jamkhande, Vikas Annarao Suryawanshi, Amruta Sureshrao Wattamwar, Sonal Ramrao Barde. In vitro anthelmintic efficacy of Borassus flabellifer Linn. (Palmae) against. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.2014;4:S199-S203 Pheretima posthuman

(9) บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556, อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, วารสาร, มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา, 277-278 น.

(10) อาฒยา สันตะกุล. ขนมตาล.กรุงเทพมหานครฯ:สำนักพิมพ์แม่บ้าน; 2550.

(11) Varatharajan K, Pushparani D. Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2018;82:2017-2028.

(12) Comert ED, Gokmen V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. Food Res Int. 2018;105:76-93.

(13) Schaich KM, Tian X, Xie J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. Journal of Functional Foods. 2015;18:782-96.

(14) Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm J. 2013;21(2):143-52.

(15) Shalaby, A. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7(10), pp.528-539.

(16) Wei-Ming Chai, Mei-Zhen Lin, Ying-Xia Wang, Kai-Li Xu, Wen-Yang Huang, Dan-Dan Pan, Zheng-Rong Zou, Yi-Yuan Peng. Inhibition of tyrosinase by cherimoya pericarp proanthocyanidins: Structural characterization, inhibitory activity and mechanism. Food Research International.2017;100:731-739

(17) Mehrnaz Rezaeia, Hamed Taj Mohammadib, Atiyeh Mahdavic, Mostafa Shouriand, Hossein Ghafourid. Evaluation of thiazolidinone derivatives as a new class of mushroom tyrosinase inhibitors. International Journal of Biological Macromolecules.2018;108:205-213

(18) Yu-Long Jiaa, Jing Zhenga, Feng Yua, Yi-Xiang Caia, Xi-Lan Zhana, Hui-Fang Wanga, Qing-Xi Chena. Anti-tyrosinase kinetics and antibacterial process of caffeic acid N-nonyl ester in Chinese Olive (Canarium album) postharvest. International Journal of Biological Macromolecules.2016;91:486-495

(19) Z.Z. Pan, H.L. Li, X.J. Yu, Q.X. Zuo, G.X. Zheng, Y. Shi, X. Liu, Y.M. Lin, G. Liang, Q. Wang, Q.X. Chen, J. Agric. Synthesis and antityrosinase activities of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates.Food chem.2011;59:6645–6649.

(20) Z.C. Li, L.H. Chen, X.J. Yu, Y.H. Hu, K.K. Song, X.W. Zhou, Q.X. Chen, J. Agric. Inhibition kinetics of chlorobenzaldehyde thiosemicarbazones on mushroom tyrosinase.Food Chem.2010;58:12537–12540.

(21) J.X. Zhuang, Y.H. Hu, M.H. Yang, F.J. Liu, L. Qiu, X.W. Zhou, Q.X. Chen, J. Agric. Irreversible competitive inhibitory kinetics of cardol triene on mushroom Tyrosinase. Food Chem.2010;58:12993–12998.

(22) Ryo Kishida , Adhitya G. Saputro , Hideaki Kasai. Mechanism of dopachrome tautomerization into 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid catalyzed by Cu(II) based on quantum chemical calculations.Biochimica et Biophysica Acta. 2015;1850:281–286

(23) Bunleu Sungthong, Methin Phadungkit. Anti-tyrosinase and DPPH radical scavenging activities of selected Thai herbal extracts traditionally used as skin toner. Pharmacognosy Journal.2015;97-101.

(24) Murugan R, Parimelazhagan T. Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. – An in vitro approach. Journal of King Saud University - Science. 2014;26(4):267-75.

(25) Jiangseubchatveera, N., Liawruangrath, S., Teerawutgulrag, A., Santiarworn, D., Pyne, S. G. & Liawruangrath, B. (2017). Phytochemical screening, phenolic and flavonoid contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. CMUJ, 44 (1), 193-202.

(26) บัณฑรวรรณ ธุระพระ, จันทนา บุญยะรัตน์, เยาวเรศ ชูลิขิต, สุภาวดี ดาวดี. (2559) การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(27) Shannon E, Jaiswal AK, Abu-Ghannam N. Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: a kinetic study. Food Research. 2017;2(1):1-11.

(28) อ้อมบุญ วัลลิสุต, ผ่องพรรณ ศิริพงษ์. (2552) การพัฒนาสารสกัดหม่อนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง. มหาวิทยาลัยมหิดล:ม.ป.ท.

(29) ดร.ศศิภาวรรณ มาชะนา.(2559) เอกสารประกอบการเรียนเรื่องการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี (phytochemical screening).คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

(30) Pramod H. J. Antioxidant Activity of *Borassus flabellifer* (Linn.) Fruits. Asian Pharma Press [Internet]. 2013 [cited 20 November 2018]; Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/ef87/e6b08c962548abbf44641db56a56ec675ca7.pdf

เอกสารอ้างอิงรูปภาพ

รูปที่ 1,3,4,5,8 :

http://dmiceplanner.businesseventsthailand.com/dmice/venue-detail.php?m=1171419

รูปที่ 2 :

https://www.quora.com/What-are-the-parts-of-a-palm-tree

รูปที่ 6 :

http://oknation.nationtv.tv/blog/print.php?id=176763

รูปที่ 7 :

https://prayod.com/%E0%B8%95%E0%B8%B2%E0%B8%A5-toddy-palm/

รูปที่ 12 :

Wei-Ming Chai, Mei-Zhen Lin, Ying-Xia Wang, Kai-Li Xu, Wen-Yang Huang, Dan-Dan Pan, Zheng-Rong Zou, Yi-Yuan Peng. Inhibition of tyrosinase by cherimoya pericarp proanthocyanidins: Structural characterization, inhibitory activity and mechanism. Food Research International.2017; 100:731-739

รูปที่ 13 :

Ryo Kishida, Adhitya G. Saputro, Hideaki Kasai. Mechanism of dopachrome tautomerization into 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid catalyzed by Cu(II) based on quantum chemical calculations.Biochimica et Biophysica Acta. 2015; 1850:281–286

ภาคผนวก

ภาคผนวก (1) การเตรียมสาร

ภาคผนวก (2) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ภาคผนวก (3) อักขราวิสุทธิ์

ภาคผนวก (4) แบบฟอร์มรายงานการเงิน

ภาคผนวก (1)

การเตรียมสาร

1.การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH (25)

1.1 ชั่งสารมาตรฐาน DPPH 6.6 mg ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL

1.2 ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จนได้ 100 mL

1.3 สารละลายที่เตรียมได้ ใช้ได้ภายใน 1 สัปดาห์ โดยต้องเก็บในตู้เย็น

2.การเตรียมสารละลาย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid หรือ ABTS (26)

2.1 ชั่งสารมาตรฐาน ABTS 0.0360 g ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL

2.2 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 mL จะได้สารละลาย ABTS

2.3 ชั่งสารมาตรฐาน potassium persulfate 0.0041 g แล้วเติมน้ำกลั่น 6.25 mL

2.4 ดูดสารละลายมาตราฐาน potassium persulfate มา 2.5 mL ใส่ลงในสารละลายมาตราฐาน ABTS เขย่าให้เข้ากัน

2.5 เก็บไว้ในที่มืด 12-18 ชั่วโมง

3.การเตรียมสารละลาย ferric reducing power assay หรือ FRAP (27)

3.1 เตรียม 300 mM acetate buffer (pH 3.6)

(1) ชั่งสารมาตรฐาน sodium acetate-3-hydrate 4.08 g นำไปละลายในน้ำกลั่น

(2) ปรับปริมาตรด้วย glacial acetic acid ด้วย pH meter ให้ได้มี pH เท่ากับ 3.6

3.2 เตรียม 20 mM ferric chloride solution

ชั่งสารมาตรฐาน ferric chloride 0.0540 g นำไปละลายในน้ำกลั่น 10 mL

3.3 เตรียม 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine)) solution

(1) ชั่งสารมาตรฐาน TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) 0.0780 g นำไปละลายใน 40 mM HCl 25 mL

(2) นำสารละลาย 300 mM acetate buffer (pH 3.6) ผสมกับ 20 mM ferric chloride solution และ 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine)) solution ในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับให้เข้ากัน แล้วเก็บสารละลายในที่ปราศจากแสง

4.การเตรียมสารละลายการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase assay) (28)

4.1 วิธีเตรียม 500 U/mL tyrosinase solution

(1) ชั่ง 1 mg ของ [2687 U/mL] enzyme tyrosinase ละลายด้วย 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 1 mL จะได้สารละลายเอนไซม์เข้มข้น 2687 U/mL

(2) ปิเปตสารละลายเอนไซม์มา 186 µL ผสมกับ 20 mM sodium phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 814 µL จะได้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้นเป็น 500 U/mL เตรียมสารขณะเย็นและแช่สารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 ºC ก่อนนำมาทดสอบ

*น้ำหนักที่ชั่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามรุ่นการผลิต enzyme

4.2 วิธีเตรียม 0.85 mM L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) (MW = 197.9 g/mol)

(1) ชั่ง L-DOPA 3.36 mg ละลายด้วย 20 mM Sodium phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 20 mL จะได้ L-DOPA ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.85 mM นำสารละลายที่ได้ไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 ºC ก่อนนำมาทดสอบ

4.3 วิธีเตรียม 20 mM Sodium phosphate buffer pH 6.8

เตรียม Solution A = 20 mM sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4) (MW = 119.98 g/mol)

เตรียม Solution B = 20 mM sodium phosphate diabasic (Na_2HPO_4) (MW = 142.0 g/mol)

(1) Solution A 20 mM = 20 x 10-3 M

จากสูตร M = g/MW (M = ความเข้มข้นในหน่วยโมลาร์, MW = มวลโมเลกุล, g = น้ำหนักสาร)

จะได้ g = 20 x 10^{-3} M x 119.98 g.mol^{-1} = 2.40 g

ดังนั้น ชั่ง NaH_2PO_4 จำนวน 2.40 g ละลายด้วย ultrapure water 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร

(2) Solution B 20 mM = 20 x 10^{-3} M

จะได้ g = 20 x 10^{-3} M x 142.0 g.mol^{-1} = 2.84 g

ดังนั้น ชั่ง Na_2HPO_4 จำนวน 2.84 g ละลายด้วย ultrapure water 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร

หากต้องการบัฟเฟอร์ปริมาตร 500 mL ให้ผสม solution A ปริมาตร 211.5 mL กับ B ปริมาตร 288.5 mL ปรับ pH ให้เป็น 6.8 ด้วยสารละลาย 1N NaOH หรือ 1N HCl จากนั้นนำบัฟเฟอร์ที่เตรียมเสร็จแล้วไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 ºC ก่อนนำมาทดสอบหรือใช้เตรียมสารในครั้งต่อไป

ภาคผนวก (2)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay (2,2-diphenylpicryl hydrazyl free radical) assay

1.1 ผลการทดสอบของสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 39 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน trolox โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน trolox (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.50	0.185	0.214	0.217	0.165	0.214	0.192	0.190	0.098	0.191
0.30	0.292	0.244	0.279	0.258	0.273	0.295	0.284	0.290	0.236
0.10	0.463	0.462	0.420	0.413	0.438	0.348	0.401	0.410	0.413
0.08	0.504	0.552	0.546	0.512	0.501	0.478	0.519	0.530	0.562
0.06	0.597	0.619	0.602	0.495	0.597	0.584	0.507	0.559	0.601
0.04	0.698	0.703	0.693	0.684	0.726	0.691	0.692	0.655	0.640
0.02	0.869	0.885	0.829	0.855	0.861	0.837	0.860	0.851	0.835
0.01	1.014	0.916	1.001	0.960	0.868	0.926	0.942	0.881	0.944
Positive-Negative	1.032			1.020			1.005		
SD	0.033			0.029			0.037		

1.2 ผลการทดสอบของสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 40 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นของสารมาตราฐาน vitamin C (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.50	0.037	0.039	0.038	0.042	0.035	0.040	0.044	0.033	0.046
0.30	0.047	0.045	0.048	0.050	0.045	0.050	0.051	0.052	0.051
0.10	0.126	0.103	0.123	0.147	0.121	0.114	0.141	0.104	0.131
0.08	0.223	0.213	0.262	0.266	0.217	0.221	0.188	0.311	0.282
0.06	0.377	0.453	0.430	0.427	0.390	0.420	0.454	0.462	0.460
0.04	0.643	0.620	0.608	0.600	0.657	0.623	0.662	0.598	0.607
0.02	0.831	0.746	0.705	0.779	0.793	0.773	0.810	0.774	0.728
0.01	0.858	0.818	0.839	0.924	0.850	0.880	0.844	0.806	0.874
Positive-Negative	0.934			0.933			0.940		
SD	0.039			0.037			0.031		

1.3 ผลการทดสอบสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 41 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
769.00	0.521	0.700	0.742	0.767	0.781	0.771	0.653	0.646	0.656
384.50	0.782	0.795	0.707	0.855	0.836	0.791	0.771	0.754	0.748
192.25	0.751	0.807	0.843	0.899	0.947	0.956	0.905	0.868	1.032
96.13	0.906	0.943	0.922	0.986	1.022	1.083	0.944	0.909	0.967
48.06	0.937	0.971	0.946	1.025	1.053	1.075	0.941	0.957	0.968
24.03	0.956	0.982	0.950	1.082	1.082	1.076	0.981	1.001	1.011
12.02	0.955	0.968	0.964	1.089	1.064	1.071	0.988	0.997	1.069
6.01	0.932	0.946	0.964	1.135	1.040	1.107	1.037	0.990	1.025
Positive-Negative	0.971			1.085			0.991		
SD	0.034			0.034			0.040		

1.4 ผลการทดสอบสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 42 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
(µg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
717.00	0.667	0.710	0.715	0.705	0.688	0.734	0.731	0.715	0.736
358.50	0.827	0.816	0.768	0.826	0.819	0.781	0.822	0.834	0.802
179.25	0.900	0.906	0.699	0.888	0.884	0.918	0.888	0.874	0.871
89.63	0.873	0.965	0.991	0.948	0.942	1.004	0.935	0.959	1.028
44.81	0.935	0.959	0.957	0.937	0.955	0.964	0.929	0.944	0.957
22.41	0.995	0.977	0.971	0.990	0.991	0.991	0.999	1.012	0.997
11.20	0.966	1.000	0.983	1.002	0.999	1.007	1.020	0.958	1.011
5.60	1.014	0.955	1.031	1.031	0.945	1.006	1.012	0.989	1.022
Positive-Negative	0.993			0.987			1.021		
SD	0.025			0.034			0.038		

1.5 ผลการทดสอบสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 43 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10000.00	0.691	0.617	0.660	0.674	0.524	0.483	0.592	0.558	0.644
5000.00	0.747	0.844	0.701	0.694	0.670	0.707	0.694	0.712	0.688
2500.00	0.859	0.827	0.857	0.808	0.808	0.799	0.802	0.842	0.837
1250.00	0.918	0.864	0.913	0.879	0.888	0.928	0.909	0.926	0.940
625.00	0.918	0.861	0.896	0.913	0.936	0.945	0.936	0.940	0.965
312.50	0.954	0.977	0.983	0.973	0.984	1.001	0.960	1.011	1.004
156.25	0.968	0.961	1.011	0.992	0.971	0.988	1.005	1.020	0.953
78.125	1.006	0.956	1.004	0.999	0.952	0.992	1.040	0.963	1.068
Positive-Negative	1.015			0.988			1.023		
SD	0.024			0.022			0.021		

1.6 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 44 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
(µg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8000.00	0.154	0.152	0.169	0.125	0.146	0.160	0.102	0.261	0.093
4000.00	0.518	0.513	0.476	0.577	0.487	0.471	0.446	0.447	0.420
2000.00	0.720	0.716	0.718	0.634	0.732	0.729	0.635	0.638	0.609
1000.00	0.887	0.877	0.921	0.852	0.847	0.951	0.777	0.766	0.811
500.00	0.923	0.937	0.946	0.935	0.919	0.931	0.833	0.854	0.855
250.00	1.002	0.976	0.987	0.959	0.983	0.996	0.930	0.920	0.946
125.00	0.998	0.987	1.002	0.995	1.005	1.000	0.946	0.939	0.966
62.50	1.056	0.981	1.050	1.020	0.983	1.027	0.999	0.927	1.011
Positive-Negative	1.011			1.013			1.015		
SD	0.030			0.026			0.020		

1.7 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 45 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2000.00	0.264	0.262	0.307	0.252	0.319	0.366	0.300	0.435	0.306
1000.00	0.519	0.501	0.525	0.532	0.502	0.530	0.525	0.528	0.493
500.00	0.685	0.683	0.672	0.762	0.752	0.683	0.675	0.675	0.649
250.00	0.788	0.774	0.822	0.831	0.805	0.840	0.794	0.784	0.834
125.00	0.841	0.829	0.852	0.842	0.823	0.866	0.845	0.868	0.875
62.50	0.914	0.936	0.916	0.945	0.857	0.886	0.930	0.922	0.947
31.25	0.950	0.916	0.953	0.984	0.977	0.990	0.948	0.941	0.964
15.63	1.019	0.930	0.995	1.046	0.948	0.990	0.998	0.929	1.012
Positive-Negative	0.985			1.008			1.001		
SD	0.029			0.035			0.025		

1.8 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 46 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
(µg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8000.00	0.081	0.075	0.078	0.088	0.071	0.080	0.063	0.059	0.074
4000.00	0.214	0.271	0.203	0.214	0.202	0.177	0.197	0.216	0.172
2000.00	0.433	0.452	0.446	0.448	0.450	0.443	0.442	0.439	0.455
1000.00	0.668	0.672	0.682	0.642	0.653	0.674	0.662	0.667	0.693
500.00	0.779	0.781	0.776	0.743	0.778	0.808	0.782	0.819	0.795
250.00	0.871	0.902	0.901	0.876	0.895	0.879	0.869	0.902	0.906
125.00	0.918	0.915	0.926	0.932	0.907	0.912	0.930	0.895	0.911
62.50	0.985	0.918	0.981	0.986	0.924	0.968	1.004	0.935	0.983
Positive-Negative	0.993			0.993			1.007		
SD	0.026			0.028			0.021		

1.9 ผลการทดสอบสารตัวอย่างน้ำ (BF-07) โดยวิธี DPPH assay

ตารางที่ 47 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง water (BF-07) โดยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้น (µg/mL)	Absorption-Absorption blank (520 nm)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10000.00	0.559	0.644	0.639	0.618	0.637	0.677	0.300	0.435	0.306
5000.00	0.764	0.805	0.727	0.760	0.738	0.760	0.525	0.528	0.493
2500.00	0.928	0.867	0.856	0.877	0.916	0.908	0.675	0.675	0.649
1250.00	0.959	0.927	0.959	0.956	0.933	0.997	0.794	0.784	0.834
625.00	0.930	0.956	0.943	0.912	0.948	0.996	0.845	0.868	0.875
312.5	0.965	0.955	0.981	0.993	1.009	1.013	0.930	0.922	0.947
156.25	1.023	1.030	1.021	1.034	1.062	1.005	0.948	0.941	0.964
78.125	1.068	0.953	1.041	1.040	0.972	0.932	0.998	0.929	1.012
Positive-Negative	1.035			1.019			0.961		
SD	0.035			0.033			0.056		

2. ผลการวิเคราะห์โดย 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid หรือ ABTS˙ scavenging assay

2.1 Negative คือ 0.763

2.2 ผลสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 48 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของ สารมาตราฐาน trolox (µg/mL)	Absorption (734 nm)		
	1	2	3
25.00	0.003	0.003	0.002
12.50	0.291	0.312	0.311
6.25	0.525	0.534	0.536
3.13	0.654	0.663	0.677
1.56	0.726	0.743	0.750
0.78	0.774	0.772	0.776
0.39	0.784	0.795	0.795
0.20	0.814	0.809	0.803

2.3 ผลสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 49 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน vitamin C โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของ สารมาตราฐาน vitamin C (µg/mL)	Absorption (734 nm)		
	1	2	3
25.00	0.000	0.000	0.012
12.50	0.432	0.224	0.304
6.25	0.352	0.442	0.680
3.13	0.589	0.634	0.755
1.56	0.682	0.724	0.767
0.78	0.742	0.767	0.829
0.39	0.781	0.762	0.835
0.20	0.767	0.808	0.802

2.4 ผลการทดสอบสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 50 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่างไม่กรอง (BF-01) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2563.33	0.104	0.095	0.087	0.090	0.090	0.090	0.014	0.005	0.000
1281.67	0.269	0.286	0.333	0.058	0.058	0.058	0.211	0.228	0.275
640.83	0.425	0.485	0.397	0.051	0.051	0.051	0.374	0.434	0.346
320.42	0.536	0.543	0.539	0.047	0.047	0.047	0.489	0.496	0.492
160.21	0.660	0.600	0.628	0.046	0.046	0.046	0.614	0.554	0.582
80.10	0.733	0.704	0.697	0.041	0.041	0.041	0.692	0.663	0.656
40.05	0.693	0.739	0.715	0.042	0.042	0.042	0.651	0.697	0.673
20.03	0.743	0.749	0.759	0.043	0.043	0.043	0.700	0.706	0.72

2.5 ผลการทดสอบสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 51 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่างแป้ง (BF-02) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2390.00	0.318	0.295	0.350	0.055	0.055	0.055	0.263	0.240	0.295
1195.00	0.466	0.536	0.480	0.048	0.048	0.048	0.418	0.488	0.432
597.50	0.532	0.536	0.501	0.052	0.052	0.052	0.480	0.484	0.449
298.75	0.639	0.610	0.596	0.055	0.055	0.055	0.584	0.555	0.541
149.38	0.649	0.697	0.672	0.042	0.042	0.042	0.607	0.655	0.630
74.69	0.699	0.693	0.714	0.046	0.046	0.046	0.653	0.647	0.668
37.34	0.739	0.735	0.740	0.054	0.054	0.054	0.685	0.681	0.686
18.67	0.768	0.760	0.809	0.057	0.057	0.057	0.711	0.703	0.752

2.6 ผลการทดสอบสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 52 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกรอง (BF-03) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่างกรอง (BF-03) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10000.00	0.321	0.266	0.308	0.087	0.087	0.087	0.234	0.179	0.221
5000.00	0.510	0.519	0.525	0.058	0.058	0.058	0.452	0.461	0.467
2500.00	0.568	0.579	0.578	0.051	0.051	0.051	0.517	0.528	0.527
1250.00	0.656	0.670	0.655	0.045	0.045	0.045	0.611	0.625	0.610
625.00	0.696	0.680	0.703	0.047	0.047	0.047	0.649	0.633	0.656
312.50	0.714	0.733	0.724	0.045	0.045	0.045	0.669	0.688	0.679
156.25	0.750	0.749	0.742	0.043	0.043	0.043	0.707	0.706	0.699
78.13	0.748	0.707	0.776	0.043	0.043	0.043	0.705	0.664	0.733

2.7 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 53 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง hexane (BF-04) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง hexane (BF-04) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
4000.00	0.355	0.273	0.289	0.042	0.042	0.042	0.313	0.231	0.247
2000.00	0.357	0.326	0.253	0.044	0.044	0.044	0.313	0.282	0.209
1000.00	0.416	0.366	0.350	0.044	0.044	0.044	0.372	0.322	0.306
500.00	0.524	0.445	0.530	0.042	0.042	0.042	0.482	0.403	0.488
250.00	0.633	0.650	0.631	0.042	0.042	0.042	0.591	0.608	0.589
125.00	0.692	0.693	0.659	0.040	0.040	0.040	0.652	0.653	0.619
62.50	0.712	0.723	0.754	0.042	0.042	0.042	0.670	0.681	0.712

2.8 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 54 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง diclolomethane (BF-05) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2000.00	0.050	0.069	0.056	0.042	0.042	0.042	0.008	0.027	0.014
1000.00	0.089	0.086	0.089	0.044	0.044	0.044	0.045	0.042	0.045
500.00	0.264	0.251	0.257	0.044	0.044	0.044	0.220	0.207	0.213
250.00	0.460	0.416	0.440	0.042	0.042	0.042	0.418	0.374	0.398
125.00	0.567	0.559	0.604	0.040	0.040	0.040	0.527	0.519	0.564
62.50	0.645	0.621	0.651	0.038	0.038	0.038	0.607	0.583	0.613
31.25	0.720	0.686	0.751	0.051	0.051	0.051	0.669	0.635	0.700
15.63	0.762	0.789	0.776	0.048	0.048	0.048	0.714	0.74	0.728

2.8 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 55 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง butanol (BF-06) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง butanol (BF-06) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2000.00	0.138	0.188	0.159	0.049	0.049	0.049	0.089	0.139	0.110
1000.00	0.392	0.425	0.455	0.044	0.044	0.044	0.348	0.381	0.411
500.00	0.521	0.505	0.505	0.043	0.043	0.043	0.478	0.462	0.462
250.00	0.611	0.571	0.595	0.045	0.045	0.045	0.566	0.526	0.550
125.00	0.640	0.676	0.631	0.048	0.048	0.048	0.592	0.628	0.583
62.50	0.682	0.666	0.712	0.043	0.043	0.043	0.639	0.623	0.669
31.25	0.669	0.709	0.727	0.049	0.049	0.049	0.620	0.660	0.678
15.63	0.724	0.788	0.800	0.041	0.041	0.041	0.683	0.747	0.759

2.9 ผลการทดสอบสารตัวอย่างน้ำ (BF-07) โดยวิธี ABTS assay

ตารางที่ 56 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างน้ำ (BF-07) โดยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นของสารตัวอย่างน้ำ (BF-07) (µg/mL)	Absorption (734 nm)			Blank			Absorption (734 nm) - Blank		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10000.00	0.395	0.314	0.477	0.043	0.043	0.043	0.352	0.271	0.434
5000.00	0.590	0.554	0.625	0.043	0.043	0.043	0.547	0.511	0.582
2500.00	0.649	0.614	0.687	0.041	0.041	0.041	0.608	0.573	0.646
1250.00	0.723	0.685	0.748	0.045	0.045	0.045	0.678	0.640	0.703
625.00	0.737	0.724	0.755	0.043	0.043	0.043	0.694	0.681	0.712
312.50	0.756	0.727	0.773	0.039	0.039	0.039	0.717	0.688	0.734
156.25	0.781	0.761	0.789	0.051	0.051	0.051	0.730	0.710	0.748
78.125	0.796	0.775	0.837	0.043	0.043	0.043	0.753	0.732	0.794

3. ผลการทดลอง ferric reducing power assay หรือ FRAP assay

3.1 ผลสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี FRAP assay

ตารางที่ 57 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตราฐาน trolox โดยวิธี FRAP assay

ความเข้มข้นของสารมาตราฐาน trolox (µg/mL)	Absorption (600 nm)		
	1	2	3
25.00	1.466	1.551	1.561
12.50	0.836	0.908	0.858
6.25	0.599	0.528	0.530
3.13	0.376	0.329	0.345
1.56	0.257	0.238	0.245
0.78	0.193	0.167	0.181
0.39	0.157	0.147	0.154
0.20	0.139	0.141	0.136

3.2 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง โดยวิธี FRAP assay

ตารางที่ 58 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง โดยวิธี FRAP assay

รหัส	สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Abs of sample			Blank	Abs of sample - blank		
			1	2	3		1	2	3
BF-01	ไม่กรอง	2563.33 µg/mL	0.733	0.787	0.746	0.377	0.356	0.410	0.369
BF-02	แป้ง	2390.00 µg/mL	0.583	0.57	0.568	0.078	0.505	0.492	0.49
BF-03	กรอง	1000.00 µg/mL	0.235	0.249	0.237	0.056	0.179	0.193	0.181
BF-04	Hexane	1000.00 µg/mL	0.917	0.922	0.991	0.038	0.879	0.884	0.953
BF-05	CH_2Cl_2	1000.00 µg/mL	1.112	1.071	0.883	0.053	1.059	1.018	0.83
BF-06	BuOH	1000.00 µg/mL	0.457	0.540	0.575	0.050	0.407	0.490	0.525
BF-07	Water	1000.00 µg/mL	0.254	0.261	0.272	0.057	0.197	0.204	0.215

4. ผลการทดสอบการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase assay)

4.1 ผลการทดสอบของสารมาตรฐาน kojic acid โดยวิธี Anti-tyrosinase assay

ตารางที่ 59 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน kojic acid โดยวิธี Anti-tyrosinase assay

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน kojic acid (µg/mL)	Absorption (492 nm)		
	1	2	3
1000.00	0.093	0.077	0.079
500.00	0.099	0.108	0.094
250.00	0.137	0.143	0.145
125.00	0.189	0.207	0.189
62.50	0.292	0.342	0.296
31.25	0.447	0.486	0.462
15.63	0.545	0.548	0.511
7.81	0.547	0.572	0.547

4.2 ผลการทดสอบสารตัวอย่าง โดยวิธี Anti-tyrosinase assay

ตารางที่ 60 ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบสารตัวอย่าง โดยวิธี Anti-tyrosinase assay

รหัส	สารสกัด	ความเข้มข้น (µg/mL)	Absorption blank (492 nm)			SD	Absorption sample (492 nm)			SD
			1	2	3		1	2	3	
BF-01	ไม่กรอง	769	0.082	0.093	0.089	0.006	0.578	0.586	0.605	0.014
BF-02	แป้ง	717	0.087	0.082	0.082	0.002	0.607	0.600	0.579	0.015
BF-03	กรอง	300	0.052	0.056	0.047	0.004	0.578	0.584	0.557	0.014
BF-04	hexane	100	0.164	0.176	0.195	0.015	0.625	0.647	0.652	0.014
BF-05	dichloromethane	100	0.074	0.065	0.070	0.004	0.512	0.519	0.479	0.021
BF-06	butanol	300	0.049	0.053	0.054	0.003	0.555	0.524	0.575	0.026
BF-07	น้ำ	600	0.046	0.056	0.05	0.005	0.586	0.575	0.574	0.007
Negative			0.534	0.534	0.534	0.000	0.504	0.534	0.564	0.030

ภาคผนวก (3)

อักขราวิสุทธิ์

Plagiarism Checking Report

Created on Dec 15, 2018 at 16:01 PM

Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
1076534	Dec 15, 2018 at 16:01 PM	57210257@go.buu.ac.th	มหาวิทยาลัยบูรพา	การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของเนื้อผลต้นตาลโตนด.pdf	Completed	0.72 %

Match Overview

NO.	TITLE	AUTHOR(S)	SOURCE	SIMILARITY INDEX
1	การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำตาลโตนดผงแบบห่อหุ้ม	ปิยาภรณ์ คำภานนท์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	0.52 %
2	THE EFFECTIVENESS OF COMMUNICATION IN PALMYRA CONSERVATION IN PHETCHABURI PROVINCE\,ประสิทธิผลของการสื่อสารเพื่อการอนุรักษ ตาลโตนดของประชาชนในจังหวัดเพชรบุรี\,THE EFFECTIVENESS OF COMMUNICATION IN PALMYRA CONSERVATION IN PHETCHABURI PROVINCE\, ประสิทธิผลของ	นางสาวพรพิมลสงกระสันต \,Miss Pornpimol Songkasant\,นางสาวพรพิมลสงกระสันต \,Miss Pornpimol Songkasant	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	0.20 %

Match Details

TEXT FROM SUBMITTED DOCUMENT	TEXT FROM SOURCE DOCUMENT(S)
4 บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 1 ข้อมูลทั่วไปของต้นตาลโตนด 1 1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ 6 1 1 1 ชื่อสามัญ Palmyra Palm Lontar Fan Plam 1 1 2 ชื่อทางพฤกษศาสตร์ Botassus flabellifer Linn 1 1 3 สกุล Borassus 1 1 4 วงศ์ปาล์ม Palmae 1 1 5 ชื่อทั่วไปภาคกลางตาลโตนดตาลใหญ่ตาลนาต้นโหนดภาคใต้ตะโหนดปอเก๊าะตาโนดภาคเหนือปลีตาลภาคอีสานตาล 1 2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 6 1 2 1 ลาต้นตาลโตนดเป็นพืชลาต้นเดียว	และที่สำคัญตาลโตนดที่เห็นอยู่ตามหัวไร่ปลายนาตามจังหวัดต่างๆดูจะบางตาลงในช่วงระยะเวลาไม่กี่ปีโดยเฉพาะที่จังหวัดเพชรบุรีตาลโตนดได้ถูกนำมาใช้ในการแปรรูปและพัฒนามาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างรายได้ให้กับประชาชนเป็นจำนวนมากแต่จากความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ประชาชนอาจใช้ตาลโตนดหมดไปในระยะเวลาอันใกล้นี้(ปรัชญารัศมีธรรมวงศ์\\\,ม.ป.ป.)ตาลโตนดมีชื่อสามัญว่า Palmyra Palm \\\, Lontar \\\, Fan Palm มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า Borassus flabellifer Linn .อยู่ในสกุล Borassus และเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ตระกูลปาล์ม(Palm)ส่วนชื่อทั่วไปที่เรียกในประเทศไทยมีดังนี้ภาคกลางเรียกว่าตาล\\\,ตาลโตนด\\\,ตาลใหญ่\\\,ตาลนา\\\,ต้นโหนดภาคใต้เรียกว่าตะโหนด\\\,ปอเก๊าะตา\\\,โนดภาคเหนือเรียกว่าปลีตาลและภาคอีสานเรียกว่าตาล(ปรัชญารัศมีธรรมวงศ์\\\,ม.ป.ป.)หลักฐานทางประวัติศาสตร์ยืนยันว่าตาลโตนด
ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งใบแก่มีสีน้ำตาลอ่อนใบแก่จะห้อยแนบลาต้นคลุมบริเวณคอตาลเป็นรัศมีครึ่งวงกลมแต่ละใบจะมีอายุไม่เกิน 3 ปีตาลโตนดต้นหนึ่งๆ สามารถให้ใบตาลได้ 12 15 ใบต่อปีส่วนที่เป็นก้านใบหรือทางตาลยาวประมาณ 1 2 เมตรก้านใบจะมีความแข็งแรงทางตาลจะหนาโค้งตามความยาวและมีหนามแหลมรอบทั้งสองด้านลักษณะเป็นฟันเลื่อยขนาดไม่สม่าเสมอกันตาลโตนดจะผลิตใบได้ 1 ใบ	เมตรถ้าตาลต้นใดไม่ได้ใช้ใบเป็นประโยชน์ปล่อยไปทิ้งไว้จนกระทั่งใบแก่มีสีน้ำตาลอ่อนและจะห้อยแนบลำต้นคลุมบริเวณคอตาลเป็นรัศมีครึ่งวงกลมความกว้างของใบวัดได้ 50 -- 70 เซนติเมตรใบแต่ละใบอายุไม่เกิน 3 ปีตาลโตนดต้นหนึ่งๆสามารถให้ใบตาลได้ 12 -- 15 ใบต่อปีส่วนที่เป็นทางตาลบางทีอาจยาวถึง 2 เมตรทางตาลนี้จะหนาโค้งตามความยาวมีหนามแหลมรอบทั้งสองด้านลักษณะเป็นฟันเลื่อยขนาดไม่สม่ำเสมอกันตาลโตนดจะผลิตใบได้ 1 ใบใช้เวลาประมาณ 2 เดือน 6 รากตาลสามารถหาอาหารได้มากรากเป็นเสียนกลมยาวเป็นกระจุกคล้ายมะพร้าวแต่หยั่งลึกลงไปในดินและไม่แผ่ไปตามผิวดินเหมือนรากมะพร้าวฉะนั้นจึงไม่รบกวนต้นข้าวเมื่อปลูกลงบนคันนารากของตาลโตนดสามารถหยั่งลงไปในดินได้ลึกมากจึงยึดกับดินได้ดีโอกาสที่จะโค่นล้มหรือถอนรากเป็นไปได้ยากจึงปลูกเพื่อเป็นหลักในการแบ่งเขตของคันนาหรือเพื่อเสริมความแข็งแรงให้กับดินในบริเวณท้าการทดน้ำเข้านาดอกตาลโตนดเป็นพืชที่ต้นตัวผู้กับต้น
โดยอาจเริ่มปาดตาลเมื่อมีดอกเป็นปีแรกแต่จะได้น้ำหวานในปริมาณน้อยและมีปริมาณความหวานอยู่ระหว่าง 9 16 59 เปอร์เซ็นต์ตาลหนึ่งต้นสามารถรองน้ำหวานติดต่อกันได้นาน 22 เดือนเป็นอย่างน้อยและรองน้ำหวานได้ทุกปีติดต่อกัน 3 4 ช่วงอายุคนหรือประมาณ 80 ปีรูปที่ 4 งวงตาลรูปที่ 5 ต้นตาลตัวผู้	และเมื่อตาลโตนดมีอายุ 12 -- 15 ปีสามารถเริ่มรองน้ำหวานมาทำน้ำตาลโตนดอาจเริ่มปาดตาลเมื่อมีดอกเป็นปีแรกแต่จะได้น้ำหวานในปริมาณน้อยปริมาณความหวานอยู่ระหว่างร้อยละ 9 --16.5ตาลต้นหนึ่งรองน้ำหวานได้ติดต่อกันนาน 22 เดือนเป็นอย่างน้อยและรองน้ำหวานได้ทุกปีติดต่อกัน 3 -- 4 ช่วงอายุคนหรือประมาณ 80 ปีปัจจุบันยังไม่มีผู้ใดทราบสาเหตุการตายของตาลโตนดและกล่าวสนับสนุนว่าตาลโตนดตายเนื่องจากล้าต้นของมันเองอย่างไรก็ตามยังไม่ทราบลักษณะทางสรีรวิทยาของตาลโตนดที่เข้าสู่ระยะแก่หรือเสื่อมสลายนั้นเป็นอย่างไร 8 1.4พันธุ์ตาลโตนดพันธุ์ตาลโตนด(สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบุรี, 2545)ที่นิยมปลูกมี 3 พันธุ์ด้วยกันคือ1.4.1ตาลพันธุ์หม้อเป็นตาลที่มีล้าต้นแข็งแรง

ภาคผนวก (4)

แบบฟอร์มรายงานการเงิน

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลตาลโตนด

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน (~~อ.~~/ดร.~~/ผศ./รศ./ศ.~~) ธันย์ชนก ศิริรักษ์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ (วัน/เดือน/ปี) 1 ตุลาคม 2560 ถึงวันที่ **(วัน/เดือน/ปี)** 30 ธันวาคม 2561

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 4 เดือน **ตั้งแต่วันที่ (วัน/เดือน/ปี)** 1 ตุลาคม 2560

<u>รายรับ</u>

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 10,500. บาท เมื่อวัน เดือน ปี 1 ตุลาคม 2560

<u>รายจ่าย</u>

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าวัสดุและสารเคมี	7,000	7,033	-33
2. ค่าใช้สอย	3,500	3,500	0
รวม	10,500	10,533	-33

(ภญ.ดร. ธันย์ชนก ศิริรักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัย