สำนักหอสมุดกลาง
15 ต.ค. 2559

รายงานการวิจัย

สารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์จากใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม

Antioxidant Activities Assay in Mixture of Tea Leaves (*Camellia sinensis* Ktze.), Mulberry Leaves (*Morus alba* L.) and Horse Radish Leaves (*Moringa oleifera* Lam.)

นันธิดา ลิ่มเสฎโฐ

ใช้ในหอสมุดเท่านั้น

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณกองทุนวิจัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

พ.ศ. 2557

ชื่องานวิจัย สารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์จากใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม
ผู้วิจัย นันธิดา ลิ่มเสฎโฐ
คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปี 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาสมุนไพรจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ ใบชา ชาใบหม่อน และชาใบมะรุม โดยการทดสอบสารสกัดชาด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที เพื่อหาอัตราส่วนและช่วงเวลาที่เหมาะสมแก่การชงชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS จากการศึกษา พบว่า สารสกัดใบชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมสูงสุดที่เวลา 2 นาทีเท่ากับ 80.45±0.04 µg GAE/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 88.58±0.00 (ปริมาณ ascorbic acid 35.00±0.01 ppmAA/µl) และ 98.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.62±0.00 mg/ml) ตามลำดับ สารสกัดใบหม่อนและใบมะรุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 43.71±0.66 และ 34.34±0.07 µg GAE/ml ตามลำดับ ใบหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงสุดที่เวลา 2 นาที เท่ากับ 88.41±0.01 (ปริมาณ ascorbic acid 35.74±0.04 ppmAA/µl) และ 98.06±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.41±0.00mg/ml) ตามลำดับ ใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงสุดที่เวลา 2 นาที เท่ากับ 87.98±0.07 (ปริมาณ ascorbic acid 37.59±0.01 ppmAA/µl) และ 98.22±0.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 2.82±0.00 mg/ml) ตามลำดับ สารสกัดผสมทั้ง 3 ชนิดที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นตามเวลาการสกัดที่นานขึ้น เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน 0.5:1.5 w/w, ใบชา+ใบมะรุม 0.5:1.5 w/w, ใบหม่อน+ใบมะรุม 1.5:0.5 w/w และใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วน 1.0:1.0:1.0 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที เท่ากับ 93.36±0.03, 93.70±0.00, 55.18±0.01 และ 96.51±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 14.22±0.02 12.70±0.02 9.67±0.01 และ 0.52±0.01 ppmAA/µl) ตามลำดับ และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบว่า สารสกัดผสมของใบชา+ใบหม่อน 1.5:0.5 w/w, ใบชา+ใบมะรุม 0.5:1.5 w/w, ใบหม่อน+ใบมะรุม 1.5:0.5 w/w และใบชา ใบหม่อน+ใบมะรุม 1.5:1.0:0.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที มีค่าเท่ากับ 98.68±0.00, 98.39±0.01, 98.64±0.01 และ 98.62±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.15±0.00 2.20±0.01 1.65±0.00 และ 1.37±0.00 mg/ml) ตามลำดับ ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้อัตราส่วนและเวลาที่ใช้ในการสกัดสามารถใช้เป็นข้อแนะนำในการชงชาให้มีคุณภาพและมีประโยชน์ต่อสุขภาพอีกด้วย

เลข 1138906
วันที่
เลขเรียกหนังสือ A 5A1.22A

Research Title	Antioxidant Activities Assay in Mixture of Tea Leaves (*Camellia sinensis* Ktze.), Mulberry Leaves (*Morus alba* L.) and Horse Radish Leaves (*Moringa oleifera* Lam.)
Researcher	Nunthida Limsettho
Faculty	Science and Technology
Year	2014

Abstract

Tea leaves (*Camellia sinensis* L.), Tea Mulberry leaves (*Morus alba* L.) and Tea Moringa leaves (*Moringa lleifera* Lam.) are widely use in to traditional herbal tea, based on the antioxidant property, 3 kinds of leaves were extracted with hot water at 100°C for 2, 5, 10, 30 and 60 minutes at various ratios. For the determination of total phenolic content (TPC), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging capacity assay and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) cation radical scavenging assay. So, this study found that tea leaves extracted had the maximum of TPC at 2 minutes 80.45±0.04 µg GAE/ml and the maximum of radical scavenging activity DPPH and ABTS at 60 minutes were 88.58±0.00% (ascorbic acid 35.00±0.01 ppmAA/µl) and 98.00±0.00% (Trolox 3.62±0.00 mg/ml), respectively. Moringa and Mulberry leaves extracted had the maximum of TPC at 60 minutes were 43.71±0.66 and 34.34±0.07 µg GAE/ml respectively. Mulberry leaves extracted had the maximum of radical-scavenging activity DPPH and ABTS at 2 minutes were 88.41±0.01 % (ascorbic acid 35.74±0.04 ppmAA/µl) and 98.06±0.00 % (Trolox 3.41±0.00 mg/ml) respectively.. Moringa leaves extracted had the maximum of radical-scavenging activity DPPH and ABTS at 2 minutes were 87.98±0.07 (ascorbic acid 37.59±0.01 ppmAA/µl) and 98.22±0.00% (Trolox 2.82±0.00 mg/ml) respectively However the mixed extracted at various ratios showed that the amount of TPC was increase when extraction longer. The mixture of Tea+Mulberry 0.5:1.5 w/w Tea+Moringa 0.5:1.5 w/w Mulberry+Moringa 1.5:0.5 w/w and Tea+Mulberry+Moringa 1.0:1.0:1.0 w/w/w leaves extracted showed that the maximum of % inhibition of DPPH at 2 minutes were 93.36±0.03, 93.70±0.00, 55.18±0.01 and 96.51±0.00% (ascorbic acid 14.22±0.02 12.70±0.02 9.67±0.01 and 0.52±0.01 ppmAA/µl), respectively, and the maximum of % inhibition of ABTS of the mixture of Tea+Mulberry 1.5:0.5 w/w Tea+Moringa 0.5:1.5 w/w Mulberry+Moringa 1.5:0.5 w/w and Tea+Mulberry+Moringa 1.5:1.0:0.5 w/w/w leaves extracted at 2 minutes were 98.68±0.00, 98.39±0.01, 98.64±0.01 and 98.62±0.00 % (Trolox 1.15±0.00 2.20±0.01 1.65±0.00 and 1.37±0.00 mg/ml),

respectively. The antioxidant property of these plant suggest their possible use to prove their quality application.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยเรื่อง สารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์จากใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม Antioxidant Activities Assay in Mixture of Tea Leaves (*Camellia sinensis* Ktze.), Mulberry Leaves (*Morus alba* L.) and Horse Radish Leaves (*Moringa oleifera* Lam.) ตามสัญญาเลขที่ ๒๐/๒๕๕๗ จากงบประมาณทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์เชาวนีพร ชีพประสพที่เป็นที่ปรึกษาตลอดการดำเนินงานวิจัย และขอบคุณนางสาวยาวีณา หมัดศิริ และนางสาวอาตีก๊ะ สะอิ ที่ช่วยสืบค้นข้อมูล และดำเนินการในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณท่านผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ตรวจสอบ แก้ไข และแนะแนวทางในการทำโครงการวิจัย และขอขอบคุณโปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่กรุณาให้การสนับสนุนในด้านสถานที่และวัสดุอุปกรณ์ ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

นันธิดา ลิ่มเสฏโฐ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 อนุมูลอิสระ	3
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ	5
2.3 วิธีการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	7
2.4 ตัวอย่างพืช	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	14
3.1 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือ	14
3.2 กลุ่มตัวอย่าง	14
3.3. การดำเนินงานวิจัย	14
3.3.1. การเตรียมตัวอย่างพืช	14
3.3.2. การสกัดตัวอย่างพืช	14
3.3.3 การสกัดชา ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที	16
3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	16
3.3.5 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	16
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล/ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	18
4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	18
4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์โดยวิธี DPPH	21
4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์โดยวิธี ABTS	25
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม	33

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง 4
ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนที่ใช้ในการสกัดชา 15

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical 7

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS 8

ภาพที่ 2.3 ใบชา (Tea leaves 10

ภาพที่ 2.4 ใบหม่อน (mulberry leaves) 11

ภาพที่ 2.5 ใบมะรุม (Moringa leaves) 12

ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบชา ใบหม่อนและใบมะรุม
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 18

ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน
ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ
ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที 19

ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัด
ใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา
2, 5, 10, 30 และ 60 นาที 20

ภาพที่ 4.4 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดใบชาใบหม่อน
และใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppmAA/µl) ของสารสกัดใบชาใบหม่อน
และใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21

ภาพที่ 4.5 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppm AA/µl) ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 23

ภาพที่ 4.6 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที
จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)

โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppm AA/µl) ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที
จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 24
ภาพที่ 4.7 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดใบชาใบหม่อน
และใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/ml) ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุม
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 26
ภาพที่ 4.8 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/ml) ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน
ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ
ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3)
โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 28
ภาพที่ 4.9 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที
จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/ml) ของสารสกัดผสม
ใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที
จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 29

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับอิเล็กตรอนและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) สารเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระ และยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยถูกออกซิไดซ์ สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่มักพบในพืช ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระจากผัก ผลไม้ สมุนไพรและเครื่องดื่มเป็นที่น่าสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยแล้วว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคความดัน โรคเบาหวาน โรคหัวใจ (Katsube et al., 2006) เครื่องดื่มที่อุดมไปด้วยสารกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเป็นที่นิยมดื่มคือ น้ำชา ชาเขียว ชาดำ (Serafini et al., 1994) ไวน์องุ่นแดง (Aviram และ Eias, 1993) และพืชสมุนไพรท้องถิ่นของไทยที่รับความนิยมในการทำชาในปัจจุบันคือ ใบหม่อน (*Morus alba* L.) ที่อุดมไปด้วยสรรพคุณในการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย ป้องกันโรคเบาหวาน ลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด (วิโรจน์ แก้วเรือง, 2551) มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เช่น flavonoid phytoestrogen (Dewick, 1998) ส่วนใบมะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) ก็เป็นพืชสมุนไพรของไทยที่มีสรรพคุณช่วยแก้เลือดออกตามไรฟัน ใช้ถอนพิษไข้ ใช้เป็นยาระบาย ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ขับปัสสาวะ ป้องกันมะเร็ง ลดความดันโลหิต และแก้อาการอักเสบ เป็นต้น (สนามชัย แพนดี และคณะ, 2555) มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เช่น thiocarbamate (Kim, 1999) จากประโยชน์ของพืชสมุนไพรทั้งสามชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบชา ใบมะรุมและใบหม่อนในอัตราส่วนและเวลาต่าง ๆ เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เพื่อเป็นอีกทางเลือกในการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรในท้องถิ่น และสนับสนุนให้มีการบริโภคชาที่ทำจากสมุนไพรท้องถิ่นมากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทราบอัตราส่วนผสมของใบชา ใบหม่อน และใบมะรุมต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มมูลค่าให้กับชาตามท้องตลาดด้วยใบหม่อนและใบมะรุม ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในท้องถิ่น
2. มีประโยชน์เพื่อการบูรณาการกับการเรียนการสอนรายวิชาชีวเคมี และปฏิบัติการชีวเคมี
3. ส่งเสริมการบริโภคพืชสมุนไพรในท้องถิ่น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (oxidant หรือ free radical) คือโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (ดังสมการ 2.1 และ 2.2) และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่รอบข้างได้ทันทีที่ถูกสร้างขึ้น มีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือมีความเสถียร (พรทิพย์ วิรัชวงศ์, 2011)

$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$ .....สมการ 2.1

$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$ .....สมการ 2.2

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย โดยมีตัวกระตุ้นสำคัญที่เรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROS) หมายถึง โมเลกุลที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา ซึ่งอาจเป็นอนุมูลอิสระหรือไม่ใช่อนุมูลอิสระก็ได้ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและ ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion radical), อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical), อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (peroxide radical), อนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical), ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), โอโซน (ozone), ออกซิเจนอะตอมเดี่ยว (singlet oxygen), และอนุมูลไฮโดรเจน (Hydrogen Radical) เป็นต้น (Malaisree *et al.*, 2011) อนุมูลอิสระเหล่านี้ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (Ames et al., 1993) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคพาร์กินสัน โรคสมองฝ่อ โรคไขข้ออักเสบ โรคหัวใจ และโรคที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายต่อต้านกันเอง (autoimmune) (Rangkadilok et al., 2007) นอกจากอนุมูลอิสระที่เกิดจากผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการแมแทบอลิซึมของเซลล์ ยังเกิดจากปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสียูวี ควันจากท่อไอเสียและควันบุหรี่ อนุมูลเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระแล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผลให้วงจรการเกิดอนุมูลอสระตัวใหม่หยุดลง

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2549)

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS)	
Superoxide, Superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$)	H_2O_2, Ozone (O_3)
Hydroxyl ($HO^{\cdot}$)	Hypobromous acid (HOBr)
Hydroperoxyl ($HO_2^{\cdot}$)	Hypochlorous acid (HOCl)
Peroxyl ($RO_2^{\cdot}$)	Singlet oxygen ($O_2{}^1\Delta g$)
Alkoxyl ($RO^{\cdot}$)	Organic peroxides (ROOH)
Carbonate ($CO_3^{\cdot-}$)	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
Carbon dioxide ($CO_2^{\cdot-}$)	Peroynitrous acid (ONOOH)
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide ($NO^{\cdot}$)	
Nitrogen dioxide ($NO_2^{\cdot}$), ($NO_2^{\cdot-}$)	Nitrous acid (HNO_2)
	Nitrosyl cation (NO^+), Nitroxyl anion (NO^-)
	Dinitrogen tetroxide (N_2O_4)
	Dinitrogen trioxide (N_2O_3)
	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
	Peroynitrous acid (ONOOH)
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine ($Cl^{\cdot}$)	Hypochlorous acid (HOCl)
	Chloramines
	Chlorine gas (Cl_2)
Other	
Thioyl radical ($RS^{\cdot}$)	

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระคือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) เป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ (Chattopadhyay et al., 2010) โดยสารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น การจับกับอนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้าง หรือเข้าจับกับโลหะ (Sies, 1992) ในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วย สารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน ซึ่งกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายกลไก เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เป็นการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ, 2554)

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidant) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีเกิดเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สาร propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, (butylated hydroxytoluene, BHT) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้ง วิตามิน เอนไซม์ และสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (พบที่ไซโตพลาสซึม) vitamin E (พบที่เมมเบรน) และ glutathione (ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาสซึมและเมมเบรน) สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) สามารถเปลี่ยน O^{2-} เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones สามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ (สุพิศรา เตชะเปรมปรีชา, 2550) นอกจากนี้ยังแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายตามระบบต้านอนุมูลอิสระ แบ่งได้ 2 ประเภท คือ ประเภทป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ peroxide, peroxidase, glutathione peroxidase, catalase, cytochrome C, ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม เป็นต้น และประเภทที่สองคือ กลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ ได้แก่ albumin, uric acid, bilirubin, ubiquinone, sulfhydryl groups, cysteine เบต้าแคโรทีน แคโรทีนอยด์

(carotenoid) วิตามินอี วิตามินซี เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) และสารกลุ่ม flavanoids (โอภา วัชระคุปต์, 2550)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติในรูปของสารประกอบฟินอลลิก แคโรทีนอยด์ และสารประกอบไนโตรเจน (Velioglu et al., 1998) แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนแรกนั้นเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และส่วนที่สองคือกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระจากวิตามิน เอ ซี อี หรือเบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤกษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชและผลไม้

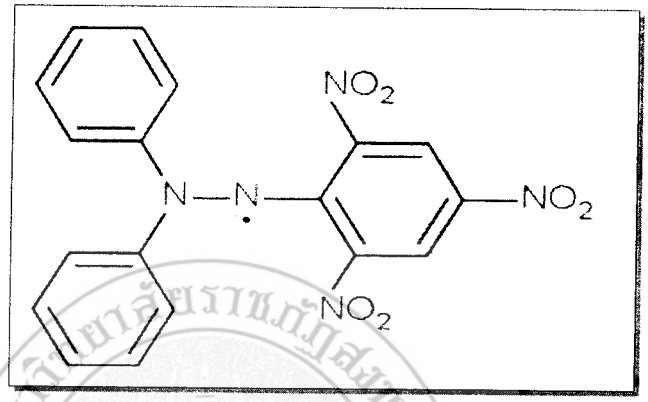
อย่างไรก็ตาม ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระโดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิก (สิริพันธุ์ จุลกรังคะ, 2545) เช่น

1. วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก ($AscH_2$) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ ปฏิกิริยาโดยรวมคือ การให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ เป็นการกำจัดหรือสลายอนุมูลอิสระโดยเปลี่ยน $R^{\cdot}$ ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ กรดแอสคอร์บิก

2. วิตามินอี หรือ tocopherol เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน จากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์ โดย α-tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุด วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยป้องกันไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิก คือ สารที่มีหมู่ OH บนวงอะโรมาติกตั้งแต่ 1 กลุ่มขึ้นไป พบมากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ชอคโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ปัจจุบันสารประกอบ ฟีนอลิกพบมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น สารโพลีฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีบทบาทสำคัญในการต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือดได้ (Sahelian, 2011)

2.3 วิธีการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (diphenylpicryhydrazyl radical scavenging assay)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical
(ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/DPPH#mediaviewer/File:DPPH.svg)

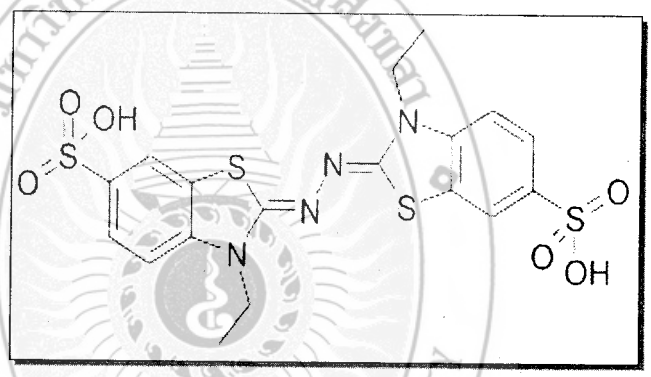
เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สาร $DPPH^{\cdot}$ ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว มีความเสถียรและเป็นสารสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูล $DPPH^{\cdot}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเมทานอล ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง สีม่วงของอนุมูลอิสระจางลงจนกลายเป็นสีเหลืองอ่อนหรือไม่มีสี (ดังสมการ 2.3) ทำให้สามารถหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้โดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer)

$$\underset{\text{สีม่วง}}{DPPH^{\cdot}} + \underset{\text{ตัวอย่างทดสอบ}}{AH} \longrightarrow \underset{\text{สีเหลือง}}{DPPH\text{-}H} + A^{\cdot} \qquad \text{.....สมการ 2.3}$$

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทินอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกัน ข้อเสียของวิธีนี้ คือ อนุมูล $DPPH^{\cdot}$ มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกายจึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ อนุมูล $DPPH^{\cdot}$ แสดงให้เห็นว่าอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ ไนโตร ทั้ง ๆ ที่สารต้านอนุมูลนั้นมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สีอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ จางลงได้อีกด้วย (Huang et al., 2006)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนิยมใช้วิธี DPPH เพื่อศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติ เช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) และสารหอม (absolute) จากพืช 3 ชนิด ได้แก่ กระเพรา ไพล และขิง โดยการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 3 ชนิด คือ trolox, quercetin และ keampferol (นิติมา วงศ์วัฒนานุกุล และคณะ, 2549) หรือการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากกากเมล็ดสบู่ดำ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลบริสุทธิ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และ 60 เปอร์เซ็นต์ นำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin–Ciocalteu Reagent (FCR) และหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (กัลยาณี วัฒนธีรางกูร, 2551)

2.3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS (ABTS radical cation decolorization assay)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS
(ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/ไฟล์:ABTS.png)

เป็นการวัดความสามารถในการลดลงของสีอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ มีปริมาณลดลง ซึ่งทำให้สีจางลง สามารถหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ (Chaitana et al., 2009)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ยังเป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติเช่นเดียวกับวิธี DPPH เช่น งานวิจัยของ จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล (2549) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชจากวงศ์ Zingiberaceae 5 ชนิด ได้แก่ ข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว ไพล และไพลดำ ที่สกัดด้วยน้ำ แอลกอฮอล์ และ continuous extraction แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เปรียบเทียบกับ Trolox (milligram of trolox per gram of sample) เป็นต้น

2.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (ferric ion reducing antioxidant power assay)

วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ (ดังสมการ 2.4) ซึ่ง $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเทตบัฟเฟอร์และสารละลายเฟอร์ริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ปริมาณของ $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)

$$[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+} \xrightarrow{\text{antioxidant}} [Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+} \quad \text{.....สมการ 2.4}$$

ข้อดีของวิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อยไม่แพงและสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสีย คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (ปรียนันท์ บัวสด, 2549)

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องของ จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย และคณะ (2553) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตัวอย่างอาหารตามตำรับพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ ได้แก่ แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง ยำใบบัวบก คั่วผำกับหมู ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP

2.4 ตัวอย่างพืช

2.4.1 ใบชา (Tea leaves)

ภาพที่ 2.3 ใบชา (Tea leaves)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Camellia sinensis (L.) Kuntze* จัดอยู่ในวงศ์ Camilliaceae มีชื่อสามัญ คือ ใบชาชา จัดเป็นเครื่องดื่มที่นิยมมากที่สุดในโลก/มีถิ่นกำเนิดมาจากแคว้นอัสสัมของประเทศอินเดีย และตอนใต้ของจีน ประเทศที่ผู้คนนิยมดื่มชามาก ได้แก่ ประเทศอังกฤษ จีน ญี่ปุ่น และไทย เป็นต้น การทำชาจะใช้ส่วนยอดและใบอ่อนของต้นชา กรรมวิธีในการผลิตชามักใช้วิธีการคั่วด้วยมือ ส่วนชาชั้นรองจะเก็บใบที่ต่ำกว่าใบยอด และอบแห้งด้วยเครื่องอบ ใบชาที่ซื้อขายกันในท้องตลาด มี 3 ชนิดคือ ชาจีน (tea) ชาเขียว (green tea) และ ชาฝรั่ง (black tea) ทั้งหมดได้จากใบชาชนิดเดียวกัน แต่กรรมวิธีผลิตต่างกัน ดังนี้

ตัวอย่างใบชาที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่มของชาจีน ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้ เก็บใบอ่อนมาคั่วให้แห้งโดยใช้มือเคล้าบนกระทะ หรืออบด้วยเครื่องอบ ชาจีนชั้นดีจะมีสีเหลืองทอง แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชากลิ่น และชาคอ โดยที่ชากลิ่นจะมีกลิ่นหอมชวนดื่มมากกว่าชาคอ ส่วนชาคอเวลาดื่มจะทำให้ชุ่มคอ กรรมวิธีผลิตชาเขียว จะนำใบชามาลวกในน้ำเดือดก่อน แล้วแช่น้ำเย็นทันทีเพื่อหยุดการทำงานของเซลล์และสี จากนั้นจึงนำไปคั่ว จะได้ชาที่มีสีเขียวสดใส (บางตำรับใช้การนึ่งก่อนแล้วจึงนำมาอบให้แห้ง) เช่น ชาเขียวญี่ปุ่น ส่วนชาฝรั่งจะก็บใบชาสดมากองสุมกัน เพื่อให้เกิดขบวนการหมัก นำมาขยี้ให้เซลล์แตก จากนั้นนำไปคั่วให้แห้ง จะให้กลิ่นรสที่ต่างกัน (สมพร ภูติยานันท์, 2542)

จากการศึกษาวิจัยถึงสรรพคุณของชาในปัจจุบันมีมาอย่างต่อเนื่อง ทำให้สามารถทราบได้ว่าในชามีสารประกอบที่สำคัญ เช่น Catechins, Polyphenols, Caffeine, Theanine, Saponin เป็นต้น สารออกฤทธิ์ในกลุ่ม Polyphenol และCatechin มีสรรพคุณที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพคือ ทำให้ร่างกายสดชื่น เพราะมีการกระตุ้นขบวนการขับถ่ายสารพิษออกจากร่างกาย ช่วยย่อยอาหาร ละลายไขมัน ป้องกันโรคกระเพาะอาหารที่เรื้อรัง ช่วยป้องกันและลดคลอเลสเตอรอลได้ดี สามารถป้องกันและต่อต้านการเกิดมะเร็ง (anticarcinogenic) สามารถลดความอ้วนได้ เป็นต้น นอกจากนี้สารฟลาโวนอยด์ในชาเขียวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไมโคพลาสมา และยีสต์ได้หลายชนิด สาร Catechins ในชาสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งไวรัสได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร Catechins

หากมีความเข้มข้นถึง 200 g/ml จะสามารถยับยั้งการจำลองตัวของเชื้อไวรัสไข้หวัดในเซลล์ MDCK (Madin-Darby canine kidney cell) ได้ (ณัฐธิดา สิริโยธิน, 2549)

2.4.2 ใบหม่อน

ภาพที่ 2.4 ใบหม่อน (mulberry leaves)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus alba* L. จัดอยู่ในวงศ์ Moraceae มีชื่อสามัญ คือ white mulberry, mulberry ลักษณะทั่วไปเป็นไม้พุ่มขนาดย่อม ใบเดี่ยวออกสลับสีเขียวเข้ม ขอบใบยักเป็นฟันเลื่อย ผิวใบสากคาย ดอกเป็นดอกช่อลักษณะเป็นแท่ง ดอกตัวผู้ และตัวเมียแยกกัน ดอกย่อยมี 4 กลีบ ออกตามซอกใบที่ปลายกิ่ง ผลเป็นผลรวม ออกเป็นพวงกลมเล็ก เมื่อสุกมีสีม่วงแดงถึงดำ หม่อนเป็นพืชดั้งเดิมของจีนและพบปลูกมากในที่ราบของประเทศอินเดียและบริเวณเทือกเขาหิมาลัยที่สูงตั้งแต่ 3,300 เมตรขึ้นไป สรรพคุณ คือ ช่วยลดความดันโลหิต ลดระดับคลอเลสเตอรอล มีแร่ธาตุและวิตามินที่มีประโยชน์แก่ร่างกาย ลูกหม่อนมีรสชาติอร่อยมีปริมาณวิตามินซีสูง สำหรับใบหม่อนสามารถรับประทานได้เหมือนผักทั่วไปและผลิตเป็นชาได้ ใบหม่อนมีสารประกอบกลุ่มฟลาโวนสเตอรอยด์ กรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ (Kimura et al., 1995) ใช้เลี้ยงหนอนไหม และมีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรจีนเพื่อรักษาโรคความดัน และช่วยรักษาโรคเบาหวาน (Asano et al., 2001) รักษาไข้ ป้องกันตับ บำรุงดวงตา และความดันโลหิตต่ำ (Zhishen et al., 1999) ในประเทศเกาหลี และประเทษญี่ปุ่นมีการนำใบหม่อนมาเป็นอาหารให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Kim et al., 2003) Doi and Fujimoto (2000) ได้ทำการศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในใบหม่อน เมื่อสกัดใบหม่อนด้วย 1-butanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการรับประทานชาใบหม่อนจึงเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้น

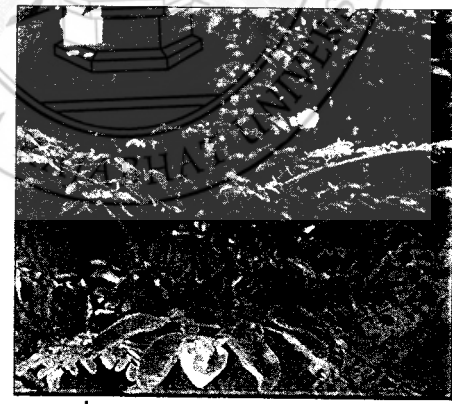
จากการศึกษางานวิจัยของ สุรพจน์ วงศ์ใหญ่และรัตติยา สำราญสกุล จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ได้วิเคราะห์หาสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ ที่มีสรรพคุณทางเภสัชศาสตร์ พ.ศ. 2543–2545 พบว่า ในใบหม่อนมีสารเควอซิติน (quercetin) และเคมเฟอรอล (kaempferol) ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีคุณสมบัติป้องกันการดูดซึมของน้ำตาลในลำไส้เล็ก ทำให้กระแสเลือดหมุนเวียนดี และหลอดเลือดแข็งแรง ยับยั้งการเกิดสารก่อมะเร็งเม็ดเลือด มะเร็ง

เต้านม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ลดอาการแพ้ต่างๆ และยืดอายุเม็ดเลือดขาว และสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้เล็กและไม่เปลี่ยนแปลงสภาพ นอกจากนั้นยังพบสารโพลีฟีนอล (polyphenols) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยพบมากในใบหม่อนส่วนยอดมากกว่าใบอ่อน และพบในใบอ่อนมากกว่าใบแก่

และจากการศึกษางานวิจัยของวิโรจน์ แก้วเรือง (2010) พบว่า ใบหม่อนมีสาร Deoxynojirimycin ซึ่งมีผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือด มีสารกาบา (GABA-gamma amino butyric acid) มีคุณสมบัติในการลดความดันโลหิต และสาร Phytosterol มีประสิทธิภาพในการลดระดับคอเลสเตอรอล

สิริพรรณ ตั้งสิริกุลชัย และอัญชลี ทิมเสถียร (2545) นักศึกษาภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พบว่า ชาใบหม่อนอบแห้งมีปริมาณสารโพลีฟีนอลโดยรวมน้อยกว่าใบหม่อนสด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดออกซิไดซ์หรือโพลีเมอร์ไรซ์ของสารประกอบฟีนอลลิก ขณะผ่านกระบวนการผลิตมีการนำน้ำชาที่ได้จากชาใบหม่อนไปทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอไรเซชั่น (pasteurization) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการพาสเจอไรซ์ที่ระดับนี้สามารถทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคได้นานอย่างน้อย 15 วัน การชงชาใบหม่อนด้วยน้ำร้อน 80–90 องศาเซลเซียส จะรักษาปริมาณสารออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด โดยน้ำชาที่ชงทิ้งไว้นาน 60 นาที จะมีสารเควอซิตินและเคมเฟอรอลมากกว่าการชงชาใบหม่อนในระยะเวลาสั้น ๆ แต่ปริมาณโพลีฟีนอลไม่แตกต่างกัน อีกทั้งการชงชาใบหม่อนด้วยน้ำร้อนจะทำให้สารสำคัญละลายออกมาได้ดีกว่าการชงด้วยน้ำเย็น ดังนั้นถ้าจะดื่มชาใบหม่อนควรชงชาใบหม่อนไว้นาน อย่างน้อย 6 นาที ก่อนดื่มจะได้คุณค่าทางโภชนาการและเภสัชวิทยา

2.4.3 มะรุม



ภาพที่ 2.5 ใบมะรุม (Moringa leaves)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Moringa oleifera* Lam. จัดอยู่ในวงศ์ Moringaceae มีชื่อสามัญคือ drum stick หรือ horse radish ชื่อทั่วไป คือ มะค้อนก้อม (ภาคเหนือ), มะรุม (ภาคกลาง), ผักอีฮุม (ภาคอีสาน) เป็นไม้ยืนต้น มีใบสลับแบบขนนก 2 หรือ 3 ชั้น ลักษณะใบเป็นรูปไข่หัวกลับรูปคู่ขนาน ใบมะรุมเต็มไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและสารอาหารมากมาย เป็นแหล่งของสารเบต้าแคโรทีน

วิตามินซี โปรตีน ธาตุเหล็ก (Fe) และโพแทสเซียม (K) ใบมะรุมสามารถรับประทานสด นำไปปรุงอาหาร หรือจะบดเป็นผงละเอียดสามารถเก็บได้นานเป็นเดือน ส่วนต่าง ๆ ของต้นมะรุมถูกนำไปใช้เป็นยาสมุนไพรเพื่อรักษาโรคต่าง ๆ (Verma et al., 2009)

จากการศึกษาของจุไพรัตน์ เกิดดอนแฝก (2552) พบสารสำคัญในเปลือกต้นมะรุมเป็นสารกลุ่ม Alkaloid ส่วนในเมล็ดมีสาร Benoid ส่วนดอกใช้ต้มทานเพื่อเจริญอาหารและบำรุงโลหิต ส่วนรากทำเป็นยาชงดื่มขับปัสสาวะหรือใช้พอกเพื่อลดการอักเสบของบาดแผล ส่วนของน้ำยางใช้ผสมกับนมดื่มแก้ปวดศีรษะ ส่วนใบมีวิตามินซีสูง ใช้ทานแก้เลือดออกตามไรฟันและชะลอความแก่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าในใบมีสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดน้ำตาลและลดคอเลสเตอรอลในเลือด

การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของใบ ฝัก และเปลือกต้นของมะรุม พบว่า สารสกัดจากใบมะรุมและฝักมะรุม มีสารกลุ่ม tannins, phenolic compounds และ flavonoids (รัตติยา มากทรัพย์ และศศิวิมล วิชัยรัมย์, 2552) ใบมะรุมสามารถป้องกันการเกิดเนื้องอก (Murakami et al., 1998) ใช้รักษาอาการปวดท้อง อาการบวม โรคหืด และไอ (Anwar et al., 2007) มีฤทธิ์ควบคุมการเกิดโรคหลอดเลือดอุดตัน และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Chumark et al., 2008) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในใบมะรุมคือสารประกอบฟีนอลิกและฟลาวอนอยด์ เช่น crypto-chlorogenicisoquercetin และ astragalin (Vongsak et al., 2012) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นที่ทราบดีว่ามีกิจกรรมต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Verma et al., 2009) ต้านการอักเสบ (Soromou et al., 2012) และโรคความดัน (Gasparotto et al., 2011) ดังนั้นจึงมีการนำใบมะรุมมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางยาต่าง ๆ มากมาย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือ

- เครื่องเซนตริฟิวจ์
- เครื่องยูวี วิสิเบิลสเปกโตรเมทรี
- สารละลาย folin-ciocalteau's reagent
- สารลาย DPPH (2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl)
- สารละลาย Gallic acid
- ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
- Trolox

3.2 กลุ่มตัวอย่าง

ใบชา ใบหม่อนและใบมะรุมในพื้นที่จังหวัดสงขลา

3.3. การดำเนินงานวิจัย

3.3.1. การเตรียมตัวอย่างพืช

ใบชาแห้ง 100 เปอร์เซ็นต์ตราสามม้า ผลิตโดยบริษัท ใบชาสามม้าจำกัด กรุงเทพมหานคร ซื้อจากร้านค้าทั่วไป ใบหม่อน เก็บใบสดจากตำบลบ่อยาง อำเภอเมืองจังหวัดสงขลา และใบมะรุม เก็บใบสดจากตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา

3.3.2. การสกัดตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างใบหม่อนและใบมะรุมสด มาล้างด้วยน้ำสะอาด ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ ใส่ลงในถาด (ภาชนะที่ทนความร้อน) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (อบจนกระทั่งใบแห้งและกรอบ) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังอบบันทึกค่าที่ได้

นำตัวอย่างใบชา ใบหม่อน และใบมะรุมแห้งไปบดให้ละเอียดเก็บไว้ในภาชนะที่แห้งสะอาดปิดฝาให้สนิท นำไปใช้สำหรับทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนที่ใช้ในการสกัดชา

ชนิดตัวอย่าง	อัตราส่วนผสม (กรัม)
ใบชา	1.0
ใบหม่อน	1.0
ใบมะรุม	1.0
ใบชา+ใบหม่อน	1.5:0.5
	1.0:1.0
	0.5:1.5
ใบชา+ใบมะรุม	1.5:0.5
	1.0:1.0
	0.5:1.5
ใบหม่อน+ใบมะรุม	1.5:0.5
	1.0:1.0
	0.5:1.5
ชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม	1.0:1.0:1.0
	0.5:0.5:2.0
	1.5:1.0:0.5
	2.0:0.5:0.5
	0.5:1.5:1.0
	0.5:2.0:0.5
	1.0:0.5:1.5

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

3.3.3 การสกัดชาที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (ดังตารางที่ 3.1) ใส่ในซองชานำไปสกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง หากมีตะกอนให้นำสารสกัดที่ได้ไปเซนตริฟิวจ์ที่ 4000 rpm เป็นเวลา 10 นาที วัดปริมาตรของสารละลายส่วนใสที่ได้บรรจุใส่ขวดเก็บตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนฉลากปิดไว้ข้างขวด เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content (TPC)) และวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS)

3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin–ciocalteu's ตามวิธีการของ Chan et al, (2009) ปิเปตสารสกัดตัวอย่าง 300 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-ciocalteu's 1.5 มิลลิลิตร และสารละลาย $NaCO_3$ (7.5% w/v) 1.2 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรโดยใช้สารสะลาย Gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน

3.3.5 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ตามวิธีการของ Bua-in et al, (2009) ปิเปตสารสกัดตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl 800 ไมโครลิตร (0.04 g/50 mL methanol) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรโดยใช้สารละลาย Ascorbic acid เป็นสารละลายมาตรฐานหาเปอร์เซ็นต์ (%) การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0-A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH+สารตัวอย่าง

3.3.6 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ตามวิธีการของ Choi *et al*, (2008) เตรียมสารละลาย ABTS โดยใช้ ABTS เข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 16 ชั่วโมง นำสารละลาย ABTS ที่เตรียมไว้ทำการเจือจางด้วยเมทานอลให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.70±0.01 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างมา 500 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 7 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรโดยใช้สารละลาย Trolox เป็นสารละลายมาตรฐานหาเปอร์เซ็นต์ (%) การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{ABTS radical scavenging (\%)} = [(A_0-A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS

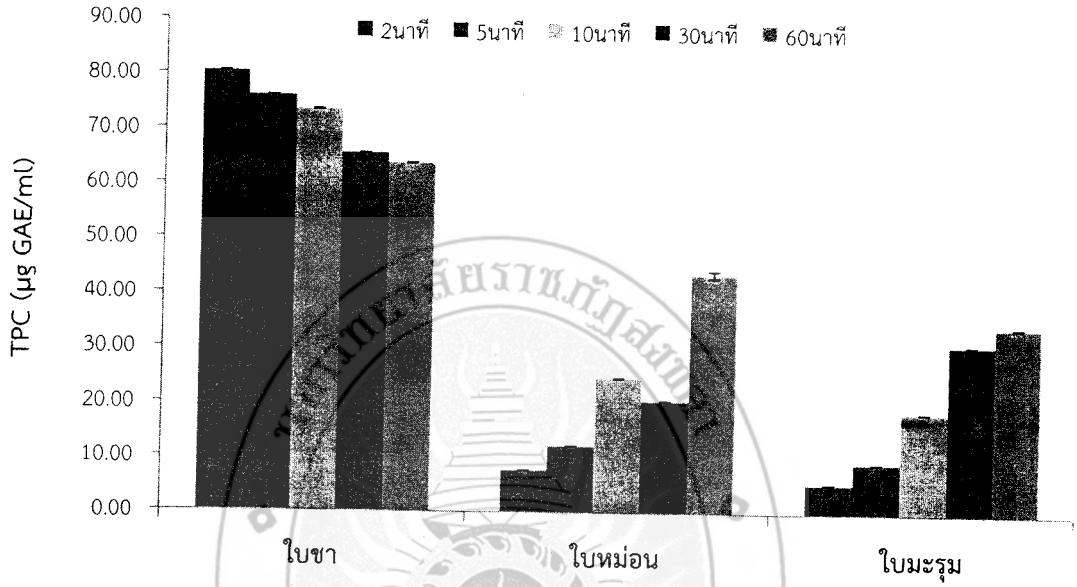
A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS+สารตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล/ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

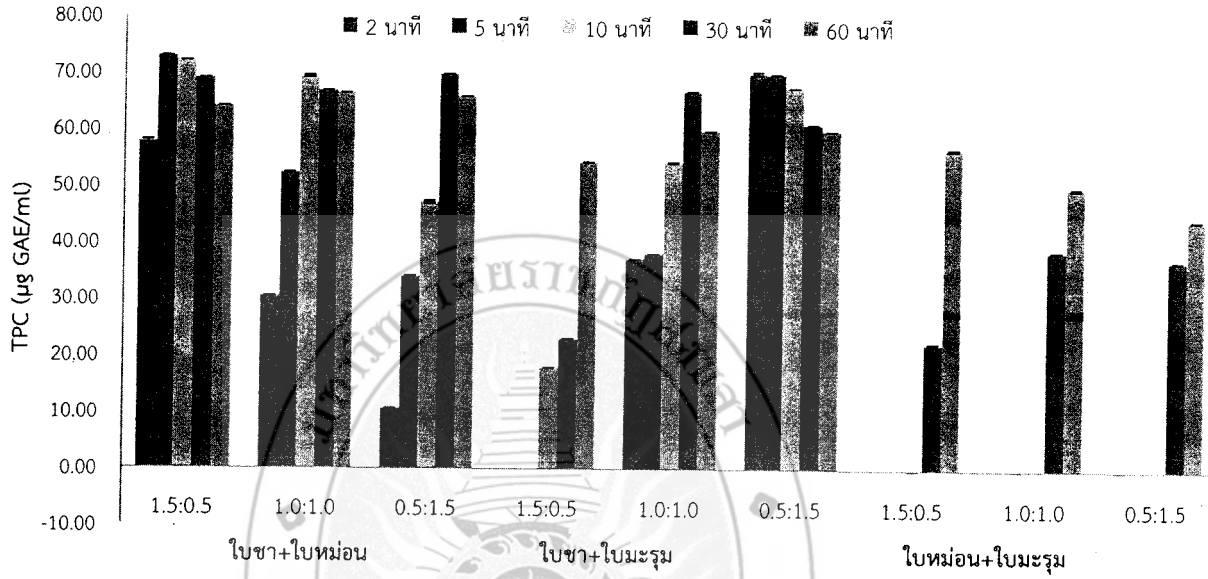
4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม



ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบชา ใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

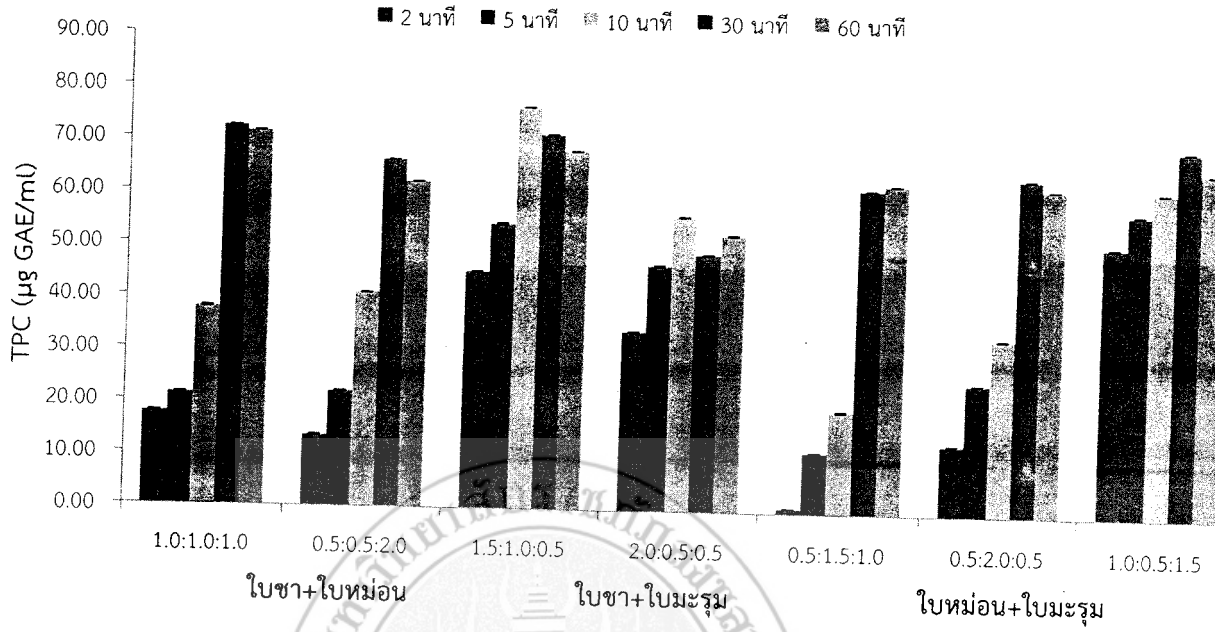
จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบชา ใบหม่อนและใบมะรุมโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดใบชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เวลา 2 นาทีเท่ากับ 80.45±0.04 µg/GAE/ml ใบหม่อนกับใบมะรุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 43.71±0.66 และ 34.34±0.07 µg GAE/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) โดยเวลาที่สกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบหม่อนกับใบมะรุม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของบรรลือ สังข์ทอง และคณะ (2551) ได้ศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วยเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาการสกัด 20-40 นาที พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดที่เวลา 40 นาทีเท่ากับ 294.529 µg GAE/g แต่สารสกัดใบชาเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดปริมาณฟินอลิกรวมมีค่าลดลง เนื่องจากการสกัดชาพืชสมุนไพรในน้ำร้อนเป็นเวลานานอาจส่งผลให้สารสำคัญบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถูกทำลายไป (Hidalgo *et al.*, 2010) ปริมาณฟินอกลิกรวมของสารสกัดใบชาที่เวลาต่าง ๆ มีค่ามากกว่าสารสกัดใบหม่อนและใบมะรุม ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Rice-Evans and Miller, (1996) พบว่าผลของสารสกัดใบชามี

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด และยังพบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดใบหม่อนและใบมะรุมอีกด้วย ดังนั้นสารสกัดจากใบชา ใบหม่อนและใบมะรุมน่าจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งที่พบมากในใบชา และพืชสมุนไพรบางชนิด



ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วน 1.5:0.5 1.0:1.0 และ 0.5:1.5 w/w ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดผสมของใบชา+ใบหม่อนอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w ที่เวลาสกัด 5 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ 72.97±0.00 µg GAE/ml สารสกัดผสมของใบชา+ใบมะรุมอัตราส่วน 0.5:1.5/w/w ที่เวลาสกัด 2 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ 70.07±0.28 µg GAE/ml ส่วนสารสกัดผสมของใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.0:0.5 w/w ที่เวลาสกัด 60 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ 56.65±0.14 µg GAE/ml (ภาพที่ 4.2) เนื่องจากใบชามีปริมาณสารประกอบฟินอลิกรวมมากกว่าใบหม่อนและใบมะรุม (ภาพที่ 4.1) เมื่อนำใบชามาผสมกับใบหม่อนหรือใบมะรุม ทำให้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกมีค่าเพิ่มขึ้น แต่หากนำใบหม่อนกับใบมะรุมมาผสมกันปริมาณสารประกอบฟินอลิกจะหายไป แต่ถ้าเพิ่มเวลาในการสกัดตั้งแต่ 30 นาทีเป็นต้นไป ปริมาณสารประกอบฟินอลิกจะเพิ่มขึ้น



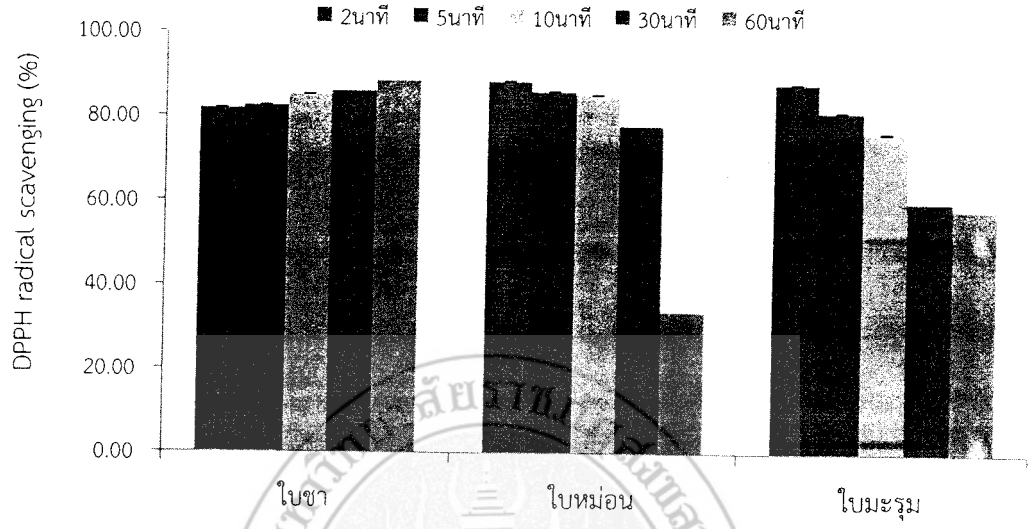
ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วน 1.0:1.0:1.0, 05:0.5:2.0, 1.5:1.0:0.5, 2.0:0.5:0.5, 0.5:1.5:1.0, 0.5:2.0:0.5 และ 1.0:0.5:1.5 w/w ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม อัตราส่วน 1.5:1.0:0.5 w/w ที่เวลาสกัด 10 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ 76.59±0.00 µg GAE/ml โดยส่วนใหญ่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดจะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้สกัด (ภาพที่ 4.3)

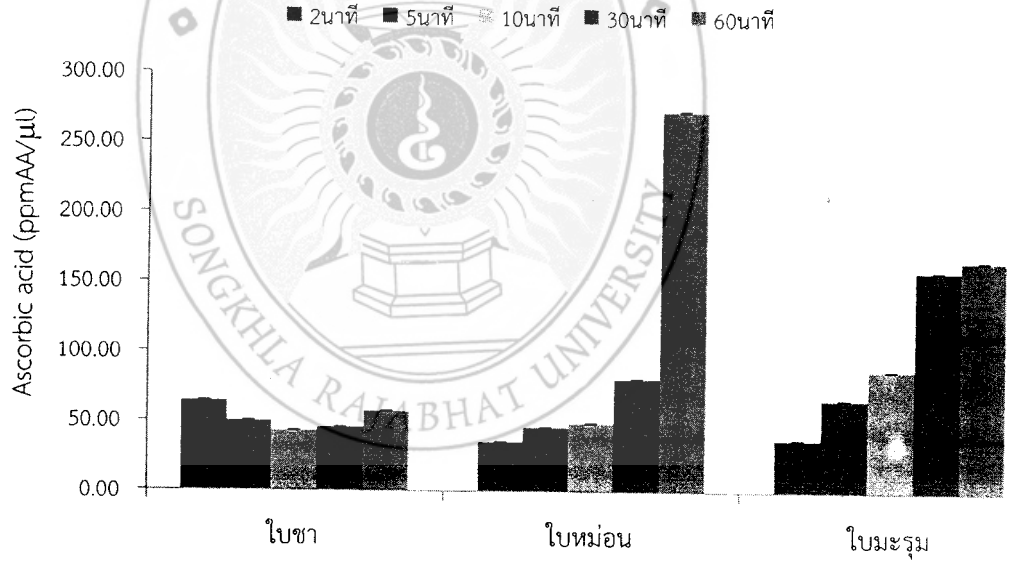
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช วิธีการที่ใช้ในการทดลองและสารมาตรฐานที่ใช้ (Huda-Faujan et al., 2009) ซึ่งจากการทดลองของ Rice-Evans and Miller (1996) พบว่า สารสกัดผสมในอัตราส่วนต่าง ๆ จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแตกต่างกันตามอัตราส่วนของพืชและเวลาที่ใช้ในการสกัด ซึ่งสารสกัดผสมที่มีอัตราส่วนของใบชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดผสมที่มีอัตราส่วนของใบหม่อนและใบมะรุม เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากที่สุดในใบชา และสารสกัดผสมทุก ๆ อัตราส่วนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด

4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์โดยวิธี DPPH

(A)



(B)



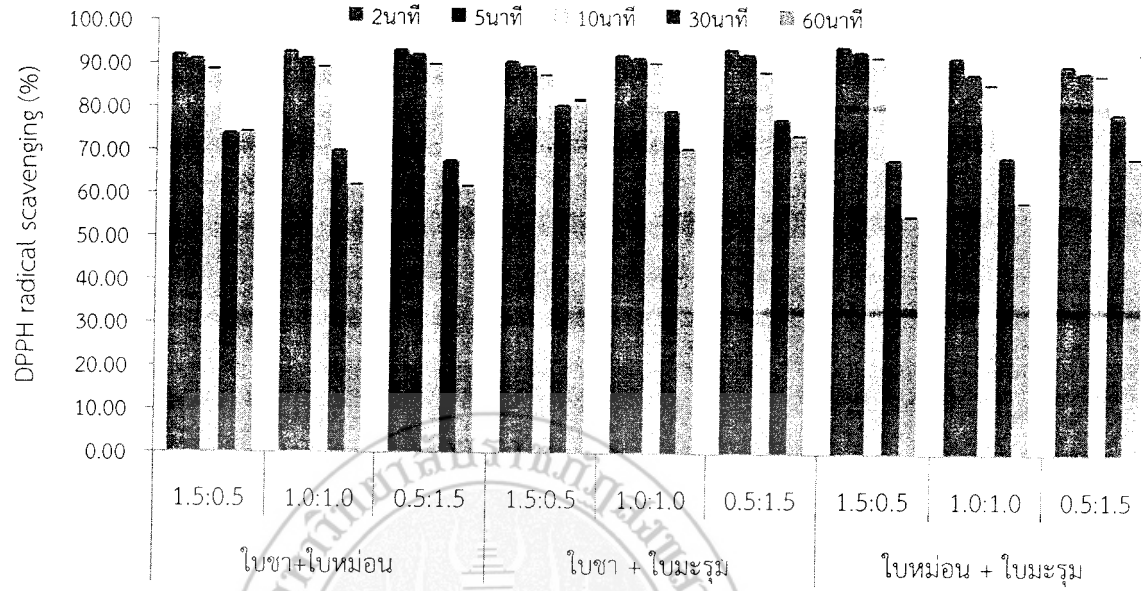
ภาพที่ 4.4 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppmAA/µl) ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

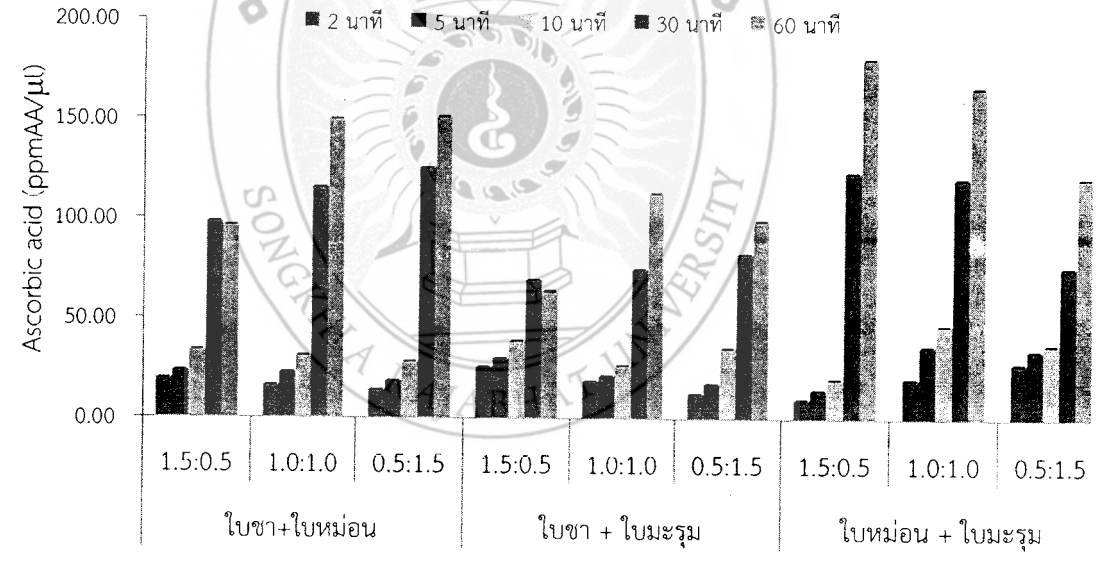
จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุม ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดใบชามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 88.58±0.04 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 35.00±0.01 ppmAA/μl) ใบหม่อนกับใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที มีค่าเท่ากับ 88.41±0.01 และ 87.98±0.07 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 35.74±0.04 และ 37.59±0.01 ppmAA/μl) ตามลำดับ (ภาพ 4.4 A และ B) ผลการทดลองข้างต้นให้ผลใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Moyo et al. (2012) ที่ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดใบมะรุมจากการสกัดด้วยน้ำซึ่งมีค่าเท่ากับ 83.56 เปอร์เซ็นต์และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jungmin et al. (2013) ที่ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH/ของสารสกัดใบชาและใบหม่อน จากการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 66.65 และ 82.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

(A)



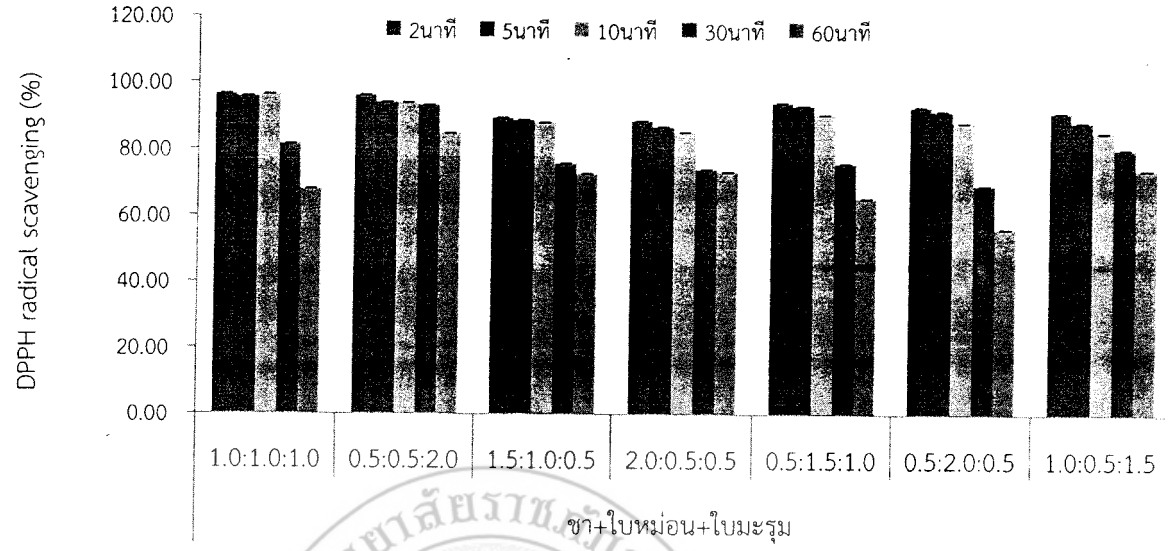
(B)



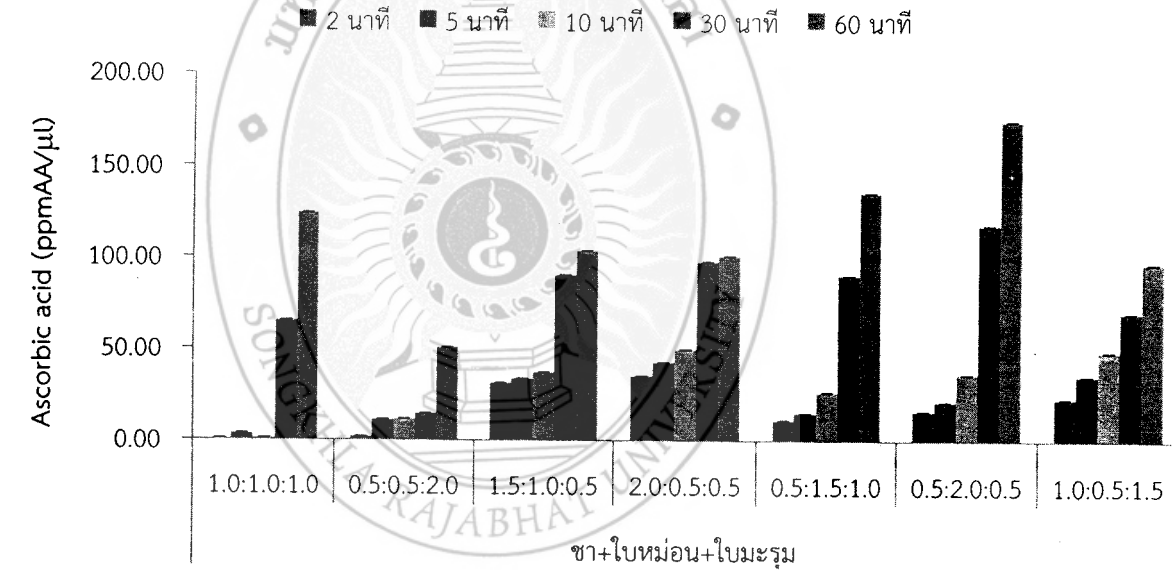
ภาพที่ 4.5 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppm AA/µl) ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(A)



(B)



ภาพที่ 4.6 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Ascorbic acid (ppmAA/µl) ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

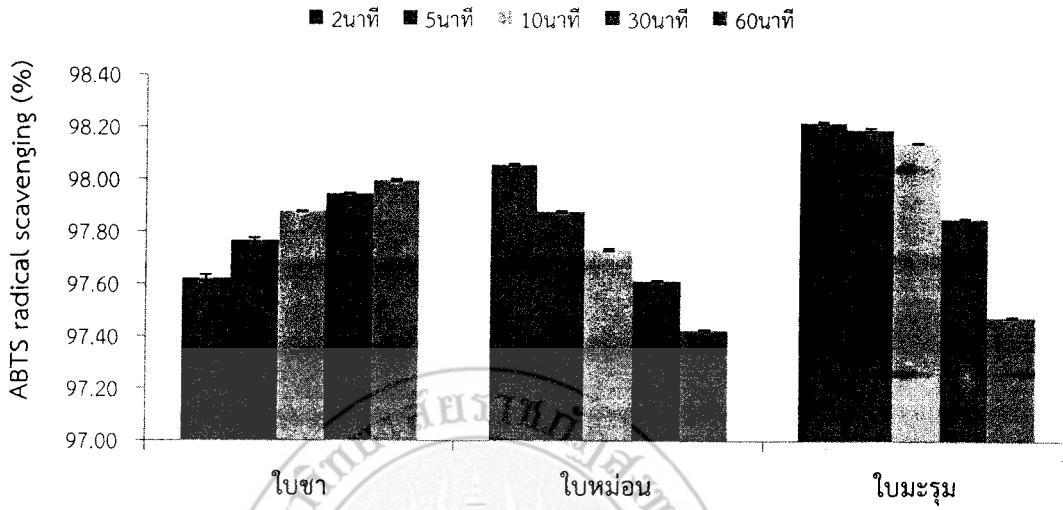
จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วน 1.5:0.5, 1.0:1.0 และ 0.5:1.5 ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาทีพบว่า สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อนอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมีค่าเท่ากับ 93.36±0.03 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 14.22±0.02 ppmAA/μl) สารสกัดผสมใบชา+ใบมะรุมอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมีค่าเท่ากับ 93.70±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 12.70±0.02 ppmAA/μl) ส่วนสารสกัดผสมใบหม่อน+ใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีค่าเท่ากับ 55.18±0.01 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 9.67±0.01 ppmAA/μl) โดยสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุม ทุก ๆ อัตราส่วน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที (ภาพที่ 4.5)

และจากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH/ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม/ในอัตราส่วน 1.0:1.0:1.0 0.5:0.5:2 1.5:1.0:0.5 2.0:0.5:0.5 0.5:1.5:1.0 0.5:2.0:0.5 และ 1.0:0.5:1.5 w/w ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาทีพบว่าสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม อัตราส่วน 1.0:1.0:1.0 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่าเท่ากับ 96.51±0.00เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 0.52±0.01 ppmAA/μl) โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที (ภาพที่ 4.6 A และ B) จากผลการทดลองปริมาณ ascorbic ไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากปริมาณ ascorbic สูงสุดคือ สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม/ในอัตราส่วน 0.5:2.0:0.5 ที่เวลาสกัด 60 นาที 174.56±0.01 ppmAA/μl แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 56.48±0.01 เปอร์เซ็นต์

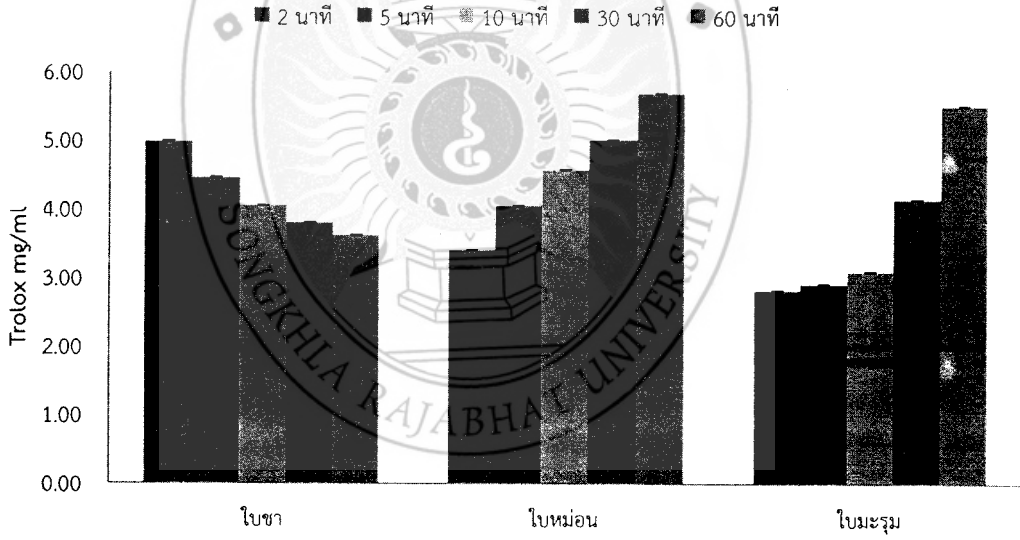
ส
5A1.22A
ง115ส

4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์โดยวิธี ABTS

(A)



(B)



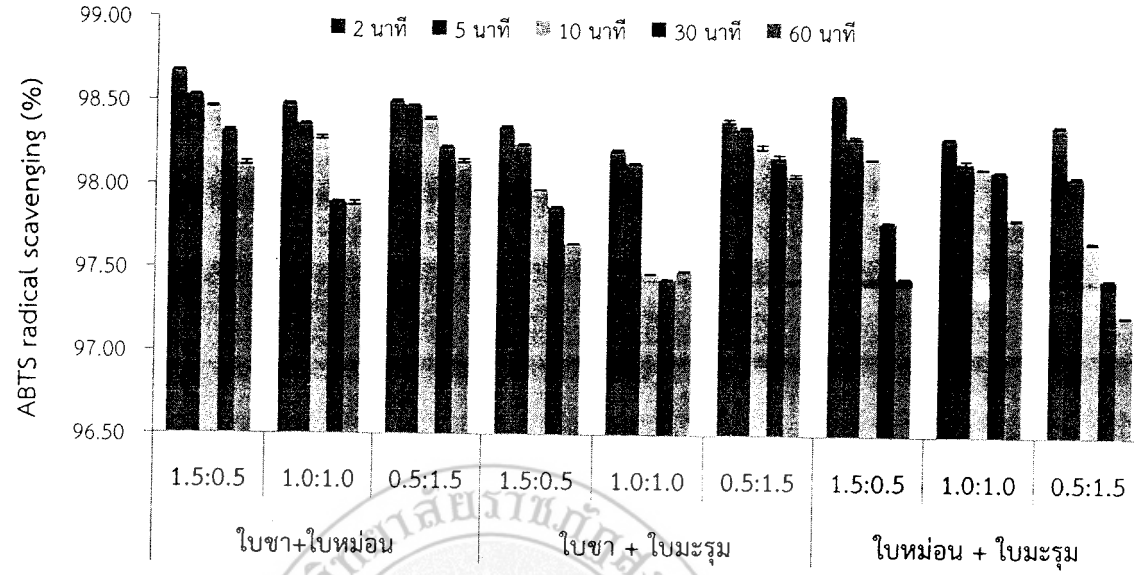
ภาพที่ 4.7 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/mL) ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

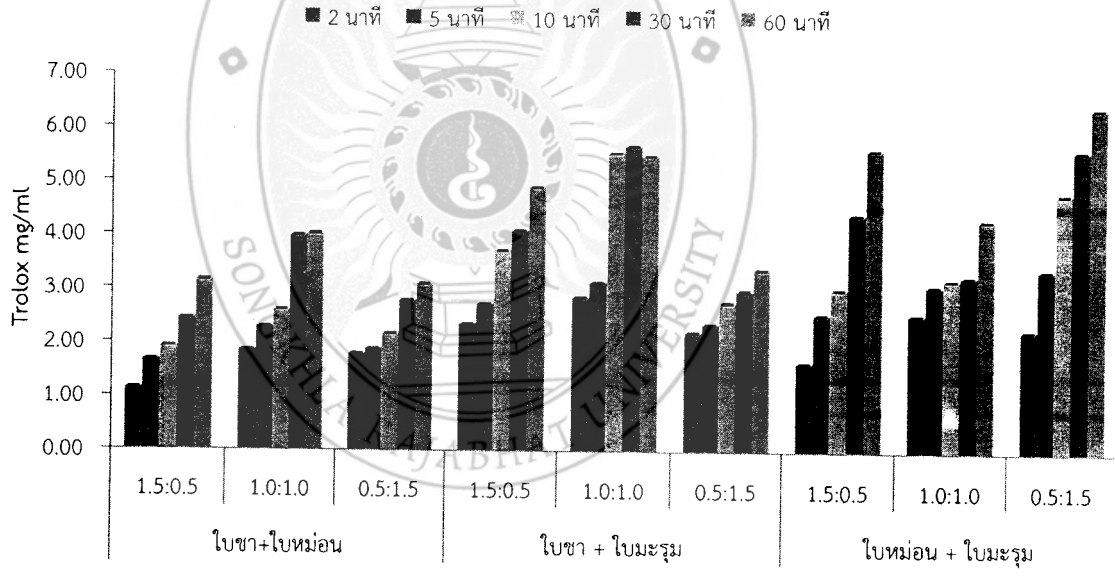
จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดใบชาใบหม่อนและใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาทีพบว่า สารสกัดใบชามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 98.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.62±0.00 mg/ml) ใบหม่อนกับใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที มีค่าเท่ากับ 98.06±0.00 และ 98.22±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.41±0.00 และ 2.82±0.00 mg/ml) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 A และ B) นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบชา ใบหม่อน และใบมะรุมมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Abd El-Moneim et al. (2011) พบว่าสารสกัดใบชาด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 88.5±0.37 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดใบหม่อนด้วยน้ำ เอทานอล และน้ำ:เอทานอล (50/50 v/v) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 55.43±4.30,/44.93±2.00 และ 41.80±0.50/เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Danijela et al., 2013) และสารสกัดใบมะรุมด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 72.89 เปอร์เซ็นต์ (Moyo et al., 2012)

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

(A)



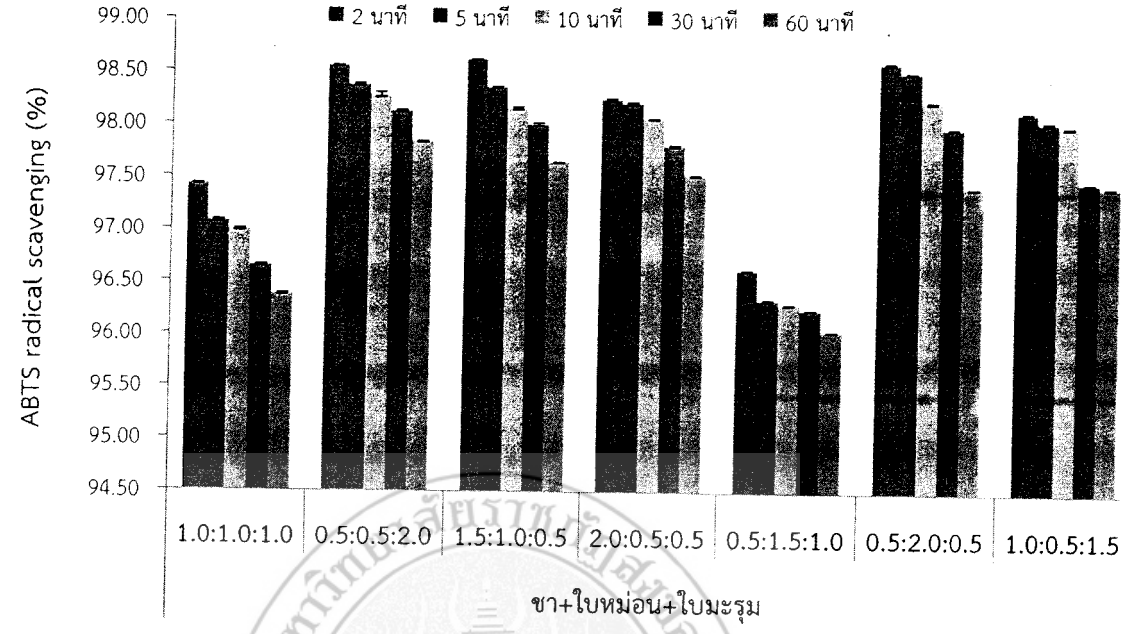
(B)



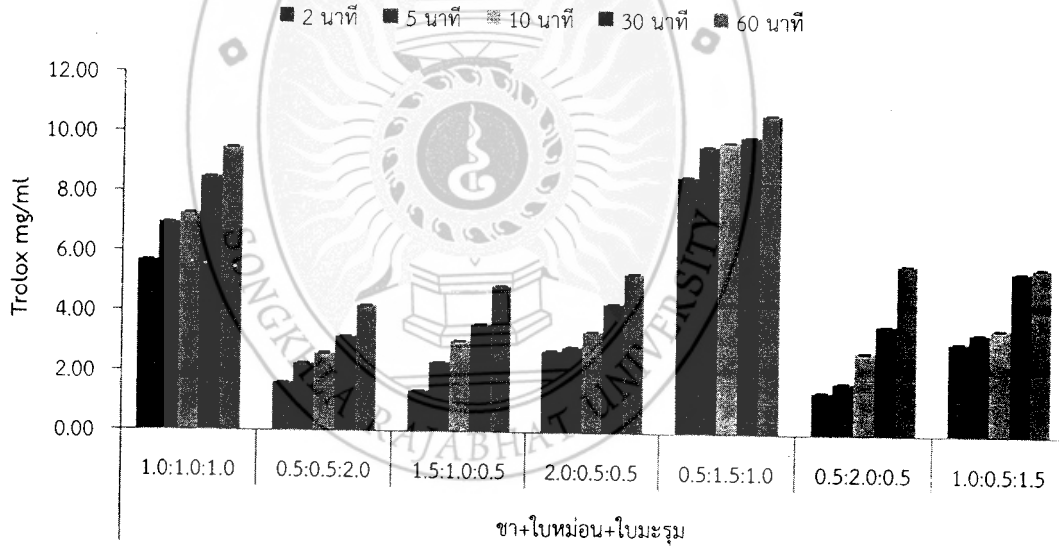
ภาพที่ 4.8 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/mL) ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุมและใบหม่อน+ใบมะรุมในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(A)



(B)



ภาพที่ 4.9 (A) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(B) แสดงปริมาณ Trolox (mg/mL) ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาที จากการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) โดยนำเสนอค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน ใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุมที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาทีพบว่า สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในอัตราส่วน 1.5:0.5/w/w/มีค่าเท่ากับ/98.68±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.15±0.00 mg/ml) สารสกัดผสมใบชา+ใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในอัตราส่วน/0.5:1.5/w/w มีค่าเท่ากับ/98.39±0.01/เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 2.20±0.01 mg/ml) สารสกัดผสมใบหม่อน+ใบมะรุม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีค่าเท่ากับ 98.64±0.01 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.65±0.00 mg/ml) โดยสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อนใบชา+ใบมะรุม และใบหม่อน+ใบมะรุม ทุกๆ อัตราส่วน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที (ภาพที่ 4.8 A และ B)

และจากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS/ของสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม ที่เวลา 2 5 10 30 และ 60 นาทีพบว่าสารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม อัตราส่วน/1.5:1.0:0.5/w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่าเท่ากับ/98.62±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.37±0.00 mg/ml) โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที (ภาพที่ 4.9 A และ B) จากผลการทดลองปริมาณ Trolox ไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสะโดยวิธี DPPH เนื่องจากปริมาณ Trolox สูงสุดคือ สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุม/ในอัตราส่วน 0.5:1.0:1.0 ที่เวลาสกัด 60 นาที 10.69±0.01 mg/ml แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 96.05±0.003 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นจากการทดลอง พบว่า สารสกัดใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม ในอัตราส่วนต่างๆ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสารสกัดใบหม่อนและใบมะรุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแปรผกผันกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้นแต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อทำการสกัดเป็นเวลานานขึ้น การสกัดชาด้วยพืชสมุนไพรในน้ำร้อนเป็นเวลานานส่งผลให้สารสำคัญบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถูกทำลายไป (Hidalgo et al., 2010) ดังนั้นในการชงชาใบหม่อนและใบมะรุมเพื่อให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดจึงไม่ควรชงที่เวลานาน ส่วนสารสกัดใบชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดใบหม่อนและใบมะรุม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อทำการสกัดเป็นเวลานานขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบชาที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นใบชาแห้งสำเร็จรูป ซึ่งจากผลงานวิจัยของพรรัตน์ สินชัยพาณิชย์ (2011) พบว่า ชนิดหรือคุณภาพของใบชาที่ใช้มีผลต่อความแตกต่างขององค์ประกอบสำคัญทางเคมีที่สกัดได้ โดยการแช่ใบชาสำเร็จรูปในน้ำร้อนเป็นเวลานาน จะทำให้ชามีสีเข้ม มีกลิ่นหอม และมีรสชาติที่เข้มข้นกว่าการแช่ในน้ำร้อนเป็นเวลาสั้น

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบชา ใบหม่อน และใบมะรุม ในอัตราส่วนต่างๆ ที่เวลา 2, 5, 10, 30 และ 60 นาที โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS สรุปได้ว่า

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content : TPC)

1. สารสกัดใบชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เวลา 2 นาทีเท่ากับ 80.45±0.04 µg GAE/ml ใบหม่อนกับใบมะรุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 43.71±0.66 และ 34.34±0.07 µg GAE/ml ตามลำดับ

2. สารสกัดผสมของใบชา+ใบหม่อนอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 72.97±0.00 µg GAE/ml สารสกัดผสมของใบชา+ใบมะรุมอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 70.07±0.28 µg GAE/ml และสารสกัดผสมของใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.0:10.5 w/w มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 56.65±0.14 µg GAE/ml

3. สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.5:1.0:0.5 w/w มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 76.59±0.00 µg GAE/ml ที่เวลา 10 นาที

การวิเคราะห์โดยวิธี DPPH (Radical-scavenging activity using DPPH assay)

1. สารสกัดใบชามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 88.58±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 35.00±0.01 ppmAA/µl) ใบหม่อนกับใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที เท่ากับ 88.41±0.01 และ 87.98±0.07 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 35.74±0.04 และ 37.59±0.01 ppmAA/µl) ตามลำดับ

2. สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อนอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 93.36±0.03 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 14.22±0.02 ppmAA/µl) สารสกัดผสมใบชา+ใบมะรุมอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 93.70±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 12.70±0.02 ppmAA/µl) และสารสกัดผสมใบใหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 55.18±0.01 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 9.67±0.01 ppmAA/µl) โดยทุกอัตราส่วนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที

3. สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.0:1.0:1.0 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด w/w เท่ากับ 96.51±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ ascorbic acid 0.52±0.01 ppmAA/µl) ที่เวลา 2 นาที

การวิเคราะห์โดยวิธี ABTS (Radical-scavenging activity using ABTS assay)

1. สารสกัดใบชามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 60 นาที เท่ากับ 98.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.62±0.00 mg/ml) ใบหม่อนกับใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที เท่ากับ 98.06±0.00 และ 98.22±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 3.41±0.00 และ 2.82±0.00 mg/ml) ตามลำดับ

2. สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อนอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 98.68±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.15±0.00 mg/ml) สารสกัดผสมใบชา+ใบมะรุมอัตราส่วน 0.5:1.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 98.39±0.01 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 2.20±0.01 mg/ml) สารสกัดผสมใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.5:0.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 98.64±0.01 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.65±0.00 mg/ml) โดยทุกอัตราส่วนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลา 2 นาที

3. สารสกัดผสมใบชา+ใบหม่อน+ใบมะรุมอัตราส่วน 1.5:1.0:0.5 w/w มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 98.62±0.00 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณ Trolox 1.37±0.00 mg/ml) ที่เวลา 2 นาที

5.2 ข้อเสนอแนะ

ชาสมุนไพรเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ซึ่งมีสรรพคุณทางยาและทางโภชนาการต่างๆ มากมาย ระยะเวลาและอัตราส่วนที่เหมาะสมแก่การชงชาสมุนไพรใบหม่อนและใบมะรุม ควรชงด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องชาเซียลเซียส ในอัตราส่วน 1-2 กรัมต่อน้ำชง 1 ถ้วย ชงชาที่เวลา 2-10 นาที เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่สารต้านอนุมูลอิสระออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด และทำให้ชามีสี กลิ่น และรสชาติ ที่เฉพาะ เช่นเดียวกันกับชาสมุนไพรเจียวกู้หลาน พบว่า การชงชาที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด คือ ชงชาด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1-2 นาที (ธนพล กิจพจน์ และคณะ, 2550)

บรรณานุกรม

กัลยาณี วัฒนธีรางกูร..(2551). **ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากกากเมล็ดสบู่ดำ.** มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

โครงสร้างทางเคมีของ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). (2550) สืบค้นเมื่อวันที่ 12 มิถุนายน 2556, จากเว็บไซต์ http://en.wikipedia.org/wiki/DPPH.

โครงสร้างทางเคมีของ ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid). (2550). สืบค้นเมื่อวันที่ 12 มิถุนายน 2556, จากเว็บไซต์ http://th.wikipedia.org/wiki/ABTS.

จุไพรัตน์ เกิดดอนแฝก..(2552).a**สมุนไพรลดความดันโลหิตสูง.** กรุงเทพมหานคร. สำนักพิมพ์ เซเว่นพรินติ้ง กรุ๊ป.

จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล, ไชยวัฒน์ ไชยสุตม, สุวรรณา เวชอภิกุล และสุนีย์ จันทร์สกาว..(2549). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยและการสกัดของพืชวงศ์/Zingiberaceae ในประเทศไทย.** กรุงเทพมหานคร : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย, ธิดารัตน์ สมดี และจิรภา เพชร์สม..(2553). **การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใน/10 อาหารพืชผักพื้นบ้านที่ปรุงสำเร็จ.** มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม (2554). **อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา,** วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1(1) : 59-70

ณัฐธิดา สิริโยธิน. (2549). **ชาเขียว ดื่มถูก ดื่มเป็น ต้านโรคหวัดยันโรคมะเร็ง.** สืบค้นเมื่อวันที่ 22 มีนาคม 2557 จาก http://www.oknation.net.

ปรียนันท์ บัวสด. (2549). **การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ของเครื่องดื่มชาโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย : มหาวิทยาลัยศิลปากร.

นิติมา วงศ์วัฒนานุกูล และคณะ..(2549)..**ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชหอมและเครื่องเทศไทย.** ผลงานวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32 : กรุงเทพมหานคร.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. (2011). **อนุมูลอิสระ (free radicals), สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants).** ค้นเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2550aจาก www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html

รัตติยา มากทรัพย์ และศศิวิมล วิชัยรัมย์. (2552). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมะรุม.** สืบค้นเมื่อวันที่ 22/มีนาคม/2557/จากเว็บไซต์ http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=41&year=2552.

วิโรจน์ แก้วเรือง. (2551). **ชาใบหม่อนเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพที่ยากจะปฏิเสธ**. สืบค้นเมื่อวันที่ 22 มีนาคม 2557 จากเว็บไซต์ http://www.gotoknow.org/blogs/posts/176052.

สมพร ภูติยานันท์ (2542). **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทยว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์แผนไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 3.aกรุงเทพมหานคร.

สุรพจน์ วงศ์ใหญ่ และรัตติยา สำราญสกุล (2545). **การวิเคราะห์หาสาระสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่มีสรรพคุณทางเภสัชศาสตร์**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต.

สิริพันธุ์ จุลกรังคะ/และคณะ (2545)./**โภชนาศาสตร์เบื้องต้น**. พิมพ์ครั้งที่a3.aสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 290.

สิริพรรณ ตั้งสิริกุลชัย และอัญชลี ทิพเสถียร. (2545)./**การศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวใบหม่อนพร้อมดื่ม**. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรคณะเทคโนโลยีการเกษตร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 40.

สุพิศราaเตชะเปรมปรีชา.a(2550).a**นานาสาระงานเคมีทำเนียบธุรกิจและผลิตภัณฑ์เคมี**. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลนนทบุรีa:aบริษัทกระแสธุรกิจจำกัด.a72–74.

สนามชัย แพนดี, ไพโชค ปัญจะ และดรุณี/ศรีชนะ. (2555). **การวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารในใบมะรุม.a**สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). **สารต้านอนุมูลอิสระ**. กรุงเทพมหานคร : พี.เอส.พริ้นท์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญรัตน์ และมาลีรักษ์/อัตต์สินทอง. (2550). **สารต้านอนุมูลอิสระ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Abd El-Moneim, M.R. AFIFY., Emad, A. SHALABY. and Hossam, S. EL-BELTAGI. (2011). Antioxidant Activity of Aqueous Extracts of Different Caffeine Products. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 (20) : 5071-5078.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. (1993) "Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging". ***Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America.***90, 7915-7922.

Anwar. F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H., (2007), *"Moringaoleifera* : a food plant with multiple medicinal uses". ***Phytother.*** **Res**. 21, 17-25.

Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., Kameda, Y., et al. (2001). "Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworm (*Bombyx mori* L.)". ***Journal of Agricultural and Food Chemistry.*** 49, 4208-4213.

Aviram. M and Eias. K. (1993). "Dietaryolive oil reduces low-density lipoprotein uptake by macrophage and decrease the susceptibility of the lipoprotein to undergo lipid peroxidation". ***Annal of Nutrition and Metabolism.*** 37, 75-84.

Bua-in, S. and Paisooksantivatana Y. (2009). Essential Oil and Antioxidant Activity of Ginger (Zingiberaceae : Zingiber montanum) Collected from Various Parts of Thailand. *Kasetsart Journal (Natural Science).* 43 : 467-475.

Chaitana, J., Niwatananun, W., Vejabhikul, S., Somna, S. and Chansakaow S. (2009). Volatile Constituents and Biological Activities of *Gardenia jasminoides*. *Journal of Health Research.* 23 (3) : 141-145.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, S.K., Lim, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S. and Yong, M.Y. (2009). Effects of Different Drying Methods on the Antioxidant Properties of Leaves and Tea of Ginger Species. *Journal of Food Chemistry*. 113 : 166-172.

Chattopadhyay, K. and Chattopadhyay, B. D. (2008)."Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restrictes dietary proein". ***Journal of research and education in indian medicine.*** 127, 571-576.

Chen, C.C., Liu, L.K., J.D., Huang, H.P., Yang, M.Y. and Wang, H.J., (2005), "Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in holesterol-fed rabbits". ***Food Chem***. 91, 601-607.

Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y. and Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivthong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Sriwat, S., Pongrapeeporn, K., (2008). "The *in vivo* and *ex vivo* antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringaoleifera Lam. Leaves*". ***J. Ethnophamacol.*** 116, 439-446.

Danijela, A. Kostić., Danica, S. Dimitrijević., Snežana, S. Mitić., Milan, N. Mitić., Gordana,. Stojanović. and Ana, V. Živanović. (2013). Phenolic Content and Antioxidant Activities of Fruit Extracts of *Morus nigra* from Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 12 (1) : 105-110.

Dewick, P. M. (1998). Medinal Natural Products Great Britain. John Wiley and sons.

Doi, K., Kojima, Y. and Fujimoto. Y., (2000). "Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein". ***Journal of Biological and pharmaceutical Bulletin.*** 23,(9..1066-1071.)

Du, Q., Zheng, J. and Xu, Y., (2008)"Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidantactivity" *J. Food Compos. Anal.* 21, 390-395.

Gasparotto, Jr., A., Gasparotto, F.M., Lourenco, E.L.B., Crestani, S., Stefanello, M.E.A., Salvador, M.J., da Silva-Santos, J.E., Marques, M.C.A., Kassuya, C.A.L. (2011). "Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme". *J. Ethnopharmacol.* 134, 363-372.

Halliwell, B. (2009) "The wanderings of a free radical". *Free Radical Biology and Medicine.* 46, 531-542.

Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C. and Pascual-Teresa, S. 2010. **Flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity.** Food chemistry. 121 : 691-696.

Huang, X., Kakuda, Y. and Cui, W. (2001). Hydrocolloids in Emulsions: Particle Size Distribution and Interfacial Activity. *Food Hydrocolloids.* 15 : 533-542.

Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A.S. and Babji, A.S. (2009). Antioxidant Activity of Plants Methanolic Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Biotechnology.* 8 (3) : 484-489.

Ibrahim, G., Saleh, ZA., and Naohito, A. (2013). Effect of Green Tea and Polyphenol son Mouse Liver. *Fitoterapia* 90 : 151-159.

Jungmin, O., Heonjoo, J., Ah Reum, C. and Jaejoon, H. (2013). Antioxidant and Antimicrobiala Ctivities of Various Leafy Herbal Teas. *Food Control.* 31 : 403-409.

Katsube.T., Yamasaki, Y., Iwamoto, M. and Oka, S. (2003). "Hyaluronidase-inhibiting polysaccharide isolate and purified from hot water extract of sporophyll of *Undaria pinnatifida.* ***Food Science and Technology Research***. 9, 25-29."

Kim, J. W., Kim S. U.., Lee. H. S., Kim, I., Ahn, M. Y., and Ryu, K.S. (2003). "Determination of 1- deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography". ***Journal of Chromatography.*** 1002, 93-99."

Kim, S. Y., Gao, J.J., Lee, W.C., Ryu, K.S., Lee, K.R. andaKim, Y.C. (1999). Antioxidative Flavonoids from the leaves of *Morus alba. Archives of Pharmacal Research.* 22 : 81-85.

Li. S.Z., (1982). "Compendium of Materiamedica". ***People's Medical Press. Beijing.*** pp. 2066-2067.

Malaisree, M., Srisomang, R. and Boonphong, S. (2006). Chemical Constituents of *Lagerstroemia loudonii* Flower and Their Antioxidant Activities. *Naresuan University Science journal*. 2 (2) : 231–240.

Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J. and Muchenje, V. (2012). Polyphenolic Content and Antioxidant Properties of *Moringa oleifera* Leaf Extract and Enzymatic Activity of Liver from Goats Supplemented with *Moringa oleifera* Leaves Sunflower Seed Cake. *Meat Science*. 91 : 441–447.

Murakami. A., Kitazono, Y., Jiwajinda. S., Koshimizu, K., Ohigashi, H., (1998). "Niaziminin, a thiocarbamate from the leaves of *Moringa oleifera,* holds a strict structural requirement of tumor-promoter-induced Epstein-Barr virus activation". ***Planta Med***. 64 (4), 319-323.

Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat M. and Satayavivad, J. (2007). Evaluation of Free Radical Scavenging and Antityrosinase Activities of Standardized Longan Fruit Extract. *Food chemistry Toxicol*. 45 : 328-336.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1996). Structure Antioxidant Activity Relationship of Flavonoid and Phenolic Acid. *Free Radical Biology and Medicine*. 20 : 953-956.

Sahelien, R. (2011). Polyphenols Supplement Research Study, Health Benefit. http:// www.raysahelian.com.25 th March 2011.

Scott, D.A. et al., (2005). "The in-fluence of vitamin C on systemic makers of endothelial and inflammatory cell activation in smokes and non-smokers" ***Journal of Inflammation Research.*** 54, 138-144.

Serafini, M., Ghiselli, A., and Ferro-Luzzi, A. (1994)."Red wine, tea and antioxidants".***Lancet***. 344, 626.

Sies, H., Stahl, W., and Sundquist, A. (1992). "Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids". ***Annals of the New York Academy of sciences.*** 368, 7-19

Soromou.L.W., Chen, N., Jiang, L., Huo, M., Wei, M., Chu, X., Millimouno, F.M., Feng, H., Sidime, Y. and Deng, X. (2012). "Astragalin attenuates lipopolysaccharide induced inflammatory response by down-regulating NF-kB signaling pathway" ***Biochem. Biophys. Res. Commun.*** 419, 256-261.

Verma, A.R.,Vijayakumar, M., Mathela, C.S. andRao, C.V. (2009).*"In vitro* and *In vivo* antioxidant properties of diferrent fractions of *Moringaoleifera*leaves".***Food Chem. Toxicol***. 47, 2196-2201.

Velioglu, Y.S., Mazza, G. Gao, L. and Oomah, B.D. (1998). "Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products". ***Journal of Agriculture and Food Chemistry.*** 46, 4113-4117.

Vinson, J. A., Dabbagh, Y.A., and Jang, J. (1995). Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, are Powerful Antioxidants Using an in vitro Oxidation Model for Heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 : 2800-2802.

Vongsak, B., Sithisarn, P.and Gritsanapan, W. (2013). "Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions". ***Journal of Industrial Crops and Products.*** 49, 419-421.

Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects onsuperoxide radicals". ***Food Chemistr***y. 64, 555-559

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY