รายงานการวิจัย

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง และความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในผลิตภัณฑ์ครีม

DPPH radical scavenging activity of *Ruellia tuberosa* crude extract and stability of fractionated crude extract in cream product

คณะผู้วิจัย

1 นางสาววันทนา มงคลวิสุทธิ์

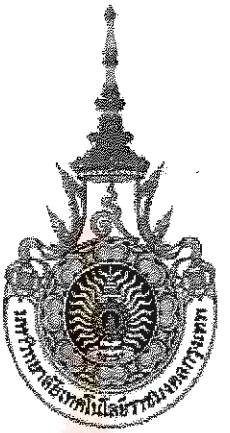
2 นางสาววิภา ทัพเชียงใหม่

3 นางสาวณีรนุช ควรเชิดชู

โครงการวิจัยทุนสนับสนุนงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

งบประมาณ เงินรายได้ ปี พ.ศ. 2557

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ



รายงานการวิจัย

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง และความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในผลิตภัณฑ์ครีม

DPPH radical scavenging activity of *Ruellia tuberosa* crude extract and stability of fractionated crude extract in cream product

คณะผู้วิจัย

1 นางสาววันทนา มงคลวิสุทธิ์

2 นางสาววิภา ทัพเชียงใหม่

3 นางสาวณีรนุช ควรเชิดชู

โครงการวิจัยทุนสนับสนุนงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

งบประมาณ เงินรายได้ ปี พ.ศ. 2557

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง และความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในผลิตภัณฑ์ครีมสามารถทำสำเร็จได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือ ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ให้ข้อเสนอแนะ และตรวจโครงงานวิจัย และขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ขนิษฐา เจริญลาภ ที่รับเป็นพี่เลี้ยงงานวิจัย ให้ข้อเสนอแนะที่ดี และตรวจแก้ไขงานวิจัย จนสำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร.สมยศ สุทธิไวยกิจ ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ที่ช่วยแนะนำและให้ข้อเสนอแนะ การสกัดและการแยกให้ได้สารสกัดส่วนย่อยเพื่อนำไปใช้ทดสอบในผลิตภัณฑ์ครีม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ที่ได้ให้โอกาสในการทำวิจัย โดยสนับสนุนเงินทุนอุดหนุนการทำงานวิจัย จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งและความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในผลิตภัณฑ์ครีม

คณะผู้ทำวิจัย นางสาววันทนา มงคลวิสุทธิ์
นางสาววิภา ทัพเชียงใหม่
นางสาวฉีรนุช ควรเชิดชู

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ เอทานอล และอะซิโตน ได้สารสกัดหยาบ 6 ชนิด โดยตัวทำละลายเอทานอล สกัดสารได้ดีกว่าตัวทำละลายอะซิโตน และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้น มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 88.2487 จากนั้นเลือกสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ที่ดีที่สุด คือสารสกัดหยาบชั้นอะซิโตนจากส่วนต้นนี้มาทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ด้วยระบบเกรเดียนท์ โดยชนิดของตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน ต่อ เอทิลอะซิเตต แยกได้สารสกัดส่วนย่อย 11 ส่วน นำสารทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระผลการทดสอบได้สารสกัดส่วนย่อยที่ 7 มีน้ำหนักมากสุด และมีร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 85.3072 เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อยนี้มาศึกษาความคงตัวในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ประกอบด้วยครีมทาผิวพื้นฐาน (สารควบคุม) และครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยที่ 7 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก พบว่าสารสกัดส่วนย่อยนี้มีความคงตัวอยู่ได้ในครีมทาผิว จากผลของการออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และจากผลการติดตามการออกฤทธิ์ของสารสกัดส่วนย่อยนี้ แสดงให้เห็นว่าสามารถนำสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากต้นต้อยติ่งไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

Abstract

Title DPPH radical scavenging activity of *Ruellia tuberosa* crude extract and stability of fractionated crude extract in cream product

Personal biobank Miss Wantana Mongkolvisut

Miss Wipa Tupchiangmai

Miss Neeranut Kuanchertchoo

The study of DPPH radical scavenging activity of crude extract from *Ruellia tuberosa* leaves, stems and roots were extracted with two solvents as ethanol and acetone to afford six segmental extracts. The ethanol solvent showed high efficiency crude extraction than acetone solvent. When, all crude extracts were investigated by DPPH free radical scavenging assay. The DPPH activity of stem extracted with acetone showed highest activity at 88.2487%. Then, the acetone extract of stem part was fractionated with column chromatography technique by using gradient system of hexane to ethyl acetate to be obtained 11 sub-fractions. All sub-fractions were further to study of DPPH free radical scavenging activity. Which one of sub-fractions was seventh fraction, highest of weight, show higher percentage of activity at 85.3072%. The followed up stability of seventh sub-fraction extract for eight weeks ago at room temperature was mixed in skin cream at 0 (control), 1 and 2% (wt/wt). This sub-fraction showed stability of antioxidant activity with DPPH in skin cream. The study result showed the active extraction of *Ruellia tuberosa* with DPPH free radical scavenging assay can applied to the activity ingredient in skin cream products.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ซ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 ทฤษฎี แนวคิด	4
2.2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 เนื้อหาการวิจัย	21
3.1 เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย	21
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	22
3.3 การออกแบบการวิจัย	27
บทที่ 4 ผลการวิจัย และข้อวิจารณ์	28
4.1 ผลการวิจัย	29
4.2 ข้อวิจารณ์ผลการทดลอง	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	52
5.1 สรุปผลการวิจัย	52
5.2 ข้อเสนอแนะ	53

หน้า

บรรณานุกรม 54
ภาคผนวก 58
ภาคผนวก ก 59
ภาคผนวก ข 61
ภาคผนวก ค 64
ภาคผนวก ง 69
ภาคผนวก จ 71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงส่วนผสมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวพื้นฐาน	26
4.1	แสดงน้ำหนักพืช สารสกัด และร้อยละน้ำหนักสารสกัดเอทานอล และอะซิโตน ที่ได้จากการสกัดจากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง	30
4.2	แสดงน้ำหนักสาร และปริมาตรตัวทำละลาย ในการเตรียมสารสกัดเข้มข้น 1,000 ppm	31
4.3	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ของต้นต้อยติ่ง	32
4.4	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% Activity) ของสารสกัดหยาบอะซิโตน ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ของต้นต้อยติ่ง	33
4.5	เปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล และอะซิโตนจากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่ง	33
4.6	ลักษณะทางกายภาพ น้ำหนักสารสกัดส่วนย่อย ของสารสกัดอะซิโตน จากส่วนต้น	36
4.7	แสดงน้ำหนักสาร และปริมาตรตัวทำละลาย เตรียมสารสกัดส่วนย่อย เข้มข้น 1,000 ppm	37
4.8	แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อยที่ความเข้มข้น 1,000 ppm	37
4.9	แสดงน้ำหนัก และร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อย อะซิโตน	38
4.10	แสดงส่วนผสมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวพื้นฐาน	39
4.11	ข้อมูลการวิเคราะห์ความหนืดของครีมทาผิวพื้นฐานเริ่มต้น	41
4.12	แสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้น ส่วนย่อย RT-S-Acetone-07 ของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 10,000 ppm	44
4.13	แสดงจำนวนผู้ตอบแบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ ครีมทาผิวผสมสารสกัด	48

ตารางที่ หน้า

4.14 ค่าเฉลี่ยของระดับความพึงพอใจ หรือความรู้สึกต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัด 49

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	สมการการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH กับ สารต้านอนุมูลอิสระ AH	8
2.2	แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของอนุมูลอิสระDPPH ก่อนเกิดปฏิกิริยา และหลังเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ AO-H	8
2.3	แสดงความสามารถในการถูกชะของสารที่ต้องการแยกโดยแบ่งตาม Functional groups	11
2.4	แสดงลักษณะของต้นต้อยติ่ง	15
2.5	โครงสร้างของสารที่ 1 ถึง 5	16
2.6	โครงสร้างของสาร verbascoside	19
3.1	การเตรียมต้นต้อยติ่งเพื่อใช้ในการสกัด	23
3.2	แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดเข้มข้น และนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH	24
3.3	แสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดเป็นส่วนย่อย และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH	25
3.4	แสดงขั้นตอนการนำสารสกัดส่วนย่อยผสมในครีมทาผิวพื้นฐาน และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH	27
3.5	แผนการดำเนินการทำวิจัย	27
3.6	แบบสอบถามความพึงพอใจพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07	26
4.1	การเก็บต้นต้อยติ่งและการเตรียมส่วนใบ ต้น และราก เพื่อใช้ในการสกัด	28
4.2	การสกัดสารจากส่วนใบ ต้น และราก ด้วยตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน	29
4.3	กราฟเปรียบเทียบร้อยละน้ำหนักสารสกัดที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน	31
4.4	กราฟเปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm	34
4.5	แผนผังการแยกสารสกัดหยาบให้ได้สารสกัดส่วนย่อย	35

ภาพที่ หน้า

4.6	กราฟแสดงน้ำหนัก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อย จากส่วนต้นที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย	39
4.7	ส่วนผสม A ของครีมทาผิว	40
4.8	วิธีการทำครีมทาผิวพื้นฐาน	40
4.9	เครื่องวัดความหนืด (Viscometer)	41
4.10	การเตรียมครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัด	42
4.11	ลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัดที่เวลาเริ่มต้น	43
4.12	ลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัด ที่เวลาผ่านไป 8 สัปดาห์	43
4.13	เปรียบเทียบร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเวลาผ่านไป ของครีมทาผิวพื้นฐาน และครีมทาผิวผสมสารสกัด	45
4.14	แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07	47
ข1	แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง	61
ข2	การเตรียมพืชเพื่อให้ได้สารละลายของสารสกัดหยาบ	61
ข3	ลักษณะของสารละลายของสารสกัดจากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง	62
ข4	การระเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ	62
ข5	ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน	62
ข6	การเตรียมสารสกัด และการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH	62
ข7	การแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อย ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์	63
ข8	ลักษณะของสารสกัดส่วนย่อยที่ระเหยตัวทำละลายออก	63
ข9	เครื่องระเหยตัวทำละลาย เครื่อง UV-Visible และเครื่องวัดความหนืด	63
ค1	ภาคบรรยาย การจัดบริการวิชาการ วันที่ 28 มีนาคม 2557	64
ค2	ภาคปฏิบัติ การจัดบริการวิชาการ วันที่ 28 มีนาคม 2557	65

ภาพที่ หน้า

ค3	ภาคบรรยายการจัดบริการวิชาการ วันที่ 22 มิถุนายน 2557	65
ค4	ภาคปฏิบัติการจัดบริการวิชาการ วันที่ 22 มิถุนายน 2557	66
ค5	แบบสอบถามความพึงพอใจพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07	67
ค6	ตัวอย่างการตอบแบบสอบถามความพึงพอใจที่ได้รับจากผู้เข้าร่วมอบรมเป็นรายกลุ่ม	68
ง1	สเปกตรัม UV ของสาร DPPH	69
ง2	สเปกตรัม UV ของสารสกัดส่วนย่อยอะซิโตนจากส่วนต้นต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 500 ppm	69
ง3	สเปกตรัม UV ของครีมทาผิว, ครีมทาผิวผสมสารสกัด RT-S-AT-07 เข้มข้น 1 และ 2%wt/wt	70

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
RT	*Ruellia tuberosa*
UV	Ultraviolet-Visible
Abs	Absorbance
M	Molar
g	grams
MW	Molecular weight
V	Volume
mM	nilli Molar
ppm	part per million
µg	Micro grams
µL	Micro liters
nm	nano meters
S.D.	Standard deviation
cPs	centipoises
RPM	Round per minute
TK	Spring torque constants
SMC	Spindle Multiplier Constant

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันคนไทยให้ความสนใจ และใส่ใจในเรื่องของการดูแลรักษาสุขภาพมากขึ้นเพื่อชะลอการแก่ชรา หรือเพิ่มความสดใสและความงามทางด้านผิวพรรณมากขึ้นจึงทำให้มีการศึกษาวิจัยถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพและความแก่ชราของมนุษย์ โดยพบว่าปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดผลเหล่านี้คือ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตเอง เช่น ยารักษาโรค และปัจจัยภายนอกที่ร่างกายได้รับจากสภาพแวดล้อม เช่น ควันพิษ รังสี เป็นต้น ซึ่งอนุมูลอิสระนี้ยังเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง ทำให้เกิดริ้วรอยผิวหนังเหี่ยวย่น เกิดจุดด่างดำ ฝ้า กระ จึงทำให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ในการกำจัดหรือต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะที่ได้จากธรรมชาติ เช่น จากส่วนต่างๆ ของพืชที่เป็นอาหารและกลุ่มพืชสมุนไพร เพื่อแนะนำให้มีการนำไปบริโภค หรือนำไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสภาพแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทครีม โลชัน และผงสมุนไพรในรูปแบบของสครับขัดผิว ที่นำมาใช้เพื่อถนอมและบำรุงผิว ทำให้ผิวขาว ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่มีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เช่น ขมิ้น มะหาด แต่อย่างไรก็ตามยังมีพืชอีกหลายชนิดที่อาจถูกมองข้ามไปเนื่องจากเห็นว่าเป็นวัชพืช เช่นต้นต้อยติ่ง ซึ่งจากศึกษาของ F.A. Chen และคณะ (2006) ได้รายงานฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH free radical scarvenging assay ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต และน้ำจากส่วนต้นแห้งของต้นต้อยติ่ง พบว่ามีลำดับการออกฤทธิ์จากมากไปน้อยตามลำดับดังนี้ สารสกัดหยาบชั้น เอทิลอะซิเตต คลอโรฟอร์ม น้ำ และเฮกเซน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่ง และนำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดไปทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี จากนั้นนำสารส่วนย่อยไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอีกครั้งหนึ่ง เพื่อนำไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่นครีมทาผิว ซึ่งจะทำให้ทราบฤทธิ์การกำจัดหรือต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยเพิ่มขึ้นอีกชนิดหนึ่ง ที่สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวต่อไปได้ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของต้นต้อยติ่งที่เป็นวัชพืชได้

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารจากส่วนต้น ใบ และราก ของต้นต้อยติ่ง จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่ดีที่สุด

2. ศึกษาการแยกเป็นส่วนย่อยของสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ และตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วนย่อยด้วยวิธี DPPH

3. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

4. ศึกษาความคงตัวเมื่อเวลาผ่านไปของสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อถูกนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

1.3 ขอบเขตการวิจัย

สกัดสารจากส่วน ใบ ต้น และราก จากต้นต้อยติ่ง และนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DDPH นำส่วนที่มีฤทธิ์ดีที่สุดไปแยกเป็นส่วนย่อย เลือกสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว และตรวจสอบความคงทนของสารสกัดส่วนย่อยเป็นระยะเวลา 2 เดือน

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างและเตรียมสารสกัดหยาบเข้มข้นจากส่วนต้น ส่วนใบ และส่วนราก ของต้นต้อยติ่งนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และเอทานอล

2. ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DDPH ของสารสกัดหยาบเข้มข้นที่ได้จากการสกัดส่วนต้น ใบ และราก ด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดและวิเคราะห์ผลที่ได้

3. นำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมาทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์และนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4. เลือกสารสกัดส่วนย่อยที่ผ่านการแยกที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว และติดตามความคงตัวในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วนย่อยในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

5. รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ผลการทดลอง สรุปผลการทดลอง และเขียนรายงานส่ง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดจากต้นต้อยติ่ง ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้และทราบความคงตัวของสารออกฤทธิ์

2. สร้างความตระหนักถึงการนำพืชสมุนไพรไทยที่คิดว่าเป็นวัชพืชมาใช้ประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่า และนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์

3. นำผลการศึกษาวิจัยไปเผยแพร่ ให้กับผู้ที่สนใจเข้าร่วมโครงการบริการวิชาการของสาขาวิชาเคมี ในหัวข้อเกี่ยวกับการทำครีมและโลชัน

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ทฤษฎี แนวคิด

ประเทศไทย ถือว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพของพืช และเป็นแหล่งวัตถุดิบเกี่ยวกับผลผลิตทางการเกษตรที่สำคัญของโลก ซึ่งจะพบพรรณไม้นานาชนิดที่มีสรรพคุณทางยา และนำไปใช้เป็นยาสมุนไพรได้ แต่อย่างไรก็ตามพืชหลายชนิดในประเทศไทยเป็นจำนวนมากที่มีการบันทึกว่าเป็นพืชสมุนไพร และมีการนำไปใช้ในตำรับยา ว่ามีสรรพคุณในด้านต่างๆ นั้น พบว่ายังขาดรายงานการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เช่น การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการหาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในการออกฤทธิ์ต่างๆ หรืออาการข้างเคียงจากการใช้พืชสมุนไพรนั้นๆ จึงทำให้เกิดข้อจำกัดและขาดความมั่นใจในการนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้ตรงกับสรรพคุณของพืชสมุนไพรนั้นๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ตลอดจนองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ หรือลักษณะการออกฤทธิ์ เพื่อให้มีข้อมูลที่สามารถนำมาใช้อ้างอิง และทำให้เกิดความมั่นใจในการนำไปประยุกต์ใช้ได้ต่อไป ซึ่งต้นต้อยติ่ง ก็ถูกจัดว่าเป็นพืชสมุนไพรที่ยังขาดงานวิจัยมาสนับสนุน

ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้นต้อยติ่ง และการนำไปใช้ผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวและติดตามฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเมื่อเวลาผ่านไป จะทำให้ทราบว่าเมื่อนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมเมื่อเวลาผ่านไป ยังคงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในระดับใด เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ หรือช่วยในการลดริ้วรอยจากอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารจากธรรมชาติจะมีข้อด้อยคือ ความไม่คงตัวของสาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่งด้วยตัวทำละลายต่างกัน 2 ชนิด และแยกเป็นส่วนย่อย ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ และนำไปทดสอบว่าส่วนย่อยใดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และถ้านำไปผสมในผลิตภัณฑ์เช่น ครีมทาผิว เพื่อติดตามความคงตัวหรือสรรพคุณ ของสารสกัดนี้ จะมีความคงตัวของสารสกัดอยู่ได้อย่างน้อยในช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลองหรือไม่

2.1.1 อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant)

อนุมูลอิสระคือโมเลกุล หรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ สามารถ

เข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ในร่างกาย เช่น การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีน และไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ การสร้างพันธะโควาเลนต์กับโปรตีน หรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติ จึงเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิด [1] เช่น โรคระบบหลอดเลือด โรคหัวใจ โรคสมอง มะเร็ง รวมถึงส่งผลให้เกิดริ้วรอย ความหมองคล้ำของผิว โดยอนุมูลอิสระจะเข้าทำลายคอลลาเจน ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของผิวหนังของร่างกาย และเป็นโปรตีนที่สำคัญต่อความแข็งแรงของผนังหลอดเลือด นอกจากนี้ยังทำให้เกิดจุดด่างดำ ฝ้า กระ โดยอนุมูลอิสระ จะไปกระตุ้นเซลล์เม็ดสีเมลานินให้สร้างเม็ดสีสะสมใต้ผิวหนังรวมตัวกันเป็นฝ้า กระ จุดด่างดำ สีผิว ไม่สม่ำเสมอ [2]

อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบ จะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่อนุมูลอิสระคือ อนุภาคที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวที่สามารถเขียนสัญลักษณ์ทางเคมีได้ดังนี้ อนุมูล $A^{\bullet}$ หรืออนุมูล $A^{-\bullet}$และอนุมูล $A^{+\bullet}$ อนุมูลเหล่านี้จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เพราะอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียร จึงพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ตัวอย่างอนุมูลอิสระที่สำคัญในทางชีวภาพได้แก่ ซูปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\bullet}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก ในขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\bullet}NO$) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา [3]

แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Source of free radical) เกิดจากผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ เนื่องจากสิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีการใช้ออกซิเจน จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งปัจจัยที่ทำเกิดอนุมูลอิสระ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่มลพิษ การติดเชื้อโรค ควันบุหรี่ ควันจากท่อไอเสียรถยนต์ รังสียูวี (UV-ray) และโอโซน (ozone) ดังนั้นแหล่งของการเกิดอนุมูลอิสระมาจาก 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยภายใน และภายนอกร่างกาย

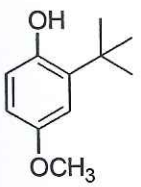
ปัจจัยภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีภายในสิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นเพื่อการสร้างและการสลายโมเลกุล ที่เรียกว่ากระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งถือว่าเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น โลหะทรานสิชันปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเองของไขมัน ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว

ปัจจัยภายนอกร่างกาย เช่น จากควันบุหรี่ จากยารักษาโรคบางชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มต้านจุลินทรีย์ และต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin) จากรังสี เช่นการใช้รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีแกมมา (γ-ray) ในการรักษาโรค อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกาย

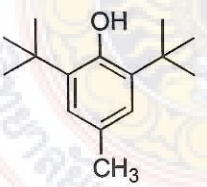
จากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น [4]

2.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

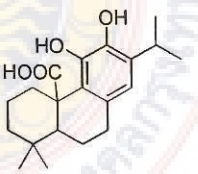
สารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึงสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ โดยมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง (scavenge) หรือยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับโลหะ (chelate) เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมาจาก 2 แหล่งใหญ่ คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ และสารต้านอนุมูลอิสระสกัดจากธรรมชาติ ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระชนิดสังเคราะห์ เช่น สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylatehydroxyanisole, butylatedhydroxytoluene (BHT) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระอีกแหล่งหนึ่งคือ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่นวิตามินซี วิตามินอี, เบต้าแคโรทีน, camosic acid, sesamol และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เนื่องจากความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ [1, 5, 6]



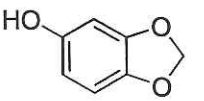
butylatedhydroxyanisole (BHA)



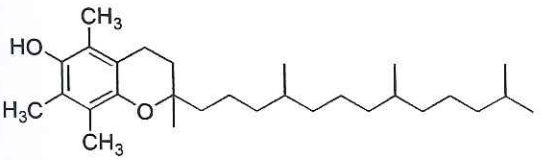
butylatedhydroxytoluene (BHT)



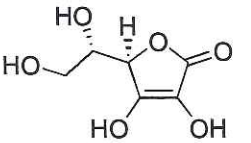
camosic acid



sesamol



วิตามิน อี (α-tocopherol)



วิตามินซี (L-ascorbic acid)

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/395/lipid-oxidation,

http://www.oknation.net/blog/DIVING/2013/11/22/entry-2

สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติที่พบได้ในพืชผักผลไม้ ชาเขียว ชาดำ จะเป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก เช่น กลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังนี้

$$\text{Flavonoid-OH} + R^{\bullet} \longrightarrow \text{Flavonoid-O}^{\bullet} + RH$$

Flavonoid-OH หมายถึง สารฟลาโวนอยด์

$R^{\bullet}$ หมายถึง อนุมูลอิสระในร่างกาย

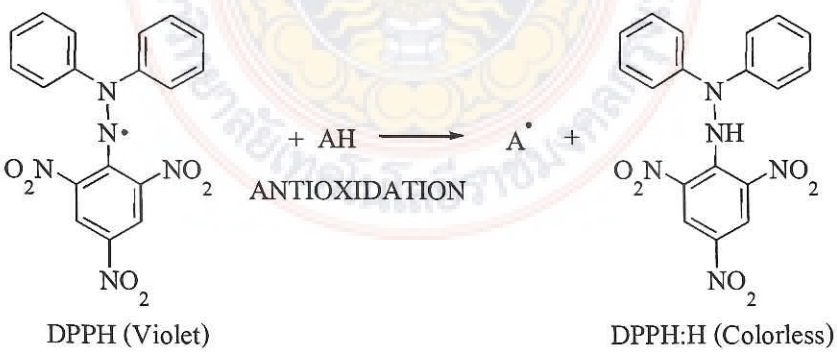
Flavonoid-$O^{\bullet}$ หมายถึง อนุมูลฟีนอกซิล

วิตามินอี (α-tocopherol) ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เพราะรีดิวซ์อนุมูล α-tocopheroxyl กลับเป็น α-tocopherol เหมือนเดิม ดังแสดงในสมการ

$$\alpha\text{-tocopherol-OH} + R^{\bullet} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl-O}^{\bullet} + RH$$

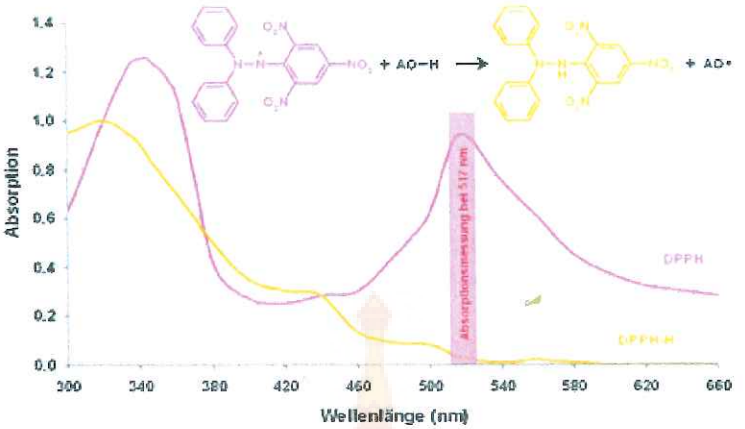
$$\alpha\text{-tocopheryl-O}^{\bullet} + \text{Flavonoid-OH} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl-OH} + \text{Flavonoid-O}^{\bullet}$$

การทดสอบความสามารถของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็น free radical มีลักษณะสีม่วง เมื่อละลายทำละลายในเอทานอล และให้ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectroscopy ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 517 nm เมื่อผสมสารตัวอย่างกับ DPPH (free radical) สารตั้งต้นจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DPPH สีของสารละลาย DPPH จะเปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสีเหลือง ดังปฏิกิริยาในภาพที่ 2.1 [3]



DPPH (Violet) DPPH:H (Colorless)

ภาพที่ 2.1 สมการการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ AH



ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของอนุมูลอิสระ DPPH ก่อนเกิดปฏิกิริยา และหลังเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ AO-H

ที่มา: http://www.intechopen.com/source/html/43985/media/image4.jpeg

การคิดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยสมการ

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \left(\frac{Abs_{DPPH} - Abs_{sample}}{Abs_{DPPH}} \right) x100$$

2.1.3 ตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) หมายถึง สารที่มีอะตอมของคาร์บอนอยู่ในโครงสร้าง เป็นสารที่มีความสามารถ หรือใช้เป็นตัวทำละลายในการละลายสารอื่นๆ ได้ มีคุณสมบัติทางกายภาพ คือระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย ส่วนใหญ่มีกลิ่นเฉพาะตัว เป็นของเหลวไม่มีสี มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ [7]

อะซิโตน (acetone) ชื่ออื่น dimethyl ketone หรือ 2-propanone มีสูตรโมเลกุล C_3H_6O น้ำหนักโมเลกุล 58.08 g/mol จุดเดือด 56.5 องศาเซลเซียส มีคุณสมบัติเป็นของเหลวไม่มีสี ระเหยได้ มีรสหวาน มีกลิ่นเฉพาะตัวใช้เป็นตัวทำละลายทั่วไปในอุตสาหกรรมเคมี และอุตสาหกรรมผลิตยา ใช้ผลิตน้ำมันหล่อลื่น พลาสติก น้ำมันชักเงา และเครื่องสำอาง ฯลฯ จัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 คือเป็นวัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ในครอบครองต้องได้รับใบอนุญาต ข้อมูลจากฐานข้อมูลโรคที่เกิดจากการทำงานและสารเคมี [8] มีค่าเฝ้าระวังของดัชนีชี้วัดการสัมผัสสารทางชีวภาพ อยู่ที่ 50 mg/L ไม่มีอันตรายจากการดูดซึมทางผิวหนัง [9]

เอทานอล (ethanol) ชื่ออื่น เอทิลแอลกอฮอล์ สูตรโมเลกุล C_2H_5OH น้ำหนักโมเลกุล 46.07 g/mol จุดเดือด 78.4 องศาเซลเซียส มีคุณสมบัติเป็นของเหลวใสไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัว จุดติดไฟได้ง่าย ดูดน้ำจากอากาศได้ดี เข้ากับน้ำและของเหลวอินทรีย์ตัวอื่นๆ ใช้ผลิตเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม เพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซิน สังเคราะห์สารอินทรีย์เคมี และใช้เป็นตัวทำละลายในทางเภสัชกรรม การผลิตเครื่องสำอางและน้ำหอม

เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) ชื่ออื่น เอซิติกอีเทอร์ สูตรโมเลกุล $C_4H_8O_2$ น้ำหนักโมเลกุล 88.11 g/mol จุดเดือด 77 องศาเซลเซียส มีคุณสมบัติเป็นของเหลว มีกลิ่นคล้ายผลไม้ ไม่มีสี ระเหยได้ ติดไฟได้ง่าย ละลายได้ในแอลกอฮอล์ และอีเทอร์ ละลายน้ำได้น้อยมาก ใช้เป็นตัวทำละลายไนโตรเซลลูโลส สารขัดเงา และแลคเกอร์ เป็นสารแต่งกลิ่น ใช้ผลิตผงดูดควัน หนังเทียม ไหมเทียม น้ำหอม

เฮกเซน (hexane) ชื่ออื่น n-hexane ไดโพรพิล (dipropyl) สูตรโมเลกุล C_6H_{14} น้ำหนักโมเลกุล 86.18 g/mol จุดเดือด 69 องศาเซลเซียส มีคุณสมบัติเป็นของเหลว ไม่มีสี ระเหยได้ง่าย มีกลิ่นเฉพาะตัว จุดติดไฟได้ ใช้เป็นตัวทำละลาย เข้าได้ดีกับแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ แต่ไม่ละลายน้ำ ไม่มีข้อมูล ค่า pH [10]

2.1.4 อนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH free radical)

อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH free radical) มีชื่อทางเคมีคือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl มีน้ำหนักโมเลกุล 394.32 สูตรโมเลกุล $C_{18}H_{12}N_5O_6$ เป็นผงของแข็งสีเขียวถึงสีดำ เมื่อละลายในตัวทำละลายจะให้สีน้ำเงิน สามารถละลายได้ใน ไดเมทธิลฟอร์มาไมด์ (dimethyl formamide, DMF) เอทานอล (ethanol) คลอโรฟอร์ม (chloroform) อีเทอร์ (ether) คาร์บอนไดซัลไฟด์ (carbon disulfinde) อะซิโตน (acetone) น้ำมัน (oil) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride) กรดอะซิติก (glacial acetic acid) และโทลูอีน (toluene) แต่ไม่ละลายในน้ำ มีจุดหลอมเหลวประมาณ 135 องศาเซลเซียส เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ สามารถใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารเช่น aliphatic และ aromatic โดยการใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่นการวิเคราะห์สาร tocopherol [11]

2.1.5 การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี แต่ที่รู้จักกันโดยทั่วไป คือการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยเกณฑ์ที่ใช้เลือกตัวทำละลาย คือดูว่าต้องการสกัดสารอะไรออกมาจากสมุนไพรนั้น เป็นสารที่มีขั้ว หรือ ไม่มีขั้ว หากต้องการสารที่ไม่มีขั้ว ก็ใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว ถ้าต้องการสารที่มีขั้วขึ้นมาหน่อยก็ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นมา ตัวทำละลายที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีอินทรีย์มีหลายชนิด เช่น เฮกเซน (hexane), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane), เอทิลอะซิเตต (ethylacetate), เอทานอล (ethanol), เมทานอล (methanol) ซึ่งตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีขั้วแตกต่างกัน

ขั้นตอนในการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายมีดังนี้

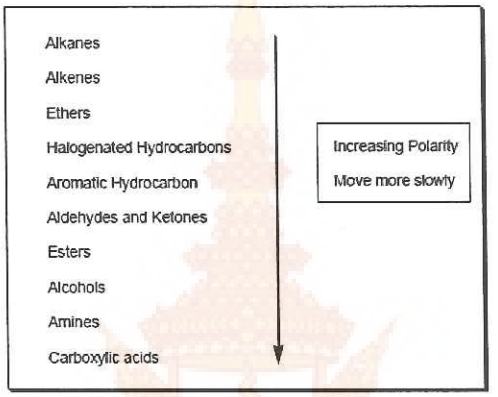
นำพืชสมุนไพรมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกินประมาณ 40 องศาเซลเซียส หรือผึ่งลมให้แห้ง แล้วบดให้ละเอียดนำไปแช่ในตัวทำละลายทิ้งไว้อย่างน้อย 3 วัน แล้วกรองเอาส่วนที่เป็นของเหลวออกมา (สามารถแช่ซ้ำอีกได้โดยเติมตัวทำละลายลงไปอีก) นำสารละลายที่ได้มาระเหยแห้งก็จะได้สารสกัดหยาบที่ต้องการ

การสกัดสารจากสมุนไพรควรจะต้องทราบว่าต้องการสารประกอบที่อยู่ในรูปใด เช่นสารที่ระเหยได้ (volatile oil) หรือสารประเภทระเหยไม่ได้ (nonvolatile compound) ถ้าต้องการสารระเหยได้ นิยมสกัดด้วยการกลั่นโดยใช้ไอน้ำ (steam distillation) ส่วนสารที่ไม่ระเหยจะสกัดด้วยตัวทำละลายที่อาจเป็นน้ำก็ได้ หากสารที่ต้องการละลายน้ำได้ หรือใช้แอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ หรือใช้ตัวทำละลายอื่น โดยต้องทำการศึกษาก่อนว่าควรใช้ตัวทำละลายชนิดใดในการสกัด ปัจจัยที่เกี่ยวกับการสกัดคือ ขนาดอนุภาคของสมุนไพรที่จะนำมาสกัด สัดส่วนของสมุนไพรกับปริมาณสารตัวทำละลายที่ใช้ อุณหภูมิ และเวลา ที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสม

การสกัดสารที่อยู่ในพืชสมุนไพรจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เช่น เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, อะซิโตน, เอทิลอะซิเตต, เมทานอล และเอทานอล จะขึ้นกับความมีขั้ว (polarity) และสมบัติการละลาย (solubility) ของสารที่เราต้องการสกัด ถ้าสารที่เราสนใจมีขั้วก็ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสกัด หากเป็นสารที่ไม่มีขั้วก็ใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว แต่โดยปกติการสกัดจะได้เป็นสารสกัดหยาบก่อน (crude extract) ซึ่งมีสารหลายร้อยชนิดปนกันออกมา ดังนั้นหากต้องการทราบว่าสารชนิดใดเป็นสารออกฤทธิ์จำเป็นต้องมีขั้นตอนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ (separation and purified) เพื่อนำไปทดสอบต่อไป [12]

2.1.6 โครมาโทกราฟี (Chromatography)

โครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมให้เป็นสารที่บริสุทธิ์โดยอาศัยหลักการกระจายตัว (Distribution) ของสารในเฟสคงที่ (Stationary Phase) และเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) โดยพบว่าสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการแยกที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการดูดซับ (Adsorption) ที่แตกต่างกันโดยพบว่าประสิทธิภาพของการแยกสารขึ้นอยู่กับชนิดของตัวดูดซับ (Adsorbent) และตัวชะ (Eluent)



ภาพที่ 2.3 แสดงความสามารถในการถูกชะของสารที่ต้องการแยกโดยแบ่งตาม Functional groups [13]

ชนิดของเทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่นำมาประยุกต์ใช้ในทางเคมีอินทรีย์อย่างแพร่หลายมีหลายชนิดแต่สามารถจำแนกตามความนิยมในการใช้งานได้ดังนี้โครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography หรือ TLC) โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (Paper chromatography) ซึ่งในที่นี้จะขอกล่าวเฉพาะโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column Chromatography) ซึ่งใช้ของแข็งเป็นเฟสคงที่ (stationary phase) บรรจุลงในคอลัมน์แก้วและให้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เป็นของเหลวเคลื่อนตัวผ่านเฟสคงที่โดยอาศัยแรงโน้มถ่วงโดยเรียกการแยกแบบนี้ว่า Gravity Column Chromatography ถ้าหากของเหลวเคลื่อนตัวผ่านเฟสคงที่โดยอาศัยแรงดันอากาศภายนอก (External pressure) จะเรียกว่า Flash Column Chromatography

อัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของสารที่ต้องการแยกออกจากคอลัมน์ขึ้นอยู่กับแรงยึดเหนี่ยวระหว่างตัวดูดซับกับสารที่ต้องการแยกโดยสารที่มีแรงยึดเหนี่ยวกับตัวดูดซับมาก จะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ช้าในทางตรงกันข้ามสารที่มีแรงยึดเหนี่ยวกับตัวดูดซับน้อย จะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์เร็ว นอกจากนี้ขนาดของคอลัมน์ และปริมาณของตัวดูดซับที่เหมาะสมกับปริมาณของสารที่ต้องการแยกมีผลต่อความสามารถในการแยกสารให้บริสุทธิ์ (Column Efficiency) โดยทั่วไป

ปริมาณของตัวดูดซับควรมีปริมาณ 25-30 เท่าของปริมาณของสารที่ต้องการแยก และคอลัมน์ควรมีความสูงต่อเส้นผ่าศูนย์กลางของ column ประมาณ 8:1 [13]

2.1.7 เครื่องสำอาง

เครื่องสำอาง (cosmetic) หมายถึง ผลิตภัณฑ์สิ่งปรุงเพื่อใช้บนผิวหนัง หรือส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกาย โดยใช้ทา ถู นวด พ่น หรือโรย มีจุดประสงค์เพื่อทำความสะอาด หรือส่งเสริมให้เกิดความสวยงาม หรือเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปลักษณะ คำว่า cosmetics มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า kosmetikos มีความหมายว่าตกแต่งให้สวยงามเพื่อดึงดูดความสนใจจากผู้พบเห็น (คำว่า komos แปลว่าเครื่องประดับ) โดยในสมัยแรกๆ นั้น ใช้เครื่องสำอางเนื่องจากความจำเป็นเพื่อให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมหรือธรรมชาติ [14]

เครื่องสำอางเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีวิธีการเตรียม และส่วนประกอบคล้ายกับยา แต่ไม่มีคุณสมบัติในการรักษา โดยมีลักษณะเด่นจากยาคือ ต้องมีรูปลักษณ์ภายนอกสวยงาน ดึงดูดลูกค้า ดูมีราคา, มีกลิ่นหอม และสะดวกในการใช้ หรือพกพา

การจัดประเภทของเครื่องสำอางสามารถแบ่งได้หลายแบบ เช่น

- แบ่งตามข้อกำหนดของทางราชการตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอางได้ 6 ประเภทคือ ผม ใบหน้า ลำตัว เครื่องหอม แอโรซอล และเบ็ดเตล็ด
- แบ่งตามข้อกำหนดของทางราชการ ตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ได้ 3 ประเภทคือ เครื่องสำอางควบคุมพิเศษ เครื่องสำอางควบคุม และเครื่องสำอางทั่วไป
- แบ่งตามประโยชน์ที่นำมาใช้ ได้ 2 ประเภทคือ ประเภทไม่แต่งสีผิว และแต่งสีผิว
- แบ่งตามรูปแบบของผลิตภัณฑ์ได้ 8 ประเภท คือ น้ำใส (solutions) น้ำขุ่นแขวนลอย (suspensions) ครีมและโลชัน (creams and lotions) ขี้ผึ้ง (ointments) เจล (gels) แท่ง (sticks) ผง (powders) สเปรย์ (sprays) [15]

ครีม หรือครีมทาผิว (cream) หมายถึงสิ่งปรุงสำเร็จที่มีลักษณะเป็นของเหลวกึ่งแข็งซึ่งไหลเองไม่ได้ มีความหนืดสูง ซึ่งประกอบของครีมประกอบด้วยส่วนผสมที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

1. วัฏภาคน้ำ (water phase) เช่น น้ำและ propylene glycol
2. วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) เช่น White oil 2076 และ Wax-C
3. ตัวทำอิมัลชั่น (emulsifier) เช่น Cremophor A-6 หรือ ceteareth-6

การทดสอบความคงสภาพของเครื่องสำอางตาม มอก. 152-2518 ให้เก็บเครื่องสำอางไว้ในสภาพใกล้เคียงกับสถานที่ซึ่งไปเก็บตัวอย่างมา เป็นเวลา 6 เดือน แล้วจึงนำเครื่องสำอางนั้นมา

ทดสอบ เปรียบเทียบคุณสมบัติกับผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นใหม่ โดยคุณสมบัติที่ต้องการเปรียบเทียบประกอบด้วย

- สี กลิ่น ลักษณะอื่นที่ปรากฏทั่วๆ ไป โดยคิดคะแนนจากผู้ทดสอบอย่างน้อย 10 คน
- ความหนืด ในกรณีที่เป็นของเหลวข้น
- ความร่วนในกรณีที่เป็นผง
- การจับตัวเป็นก้อน กรณีเป็นยาแขวนตะกอน (suspension)
- การแยกชั้นของของเหลว ในกรณีที่เป็นยาเตรียมที่มีส่วนผสมของน้ำกับน้ำมัน (emulsion)
- ความเป็นกรด-ด่าง

ลักษณะความไม่คงตัวของเครื่องสำอางที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาได้แก่

- การตกตะกอนของผลิตภัณฑ์เนื่องจากการอิ่มตัวเกินไป การทำปฏิกิริยาขององค์ประกอบต่างๆ การระเหยของตัวทำละลาย
- การเปลี่ยนสีเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี หรือปฏิกิริยาทางเคมีแสง
- การแยกชั้นของครีม
- การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ทำให้กลิ่นหายไป หรือสีไม่น่าดู
- การสลายตัวทางเคมี การสูญเสียสารแสดงฤทธิ์
- เกิดปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์กับภาชนะบรรจุ เกิดการกัดกร่อน
- การแห้ง หรือข้นของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการระเหยของน้ำ เนื่องจากฝาของภาชนะบรรจุปิดไม่สนิท หรือภาชนะบรรจุยอมให้ความชื้นซึมผ่านได้ [16]

2.2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ต้นต้อยติ่ง

ต้อยติ่ง เป็นวัชพืชที่มีประโยชน์สามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้

ชื่อสามัญภาษาไทย: ต้อยติ่ง (Toi ting) [17] อังกาบ [18]

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ: waterkanon, watrakanu, minnieroot, iron root, feverroot, popping pod, trai-no, popping pod, cracker plant [19]

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ruellia tuberosa* Linn.

ชื่อวงศ์ : Acanthaceae

ลักษณะพฤกษศาสตร์ : พืชล้มลุกมีอายุยืนเติบโตได้ดีทั้งกลางแจ้งและในร่ม ลำต้นสูงประมาณ 25 - 50 ซม. ใบเดี่ยวรูปรีและไข่กลับการเกาะติดของใบบนกิ่งเป็นคู่สลับ ดอกออกที่ซอกใบบริเวณปลายยอดดอกสีม่วงน้ำเงิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-5 ซม. ผลเป็นฝักมีเมล็ด 7-8 เมล็ดอยู่ในฝักเมื่อแก่สีน้ำตาลเข้มยาว 2-3 ซม. แห้งแล้วแตกเป็น 2 ซีก เมล็ดกลมแบนมีจำนวนมากรากของต้อยติ่ง พองเป็นหัวสะสมอาหาร ปลายเรียวแหลมยาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. ยาวประมาณ 5-10 ซม. [18]

สรรพคุณ

: ราก ใช้เป็นยารักษาโรคไตโรคไอกรนหรือแม้แต่เป็นยาขับเลือดถ้าใช้ในปริมาณที่เจือจางก็สามารถกำจัดสารพิษในเลือด บรรเทาอาการสารพิษตกค้างในปัสสาวะ

: ใบสด ตำเป็นยาพอกแผลเรื้อรัง และพอกฝีช่วยดูดหนอง และเรียกเนื้อ [20] ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ หรือใช้พอกแก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อได้ [21]

: เมล็ด ใช้เมล็ดพอกแผลฝีหนอง แผลเรื้อรัง มีหนอง ทำให้แผลหายเร็ว พอกฝีช่วยดูดหนองและเรียกเนื้อ ลดการอักเสบ พอกแผลที่เรื้อรัง มีฝ้ามีหนอง สมานแผล ช่วยเรียกเนื้อ [20]

หมอยากลางบ้านจะใช้ต้อยติ่งทั้งต้นเลือกเอาชนิดที่ไม่แก่ ดอกยังไม่โรยถอนเอาทั้งราก อย่าให้รากขาด อย่าให้เมล็ดแตก สัก 4-5 ต้น นำไปล้างให้สะอาดแล้วโขลก คั้นเอาแต่น้ำดื่ม แก้ปวดเข่า ชาลงขา ร้าวลงแขน ใช้เวลาประมาณ 7 วันก็หาย รักษาโรคฝีหนอง ช่วยเรียกเนื้อ หรือ รู ที่เป็นร่องลึกให้ตื้นขึ้นได้ ใช้ไปเรื่อยๆ จะทำให้ไม่มีรอยแผลเป็น ปัจจุบันการใช้ยาสมุนไพรมักไม่ค่อยนิยมนำเอาสมุนไพรมาใช้ อาจเพราะไม่รู้ว่าจะใช้อย่างไร จะเอาส่วนใดมาใช้ และมองในเรื่องของความยุ่งยากไม่ปลอดภัย แม้จะมีปัญหาในเรื่องเหล่านี้ แต่ในความเป็นจริง การใช้สมุนไพรจะให้ผลดีในระยะยาว แม้จะออกฤทธิ์ช้า จึงทำให้พืชหลายชนิด เช่นต้นต้อยติ่ง มักจะถูกถอนทิ้งเพราะคนคิดว่าเป็นวัชพืช [22]

ภาพที่ 2.4 แสดงลักษณะของต้นต้อยติ่ง

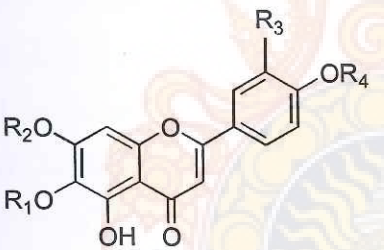
นันท์นภัส เติมวงศ์ (2551) ได้ทำการศึกษาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี ในผักและสมุนไพรจำนวน 15 ชนิด คือ กะหล่ำม่วง หญ้าหนอนตายซาก พริกไทย กระเทียม หนุมานประสานกาย ผักชี ใบเตย ผักขมจีน กะหล่ำดอก ถั่วฝักยาว หัวไชเท้า กะหล่ำปลี เห็ดเข็มทอง ผักกาดขาว และยอดฟักแม้ว จากตลาดสด ด้วยการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี 2,4-dinitrophenylhydrazine พบว่ากะหล่ำม่วงมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินซีสูงที่สุดคือ 30.4 FeFmM/gFW และ 4.4 AEACmM/gFW ตามลำดับ หญ้าหนอนตายซากมีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดอยู่ที่ 80.4 GAEmM/gFW ยอดฟักแม้วมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินซีน้อยที่สุดคือ 1.43 FeFmM/gFW และ 0.03 AEACmM/gFW ตามลำดับ ผักกาดขาวมีสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด คือ 6.1 GAEmM/gFW ผลการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านโภชนาการสำหรับผู้บริโภคในการเลือกรับประทานผักและสมุนไพรชนิดต่างๆ เพื่อที่จะได้รับสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้ครบและได้รับคุณค่าทางด้านโภชนาการสูงสุด [23]

M. P. Kähkönen *et al.* (1999) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชที่มีองค์ประกอบของสารฟีนอลิ ทั้งชนิดที่รับประทานได้ และรับประทานไม่ได้ทั้งหมด 92 ชนิด ในกลุ่มของพืชพวกเบอร์รี่ผลไม้ พืชผัก สมุนไพร ธัญพืช ต้นไม้ พืชหัว และเมล็ดพืช โดยทำปฏิกิริยากับ methyl linoleate ได้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) ในสารสกัด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteuในรูปกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก (GAE) พบว่าพืชพวกเบอร์รี่ โดยเฉพาะ crowberry และ aronia มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (GAE > 20 mg/g) ในปริมาณสูง [24]

F. A. Chen *et al.* (2006) ได้ประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้น *Ruellia tuberosa* ในประเทศไตหวัน ด้วยวิธี DPPH free radical-scavenging โดยนำต้นแห้งมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดมาสกัดแยกด้วย ตัวทำละลายเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลอะซิเตต, เมทานอล และน้ำ พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิดให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ดังนี้ สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์มากที่สุดรองลงมาคือ สารสกัดคลอโรฟอร์ม สารสกัดเมทานอลสารสกัดน้ำ และสารสกัดเฮกเซน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 28.6, 34.8, 228, 429 และ 2208 µg/mL ตามลำดับ [25]

C. F. Lin *et al.* (2006) ได้กล่าวถึงต้น *R. tuberosa* ว่าเป็นพืชเขตร้อน กระจายอยู่ทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีการนำไปใช้ในทางการแพทย์พื้นบ้าน ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ (diuretic)

แก้เบาหวาน (antidiabetic) ลดไข้ (antipyretic) บรรเทาอาการปวด (analgesic) ยาลดความดันโลหิต (antihypertensive) ดับกระหาย (thirst-quenching) และมีฤทธิ์ถอนพิษ (antidotal) โดยไม่นานมานี้ได้มีการนำไปจดทะเบียนเป็นส่วนประกอบของเครื่องดื่มสมุนไพรของไต้หวัน อย่างไรก็ตามยังมีรายงานผลการศึกษาการแยกองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางเภสัชของสารที่แยกได้มีไม่มาก ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ของสารที่แยกได้จาก ส่วนเหนือดินของต้นที่แห้ง *R. tuberosa* น้ำหนักแห้ง 12.5 กิโลกรัม สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (จำนวน 120 ลิตรx3 ครั้ง) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และนำไปสกัดแบบแยกส่วนแบบของเหลว-ของเหลว ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต นำไปทำการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารประกอบที่แยกได้เป็นสารกลุ่มฟลาวโวนอยด์จำนวน 5 ชนิด คือ cirsimaritin (**1**), cirsimarin (**2**), cirsiliol 4′-glucoside (**3**) sorbifolin (**4**) และ pedalitin (**5**) รวมทั้ง betulin, vanillic acid และ indole-3-carboxaldehyde และพบว่าสาร **1** และ **3** มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งผิวหนัง (KB cell line) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 30.05 และ 17.91 µg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สาร **2** มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cell line) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.83 µg/mL [26]



	R_1	R_2	R_3	R_4
1	CH_3	CH_3	H	H
2	CH_3	CH_3	H	Glc
3	CH_3	CH_3	OH	Glc
4	H	CH_3	H	H
5	H	CH_3	OH	H

ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของสารที่ **1** ถึง **5** [26]

ประเทศอินเดียก็มีรายงานการศึกษาสารสกัดจากใบแห้ง ในปี 2010 โดย A. Manikandan และ D. V. A. Doss ได้นำใบสด มาตากแห้งเป็นเวลา 5 วัน บดเป็นผงหยาบ นำไปสกัดด้วย 50% เอทานอล (1: 1 เอทานอล : น้ำ) และเก็บไว้ เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรอง ระเหยตัวทำละลายออก สารสกัดที่ได้มีสีน้ำตาลเข้ม นำสารสกัดที่ได้ไปตรวจสอบทางพฤกษเคมี ด้วยเทคนิค High performance thin layer chromatography (HPTLC) พบสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น คือ ascorbic acid (0.44 mg/g) ฟีนอลรวม (0.43 mg/g) แทนนิน (10.0 mg/g) ไลโคปีน (0.896 mg/g) แคโรทีนอยด์ (0.046 mg/g) และโทโคฟีรอล (0.187 mg/g) องค์ประกอบทางเคมี พบ สารกลุ่มฟีนอล ซาโปนิน ไกลโคไซด์ และฟลาวโวนอยด์ แต่ไม่พบแอลคาลอยด์ เมื่อวิเคราะห์ธาตุอาหาร

ด้วยเทคนิคอะตอมมิก แอบซอฟชัน (AAS) พบธาตุแมกนีเซียม (Mg) โคบอลท์ (Co) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) และธาตุเหล็ก (Fe) เท่ากับ 3.06, 0.01, 0.22, 0.50 และ 1.92 mg/g คุณค่าทางโภชนาการเท่ากับร้อยละ 280.9 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) [27]

ต่อมาในปี 2012 D. L. Chothani *et al.* ได้รายงานผลการจำแนก การแยก และปริมาณสารที่แสดงถึงลักษณะเฉพาะ (marker) ที่เรียกว่า พิมพ์ลายนิ้วมือ (fingerprint) ของต้นต้อยติ่งที่เก็บในเดือนสิงหาคม ในประเทศอินเดีย โดยสกัดสารด้วยวิธี soxhlet จากส่วน ราก ต้น และใบ ระบบตัวทำละลายที่ใช้เริ่มจากขั้วต่ำ ไปขั้วมาก คือ petroleum ether, toluene, chloroform, ethyl acetate และ methanol การวิเคราะห์จะใช้เครื่อง HPTLC ส่องดูลักษณะลายนิ้วมือของสารภายใต้หลอดรังสีฟลูออเรสเซนต์ เพื่อดูองค์ประกอบทางเคมี ชนิด และปริมาณของสาร ซึ่งจะมีความแตกแตกต่างกันตามส่วนของพืช ชนิด และอายุของพืชเป็นต้น [28]

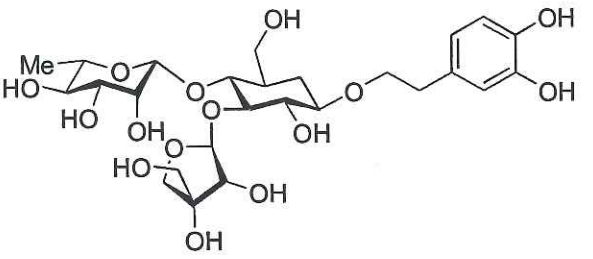
ในปี 2012 M. Rajan *et al.* ทำการศึกษาทางพฤกษเคมีของสารสกัดที่ได้จากใบแห้ง ของต้นต้อยติ่งโดยแยกเป็นส่วนตามชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ คือ ปิโตรเลียม-อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต และ เอทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทุกชนิด มีสารกลุ่มไกลโคไซด์ ฟลาวโวนอยด์ ฟีนอลิก และแทนนิน แต่ไม่พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และกรดอะมิโน หรือโปรตีน และยังได้ทำการประเมินฤทธิ์การต้านโรคเบาหวานของหนูขาวเพศเมีย (albino wistra rat) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วยสาร alloxan โดยใช้สารสกัดเมทานอล 100 และ 200 mg/kg ของน้ำหนักตัว โดยให้วันละ 1 ครั้ง ทดสอบนาน 14 วัน พบว่าสารสกัดที่ 200 mg/kg ให้ผลในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ไขมัน HDL-C เพิ่มขึ้น ใกล้เคียงกับหนูกลุ่มควบคุมที่ให้ยาลดเบาหวาน glibenclamide ที่ 5 mg/kg และได้สรุปผลการทดสอบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นต้อยติ่ง สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวาน โดยไปมีผลป้องกันการทำลายของตับจากสาร alloxan ซึ่งเป็นสารเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานได้ [29]

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาของ C. F. Lin *et al.* ในปี ค.ศ. 2006 ที่ทำการแยกสารบริสุทธิ์ได้หลายชนิดจากสารสกัดเอทิลอะซิเตต จากส่วนเหนือดินของต้นต้อยติ่ง จึงทำให้ P. P. SriKumar และ P. Pardhasaradhi (2013) สนใจที่จะทำการศึกษาความเป็นไปได้ของฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดแผลเปื่อย ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยการผูกหลอดเลือดไม่ให้เลือดไปเลี้ยงและทำให้เกิดแผลที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนปลาย (pylorus) ในหนูขาวเพศผู้ (wistar rat) แล้วทำการให้สารสกัดเอทิลอะซิเตตนี้ ทางปากที่ความเข้มข้น 250 และ 500 mg/kg เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้ยา Rantidine ซึ่งเป็นยารักษาโรคกระเพาะที่ความเข้มข้น 20 mg/kg พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนเหนือดินของต้นต้อยติ่ง ที่ความเข้มข้น 500 mg/kg ช่วยทำให้แผลในกระเพาะอาหารมี

ขนาดลดลง อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากสาร ในกลุ่มซาโปนิน, แทนนิน และฟลาวโวนอยด์ ที่พบในสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนเหนือดินของต้นต้อยติ่งนั่นเอง [30]

ปี 2013 B. E. Cheong *et al.* ได้รายงานผลการศึกษาสารสกัดเมทานอล และเอทิลอะซิเตต จากส่วนใบ และต้น ของ *Ruellia tuberosa* (ประเทศมาเลเซีย) พบว่าสารสกัดที่แสดงฤทธิ์การจับอนุมูล DPPH (radical scavenging activity) ดีที่สุด คือสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนใบ รองลงมาคือ สารสกัดเมทานอลจากส่วนใบ สารสกัดเมทานอลจากส่วนต้นและสารสกัดเอทิลอะซิเตต จากส่วนต้น มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 720, 800, 1050 และ 1640 µg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแสดงฤทธิ์การต้านการแบ่งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Human cervical cancer; HeLa)โดยมีลำดับการออกฤทธิ์จากมากไปหาน้อยดังนี้ สารสกัดเมทานอลจากส่วนต้น สารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนใบ สารสกัดเมทานอลจากส่วนใบ และสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากส่วนต้น ด้วยค่า IC_{50} มากกว่า 90 µg/mL และแสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งเต้านม (human breast cancer (MCF-7) cell lines) โดยสารสกัดเมทานอลจากส่วนต้น มีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเอทิลอะซิเตต จากส่วนต้น สารสกัดเมทานอลจากส่วนใบ และสารสกัดเอทิลอะซิเตต จากส่วนใบ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 22, 40, 55 และ 70 µg/mL ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และเสนอว่าต้น *Ruellia tuberosa* เป็นพืชสมุนไพรที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ และนำไปใช้ในการต้านเซลล์มะเร็งเต้านมได้ ในอนาคต โดยจะต้องทำการแยกเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์และทดสอบฤทธิ์เพื่อให้ทราบว่าเป็นสารชนิดใด [31]

ในประเทศไทย ได้มีการนำต้นต้อยติ่ง มาใช้เป็นยารักษาภายนอก เพื่อต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) ยาสำหรับล้างพิษสารพิษอื่น ซึ่งก่อนหน้านี้มีการรายงานทางพฤกษเคมี ของต้นต้อยติ่ง พบว่าประกอบด้วย สารกลุ่มสเตียรอยด์ (steroids) เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) สารประกอบอะลิฟาติกสายโซ่ยาว ดังนั้น C. Phakeovilay *et al.* (2013) จึงได้นำต้นต้อยติ่งมาทำการศึกษา โดยเก็บส่วนเหนือดินของต้นต้อยติ่งในพื้นที่กรุงเทพฯมาทำให้แห้ง นำมาสกัดด้วย ตัวทำละลายเมทานอล ระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารกสัดเมทานอลเข้มข้น จากนั้นนำมาสกัดแยกส่วนแบบของเหลว-ของเหลว ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ออก นำสารสกัดส่วนที่เหลือมาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้สารบริสุทธิ์ 12 ชนิด ในกลุ่ม phenylethanoid และ flavone glycosides และนำสารที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เช่น สาร verbascoside (**6**) มีค่า SC_{50}อยู่ที่ 13.1±0.8 µM ซึ่งมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับวิตามินซีมีค่า SC_{50} อยู่ที่ 21.2±1.4 µM [32]



6

ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของสาร verbascoside [32]

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และเนื่องจากในปัจจุบันที่มนุษย์เราให้ความสนใจดูแลทะนุถนอมผิวพรรณให้ดูสดใส เพราะผิวหนังของคนเราจัดเป็นอวัยวะที่สำคัญส่วนหนึ่งของร่างกายจึงมีการให้ความดูแล เอาใจใส่ ทะนุถนอมผิวพรรณด้วยผลิตภัณฑ์จำพวกครีมทาบำรุงผิว ซึ่งในปัจจุบันมีวางจำหน่ายอยู่มากมายหลายชนิดในซุปเปอร์มาเก็ต การใช้ผลิตภัณฑ์ครีมโลชันทาบำรุงผิวเพื่อให้ความชุ่มชื้น กันผิวแห้ง แตกระแหง หรือใช้ในการรักษาโรคผิวหนังต่างๆ ได้ เช่นโรคผิวหนังอักเสบ ลดริ้วรอย โดยเติมสารสกัดจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และอาจมีคุณสมบัติในการรักษาอื่นๆ โดยส่วนประกอบที่พบบ่อยในเครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์บำรุงผิวทั่วไปจะประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่มีหน้าที่ต่างกันออกไปขึ้นกับวัตถุประสงค์ของเครื่องสำอางที่ต้องการเน้นบำรุงที่จุดไหนส่วนประกอบที่สำคัญแบ่งได้ดังนี้ คือ น้ำ กลีเซอรีน (glycerin) และสารกลุ่มไกลคอล (glycol) ลาโนลีน (lanolin) ปิโตรลาทัม (petrolatum) สารกลุ่มสเตอเรท (sterate), Sodium Lauryl Sulfate (SLS) และ Sodium Laureth Sulfate (SLES), BHA (Butylatedhydroxyanisole) และ BHT (Butylatedhydroxytoluene), Triethanolamine (TEA), Diethanolamine (DEA), Triclosan [33] ด้วยเหตุนี้สมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และสรรพคุณต่างๆ ของครีมทาผิวที่จำหน่ายในท้องตลาดจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่นำมาใช้เป็นส่วนผสม สัดส่วนที่ใช้ และชนิดของสารออกฤทธิ์ เช่นชนิดและปริมาณของสารสกัดสมุนไพรที่เติมลงไป เพื่อให้ครีมทาผิวมีคุณสมบัติ และออกฤทธิ์ได้ดีตามที่ต้องการ

แต่อย่างไรก็ตามการใส่สารสกัดจากธรรมชาติ และปริมาณที่ใช้ อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อครีม ผิวสัมผัสอันเนื่องมาจากการอิ่มตัวมากเกินไป การทำปฏิกิริยาขององค์ประกอบต่างๆ การระเหยของตัวทำละลาย การสลายตัวทางเคมี สมบัติในการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่อาจลดลง และความคงตัวของครีมทาผิว ซึ่งส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาด้วย

จากรายงานผลการวิจัยที่ผ่านมา พบว่าสารสกัดที่ได้จากต้นต้อยติ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์บางชนิด โดยฤทธิ์จะแตกต่างกันไปถ้าใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน

นอกจากนี้ยังมีรายงานการแยกสารบริสุทธิ์ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงนำสารสกัดธรรมชาติจากต้นต้อยติ่ง มาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตครีมทาผิวผสมสารสกัดจากต้นต้อยติ่ง เพื่อดูคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (อนุมูลอิสระ DPPH) เมื่อเวลาผ่านไป

บทที่ 3
เนื้อหาการวิจัย

3.1 เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

3.1.1 เครื่องมือ

1. เครื่องอัลตราไวโอเลต-วิซิเบลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS SPECTROPHOTOMETER) รุ่นV-650 spectrophotometer
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น Denver Instrument SI-234
3. กล่องฉายแสงอัลตราไวโอเลต
4. เครื่องระเหยตัวทำละลายระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) BÜCHI รุ่น RotavaporR-210, Heating Bath B-491, Vacuum Pump V-700, CTL 911
5. เครื่องวัดความหนืด (Viscometers) รุ่น DV-II+Pro

3.1.2 อุปกรณ์ และเครื่องแก้ว

1. กรวยกรอง (Glass funnel)
2. กรวยสกัด (Separating funnel)
3. กระบอกตวง (Graduated cylinder)
4. กระดาษกรอง (Filter paper, Whatman)
5. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
6. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
7. ขวดวัดปริมาตร (Volume metric flask)
8. คิวเวทท์ (Cuvette)
9. คอลัมน์แยกสาร (Column chromatography)
10. ปั๊มลม (Air pump)
11. ช้อนตักสาร (Spatula)
12. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
13. บีกเกอร์ (Beaker)
14. ปิเปตต์ (Pipette)
15. แผ่นทิลเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography plate: TLC)
16. ไมโครปิเปต (Micro pipette)

17. ลูกยาง (Rubber bulb)
18. หลอดทดลอง (Test tube)
19. หลอดหยดสาร (Pasture pipette)
20. กระดาษกรอง เบอร์ 2 (Whatman No.2)

3.1.3 สารเคมี

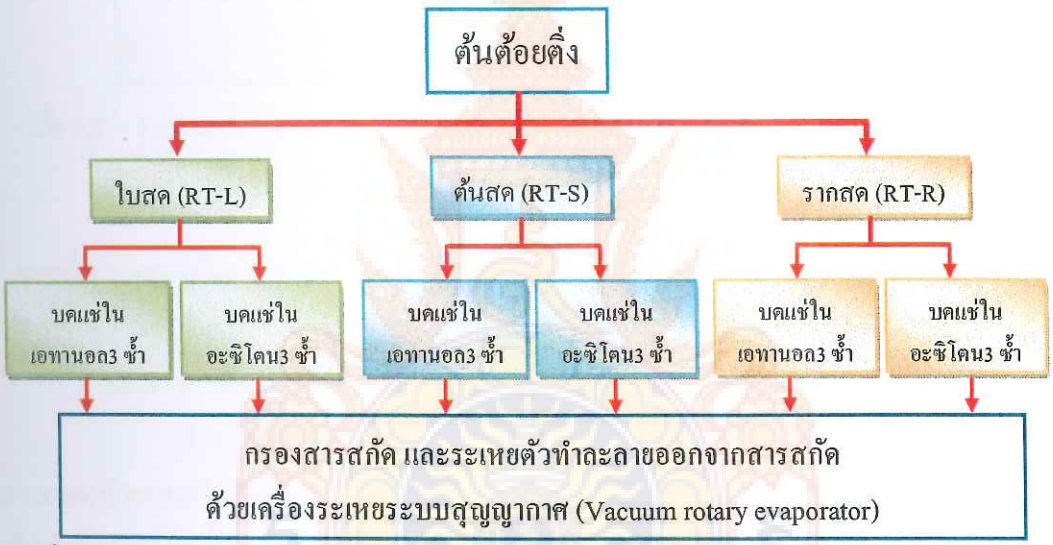
1. อะซิโตน (Acetone AR grade)
2. เอทานอล (Ethanol AR grade)
3. เอทิลอะซิเตต (Ethylacetate AR grade)
4. เฮกเซน (Hexane AR grade)
5. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane AR grade)
6. เมทานอล (Methanol AR grade)
7. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
8. Silica gel
9. Cremophor A-6
10. Cremophor A-25
11. Finsolv TN
12. White oil 2076
13. G.M.S. หรือ Zohar Glst SE
14. Wax-C
15. Propylene Glycol
16. Alpha bisabol
17. Unigerm G2

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาโดยทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบกับสารDPPHของสารสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเมื่อนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว เมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งมีวิธีการดำเนินการวิจัยดังนี้

3.2.1 เก็บตัวอย่าง และเตรียมสารสกัดหยาบจากต้นต้อยติ่ง

เก็บพืชตัวอย่างต้นต้อยติ่งบริเวณมหาวิทยาลัยรามคำแหง (วิทยาเขตหัวหมาก) นำมาล้างทำความสะอาด เอาสิ่งปลอมปนออก แยกส่วนของพืชออกเป็น ส่วนใบ ส่วนต้น และส่วนราก บดย่อยให้เนื้อพืชแตกและมีขนาดเล็กจากนั้นนำแต่ละส่วนของพืชที่เตรียมได้ไปสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือเอทานอล และอะซิโตน ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้ตัวทำละลายแช่พอท่วมตัวอย่าง แช่ไว้ประมาณ 5-7 วัน กรองตัวทำละลายของสารสกัดที่ได้ และนำกากพืชไปแช่ตัวทำละลายซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมสารสกัดที่ได้ทั้ง 3 ครั้งเข้าด้วยกัน นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารระบบสุญญากาศ (Vacuum rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเข้มข้น (crude extract)



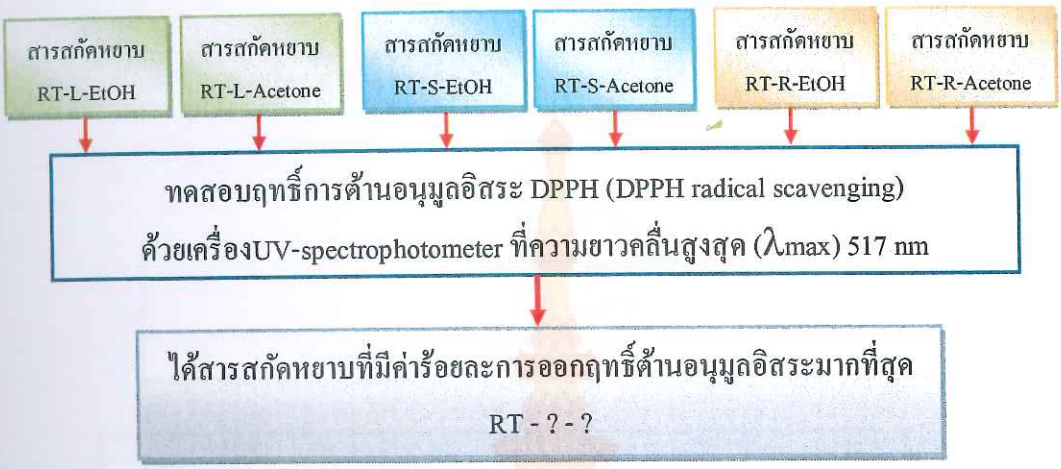
เมื่อ RT = *Ruellia tuberosa* (ต้นต้อยติ่ง), L = Leaves (ใบ), S = Stems (ต้น), R = Roots (ราก)

ภาพที่ 3.1 การเตรียมต้นต้อยติ่งเพื่อใช้ในการสกัด

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง

เตรียมสาร 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ที่มีความเข้มข้น 0.2 mM ในตัวทำละลายเอทานอล (AR grade) นำไปทำปฏิกิริยากับสารสกัดหยาบเอทานอลและอะซิโตน จากส่วนต้น ใบ และ รากที่ความเข้มข้น 1,000 ppm โดยใช้อัตราส่วน สารสกัดหยาบ : DPPH = 3:1 ตั้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่เหลือที่ λ_{max} 517 nm

ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และคำนวณร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH (% Activity)



เมื่อ RT = *Ruellia tuberosa* (ต้นต้อยติ่ง), L = Leaves (ใบ), S = Stems (ต้น), R = Roots (ราก), EtOH = เอทานอล, Acetone = อะซิโตน

ภาพที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารสกัดเข้มข้น และนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH

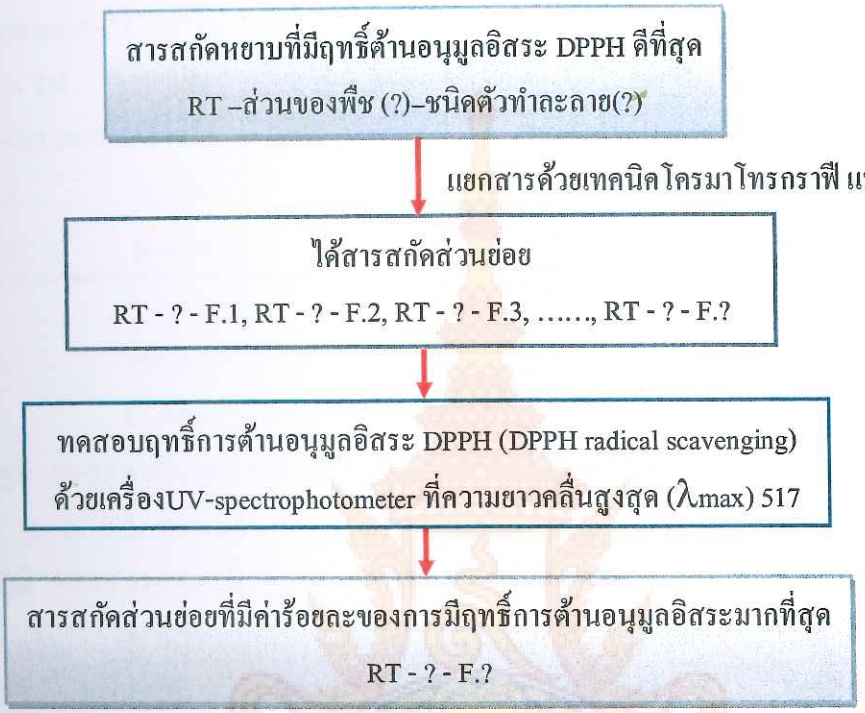
3.2.3 การแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารสกัดหยาบเข้มข้นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ไปทำการแยกให้ได้เป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column Chromatography) โดยใช้คอลัมน์เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร และใช้ระบบตัวทำละลายผสมมีขั้วแตกต่างกันเริ่มจากระบบขั้วน้อย ขั้วปานกลาง และขั้วมาก ในอัตราส่วนต่างๆ ของ เฮกเซน:เอทิลอะซิเตต เป็น 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80 และ 0:100 ตามลำดับ

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ของสารสกัดส่วนย่อย

นำสารสกัดส่วนย่อยจากข้อ 3.2.3 ที่ได้จากการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดส่วนย่อยที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 mM โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง สารสกัดหยาบ: DPPH = 3:1 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 517 nm ของ DPPH ที่เหลือด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ

3 ซ้ำ และหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%Activity) แล้วทำการเลือกสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดและมีน้ำหนักมากพอไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีม เพื่อติดตามความคงตัวของสารสกัดต่อไป



เมื่อ RT = *Ruellia tuberosa* (ต้นต้อยติ่ง), F = Fraction (สารสกัดส่วนย่อย)

ภาพที่ 3.3 แสดงขั้นตอนการแยกสารสกัดเป็นส่วนย่อย และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH

3.2.5 เตรียมครีมทาผิวพื้นฐาน และครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

- การเตรียมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวพื้นฐาน (base cream) ผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวประกอบด้วยส่วนผสมดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนผสมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวพื้นฐาน

ส่วนผสม A	ส่วนผสม B	ส่วนผสม C
Cremophor A-6 15 กรัม	Propylene Glycol 10 กรัม	สารแก้แพ้ (Alpha bisabol) 1 กรัม
Cremophor A-25 5 กรัม	น้ำสะอาด 370 กรัม	สารกันเสีย (Unigerm G2) 0.5-1.0 %
Finsolv TN 30 กรัม		
White oil 2076 50 กรัม		
G.M.S. 30 กรัม		
Wax-C 20 กรัม		

วิธีการทำครีมทาผิว

1. ผสมส่วนผสม A รวมกันตามลำดับ แล้วนำไปอุ่นให้ร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสในภาชนะใบที่ 1

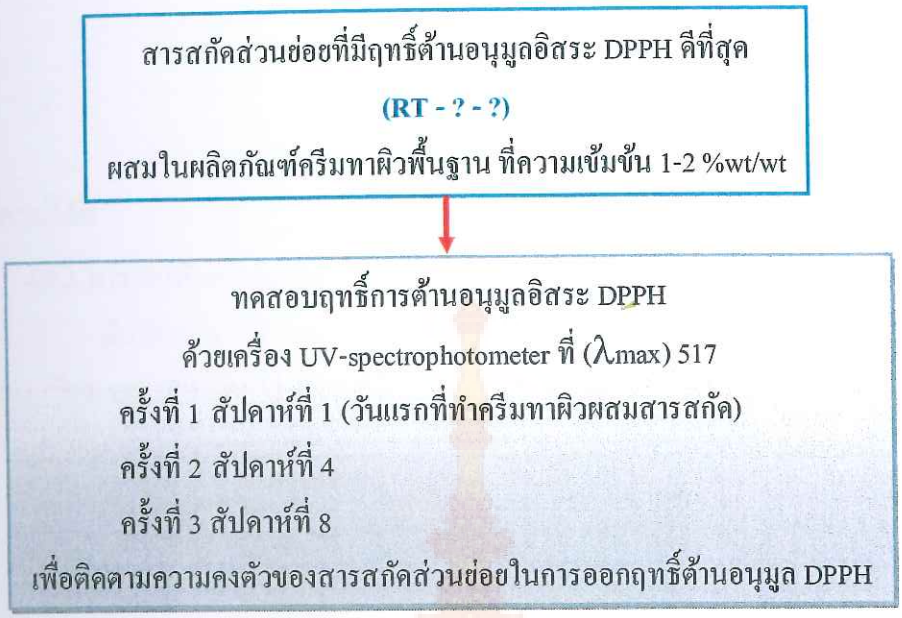
2. ผสมส่วนผสม B รวมกันตามลำดับ แล้วนำไปอุ่นให้ร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสในภาชนะใบที่ 2

3. นำส่วนผสม A และ B ยกขึ้นมาจากอ่างน้ำร้อน และนำส่วนผสม B เทลงในส่วนผสม A พร้อมปั่นไปเรื่อยๆ จนเป็นเนื้อครีม

4. เมื่ออุณหภูมิลดลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส ให้เติมส่วนผสม C ทีละตัวตามลำดับ คนไปเรื่อยๆ จนเข้ากันดีและเป็นเนื้อครีม

3.2.6 การเตรียมครีมทาผิว และการติดตามความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในครีมทาผิวในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

เตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด มีปริมาณมากพอ และมีลักษณะทางกายภาพที่ทำให้เนื้อครีมดูดี เช่นสีของเนื้อครีมดูน่าใช้ โดยใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของสารสกัดต่อเนื้อครีมที่ 1% และ 2 % (wt/wt) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทดสอบวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของครีมทาผิว (ตัวควบคุม) และครีมทาผิวที่ผสมสารสกัดส่วนย่อย ในสัปดาห์ที่ 1 (วันที่เตรียมครีมผสมสารสกัด) สัปดาห์ที่ 4 และ 8 เพื่อติดตามความคงตัวของสารสกัดหยาบในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดหยาบ รวมเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer)



ภาพที่ 3.4 แสดงขั้นตอนการนำสารสกัดส่วนย่อยผสมในครีมทาผิวพื้นฐาน และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH

3.2.7 การเผยแพร่ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยสู่ชุมชน

นำความรู้จากงานวิจัยไปเผยแพร่ให้กับผู้เข้าร่วมอบรมในโครงการบริการวิชาการของสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

3.3 การออกแบบการวิจัย

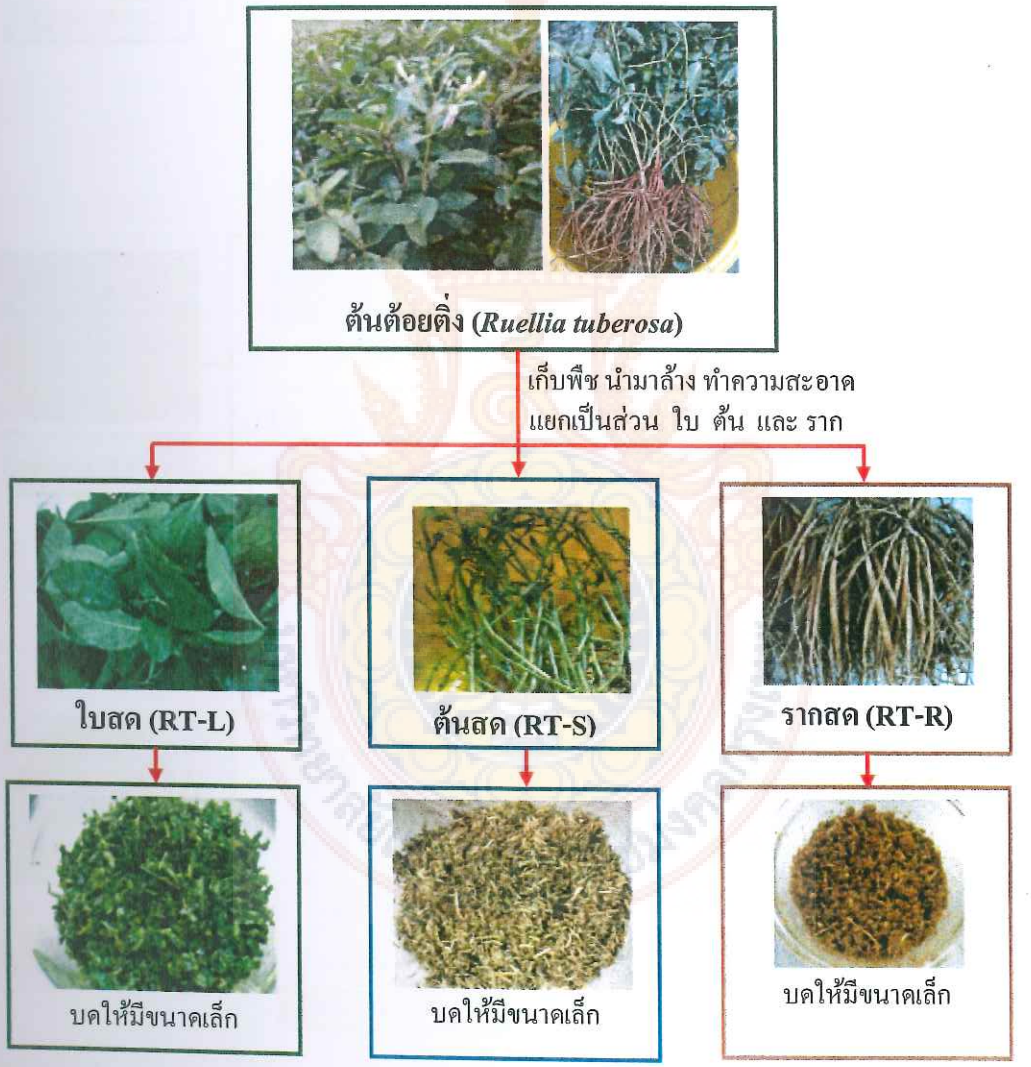
ภาพที่ 3.5 แผนการดำเนินการทำวิจัย

บทที่ 4
ผลการวิจัย และข้อวิจารณ์

4.1 ผลการวิจัย

4.1.1 การเก็บตัวอย่างและเตรียมสารสกัดหยาบจากต้นต้อยติ่ง

ต้นต้อยติ่ง ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ เก็บในเดือน ธันวาคม 2556 จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง (วิทยาเขตหัวหมาก) กรุงเทพมหานคร



ภาพที่ 4.1 การเก็บต้นต้อยติ่งและการเตรียมส่วนใบ ต้น และราก เพื่อใช้ในการสกัด

4.1.2 เตรียมสารสกัดหยาบจากต้นต้อยติ่ง

การเตรียมสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และ ราก ของต้นต้อยติ่ง

ภาพที่ 4.2 การสกัดสารจากส่วนใบ ต้น และราก ด้วยตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน

- การเตรียมต้นต้อยติ่งเพื่อใช้ในการสกัด

นำต้นต้อยติ่งทั้งต้น (ใบ ต้น และราก) นำมาล้างทำความสะอาด เอาสิ่งปลอมปนออก แยกพืชออกเป็นส่วนใบ ต้น และราก นำไปบดย่อยให้เนื้อพืชแตก และมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4.2)

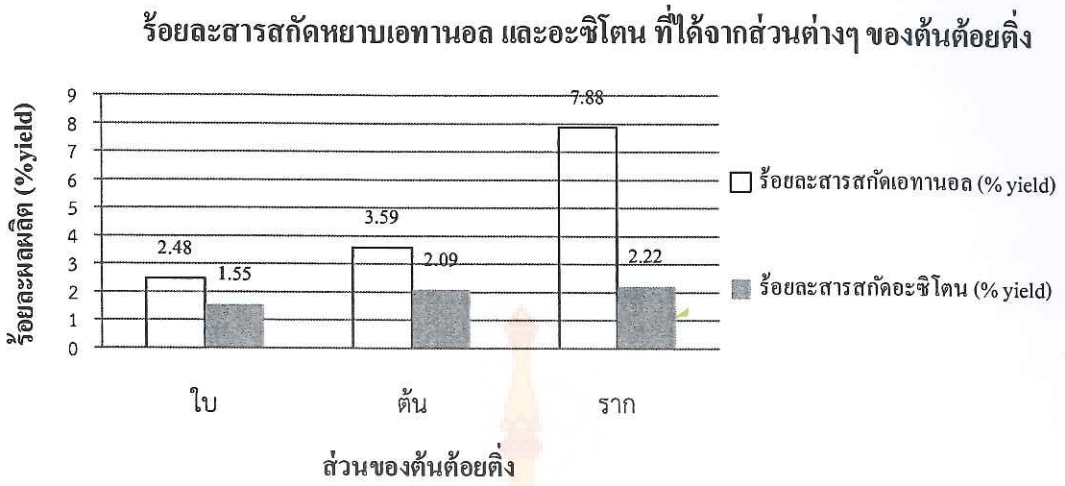
- การเตรียมสารสกัดหยาบจากต้นต้อยติ่ง

นำแต่ละส่วนของพืชที่เตรียมได้ไปสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ เอทานอล และอะซิโตน โดยใช้ตัวทำละลายแช่พอท่วมตัวอย่าง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 5-7 วัน จากนั้นกรองตัวทำละลายของสารสกัดที่ได้ และนำกากพืชไปแช่ตัวทำละลายซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมสารสกัดที่ได้ ทั้ง 3 ครั้งเข้าด้วยกัน นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเอทานอลของส่วน ใบ ต้น และราก และสารสกัดหยาบอะซิโตนของส่วน ใบ ต้น และราก (ภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักพืช สารสกัด และร้อยละน้ำหนักสารสกัดเอทานอล และอะซิโตน ที่ได้จากการสกัดจากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง

ส่วนของพืช	ชนิดของตัวทำละลาย					
	เอทานอล			อะซิโตน		
	น้ำหนักพืชสด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละสารสกัด	น้ำหนักพืชสด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละสารสกัด
ใบ	1020	25.32	2.48	250	3.87	1.55
ต้น	390	14.00	3.59	300	6.28	2.09
ราก	1000	78.76	7.88	200	4.44	2.22

จากตารางที่ 4.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ เอทานอล และอะซิโตน พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดสารออกจากพืชตัวอย่างมีความแตกต่างกัน โดยตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารออกมาได้มากกว่าการใช้ตัวทำละลายอะซิโตน และเมื่อเทียบร้อยละสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของพืช คือ ใบ ต้น และราก ต่อน้ำหนักพืชสดที่ใช้ (% yield) ได้ร้อยละของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนรากมากที่สุด รองลงมาคือ ส่วนต้น และใบ คือ 7.88, 3.59 และ 2.48 ตามลำดับ และผลผลิตสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ได้ร้อยละผลผลิตของส่วนรากมากที่สุดเช่นกัน รองลงมาคือ ส่วนต้น และใบ โดยมีค่าร้อยละ 2.22, 2.09 และ 1.55 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 กราฟเปรียบเทียบร้อยละน้ำหนักสารสกัดที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน

4.1.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง

4.1.3.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1,000 ppm

การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเอทานอล และอะซิโตน จากส่วนใบ ต้น และราก ให้มีความเข้มข้น 1,000 ppm โดยใช้อัตราส่วนของสารตัวอย่าง 1 mg ต่อปริมาตรของตัวทำละลายเอทานอล 1 mL (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 แสดงน้ำหนักสาร และปริมาตรตัวทำละลาย ในการเตรียมสารสกัดเข้มข้น 1,000 ppm

ลำดับที่	สารตัวอย่าง	น้ำหนักสาร (กรัม)	ปริมาตรเอทานอล (mL)
1	สารสกัดเอทานอลจากส่วนใบ	0.0506	50.6
2	สารสกัดอะซิโตนจากส่วนใบ	0.0507	50.7
3	สารสกัดเอทานอลจากส่วนต้น	0.0531	53.1
4	สารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้น	0.0524	52.4
5	สารสกัดเอทานอลจากส่วนราก	0.0509	50.9
6	สารสกัดอะซิโตนจากส่วนราก	0.0506	50.6

4.1.3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างผสมกับสารละลาย DPPH

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ที่ความเข้มข้น 0.2 mM ในตัวทำละลายเอทานอล วัดค่าการดูดกลืนรังสีสูงสุดได้เท่ากับ 2.2891 นำไปทำปฏิกิริยากับสารสกัดหยาบเอทานอล และสารสกัดหยาบอะซิโตน จากส่วนใบ ต้น และราก ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง สารสกัดหยาบต่ออนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 3:1 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนรังสี UV ที่ λ_{max} 517 nm ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer) และคำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% activity) ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบเอทานอล	ค่าการดูดกลืนแสง(Absorbance)				S.D.	C.V.	% Activity
	1	2	3	เฉลี่ย			
ใบ	0.4637	0.4927	0.4690	0.4751	0.0017	0.3597	79.2437
ต้น	0.4866	0.4795	0.4403	0.4688	0.0032	0.7000	79.5203
ราก	1.0414	1.0199	1.0426	1.0346	0.0022	0.2122	54.8017

จากตารางที่ 4.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) โดยการคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%Activity) ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่งพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต้น และใบ ให้ฤทธิ์ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ใกล้เคียงกัน คือ 79.5203 และ 79.2437 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนรากให้ฤทธิ์ต่ำสุดอยู่ที่ 54.8017

ตารางที่ 4.4 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (%Activity) ของสารสกัดหยาบอะซิโตน ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ อะซิโตน	ค่าการดูดกลืนแสง(Absorbance)				S.D.	C.V.	%Activity
	1	2	3	เฉลี่ย			
ใบ	0.5478	0.5304	0.5528	0.5437	0.0020	0.3688	76.2497
ต้น	0.2695	0.2690	0.3685	0.2690	0.0020	0.7587	88.2487
ราก	0.5204	0.5105	0.4981	0.5097	0.0026	0.5152	77.7350

จากตารางที่ 4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) โดยทำการคำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%Activity) ของสารสกัดหยาบอะซิโตน จากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง พบว่าสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น ให้ฤทธิ์ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดที่ 88.2487 ส่วนสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนใบ และรากให้ร้อยละการออกฤทธิ์ใกล้เคียงกัน คือ 76.2497 และ 77.7350 ตามลำดับ

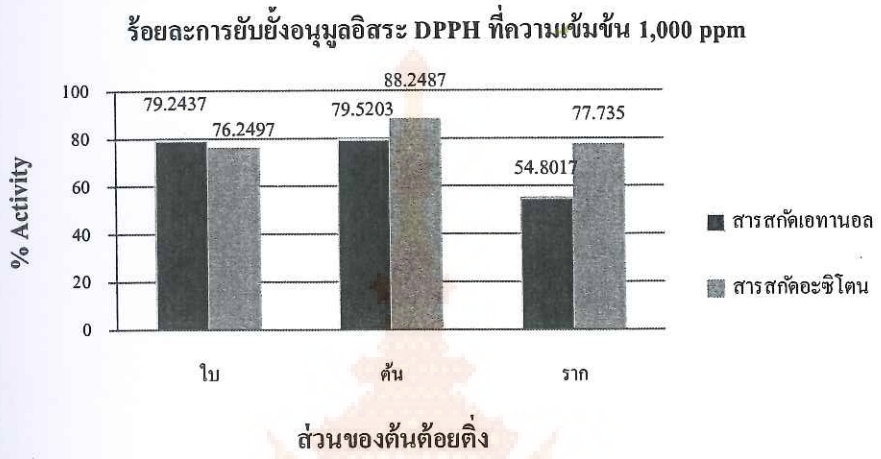
การเปรียบเทียบร้อยละการออกฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน ของสารสกัดที่ได้จากส่วน ใบ ต้น และราก ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอลและอะซิโตนจากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่ง

ส่วนของพืช	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm	
	สารสกัดหยาบเอทานอล	สารสกัดหยาบอะซิโตน
ใบ	79.2437	76.2497
ต้น	79.5203	88.2487
ราก	54.8017	77.735

จากตารางที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดสารเพื่อให้ได้สารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ดีที่สุด จากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง ของตัวทำละลาย 2 ชนิด

คือ เอทานอล และอะซิโตน พบว่าการใช้ตัวทำละลายอะซิโตน สามารถสกัดสารที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากส่วนต้น และราก ได้ดีกว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย แต่การสกัดสารจากส่วนใบ ด้วยตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน จะได้สารสกัดหยาบที่แสดงร้อยละการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกันคือ 79.2437 และ 76.2497 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 กราฟเปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือมีค่าร้อยละของการออกฤทธิ์เท่ากับ 88.2487 จึงนำสารสกัดนี้ไปทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

4.1.3 การแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

นำสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น 6.28 กรัม มาเตรียมก่อนนำไปแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตน ละลายสารสกัดหยาบทั้งหมดแล้วนำสารที่ละลายได้ด้วยตัวทำละลายอะซิโตน มาระเหยตัวทำละลายออกได้น้ำหนัก 1.83 กรัม นำไปทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โดยใช้คอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร บรรจุตัวดูดซับที่เป็นเฟสคงที่ (stationary phase) คือซิลิกาเจล น้ำหนักประมาณ 165 กรัม และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ใช้ตัวทำละลายที่มีความมีขั้วเพิ่มขึ้น หรือระบบเกรเดียนท์อิลูชัน (gradient elution) ในการแยก โดยใช้ตัวทำละลาย เฮกเซนต่อเอทิลอะซิเตต และเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายที่มีขั้วมากขึ้น ติดตามและรวมสารที่ได้ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบผิวบาง (Thin layer chromatography) ภายใต้หลอดรังสี UV (ภาพที่ 4.5)

สารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น
น้ำหนัก 1.83 กรัม

ผ่านตัวดูดซับ ระบบเกรเดียนท์อิลูชัน
(เฮกเซน: เอทิลอะซิเตต)

สารสกัดส่วนย่อยที่ได้จากเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

ใช้แผ่น TLC ติดตาม และ
รวมสารสกัดส่วนย่อย

สารสกัดส่วนย่อยที่แยกได้ด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟี แบบคอลัมน์

ภาพที่ 4.5 แผนผังการแยกสารสกัดหยาบให้ได้สารสกัดส่วนย่อย

จากการแยกสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ได้สารสกัดส่วนย่อยจำนวน 11 กลุ่มลักษณะทางกายภาพ และน้ำหนักที่ได้ต่างกัน แสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพ น้ำหนักสารสกัดส่วนย่อย ของสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้น

ส่วนย่อยที่	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
1	ของเหลวหนืดสีเหลืองส้ม	49.4
2	ของเหลวหนืด สีเหลือ	7.5
3	ของแข็งผลึกเข็มสีเขียว น้ำตาล	244.8
4	ของแข็งสีน้ำตาลอมดำ	76.1
5	ของแข็งสีเขียวเข้มดำ	120.4
6	ของแข็งสีเขียวอมน้ำตาลดำ	75.0
7	ของเหลวหนืดสีเหลือเข้มอมน้ำตาล	48.5
8	ของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม อมน้ำตาล	2.8
9	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	3.5
10	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	29.2
11	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	7.7
น้ำหนักรวม		664.9

หมายเหตุ: สารสกัดบางส่วนที่หายไปติดอยู่ในซิลิกา ซึ่งไม่สามารถใช้เอทิลอะซิเตตชะออกมาได้

4.1.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ของสารสกัดส่วนย่อย

นำสารสกัดส่วนย่อยอะซิโตนจากส่วนต้นที่แยกได้ทั้งหมด 11 กลุ่ม ไปทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดส่วนย่อยอะซิโตน เข้มข้น 1,000 ppm ทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 mM ใช้อัตราส่วนสารละลายของสารสกัด ต่อสาร DPPH เท่ากับ 3:1 การเตรียมสารละลายของสารสกัดส่วนย่อยแสดงดังตารางที่ 4.7 และผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดส่วนย่อยแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 แสดงน้ำหนักสาร และปริมาตรตัวทำละลาย เตรียมสารสกัดส่วนย่อยเข้มข้น 1,000 ppm

สารสกัดส่วนย่อยที่	น้ำหนักสาร (กรัม)	น้ำหนักสาร(µg)	ปริมาตรเอทานอล(µL)
1	0.0087	8,700	8,700
2	0.0075	7,500	7,500
3	0.0075	7,500	7,500
4	0.0177	17,700	17,700
5	0.0111	11,100	11,100
6	0.0111	11,100	11,100
7	0.0134	13,400	13,400
8	0.0014	1,400	1,400
9	0.0031	3,100	3,100
10	0.0043	4,300	4,300
11	0.0017	1,700	1,700

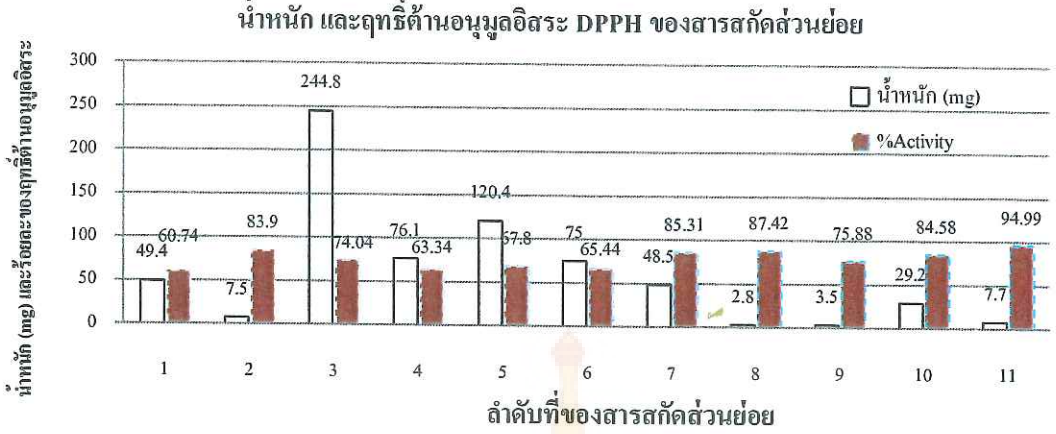
ตารางที่ 4.8 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อยที่ความเข้มข้น 1,000 ppm

ส่วนย่อยที่	ค่าการดูดกลืนแสง				S.D.	C.V.	%Activity
	1	2	3	เฉลี่ย			
1	0.8058	0.806	0.806	0.8059	0.0001	0.0129	60.7495
2	0.3302	0.3304	0.3308	0.3304	0.0003	0.0876	83.9041
3	0.5329	0.5329	0.5328	0.5328	0.0001	0.0143	74.0439
4	0.7512	0.7511	0.7511	0.7511	0.0001	0.01	63.4092
5	0.6606	0.6609	0.6612	0.6609	0.0003	0.0429	67.8034
6	0.7095	0.7093	0.7095	0.7094	0.0001	0.0143	65.4406
7	0.3019	0.3015	0.3013	0.3016	0.0003	0.1048	85.3072
8	0.2583	0.2582	0.2584	0.2583	0.0001	0.0333	87.4166
9	0.4947	0.4952	0.4954	0.4951	0.0004	0.0759	75.8805
10	0.3161	0.3166	0.317	0.3165	0.0005	0.1426	84.5813
11	0.1028	0.1026	0.1026	0.1027	0.0001	0.1425	94.9968
DPPH 0.2 mM	2.0532	2.0527	2.0523	2.0527	0.0005	0.0224	-

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อยทั้ง 11 กลุ่ม มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยมีลำดับของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากมากไปหาน้อยของสารสกัดส่วนย่อย ดังนี้ สารสกัดส่วนย่อยที่ 11, 8, 7, 10, 2, 9, 3, 5, 6, 4 และ 1 โดยสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าร้อยละ 80 เรียงลำดับจากมากที่สุด คือส่วนย่อยที่ 11, 8, 7, 10 และ 2 โดยมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 94.9968, 87.4166, 85.3072, 84.5813 และ 83.9041ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพ น้ำหนักของสารสกัดส่วนย่อย และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แสดงในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.6

ตารางที่ 4.9 แสดงน้ำหนัก และร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อยอะซิโตน

ส่วนย่อยที่	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	%Activity
1	ของเหลวหนืดสีเหลืองส้ม	49.4	60.7495
2	ของเหลวหนืด สีเหลือ	7.5	83.9041
3	ของแข็งผลึกเข็มสีเขียว น้ำตาล	244.8	74.0439
4	ของแข็งสีน้ำตาลอมดำ	76.1	63.4092
5	ของแข็งสีเขียวเข้มดำ	120.4	67.8034
6	ของแข็งสีเขียวอมน้ำตาลดำ	75	65.4406
7	ของเหลวหนืดสีเหลือเข้ม อมน้ำตาล	48.5	85.3072
8	ของเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม อมน้ำตาล	2.8	87.4166
9	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	3.5	75.8805
10	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	29.2	84.5813
11	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ	7.7	94.9968
น้ำหนักรวม		664.9	



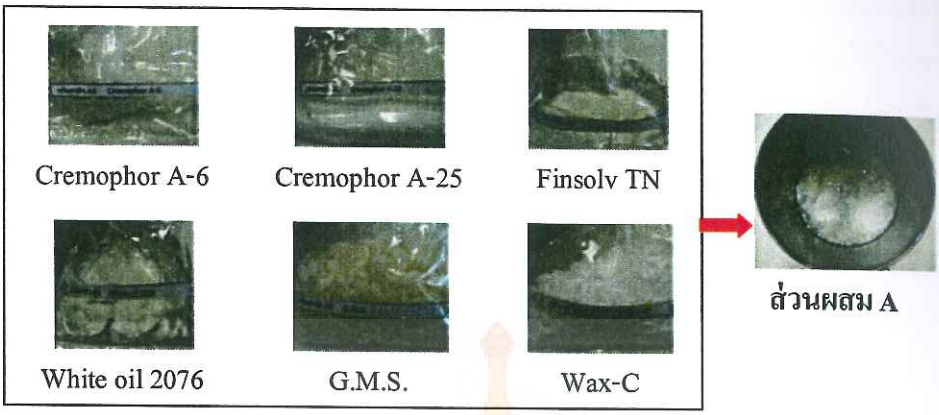
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงน้ำหนัก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดส่วนย่อย จากส่วนต้นที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย

4.1.5 เตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

ทำการเตรียมครีมทาผิวพื้นฐานตามสูตรในตารางที่ 4.10 ซึ่งมีส่วนประกอบของสารที่ใช้ผลิตครีมทาผิวแสดงในภาพที่ 4.7 และขั้นตอนการเตรียมครีมทาผิวแสดงดังภาพที่ 4.8 จะได้ครีมทาผิวพื้นฐาน จากนั้นทำการเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ฤทธิ์มากกว่าร้อยละ 80 และมีปริมาณสารที่มากพอที่จะนำมาใช้ผสมในครีมทาผิว เพื่อจะศึกษาความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยที่ได้

ตารางที่ 4.10 แสดงส่วนผสมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวพื้นฐาน

ส่วนผสม A	น้ำหนัก (กรัม)	ส่วนผสม B	น้ำหนัก (กรัม)	ส่วนผสม C	น้ำหนัก (กรัม)
Cremophor A-6	15.00	Propylene Glycol	10.00	Alpha bisabol	1.00
Cremophor A-25	5.00	น้ำสะอาด	370.00	(สารแก้แพ้)	
Finsolv TN	30.00			Unigerm G2	3.06
White oil 2076	50.06			(สารกันเสีย)	
G.M.S.	30.02				
Wax-C	20.00				



ภาพที่ 4.7 ส่วนผสม A ของครีมทาผิว

ขั้นตอนวิธีการทำครีมทาผิว

1. ผสมส่วนผสม A รวมกันตามลำดับ แล้วนำไปอุ่นให้ร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสในภาชนะใบที่ 1

2. ผสมส่วนผสม B รวมกันตามลำดับ แล้วนำไปอุ่นให้ร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสในภาชนะใบที่ 2

3. นำส่วนผสม A และ B ยกขึ้นมาจากอ่างน้ำร้อน และนำส่วนผสม B เทลงในส่วนผสม A พร้อมปั่นไปเรื่อยๆ จนเป็นเนื้อครีม

เมื่ออุณหภูมิลดลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส ให้เติมส่วนผสม C ทีละตัวตามลำดับ คนไปเรื่อยๆ จนเข้ากันดีและเป็นเนื้อครีม

ภาพที่ 4.8 วิธีการทำครีมทาผิวพื้นฐาน

ลักษณะครีมทาผิวพื้นฐานที่เตรียมได้มีสีขาวเป็นของเหลวข้นหนืดเมื่อนำไปวัดค่าความหนืด หรือวัดแรงที่ใช้ทำให้ของเหลวที่มีพื้นที่หน้าตัด หนา 1 cm เคลื่อนที่ด้วยความเร็ว 1 cm/sec ในหน่วย Centipoise (cPs) ด้วยเครื่องวัดความหนืดรุ่น LD VD-II+Pro (ภาพที่ 4.9) มีค่าเท่ากับ 71,085 cPs โดยข้อมูลการวัดความหนืดครีมทาผิวพื้นฐานเริ่มต้น แสดงในตารางที่ 4.11 จากนั้นนำครีมทาผิวที่ได้มาผสมสารสกัดส่วนย่อย เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

ภาพที่ 4.9 เครื่องวัดความหนืด (Viscometer)

ตารางที่ 4.11 ข้อมูลการวิเคราะห์ความหนืดของครีมทาผิวพื้นฐานเริ่มต้น

รายการ	ข้อมูล
รุ่นของเครื่อง	LV DV-II+Pro
เบอร์เข็ม	4 (64)
ความเร็วรอบ (rpm)	6
เวลาที่ใช้ (นาที)	2
อุณหภูมิห้อง (°C)	24
อุณหภูมิเนื้อครีม (°C)	26
ขนาดของภาชนะ	Beaker 250 mL
ปริมาณสารตัวอย่าง	200.03 กรัม
% Torque	71.1
Centipoise (cP)	71,085

4.1.6 เตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย

การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย โดยพิจารณาเลือกสารสกัดส่วนย่อยที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด มีลักษณะทางกายภาพที่ดี เช่น สี หรือกลิ่น และมีปริมาณมากพอที่จะนำใช้เป็นส่วนผสมในครีมเพื่อทดสอบความคงตัวของสารในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อผสมอยู่ในครีมทาผิว ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดส่วยย่อยที่ 7 ซึ่งมีน้ำหนัก 48.5 mg และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 85.31 มาใช้เป็นส่วนผสมในครีมทาผิว

การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัด โดยนำครีมทาผิวพื้นฐาน (base cream) เติมสารสกัดส่วนย่อยที่ 7 (RT-S-Acetone-07) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 85.31 ที่ความเข้มข้นร้อยละโดยน้ำหนักของสารสกัดต่อน้ำหนักครีมที่ 1 และ 2 (ภาพที่ 4.10) มีวิธีการดังนี้

1. การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 1% wt/wt นำครีมทาผิวจำนวน 99 mg ใส่สารสกัดส่วนย่อย จำนวน 1 mg ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2. การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดที่ความเข้มข้น 2% wt/wt นำครีมทาผิวจำนวน 98 mg ใส่สารสกัดส่วนย่อย จำนวน 2 mg ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ภาพที่ 4.10 การเตรียมครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัด

4.1.7 การติดตามความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในครีมทาผิวในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

เมื่อได้ครีมทาผิวพื้นฐาน และครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย RT-S-Acetone-07 ที่ร้อยละ 1 และ 2 ทำการเตรียมสารละลายของครีมตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm นำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 mMโดยใช้อัตราส่วนของ สารละลายครีมต่อสารละลาย DPPH เท่ากับ 1 : 1 ตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณ DPPH ที่เหลือ ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนรังสี UV-Visible ที่ความยาวคลื่น 517 nm และคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%Activity) เก็บครีมตัวอย่างไว้ในสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง เพื่อนำไปทดสอบความคงตัวของสารสกัดจาก ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%Activity) เมื่อเวลาผ่านไปครบ 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์เวลาที่ทำการวัด มีดังนี้

ครั้งที่ 1 ที่เวลาเริ่มต้น (วันที่ 11 เมษายน2557)

ครั้งที่ 2 เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (วันที่ 9 พฤษภาคม2557)

ครั้งที่ 3 เมื่อผ่านไป 8 สัปดาห์ (วันที่ 6 มิถุนายน2557)

ที่เวลาเริ่มต้น (วันที่ 11 เมษายน2557)

ครีมทาผิวพื้นฐาน (Base cream)

ครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย (1% wt/wt)

ครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย (2% wt/wt)

ภาพที่ 4.11 ลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัดที่เวลาเริ่มต้น

สัปดาห์ที่ 8 (วันที่ 6 มิถุนายน 2557)

ครีมทาผิวพื้นฐาน (Base cream)

ครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย (1% wt/wt)

ครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย (2% wt/wt)

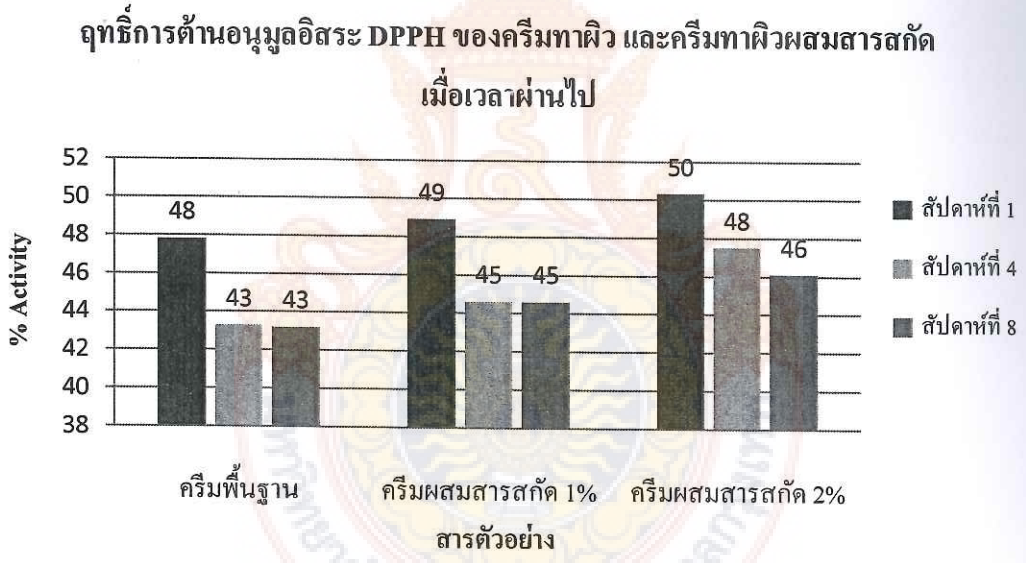
ภาพที่ 4.12 ลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว และครีมทาผิวผสมสารสกัด ที่เวลาผ่านไป 8 สัปดาห์

การติดตามความคงตัวของสารสกัดส่วนย่อยในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ปริมาณ DPPH ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายครีมทาผิว (base cream) และครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย RT-S-Acetone-07 ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนรังสี UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm และคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%Activity) แสดงผลดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้นส่วนย่อย RT-S-Acetone-07 ของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 10,000 ppm

ร้อยละสารสกัดในครีมทาผิว	ค่าการดูดกลืนแสง				S.D.	C.V.	%Activity
	1	2	3	เฉลี่ย			
สัปดาห์ที่ 1							
0 %	0.7044	0.7051	0.7053	0.7049	0.0005	0.0650	47.8291
1 %	0.6910	0.6904	0.6892	0.6902	0.0009	0.1330	48.9195
2 %	0.6720	0.6711	0.6706	0.6713	0.0007	0.1024	50.3232
DPPH	1.3510	1.3541	1.3486	1.3512	0.0027	0.2029	-
สัปดาห์ที่ 4							
0 %	1.4162	1.4159	1.4153	1.4158	0.0005	0.0321	43.2909
1 %	1.3837	1.3829	1.3821	1.3829	0.0008	0.0593	44.6087
2 %	1.3112	1.3107	1.3101	1.3107	0.0006	0.0442	47.5019
DPPH	2.4966	2.4973	2.4959	2.4966	0.0007	0.0280	-
สัปดาห์ที่ 8							
0 %	1.5202	1.5218	1.5232	1.5218	0.0015	0.0969	43.2020
1 %	1.4632	1.4644	1.4656	1.4644	0.0012	0.0837	45.3419
2 %	1.4440	1.4440	1.4432	1.4438	0.0005	0.0313	46.1133
DPPH	2.6781	2.6788	2.6808	2.6792	0.0014	0.0520	-

จากตารางที่ 4.12 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของครีมทาผิวพื้นฐาน (ไม่ผสมสารสกัด) ซึ่งเป็นสารควบคุม (control) และครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อย RT-S-Acetone-07 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก พบว่าครีมทาผิวพื้นฐานสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระDPPH ได้ และเมื่อนำครีมทาผิวมาผสมสารสกัดส่วนย่อยทั้ง 2 สูตร มาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยทั้ง 2 สูตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจากการเติมสารสกัดส่วนย่อยจากต้นต้อยติ่ง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก และเมื่อเวลาผ่านไปที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดส่วนย่อยนี้ยังสามารถแสดงร้อยละของการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดส่วนย่อยนี้มีความคงตัวอยู่ได้เมื่อผสมในครีมทาผิว ทำให้สามารถนำสารสกัดส่วนย่อยนี้ไปใช้เป็นสารเพิ่มฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในครีมทาผิวได้ แสดงในภาพที่ 4.13



ภาพที่ 4.13 เปรียบเทียบร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเวลาผ่านไป ของครีมทาผิวพื้นฐาน และครีมทาผิวผสมสารสกัด

แต่อย่างไรก็ตาม การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยจากส่วนต้นของต้นต้อยติ่ง ที่มีร้อยละโดยน้ำหนัก ของสารสกัดเท่ากับ 1 และ 2 เพื่อให้สามารถติดตามและวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลของสารสกัดได้ เมื่อถูกนำไปผสมในครีมทาผิว พบว่าร้อยละของสารสกัดที่เติมลงไปนี้ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเนื้อครีมเกิดขึ้น คือมีสีเข้มมากขึ้นกว่าเดิม ซึ่งเป็นลักษณะปกติของเนื้อครีมเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลานาน เนื้อครีมหนืดน้อยลง เมื่อเวลาผ่านไปที่สัปดาห์ที่ 8 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นที่ผสมอยู่ในสารสกัดส่วนย่อยที่ 7 (ภาพที่ 4.12)

4.1.8 การเผยแพร่ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยสู่ชุมชน

จากการทำวิจัยนี้ได้นำความรู้เกี่ยวกับขั้นตอนการสกัดสารสมุนไพร และนำสารสกัดที่ได้ไปใช้เป็นส่วนผสมในขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว เผยแพร่ให้กับผู้เข้าร่วมอบรมในโครงการบริการวิชาการ ของสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ชื่อโครงการการจัดบริการวิชาการเรื่อง “โครงการส่งเสริมอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรจากธรรมชาติ” จัดวันที่ 28 มีนาคม 2557 ณ โรงเรียนบ้านตะโกล่าง สวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี และได้ทำแบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร และในการทำปฏิบัติการทำครีมทาผิวผสมสารสกัดได้ให้ผู้เข้าร่วมอบรมภายในกลุ่มช่วยกันพิจารณาผลิตภัณฑ์ที่ได้ และทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจร่วมกันเป็นรายกลุ่มดังในภาพที่ 4.14

ตัวอย่างแบบสอบถามที่ใช้เพื่อประเมินความพึงพอใจ

ทำปฏิบัติการกลุ่มที่.....

แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว ผสมสารสกัดสมุนไพรต้านอนุมูลอิสระ RSAT-07
โครงการส่งเสริมสร้างอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรจากธรรมชาติ
จัดงาน วันศุกร์ ที่ 28 มีนาคม 2557 ณ บ้านตะโกล่าง จังหวัดราชบุรี

<u>คำชี้แจง</u> แบบประเมินนี้มี 3 ตอน โปรดแสดงความคิดเห็นตอบแบบประเมินให้ครบทั้ง 3 ตอน เพราะข้อมูลจากท่านมีคุณค่าต่อการปรับปรุงรูปแบบ และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

<u>ตอนที่ 1</u>ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้ารับการอบรม

1. เพศ ○1.1 ชาย ○1.2หญิง
2. อายุ ○2.1ต่ำกว่า 20 ปี ○2.2 21-30 ปี ○2.3 31-40 ปี ○2.4 41-50 ปี ○2.5 มากกว่า 50 ปี

<u>ตอนที่ 2</u>ประเมิน ระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก ต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

<u>คำชี้แจง</u> โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องแสดงระดับความพึงพอใจ ที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุดเพียงระดับเดียว

หัวข้อประเมิน	ระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก				
	มากที่สุด 5	มาก 4	ปานกลาง 3	น้อย 2	น้อยที่สุด 1
1. ลักษณะของเนื้อครีมเมื่อดูด้วยตาเปล่า					
2. ลักษณะของเนื้อครีมจากการสัมผัส					
3. สีของเนื้อครีม					
4. กลิ่น					
5. ลักษณะความข้นหนืดของเนื้อครีม					
6. ความรู้สึกเมื่อทาที่ผิว					
7. ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในภาพรวม					

<u>ตอนที่ 3</u> ข้อเสนอแนะอื่นๆ

.....

.....

ภาพที่ 4.14 แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07

ผลการประเมินจากแบบสอบถามเป็นรายกลุ่มโดยตัวแทนกลุ่มรวมทั้งหมดจำนวน 13 ใบ โดยข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมอบรมได้จากตอนที่ 1 ของแบบสอบถามได้ข้อมูลดังนี้ เป็นเพศชาย จำนวน 3 คน เป็นหญิง 7 คน ไม่ระบุเพศ 3 คน ช่วงอายุของผู้ตอบแบบสอบถามคือ อายุต่ำกว่า 20 ปี จำนวน 4 คน อายุระหว่าง 31-40 ปี จำนวน 3 คน อายุมากกว่า 50 ปี จำนวน 3 คน ไม่ระบุช่วงอายุ จำนวน 3 คน ผลการประเมินระดับความพึงพอใจ หรือความรู้สึกต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว ซึ่งแสดงจำนวนใบตอบแบบสอบถามที่ได้จากข้อมูลตอนที่ 2 ในเรื่องของลักษณะของเนื้อครีม การสัมผัส สีกลิ่น ความข้นหนืด ความรู้สึกเมื่อทดสอบทาที่ผิว และความพึงพอใจในภาพรวม แสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 แสดงจำนวนผู้ตอบแบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัด

หัวข้อประเมิน	ระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
	5	4	3	2	1
1. ลักษณะของเนื้อครีมเมื่อดูด้วยตาเปล่า	9	4			
2. ลักษณะของเนื้อครีมจากการสัมผัส	8	5			
3. สีของเนื้อครีม	10	2	1		
4. กลิ่น	8	5			
5. ลักษณะความข้นหนืดของเนื้อครีม	8	3	1		
6. ความรู้สึกเมื่อทาที่ผิว	4	8	1		
7. ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในภาพรวม	9	4			

เมื่อนำผลการตอบแบบสอบของตอนที่ 2 มาคิดเป็นค่าเฉลี่ยแสดงระดับความพึงพอใจหรือความรู้สึกที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัด ทั้ง 7 หัวข้อ พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.23 – 4.69 เมื่อนำค่าที่ได้จากทุกหัวข้อมาหาค่าเฉลี่ย เพื่อแสดงระดับความพึงพอใจ จะได้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.54 โดยค่าเฉลี่ยของระดับความพึงพอใจในแต่ละหัวข้อแสดงดังตารางที่ 4.14

ในตอนที่ 3 ซึ่งเป็นข้อเสนอแนะที่ได้รับเพิ่มเติมจากผู้เข้าร่วมอบรมมีดังนี้

1. ถ้ามีเวลาทำให้นานกว่านี้ และมีความชำนาญมากขึ้นอาจทำให้ความพึงพอใจมาที่สุดทุกข้อ
2. ดีครับได้ประสบการณ์ ช่วยในการทำเข้าใจง่าย
3. ดีมากๆ

ตารางที่ 4.14 ค่าเฉลี่ยของระดับความพึงพอใจ หรือความรู้สึกต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัด

หัวข้อประเมิน	ค่าเฉลี่ยของระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก
1. ลักษณะของเนื้อครีมเมื่อดูด้วยตาเปล่า	4.69
2. ลักษณะของเนื้อครีมจากการสัมผัส	4.62
3. สีของเนื้อครีม	4.69
4. กลิ่น	4.62
5. ลักษณะความข้นหนืดของเนื้อครีม	4.23
6. ความรู้สึกเมื่อทาที่ผิว	4.23
7. ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในภาพรวม	4.69
เฉลี่ยทุกหัวข้อรวมกัน	**4.54**

4.2 ข้อวิจารณ์ผลการทดลอง

4.2.1 การสกัด

การทดลองในภาพที่ 4.2 ที่ใช้น้ำหนักพืชตัวอย่างไม่เท่ากันระหว่าง ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือเอทานอล และอะซิโตน เป็นผลเนื่องมาจากในขณะนั้นมีปริมาณของตัวทำละลายอะซิโตนไม่เพียงพอต่อการสกัด ซึ่งใช้พืชสดที่ต้องทำการแช่พืชให้เร็วที่สุด จึงทำให้แบ่งพืชตัวอย่างมาจำนวนที่น้อยกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล แต่อย่างไรก็ตามการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดของตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถทำได้โดยการหาค่าร้อยละของสารสกัดที่ได้ เทียบกับน้ำหนักพืชเริ่มต้น

การสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่งชนิดสดด้วยตัวทำละลาย ในการทดลองนี้เลือกใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักพืชสด กับปริมาตรของตัวทำละลาย ต่างกัน โดยอยู่ในช่วง 1 ต่อ 1 ถึง 1 ต่อ 3 เพื่อให้ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สามารถแช่ท่วมพืชตัวอย่างได้ การใช้สัดส่วนปริมาตรของตัวทำละลายต่างกันเป็นผลมาจากแต่ละส่วนของพืชมีความชื้น หรือปริมาณน้ำต่างกัน การดูดซับตัวทำละลายเข้าไปในเนื้อพืชจะต่างกัน จึงทำให้ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ต่างกัน แต่เพื่อให้การสกัดสารจากพืชมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน สามารถทำได้โดยการแช่ตัวทำละลายซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง จะช่วยให้สกัดสารออกมาได้มากที่สุดได้

การใช้ชนิดของตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ เอทานอล และอะซิโตน เพื่อสกัดสารจากพืช จะทำให้ได้องค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน สังเกตเห็นได้ชัดจากสีของสารสกัดจากรากที่ใช้อะซิโตน เป็นตัวทำละลายจะได้สารละลายของสารสกัดมีสีแดง แต่การใช้เอทานอล จะได้

สารละลายของสารสกัดมีสีน้ำตาล และได้ปริมาณของสารสกัดต่างกัน จากร้อยละน้ำหนักของสารสกัดที่ได้เมื่อเทียบกับน้ำหนักสด ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล มีค่ามากกว่าการสกัดด้วยอะซิโตน แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดที่ได้มาก ไม่มีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นต้อยติ่ง ดังนั้นการสกัดสารเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ ควรทำการศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ตามที่ต้องการ

4.2.2 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

การนำสารสกัดหยาบมาทำการแยกเป็นส่วนย่อย หรือเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ พบว่ามีปัญหาเรื่องความสามารถในการละลายของสารที่มีขั้วมาก จึงทำให้ส่วนหนึ่งไม่ได้ผ่านการแยก หรือหายไปในระหว่างการทำการแยกคือเกาะติดกับซิลิกาในคอลัมน์ จึงทำให้น้ำหนักของสารหายไป จึงทำให้ปริมาณสารสกัดส่วนย่อยที่จะนำไปใช้ทดสอบมีจำนวนน้อยลง ซึ่งการชะสารออกจากตัวดูดซับสามารถทำได้โดยการใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมาก เช่น เมทานอล ชะสารออกมาจากซิลิกา แต่เนื่องจากความเป็นพิษของเมทานอล จึงเลี่ยงไม่นำมาใช้ในการแยก เพราะต้องนำสารที่แยกได้มาผสมในครีมทาผิว ดังนั้นการนำสารมาผ่านการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ อาจต้องทำการศึกษาหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมกว่านี้ เพื่อให้ได้สารในกลุ่มที่สามารถผ่านการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้ และติดซิลิกาน้อยที่สุด หรือเลือกใช้ตัวดูดซับแบบอื่นที่เหมาะสมต่อไป

4.2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การเตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ได้จากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่ง เมื่อนำไปทดสอบกับสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ต้องทำการหาสัดส่วนปริมาตรสารละลายของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นค่าหนึ่งเพื่อนำไปทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมกับ ความเข้มข้นและปริมาณของสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ผลได้ ในการทดลองนี้ได้สัดส่วนปริมาตรของสารสกัดต่อปริมาตรของสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 mM คือ 3 ต่อ 1

ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยเครื่อง UV-Visible spectroscopy (เป็นชนิด 2 ช่องเซลล์ คือเซลล์อ้างอิง และเซลล์สารตัวอย่าง) การวิเคราะห์สารตัวอย่างทำได้ทีละตัวอย่าง การตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที เพื่อให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH อาจเกิดความคลาดเคลื่อนของเวลาที่ไม่เท่ากับ 30 นาที ในทุกตัวอย่างซึ่งจะส่งผลต่อค่าที่ทำการวิเคราะห์บ้าง จึงทำให้มีการทำซ้ำเพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ดีที่สุด

สารละลายอนุมูลอิสระ DPPH เป็นสารที่ไม่เสถียร จะสลายตัวไปเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไป ดังนั้นการทดสอบที่ต้องทำคนละวัน ต้องตรียมสารละลาย DPPH ใหม่ทุกครั้งที่ทำการวัดเพื่อใช้เป็นค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ดังนั้นการเตรียม

สารละลายที่ความเข้มข้นเดียวกันในแต่ละครั้งอาจทำให้ค่าความเข้มข้น หรือค่า Absorbance ต่างกันบ้าง แต่อย่างไรก็ตามจะทำการวัดค่า Absorbance เริ่มต้นของสารละลาย DPPH ที่มีการเตรียมใหม่ก่อนทุกครั้ง เพื่อให้การทดสอบในแต่ละครั้งทราบปริมาณอนุมูลอิสระ DPPH เริ่มต้นและที่ลดลงไปหลังจากทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ก็จะช่วยให้การคิดร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระในแต่ละครั้งเทียบกับค่าอนุมูลอิสระเริ่มต้นได้ถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาของเครื่องชั่งสารทำให้การชั่งสารมีความคลาดเคลื่อน จึงส่งผลต่อค่าการทดลองบางส่วน

4.2.4 การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัด

การเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้นที่ผ่านการแยกเป็นส่วนย่อย โดยมีส่วนผสมของสารสกัดอยู่ที่ร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนักของครีมทาผิว เป็นความเข้มข้นของสารที่อยู่ในระดับที่สามารถตรวจสอบได้ แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยกว่านี้ อาจวัดค่าไม่ได้ เพราะส่วนผสมในครีมสามารถแสดงคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH ได้ระดับหนึ่ง

ลักษณะของเนื้อครีมที่มีการผสมสารสกัดเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนักที่เวลาเริ่มต้น เนื้อครีมที่ได้จะมีสีเหลืองเหมือนกับสีของสารสกัดแต่สีจะอ่อนกว่า และเมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะพบว่าเนื้อครีมมีลักษณะเยิ้มมีความหนืดน้อยลง และสีเข้มขึ้นกว่าเดิม แต่สารสกัดยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ อาจแสดงให้เห็นว่าสารสกัดประกอบด้วยสารอย่างน้อย 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้โดยไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อครีม และสารกลุ่มที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแต่สามารถทำปฏิกิริยากับเนื้อครีมได้ จึงทำให้เนื้อครีมเกิดการเปลี่ยนลักษณะทางกายภาพโดยที่ยังคงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ ดังนั้นหากทำการแยกสารออกฤทธิ์ให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นกว่านี้ หรือถ้าสามารถแยกได้สารบริสุทธิ์ที่เป็นสารออกฤทธิ์นำมาใช้เป็นส่วนผสมก็จะได้ครีมทาผิวที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้โดยไม่ทำให้เนื้อครีมเสียสภาพหรือถ้าต้องการเตรียมครีมทาผิวผสมสารสกัดจากต้นต้อยติ่งที่มีความบริสุทธิ์ต่ำ หรืออยู่ในลักษณะที่เป็นสารสกัดหยาบหรือสารสกัดส่วนย่อยก็สามารถทำได้ โดยใช้สัดส่วนของสารสกัดลดลงที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก พบว่าเนื้อครีมทาผิว ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ (ภาพที่ ค2)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์จากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่งสดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน พบว่า ตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารออกมาได้มากกว่าอะซิโตน โดยร้อยละของน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักสดที่ได้ เรียงลำดับจากมากสุดไปน้อยสุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วน ราก ต้น ใบ สารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วน ราก ต้น และใบ มีค่าเท่ากับ 7.88, 3.59, 2.48, 2.22, 2.09 และ 1.55 ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 6 ส่วน มาเตรียมเป็นสารละลายที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ไปทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดจากส่วนต้นสดที่สกัดด้วยอะซิโตน และเอทานอล มีร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดอยู่ที่ 88.2487 และ 79.5203 ตามลำดับรองลงมาคือ สารสกัดเอทานอลจากใบสด สารสกัดอะซิโตนจากรากสด ใบสด และสารสกัดเอทานอลจากรากสด มีร้อยละการออฤทธิ์เท่ากับ 79.2437, 77.7350, 76.2497 และ 54.8017 ตามลำดับ นำสารสกัดอะซิโตนจากส่วนต้นสด ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดมาทำการแยกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ ได้สารสกัดส่วนย่อย 11 กลุ่ม นำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีลำดับร้อยละของการออกฤทธิ์จากมากสุดไปน้อยสุด ดังนี้สารสกัดส่วนย่อยที่ 11, 8, 7, 10, 2, 9, 3, 5, 6, 4 และ 1 โดยมีค่าร้อยละการออกฤทธิ์เท่ากับ 94.9968, 87.4166, 85.3072, 84.5813, 83.9041, 75.8805, 74.0439, 67.8034, 65.4406, 63.4092 และ 60.7495 ตามลำดับ เลือกสารสกัดส่วนย่อยที่ 7 (RT-S-Acetone-07) เพราะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าร้อยละ 80 และมีน้ำหนักมากพอที่จะนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก เพื่อติดตามตามความคงตัวของสารสกัดที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสารสกัดส่วนย่อยนี้ยังสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ เมื่อเวลาผ่านไป 8 สัปดาห์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดส่วนย่อยนี้มีความคงตัวอยู่ได้เมื่อถูกนำไปผสมในครีมทาผิว ทำให้สามารถนำสารสกัดส่วนย่อยนี้ไปใช้เป็นสารเพิ่มฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในครีมทาผิวได้ และถ้าสามารถแยกสารออกฤทธิ์ที่บริสุทธิ์ออกมาได้แล้วนำไปใช้ผสมในผลิตภัณฑ์ ก็จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการออกฤทธิ์ และลดปัญหาการรบกวนของสารประกอบอินทรีย์อื่นที่อาจทำปฏิกิริยากับเนื้อครีมทาผิว

จากนำความรู้ไปทำการเผยแพร่ขั้นตอนสกัดสาร การแยกให้ได้สารบริสุทธิ์มากขึ้น และนำไปผสมเพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดที่ได้จากต้นต้อยติ่ง ในโครงการบริการวิชาการเรื่อง “โครงการส่งเสริมสร้างอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพร

จากธรรมชาติ เมื่อวันศุกร์ ที่ 28 มีนาคม 2557 ณ บ้านตะโกล่าง จังหวัดราชบุรี จากการทำแบบสอบถามความพึงพอใจเกี่ยวกับความพึงพอใจหรือความรู้สึกต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวที่ทำปฏิบัติการ 7 หัวข้อ คือ ลักษณะของเนื้อครีม การสัมผัส สี กลิ่น ความข้นหนืด ความรู้สึกเมื่อทดสอบทาที่ผิว และความพึงพอใจในภาพรวม ที่มีต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวที่ได้ พบว่ามีความพึงพอใจ หรือความรู้สึกที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวที่ได้อยู่ในระดับดีทั้ง 7 หัวข้อ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.23–4.69 และมีค่าเฉลี่ยของทุกหัวข้อรวมกันอยู่ที่ 4.54 โดยหัวข้อที่ได้คะแนนน้อย คือ สี ความข้นหนืดของเนื้อครีม และการสัมผัสเมื่อทาที่ผิว ดังนั้นอาจปรับเนื้อครีมให้มีความข้นหนืดน้อยกว่านี้ เพื่อให้ซึมเข้าสู่ผิวได้ดีขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้จะพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นต้อยติ่ง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้มากน้อยแตกต่างกัน ดังนั้นจึงสามารถนำงานวิจัยนี้ไปต่อยอดโดยนำสารสกัดจากส่วนต่างๆ ที่ได้จากต้นต้อยติ่ง และสารสกัดส่วนย่อยจากส่วนต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ไปทำการแยกต่อเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ นำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้าง ทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และนำสารที่ได้ไปผสมในครีมทาผิว ตรวจสอบความคงตัวของสารบริสุทธิ์ที่ได้ ก็จะช่วยลดสารรบกวน หรือสีที่เกิดจากสารอื่นที่ไม่ออกฤทธิ์ออกจากสารสกัดส่วนย่อย การทราบชนิดของสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณที่ใช้ จะทำให้สามารถควบคุมปริมาณการเติมสารออกฤทธิ์ที่ใส่ลงไปในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว นอกจากนี้ยังสามารถนำสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์น้อยมาปรับเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อให้ได้สารอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น และนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวหรือพัฒนาไปใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นต่อไป

บรรณานุกรม

[1] เจนจิรา จิรัมย์, และประสงค์ สีหานาม, "อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา", ว. วิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, ปีที่ 1 เล่มที่ 1, 2554, หน้า 59-70.

[2] สมปรารถนา เสาวภาคย์, "อนุมูลอิสระ หนึ่งตัวการทำลายผิวสวย แก่ก่อนวัย: อนุมูลอิสระ", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.pharmabeautycare.com/ content.html, (วันที่สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2555).

[3] โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์, และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง, "สารต้านอนุมูลอิสระ", 2549, กรุงเทพ, พี.เอส.พริ้นท์.

[4] B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Löliger, and O. I. Aruoma, "The characterization of antioxidants", Food and Chemical Toxicology. Vol. 33: 1995. pp 601-617.

[5] พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, "ปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/395/lipid-oxidation, (วันที่สืบค้น 25 พฤศจิกายน 2557).

[6] อุทัย สุขวิวัฒน์ศิริกุล, "วิตามินซี", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.oknation.net/blog/DIVING/2013/11/22/entry-2, (วันที่สืบค้น 5 กรกฎาคม 2557).

[7] D. Reid, "Organic solvent: Definition and List", Free Download, URL:http://study.com/academy/ lesson/organic-solvent-definition-list.html, July. 30, (2014).

[8] กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, "acetone", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://narcotic.fda.moph.go.th/welcome/?p=1294, (วันที่สืบค้น 27 มีนาคม 2556).

[9] ฐานความรู้เรื่องความปลอดภัยด้านสารเคมี, "acetone", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.chemtrack.org/HazMap-Agent-Info.asp?ID=8, (วันที่สืบค้น 27 มีนาคม 2556).

[10] ยุพา ชูศักดิ์แสงทอง, "สารเคมีที่สามารถนำไปใช้ผลิตยาเสพติดที่ควรเฝ้าระวัง", 2548, กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://elib.fda.moph.go.th/library/fulltext1/word/13981/1.pdf, (วันที่สืบค้น27 มีนาคม 2556).

[11] Santa Cruz Biotechnology. "DPPH, Free Radical", Free Download, URL: http://www.scbt.com/datasheet-202591-dpph-free-radical.html, July 29, (2014).

[12] Kasetloongkim.com, "เกร็ดความรู้เรื่อง วิธีการสกัดสารจากสมุนไพร", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.kasetloongkim.com/modules.php?Name=Forums&file=viewtopic&t=2157&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=, (วันที่สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2555).

[13] คณาจารย์ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยนเรศวร, "คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไปและเคมีอินทรีย์ (256106)," ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก 2555, หน้า 63-68.

[14] บริษัทสกินไบโอเทค (ประเทศไทย) จำกัด, "ความหมายของเครื่องสำอาง", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.skinbiotechthai.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=539369806, (วันที่สืบค้น 5 กรกฎาคม 2557).

[15] พรทิพย์ นิมมานนิตย์, วลัยศิริ ม่วงศิริ, อังคณา ตันติชุวานนท์, วาสนา ยี่แพร, และ วรรณภา มหาพสุธานนท์ "เครื่องสำอางในชีวิตประจำวัน", 2550, พิมพ์ครั้งที่ 6 ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ บริษัทซาเร็นการพิมพ์ จำกัด.

[16] พรสวรรค์ ดิษยบุตร, จักรพงษ์ ลิมปนุสสรณ์, ธัญวรัตน์ กาจสงคราม, ศิริเพ็ญ จริเกษม, ฉันทรา พูนศิริ, และ พงศธร หลิมศิริวงศ์, "เครื่องสำอางจากสมุนไพร", 2546, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว). กรุงเทพฯ. ห้างหุ้นส่วนจำกัดอรุณการพิมพ์.

[17] เต็ม สมิตินันทน์, "ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง) Thai plant name (Botanical names-Vernacular names)", 2523, กรุงเทพฯ ฟันนี่ พับบลิชิ่ง.

[18] อรรณพ ผลบุณยรักษ์, "ต้อยติ่ง อังกาบ", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.healthbe1st.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=%20539320701&Ntype=2, (วันที่สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2555).

[19] Tropilabinc, "*Ruellia tuberosa* L. –Minnieroot", Free Download, URL: http://www.tropilab.com/minnyroot.html, Nov. 30, (2012).

[20] เดชา ศิริภัทร, "ต้อยติ่ง: ความงดงามที่มากับฤดูฝน", นิยตสารหมอชาวบ้าน เล่มที่ 292, 2003 [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.doctor.or.th/article/detail/1701, (วันที่สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2555).

[21] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, "ต้อยติ่ง", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://th.wikipedia.org/wiki/ต้อยติ่ง, (วันที่สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2555).

[22] ไทยโพสท์, "ต้อยติ่ง วัชพืชดอกสวย สรรพคุณพอกฝี ลดอักเสบ แก้ปวดเมื่อย (3 เมษายน 2554)", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.thaipost.net/node/36565, (วันที่สืบค้น 5 มกราคม 2556).

[23] นันท์นภัส เติมวงศ์, "ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีโนลิกส์ และวิตามินซีในผักและสมุนไพร," ว. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ ปีที่ 8 เล่มที่ 1, 2551, หน้า 41-48.

[24] M. P. Kähkönen, A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala, and M. Heinonen, "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds", J. Agric. Food Chem. Vol. 47: 1999. pp. 3954-3962.

[25] F. A. Chen, A. B. Wu, P. Shieh, D. H. Kuo, and C. Y. Hsieh, "Evaluation of the antioxidant activity of *Ruellia tuberosa*", Food Chemistry. Vol.94: 2006. pp.14-18.

[26] C. F. Lin, Y. L. Huang, L. Y. Cheng, S. J. Sheu, and C. C. Chen, "Bioactive flavonoids from *Ruellia tuberosa*", J. Chin. Med. Vol.17 (3): 2006. pp.103-109.

[27] A. Manikandan, and D. V. A. Doss, "Evaluation of biochemical contents, nutritional value, trace elements, SDS-PAGE and HPTLC profiling in the leaves of *Ruellia tuberosa* L. and *Dipteracanthus patulus* (Jacq.)", J. Chem. Pharm. Res., Vol.2, No.3: 2010. pp 295-303.

[28] D. L. Chothani, M. B. Patel, and S. H. Mishra, "HPTLC fingerprint profile and isolation of marker compound of *Ruellia tuberosa*", Chromatography Research International. Research article. 2012.

[29] M. Rajan, V. K. Kumar, P. S. Kumar, K. R. Swathi, and S. Haritha, "Antidiabetic, antihyperlipidaemic and hepatoprotective activity of methanolic extract of *Ruellia tuberose* Linn leaves in normal and alloxan induced diabetic rats", J. Chem. Pharm. Res. Vol. 4, No.6: 2012. pp 2860-2868.

[30] P. P. SriKumar and P. Pardhasaradhi, "Preliminary phytochemical investigation and anti-ulcer activity of aerial parts of *Ruellia tuberosa* L. (Acanthaceae) in male Wistar rats", Int. J. Pharm. Biomed. Res. Vol. 4, No.3: 2013. pp 145-148.

[31] B. E. Cheong, M. Z. Waslim, F. F. Lem, and P. L. Teoh, "Antioxidant and anti-proliferative activities of Sabah *Ruellia tuberosa*", J. of Applied Pharma.Science. Vol.3, No.12: 2013. pp 20-24.

[32] C. Phakeovilay, W. Disadee, P. Sahakitpichan, S. Sitthimonchai, P. Kittakoop, S. Ruchirawat and T. Kanchanapoon, "Phenylethanoid and flavone glycosides from *Ruellia tuberosa* L.", J. Nat. Med. Vol. 67: 2013. pp. 228-233.

[33] Doctorskinhouse, "20 ส่วนประกอบเครื่องสำอางที่ควรรู้ตอนที่ 1", [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.doctorskinhouse.com/magazine/MAKE-UP/1708-20, (วันที่สืบค้น 25 พฤศจิกายน 2555).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรการคำนวณทางคณิตศาสตร์

การคำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายเป็นโมลาร์ (Molar; M)

$$M = \frac{g}{MW} * \frac{1000}{V}$$

เมื่อ M หมายถึง ความเข้มข้น หน่วยเป็น โมลาร์

g หมายถึง น้ำหนัก ในหน่วยกรัมของสาร

MW หมายถึง น้ำหนักโมเลกุล ของสาร

V หมายถึง ปริมาตร (ml) ของสารละลายที่ต้องการเตรียม

การคำนวณหาค่า S.D. และ C.V.

$$S.D. = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{N}(X_i - \overline{X})^2}}{N}$$

S.D. = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

X = ค่าของข้อมูลแต่ละตัวหรือจุดกึ่งกลางชั้นแต่ละตัว

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

N = จำนวนข้อมูลทั้งหมดของกลุ่มตัวอย่าง

$$C.V. = \frac{S.D.}{\overline{X}} x100$$

C.V. = สัมประสิทธิ์ความแปรผัน

S.D. = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

สมการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

$$\%\text{Activity} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

A = ค่า Abs. เริ่มต้นของสารละลาย DPPH

B = ค่า Abs. DPPH ที่เหลือหลังจากทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการทดสอบนาน 30 นาที

ตัวอย่าง การคำนวณ %การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ของสารสกัดหยาบอะซิโตนจากส่วนต้น

A = ค่า Abs. เริ่มต้นของสารละลาย DPPH เท่ากับ 2.2891

B = ค่า Abs. DPPH ที่เหลือคือ 0.2690

$$\%\text{Activity} = \frac{(2.2891 - 0.2690) \times 100}{2.2891}$$

$$= 88.2487$$

สูตรการคำนวณหาค่าความหนืด (Viscosity) ในหน่วย centipoises (cPs)

$$\text{Viscosity Range (cP)} = \frac{1000}{\text{RPM}} \text{TK*SMC*Torque}$$

เมื่อ	ตัวแปร	ความหมาย	ค่าที่ได้
	RPM	= จำนวนรอบที่ใช้ต่อนาที	= 6
	TK	= Spring torque constants	= 0.09373
	SMC	= Spindle Multiplier Constant	= 640
	Torque	= แรงที่ทำให้หมุน วัดเป็น %ทอร์ก	= 71.1

แทนค่าของตัวแปรที่ได้ลงในสูตร

$$\text{Viscosity Range (cP)} = \frac{10{,}000}{6} * 0.09373 * 640 * 71.1$$

$$= 71{,}085$$

ภาคผนวก ข

ภาพการสกัดและการทดสอบฤทธิ์

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ของต้นต้อยติ่ง

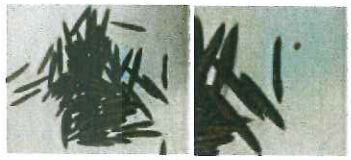
ก. ต้นต้อยติ่ง

ข. ลักษณะใบ

ค. ลักษณะต้น

ง. ลักษณะราก

จ. ลักษณะดอก



ฉ. ลักษณะฝักและเมล็ด

ภาพที่ ข1. แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง

2. การเตรียมพืชเพื่อเตรียมสารสกัดหยาบ

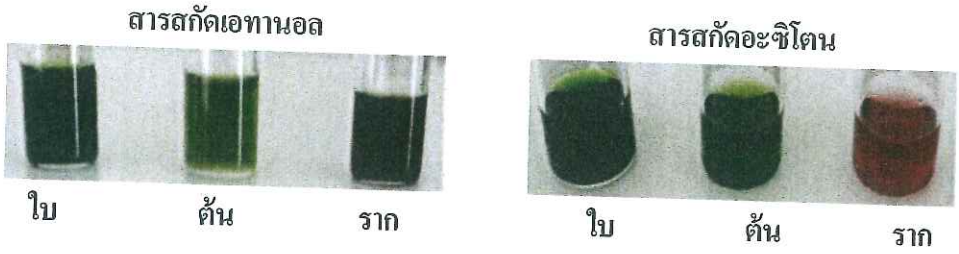
แยกส่วนของพืชตัวอย่าง เป็น ใบ ต้น และราก มาทำการบดให้มีขนาดเล็กลง และทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย

พืชตัวอย่าง และพืชบดลดขนาด

การสกัดสาร

การกรองสาร

ภาพที่ ข2. การเตรียมพืชเพื่อให้ได้สารละลายของสารสกัดหยาบ



ภาพที่ ข3. ลักษณะของสารละลายของสารสกัดจากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง

ภาพที่ ข4. การระเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ

ภาพที่ ข5. ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล และอะซิโตน

ภาพที่ ข6. การเตรียมสารสกัด และการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

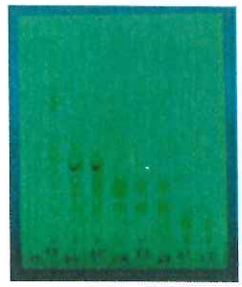
3. การแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

เตรียมสาร

เตรียมคอลัมน์

ชะสารด้วยตัวทำละลาย

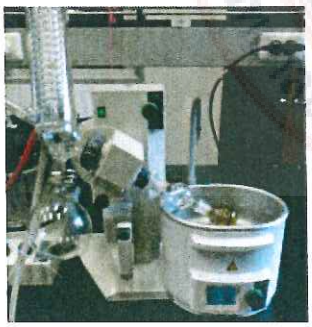
เก็บสารส่วนย่อยที่แยกได้


ติดตามและรวมสารด้วยโครมาโทกราฟีแบบแผ่น

ภาพที่ ข7. การแยกสารสกัดออกเป็นส่วนย่อย ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์

ภาพที่ ข8. ลักษณะของสารสกัดส่วนย่อยที่ได้เมื่อระเหยตัวทำละลายออก

4. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง


เครื่อง Vacuum rotary evaporator

เครื่อง UV-Vis. spectrometer

เครื่องวัดความหนืด (Viscometer)

ภาพที่ ข9. เครื่องระเหยตัวทำละลาย เครื่อง UV-Visible และเครื่องวัดความหนืด

ภาคผนวก ค

การเผยแพร่งานวิจัยในการจัดบริการวิชาการ

จากการที่สาขาวิชาเคมี ได้จัดโครงการบริการวิชาการ โดยอบรมให้ความรู้เกี่ยวกับการทำผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเครื่องสำอาง และสปา กับบุคคลทั่วไป และได้มีการสำรวจความต้องการของผู้เข้าร่วมอบรม พบว่าผู้เข้าร่วมอบรมมีความสนใจเกี่ยวกับการทำผลิตภัณฑ์ประเภทครีม และโลชัน โดยต้องการทราบว่าครีมทาผิว มีส่วนผสมอะไรบ้าง มีขั้นตอนการทำอย่างไร และถ้าต้องการเพิ่มคุณสมบัติในการดูแลผิวโดยนำพืชสมุนไพรมาใช้ จะมีขั้นตอนกระบวนการอย่างไร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการ เช่นฤทธิ์ปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระ ลดริ้วรอย โดยนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีรายงานการวิจัยว่ามีสรรพคุณตามต้องการมาใช้เป็นส่วนผสม จะได้ครีมทาผิวที่มีสรรพคุณตามต้องการ

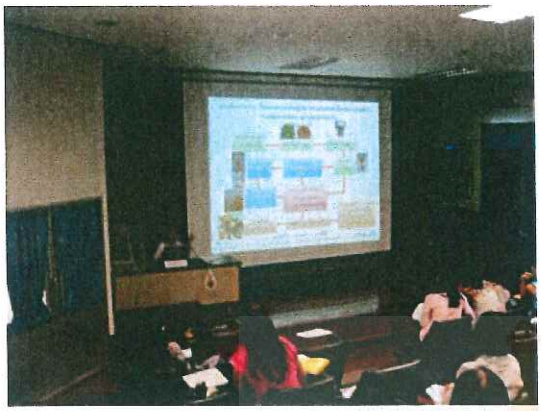
ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้นำความรู้ไปถ่ายทอดสู่ชุมชน 2 ครั้ง โดยแสดงเป็นแผนภาพขั้นตอนการสกัด การแยกสาร และนำสารสกัดจากต้นต้อยติ่งที่แยกได้ไปผสมในครีมทาผิว ครั้งที่ 1 การจัดบริการวิชาการเรื่อง “โครงการส่งเสริมอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรจากธรรมชาติ” จัดวันที่ 28 มีนาคม 2557 ณ โรงเรียนบ้านตะโกล่าง สวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี (ภาพที่ ค1)

ภาพที่ ค1. ภาคบรรยาย การจัดบริการวิชาการ วันที่ 28 มีนาคม 2557

ภาพที่ ค2. ภาคปฏิบัติ การจัดบริการวิชาการ วันที่ 28 มีนาคม 2557

การนำความรู้ไปถ่ายทอดสู่ชุมชน ครั้งที่ 2 โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง "การทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว" จัดวันที่ 22 มิถุนายน 2557 ณ สาขาวิชาเคมี อาคาร 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพโดยบรรยายขั้นตอนการสกัด และการทำให้ได้สารบริสุทธิ์มากขึ้น ดังภาพ

ภาพที่ ค3. ภาคบรรยาย การจัดบริการวิชาการ วันที่ 22 มิถุนายน 2557



ภาพที่ ค4. ภาคปฏิบัติการจัดบริการวิชาการ วันที่ 22 มิถุนายน 2557

การเผยแพร่งานวิจัยสู่ชุมชนได้ทำแบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07 เพื่อเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ทำปฏิบัติการกลุ่มที่ .....

แบบสอบถามความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว ผสมสารสกัดสมุนไพรต้านอนุมูลอิสระ RSAT-07
โครงการส่งเสริมสร้างอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรจากธรรมชาติ
จัดงาน วันศุกร์ ที่ 28 มีนาคม 2557 ณ บ้านตะโกล่าง จังหวัดราชบุรี

คำชี้แจง แบบประเมินนี้มี 3 ตอน โปรดแสดงความคิดเห็นตอบแบบประเมินให้ครบทั้ง ๓ ตอน เพราะข้อมูลจากท่านมีคุณค่าต่อการปรับปรุงรูปแบบ และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ตอนที่๑ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้ารับการอบรม

1. เพศ ○ 1.1 ชาย ○ 1.2 หญิง
2. อายุ ○ 2.1 ต่ำกว่า 20 ปี ○ 2.2 21-30 ปี ○ 2.3 31-40 ปี ○ 2.4 41-50 ปี ○ 2.5 มากกว่า 50

ตอนที่ ๒ ประเมิน ระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก ต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว

คำชี้แจงโปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องแสดงระดับความพึงพอใจ ที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุดเพียงระดับเดียว

หัวข้อประเมิน	ระดับความพึงพอใจ / ความรู้สึก				
	มากที่สุด ๕	มาก ๔	ปานกลาง ๓	น้อย ๒	น้อยที่สุด ๑
1. ลักษณะของเนื้อครีมเมื่อดูด้วยตาเปล่า					
2. ลักษณะของเนื้อครีมจากการสัมผัส					
3. สีของเนื้อครีม					
4. กลิ่น					
5. ลักษณะความข้นหนืดของเนื้อครีม					
6. ความรู้สึกเมื่อทาที่ผิว					
7. ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในภาพรวม					

ตอนที่ 3 ข้อเสนอแนะอื่นๆ

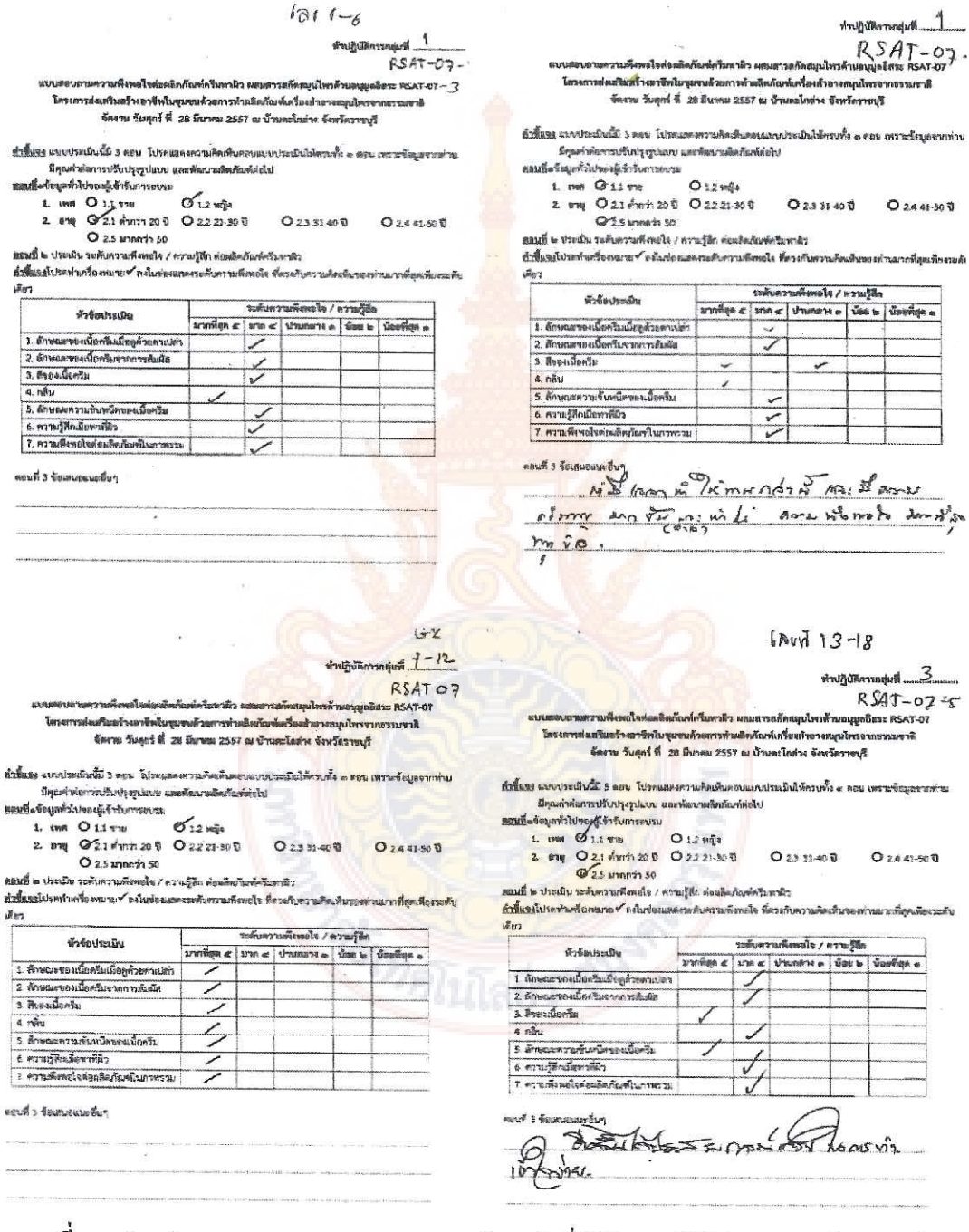
.....

.....

.....

ภาพที่ ค5. แบบสอบถามความพึงพอใจพอใจต่อผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวผสมสารสกัดสมุนไพร RSAT-07

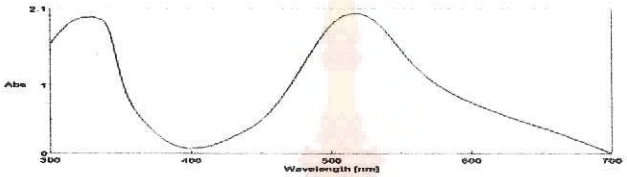
จากการจัดโครงการบริการวิชาการ เรื่อง “โครงการส่งเสริมอาชีพในชุมชนด้วยการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรจากธรรมชาติ” ณ โรงเรียนบ้านตะโกล่าง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ในวันที่ 28 มีนาคม 2557 ได้ทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจในภาพที่ ค6



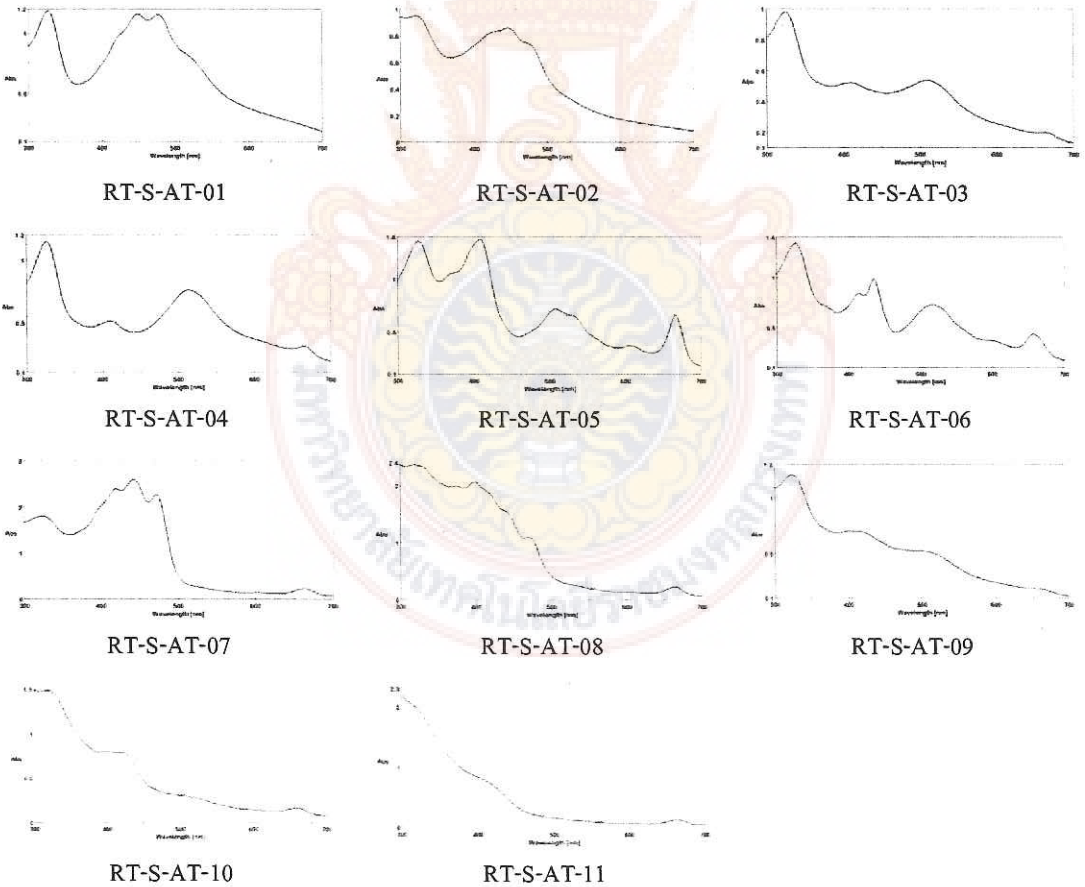
ภาพที่ ค6. ตัวอย่างการตอบแบบสอบถามความพึงพอใจที่ได้รับจากผู้เข้าร่วมอบรมเป็นรายกลุ่ม

ภาคผนวก ง
สเปกตรัมอัลตราไวโอเลต-วิซิเบิล

ลักษณะการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต-วิซิเบิล (UV-Visible) ของสารแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในสารนั้น จึงทำให้ได้สเปกตรัมของการดูดกลืนรังสี UV-Visible ที่มีลักษณะเฉพาะดังแสดงในภาพด้านล่างต่อไปนี้

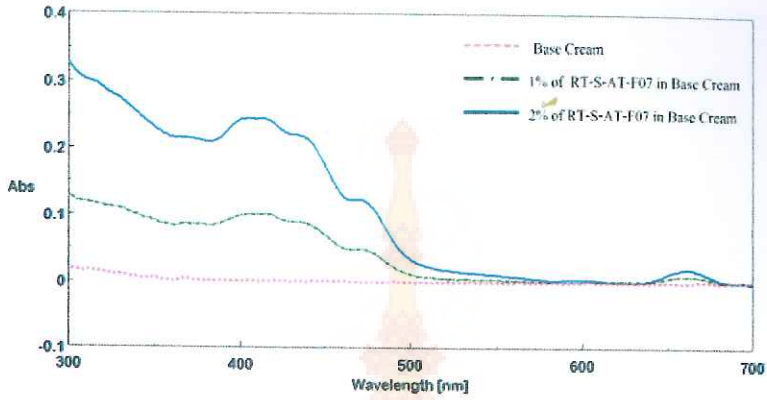


ภาพที่ ง1. สเปกตรัม UV ของสาร DPPH



ภาพที่ ง2. สเปกตรัม UV ของสารสกัดส่วนข่อยอะซิโตนจากส่วนต้นต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 500 ppm

ลักษณะการดูดกลืนรังสี UV เริ่มต้นที่ยังไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ DPPH ของครีมทาผิว, ครีมทาผิวผสมสารสกัดส่วนย่อยที่ 7 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก แสดงดังภาพที่ ง3



ภาพที่ ง3. สเปกตรัม UV ของครีมทาผิว, ครีมทาผิวผสมสารสกัด RT-S-AT-07 เข้มข้น 1 และ 2%wt/wt

ภาคผนวก จ

การเสนอผลงานทางวิชาการ

การประชุมวิชาการระดับชาติสวนดุสิต: วันนักวิจัยวิทยาศาสตร์ 2558 ครั้งที่ 2
เรื่อง "วิทยาศาสตร์สำหรับสุขภาวะ สิ่งแวดล้อมและพลังงาน"
วันศุกร์ที่ 3 กรกฎาคม 2558

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งและความคงตัวของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ครีม

(DPPH radical scavenging activity of *Ruellia tuberosa* crude extract and stability of crude extract in cream product)

วันทนา มงคลวิสุทธิ์[1]* นุชลี คนหลัก[1] อริสรา มะตัง[1] ณีรนุช ควรเชิดชู[2] และ วิภา ทัพเชียงใหม่[3]
[1]สาขาวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
[2]ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง
[3]หลักสูตรเทคโนโลยีเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่ง ด้วยเทคนิคการสกัด 2 วิธี คือการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) โดยใช้ อะซีโตน และเอทานอล และอีกวิธีเป็นการสกัดด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) โดยใช้ตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน จากนั้นเตรียมสารละลายของสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยเทียบฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้จากส่วน ใบ ต้น และราก ของต้นต้อยติ่งพบว่าสารสกัดจากส่วนต้นให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และเมื่อเทียบการใช้ตัวทำละลายพบว่า การสกัดสารด้วยอะซีโตน ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (ร้อยละ 88) เอทานอลมีฤทธิ์รองลงมา (ร้อยละ 79) และเฮกเซนให้ฤทธิ์ต่ำสุด (ร้อยละ 12) เมื่อนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิวเพื่อดูความคงตัวของสารสกัดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต้นจะสลายตัวช้าที่สุด

คำสำคัญ: Ruellia tuberosa, DPPH radical scavenging activity, cream product

*วันทนา มงคลวิสุทธิ์
Tel. : 08-6532-4711
E-mail: wantana.m@rmutk.ac.th

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะพยาบาลศาสตร์ โรงเรียนการเรือน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
เครือข่ายคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏ ๙ แห่ง และ เครือข่ายวิจัยประชารัฐ

เกียรติบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

วันทนา มงคลวิสุทธิ์
บุรฉัตร คนหลัก
ศริสรา แซ่ตั้ง
เมินบุช ควรเจิดชู
วิภา ทัพเชียงใหม่

ได้นำเสนอผลงานวิจัย

เรื่อง การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งและความคงตัวของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ครีม

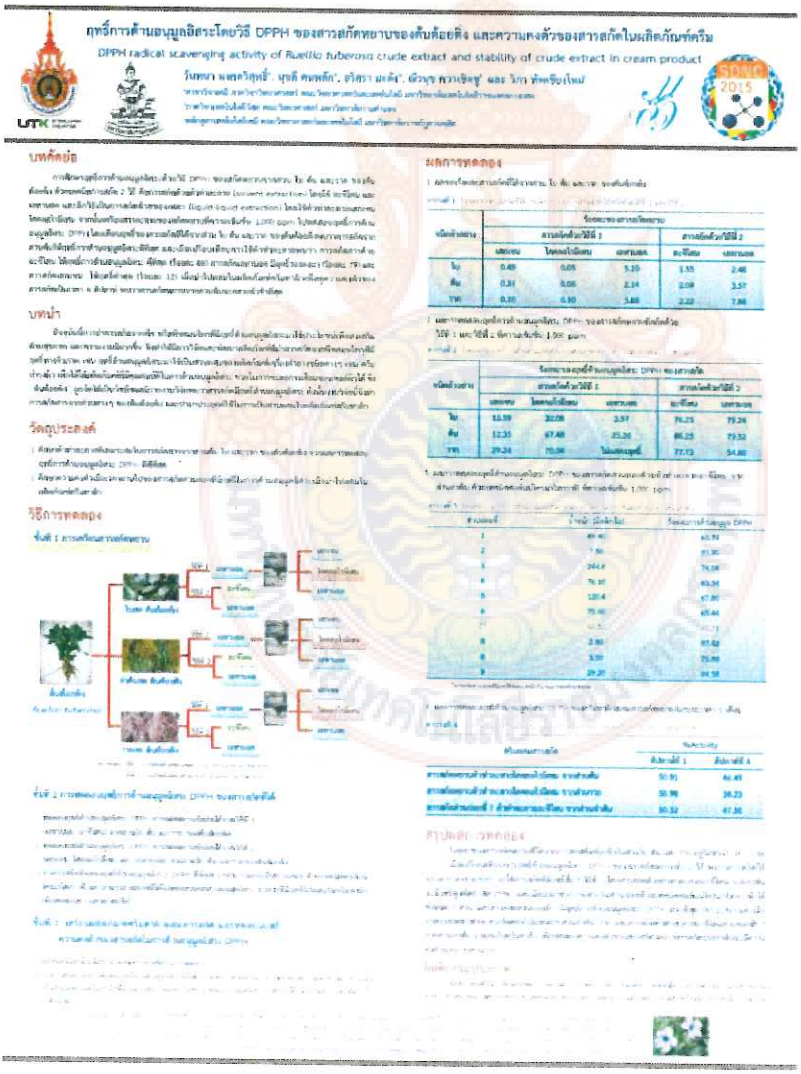
ในงาน

การประชุมวิชาการระดับชาติสวนดุสิต : วันนักวิจัยวิทยาศาสตร์ ๒๕๕๘ ครั้งที่ ๒

เรื่อง วิทยาศาสตร์สำหรับชุมชน สังคมเศรษฐและพลังงาน

ให้ไว้ ณ วันที่ ๑๐ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๕๘

ศ.ดร.ชัชวาล ปิยหฤทัย
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี



ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่ง และความคงตัวของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ครีม

DPPH radical scavenging activity of *Ruellia tuberosa* crude extract and stability of crude extract in cream product

วันทนา มงคลวิสุทธิ์*, บุรฉัตร คนหลัก, ศริสรา แซ่ตั้ง, เมินบุช ควรเจิดชู และ วิภา ทัพเชียงใหม่

บทคัดย่อ

บทนำ

วัตถุประสงค์

วิธีการทดลอง

ผลการทดลอง

ชนิดตัวทำละลาย	ร้อยละของสารสกัดหยาบ				
	สารสกัดด้วยวิธีที่ 1			สารสกัดด้วยวิธีที่ 2	
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทานอล	อะซีโตน	เอทานอล
ใบ	0.49	0.05	5.35	1.55	2.48
ต้น	0.31	0.06	2.14	2.09	3.57
ราก	0.30	0.30	3.68	2.22	7.86

ชนิดตัวทำละลาย	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัด				
	สารสกัดด้วยวิธีที่ 1			สารสกัดด้วยวิธีที่ 2	
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทานอล	อะซีโตน	เอทานอล
ใบ	13.59	32.08	3.57	79.25	79.24
ต้น	12.35	67.48	25.26	86.25	79.52
ราก	29.24	75.04	ไม่แสดงฤทธิ์	77.73	54.80

ความเข้มข้น	ร้อยละการยับยั้ง DPPH
1	40.40
2	7.56
3	244.8
4	76.31
5	120.4
6	75.40
7	[illegible]
8	2.80
9	5.37
0	29.21

ค่าพารามิเตอร์	ค่าความคงตัว	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 4
สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ความคงตัว	50.91	46.49
สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ความคงตัว	50.98	38.23
สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายอะซีโตน ความคงตัว	50.32	47.30

สรุปผลการทดลอง