

การทดสอบสารพิษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง

ชาริณี แดงน้อย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเคมีศึกษา

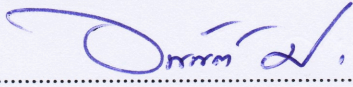
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

มีนาคม 2559

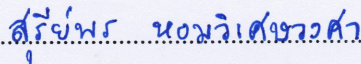
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

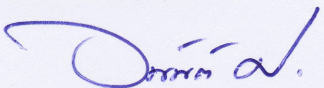
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา  
วิทยานิพนธ์ของ ธาริณี แดงน้อย ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

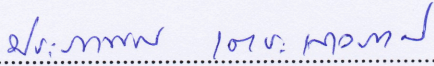
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

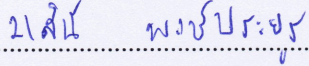
  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ดร.อนันต์ อธิพรชัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


  
.....ประธาน  
(ดร.สุริย์พร หอมวิเศษวงศา)

  
.....กรรมการ  
(ดร.อนันต์ อธิพรชัย)

  
.....กรรมการ  
(ดร.ประภาพรรณ เตชะเสาวภาคย์)

  
.....กรรมการ  
(ดร.วาสนี พงษ์ประยูร)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

  
.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฏฐ์ ศรีสุข)  
วันที่ 14 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2559

ทุนโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.)

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.อนันต์ อธิพรชัย อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดจนให้กำลังใจ มาโดยตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาทุกท่าน ที่ได้สั่งสอนให้ความรู้ทั้งทฤษฎี และปฏิบัติการทางเคมี รวมทั้งปลูกฝังให้เป็นครูวิทยาศาสตร์ที่ดี และมีคุณภาพ

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนการศึกษาจากโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถ พิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สกวท.) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) กระทรวงศึกษาธิการ จึงขอขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อธีรศักดิ์ และคุณแม่เสาวณีย์ แดงน้อย และสมาชิกในครอบครัว ทุกคน รวมทั้งเพื่อนนิสิตปริญญาโท สาขาวิชาเคมีศึกษา ที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอ มา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและ ประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

ธาริณี แดงน้อย

56920129: สาขา: เคมีศึกษา; วท.ม. (เคมีศึกษา)

คำสำคัญ: บัวหลวง/ พฤษเคมี/ สารต้านอนุมูลอิสระ/ เอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส/  
เอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ชาริณี แดงน้อย: การทดสอบสารพฤษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง

(Phytochemical Screening and Biological Activities of *Nelumbo nucifera* Gaerth) คณะกรรมการ  
ควบคุมวิทยานิพนธ์: อนันต์ อธิพรชัย, Ph.D., 117 หน้า. ปี พ.ศ. 2559.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสารพฤษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง 2 สายพันธุ์ คือบัวหลวงสีขาว (*white Nelumbo nucifera*) และบัวหลวงสีชมพู (*pink Nelumbo nucifera*) จากการศึกษาสารพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงทั้งสองสายพันธุ์ พบสารพฤษเคมี คือ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และสเตียรอยด์ นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวยังได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ( $8.96 \pm 0.51$  ถึง  $83.28 \pm 2.49$  mg GAE/g crude extract) สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ( $3.76 \pm 0.17$  ถึง  $36.95 \pm 1.72$  mg QE/g crude extract) และสารต้านอนุมูลอิสระรวม ( $235.97 \pm 2.28$  ถึง  $1202.90 \pm 42.20$  mg AE/g crude extract) และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging พบว่าส่วนสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงสีขาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (94.95%) ที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง 2 สายพันธุ์ พบว่าส่วนสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงสีขาว มีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $86.17 \pm 0.19\%$ ) และเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $99.01 \pm 0.57\%$ ) สูงสุด ที่ความเข้มข้น 2.0 mg/mL และสูงกว่ามาตรฐาน อคาร์โบส ( $86.09 \pm 0.87$  และ  $95.55 \pm 0.32\%$  ตามลำดับ) อีกด้วย จากผลดังกล่าวข้างต้นพบว่าสามารถพัฒนาและนำส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงไปใช้ประโยชน์ทางยารักษาโรคเบาหวานหรือเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อีกด้วย

56920129: MAJOR: CHEMISTRY EDUCATION; M.Sc. (CHEMISTRY EDUCATION)

KEYWORDS: *NELUMBO NUCIFERA* GAERTH/ PHYTOCHEMICAL SCREENING,  
ANTIOXIDANT/  $\alpha$ -GLUCOSIDASE/  $\alpha$ -AMYLASE

TARINEE DANGNOI: PHYTOCHEMICAL SCREENING AND BIOLOGICAL  
ACTIVITIES OF *NELUMBO NUCIFERA* GAERTH. ADVISORY COMMITTEE: ANAN  
ATHIPORNCHAI, Ph.D. 117 P. 2016.

The present study was performed to evaluate the phytochemical screening and biological activities of the ethanolic extracts from several parts of two sacred lotus spices including white *Nelumbo nucifera* (NNW) and pink *Nelumbo nucifera* (NNP). Phytochemical screening of the ethanolic extracts from these plant revealed that the presence of secondary metabolites of Saponins, tannins, terpenoids, flavonoids, coumarin, cardiac glycosides, and steroids. The extracts were used to determine the total phenolic content ( $8.96 \pm 0.51$  to  $83.28 \pm 2.49$  mg GAE/g crude extract), total flavonoids content ( $3.76 \pm 0.17$  to  $36.95 \pm 1.72$  mg QE/g crude extract) and total antioxidant capacity ( $235.97 \pm 2.28$  to  $1202.90 \pm 42.20$  mg AE/g crude extract). The highest antioxidant activity using DPPH free radical scavenging method at 0.25 mg/mL concentration was demonstrated by white petals extracts (94.95%). In addition the ethanolic extracts of two sacred lotus spices were evaluated for anti- $\alpha$ -glucosidase and anti- $\alpha$ -amylase activities. From these results 2 mg/mL concentration, it was found that the ethanolic extracts of the petals from white *N. nucifera* showed the both highest anti- $\alpha$ -glucosidase ( $86.17 \pm 0.19\%$ ) and anti- $\alpha$ -amylase ( $99.01 \pm 0.57\%$ ) which were active than the standard drug acarbose ( $86.09 \pm 0.87$  and  $95.55 \pm 0.32\%$ , respectively). These results suggest the potential of *N. nucifera* as diabetic mellitus medicine or cosmetic agents against free-radical-associated oxidative damage.

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ข้อมูลพฤษศาสตร์ของบัวหลวง.....	5
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร.....	8
2.3 พฤษเคมีเบื้องต้น.....	10
2.4 สารประกอบฟีนอลิก.....	15
2.5 อนุมูลอิสระ.....	15
2.6 ความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน.....	17
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	29
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี.....	29
3.2 แผนการดำเนินการวิจัย.....	32
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	33

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	40
4.1 การสกัดสารสกัดดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	40
4.2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น .....	42
4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม.....	44
4.4 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม.....	46
4.5 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม.....	48
4.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging.....	50
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	54
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	59
5 อภิปรายผลและสรุปผล.....	64
5.1 อภิปรายผลและสรุปผล.....	64
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	65
บรรณานุกรม .....	66
ภาคผนวก.....	70
ภาคผนวก ก.....	71
ภาคผนวก ข.....	77
ภาคผนวก ค.....	83
ภาคผนวก ง.....	89
ภาคผนวก จ.....	99
ภาคผนวก ฉ.....	108
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	117



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 ผลการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ด้วยวิธี Disc Diffusion.....	21
2-2 ผลการยับยั้งเอนไซม์ $\alpha$ -amylase, $\alpha$ -glucosidase, และ porcine pancreatic lipase.....	23
2-3 ผลการทดสอบ TC, TG, HDL-C และ LDL-C ในหนู.....	23
4-1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	41
4-2 น้ำหนักและร้อยละของสารสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	41
4-3 การตรวจสอบสารฟลูเคมิเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว.....	42
4-4 การตรวจสอบสารฟลูเคมิเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู.....	43
4-5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	45
4-6 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ของสารสกัด หยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	47
4-7 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	49
4-8 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH free radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin).....	50
4-9 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีขาว.....	52
4-10 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพู.....	53

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-11 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีขาว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	55
4-12 ผลการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	57
4-13 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีขาว่าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	60
4-14 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	62
ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid).....	73
ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีขาว่า.....	75
ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีชมพู.....	75
ก-4 ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีขาว่า.....	76
ก-5 ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีชมพู.....	76
ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin).....	79
ข-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีขาว่า.....	81
ข-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบั้วหลวงสีชมพู.....	81

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข-4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว.....	82
ข-5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู.....	82
ค-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid).....	85
ค-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว.....	87
ค-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู.....	87
ค-4 ค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว.....	88
ค-5 ค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู.....	88
ง-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid).....	91
ง-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของมาตรฐาน วิตามินซี (L-ascorbic acid).....	92
ง-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของมาตรฐาน เคอร์ซีติน (Quercetin).....	92
ง-4 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin).....	93

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ง-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน.....	94
ง-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร.....	95
ง-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก.....	95
ง-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก.....	96
ง-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน.....	96
ง-10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของเกสร.....	97
ง-11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก.....	97
ง-12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอก.....	98
ง-13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด หยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ.....	98
จ-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอคาร์โบส.....	102
จ-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน...	103
จ-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร.....	104



## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ฉ-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน...	114
ฉ-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของเกสร.....	115
ฉ-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก..	115
ฉ-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอก..	116
ฉ-10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ.....	116

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 ส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง.....	7
2-2 สูตรโครงสร้างของ Caffeine.....	11
2-3 สูตรโครงสร้างของ Genistein.....	11
2-4 สูตรโครงสร้างของ Chrysophanol.....	12
2-5 สูตรโครงสร้างของ Umbelliferone .....	12
2-6 สูตรโครงสร้างของ Glycyrrhizin.....	13
2-7 สูตรโครงสร้างของ Gallotannin.....	13
2-8 สูตรโครงสร้างของ Squalene.....	14
2-9 สูตรโครงสร้างของ Testosterone.....	14
2-10 สูตรโครงสร้างของ Oleandrin.....	14
2-11 แสดงปฏิกิริยาการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH.....	17
2-12 สูตรโครงสร้างของ (ก) Acarbose และ (ข) Voglibose.....	18
2-13 แสดงปฏิกิริยาการย่อยแป้ง ด้วยเอ็นไซม์เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส( $\alpha$ -Glucosidase).....	19
2-14 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และเอ็นไซม์ไลเปส (lipase) จากส่วนสกัดจากใบบัว.....	20
2-15 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) จากส่วนสกัดของหัวบัว (edible) และส่วนข้อของเหง้าบัว (joint).....	22
2-16 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ $\alpha$ -amylase และ $\alpha$ -glucosidase จากส่วนสกัดส่วนข้อของเหง้าบัว (joint) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	22
2-17 การสกัดต้านอนุมูลอิสระจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง ( <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn).....	24
2-18 โครงสร้างของสารประกอบ 12 สาร จากใบบัว ( <i>Nelumbo nucifera</i> ).....	25

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
2-19 โครงสร้างของสารประกอบในกลุ่มแอลคาลอยด์ 5 สาร จากใบบัว ( <i>Nelumbo nucifera</i> ).....	26
2-20 โครงสร้างของสารประกอบ 33 สาร จากใบบัว ( <i>Nelumbo nucifera</i> ).....	27
2-20 โครงสร้างของสารประกอบ 33 สาร จากใบบัว ( <i>Nelumbo nucifera</i> )(ต่อ).....	28
3-1 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย.....	32
4-1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	40
4-2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก.....	44
4-3 ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจาก ส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	45
4-4 กราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน.....	46
4-5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	47
4-6 กราฟมาตรฐานวิตามินซี.....	48
4-7 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) ของสารสกัดหยาบ เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู.....	49
4-8 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสารมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin).....	51
4-9 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสกัดหยาบ เอทานอลจากบัวหลวงสีขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	52
4-10 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสกัดหยาบ เอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	53
4-11 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของอาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	55



## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-12 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐาน อการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพู ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	58
4-13 ร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐาน อการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	60
4-14 ร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐาน อการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพู ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	62
ก-1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm กับ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ สารมาตรฐานแกลลิก (Gallic acid).....	73
ข-1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสาร มาตรฐานเคอร์ซีติน.....	79
ค-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm กับ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานวิตามินซี.....	85
ง-1 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของกราฟมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin).....	93
จ-1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอการ์โบส.....	103
ฉ-1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารมาตรฐานอการ์โบส.....	112

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคเบาหวาน (Diabetic mellitus : DM) เป็นโรคเรื้อรังที่ยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จากข้อมูลสมาพันธ์เบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation : IDF) ซึ่งเป็นองค์กรร่วมมือระหว่างประเทศ คาดการณ์ผู้ป่วยเบาหวานที่มีอายุระหว่าง 20-79 ปีทั่วโลกว่ามีจำนวน 285 ล้านคนในปี 2553 และคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 438 ล้านคนในปี 2573 (ศิริอร สินธุ และพิเชต วงรอด, บรรณาธิการ, 2557) จึงจัดเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของโลก หากผู้ป่วยเบาหวานเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนกับอวัยวะต่าง ๆ เช่น ตา ไต ระบบประสาท รวมทั้งโรคหลอดเลือดหัวใจ การรักษาเบาหวานในปัจจุบันมุ่งเน้นเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติหรือใกล้เคียงปกติมากที่สุด และป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนในระยะยาว ในการรักษาต้องควบคุมอาหารและออกกำลังกายควบคู่ไปกับการใช้ยา แต่การใช้ยาแผนปัจจุบันเพื่อรักษาโรคเบาหวาน หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียง เช่น อาการแพ้ทางผิวหนัง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย คลื่นไส้ อาเจียน ตลอดจนตับถูกทำลาย ดังนั้นการใช้สมุนไพร จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ชูศรี ตลับมูข, รัตริส วิรัตน์ และจุฑาภรณ์ ทองปน, 2552)

ปัจจุบันจึงมีนักวิจัยให้ความสนใจศึกษาสมุนไพรในการบำบัดรักษาโรคเบาหวานกันมากขึ้น โดยเฉพาะการศึกษาสารที่ได้จากสมุนไพรทั้งสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อโรคเบาหวาน คือ แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) และแอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง หากสารสกัดหยาบหรือสารบริสุทธิ์จากสมุนไพร ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้จะช่วยชะลอการย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นการช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และมีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงภายหลังจากการรับประทานอาหารได้

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn) จัดเป็นพืชสมุนไพรตามตำราแพทย์แผนไทย ทุกส่วนของบัวหลวงสามารถใช้ประกอบเป็นอาหาร และมีสรรพคุณใช้รักษาและป้องกันการเกิดโรคได้ เช่น เกสร ประุงเป็นยาหอม ขับปัสสาวะ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ราก ระวังอาการท้องร่วง เหง้าและเมล็ด เป็นยาบำรุงกำลัง รักษาอาการร้อนใน กระจายน้ำ ขับเสมหะ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ดิบัวหรือต้นอ่อน

บำรุงหัวใจ มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจ ยางจากก้านใบและก้านดอก แก่ท้องเดิน กลีบดอกใช้เป็นยาฝาดสมาน ใบ บำรุงร่างกายให้ชุ่มชื้น แก้ไข้ (กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2542) จากคุณสมบัติและสรรพคุณต่าง ๆ ของบัวหลวง โดยเฉพาะสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดโรคเบาหวาน คือ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง เพื่อเป็นข้อมูลที่สนับสนุนการพัฒนาสมุนไพรบัวหลวงมาใช้แทนยาแผนปัจจุบันในการรักษาโรคเบาหวานต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง สีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ
2. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ
3. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมส่วนสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ โดยใช้วิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล
2. ทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล จากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอกและใบ แบ่งการทดสอบเป็น 10 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลิฟีนอล สเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอก โกลโคไซด์
3. หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ

4. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. ทำให้ทราบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล จากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ

2. ทำให้ทราบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ดอก กลีบดอก ก้านดอก และใบ

3. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู ได้แก่ เกสร ฝักอ่อน กลีบดอก ก้านดอก และใบ

#### 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติยา หมายถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังไม่ได้ผสมปรุงหรือเปลี่ยนแปลงสภาพ เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล ฯลฯ ซึ่งยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใด ๆ

2. สารสกัดหยาบ (Crude extract) หมายถึง สารสกัดเบื้องต้นจากสมุนไพรที่ยังไม่ถึงขั้นสารบริสุทธิ์ กระบวนการสกัดไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถนำไปใช้ได้โดยตรงหรือต้องผ่านกรรมวิธีผลิตก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์

3. องค์กรประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening) เป็นการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืชโดยใช้ระยะเวลาสั้น ทำได้ง่าย รวดเร็ว และใช้เครื่องมือที่น้อยที่สุด โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีง่าย ๆ หรือใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี (Color reaction) ซึ่งจะให้ผลเป็นสีต่าง ๆ หรือการเกิดตะกอน เพื่อบอกถึงกลุ่มสารเคมีที่สำคัญ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลิบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอก โกลโคไซด์

4. ฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities) หมายถึง กิจกรรมชีวสาร ปฏิกริยาทางชีวภาพ หรือสมบัติทางชีวภาพที่เกิดขึ้นและเกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิต เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn)

บัวหลวงเป็นพืชน้ำที่จัดเป็นไม้ดอกในเขตร้อนของทวีปเอเชีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nelumbo nucifera* Gaertn. จัดอยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae มีชื่อสามัญว่า Lotus, Sacred lotus, East Indian lotus มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น เช่น บุนนารี บุนนารี ปทุม ปัทมา สัตตบุษย์ บัวฉัตรขาว สัตตบงกช บัวฉัตรชมพู เป็นต้น (จินทรวรรณ แสงแข และเพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์, 2548) บัวหลวงมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ ลำต้นมีทั้งเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน และเป็นไหลอยู่เหนือดินใต้น้ำ ลักษณะของเหง้าเป็นท่อนยาว มีปล้องสีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลือง มีความแข็งเล็กน้อย หากตัดตามขวางจะเห็นเป็นรูปกลม ๆ อยู่หลายรู โดยส่วนของไหลจะเป็นส่วนเจริญไปเป็นต้นใหม่ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินเหนียวในระดับน้ำลึก 30-50 เซนติเมตร และสามารถขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ดหรือวิธีการแยกไหล ราก เป็นระบบรากฝอย รากเกิดบริเวณข้อของลำต้น รากอ่อนมีสีขาว เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแก่ และมีแขนงออกมา ใบบัว เป็นใบเดี่ยว ใบอ่อนจะลอยปริ่มน้ำ ส่วนใบแก่แผ่นใบจะชูขึ้นเหนือน้ำ ลักษณะของใบเป็นรูปเกือบกลมและมีขนาดใหญ่ โดยมีขนาดประมาณ 50 เซนติเมตร ขอบใบเรียบและเป็นคลื่น ผิวใบด้านบนเป็นนวลเคลือบอยู่ ก้านใบจะติดอยู่ตรงกลางของแผ่นใบ ก้านใบมีลักษณะแข็งและเป็นหนาม หากตัดตามขวางจะเห็นรูอยู่ภายใน และก้านใบจะมีน้ำยางสีขาว เมื่อหักก้านจะมีสายใยสีขาว ๆ สำหรับใบอ่อนจะเป็นสีทึบขาว ปลายจะม้วนงอขึ้นเข้าหากันทั้งสองด้าน ดอก เป็นดอกเดี่ยวมีขนาดใหญ่มี 2 สี คือ สีขาวและสีชมพู เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (Perfect flower) มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ก้านดอกแข็งและมีผิวขรุขระเป็นหนามเล็ก ๆ สีน้ำตาลแดง กระจายอยู่ทั่วไปคล้ายก้านใบ ภายในก้านดอก (Peduncle) มีรูอากาศเป็นจำนวนมาก และมีน้ำยางเช่นเดียวกับก้านใบ ดอก ชูขึ้นเหนือน้ำ กลีบเลี้ยง (Sepal) สีเขียวมี 4-6 กลีบ เหนียวและร่วงง่าย แต่บางครั้งก็ติดอยู่จนเป็นผล กลีบดอก (Petal) และกลีบเลี้ยงรูปร่างคล้ายกันมากจนแยกออกจากกันได้ยาก เกสรตัวผู้ (Stamen) เรียงตัวรอบฐานรองดอกในตำแหน่งที่ต่ำกว่ารังไข่ มีกลิ่นหอม อับเรณู (Anther) สีเหลืองมี 4 อัน ลักษณะเรียวยาว ปลายอับเรณูมีระยางค์ (Appendix) สีขาวนูนหรือขาวอมเหลือง ยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร บัวพันธุ์สัตตบุษย์ และพันธุ์สัตตบงกช มีเกสรตัวผู้เปลี่ยนแปลงไปคล้ายกลีบดอก (Stamen petaloid) แต่เล็กกว่า มีทั้งเกสรตัวผู้ที่เป็นหมันและไม่เป็นหมัน เกสรตัวเมียมีรังไข่อยู่เหนือชั้นของกลีบเลี้ยง กลีบดอกและก้านเกสรตัวผู้ เกสรตัวเมียมีหลายรังไข่แยกกันเป็นอิสระ โดยฝังอยู่ในฐานรองดอก (Receptacle) ที่ขยายออกมาเป็นรูปกรวย เรียกว่า ฝักบัว รังไข่แต่ละรังมีเพียง 1 คาร์เพล (Carpel)

แต่ละคาร์เพลมีไข่อ่อน 1 ใบ ยอดเกสรตัวเมียเป็นตุ่มสีเหลืองติดอยู่ที่รังไข่ โดยไม่มีก้านชูเกสรตัวเมีย หรือมีก็สั้นมาก ผล หรือฝักบัวจัดเป็นผลกลุ่ม (Aggregate fruit) ประกอบด้วยผลย่อยเป็นแบบนัท (Nut) เปลือกหนาสีเขียว ด้านในมีสีขาว เมื่อแก่เปลือกจะมีสีดำและแข็ง เรียกว่า “เมล็ดบัว” สามารถนำมารับประทานได้ เมล็ด มีเปลือกบางสีขาวอ่อนนุ่ม เมล็ดมีความกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ภายในมีกลีบเลี้ยงหนา 2 ใบ สีขาวนวล ตันอ่อน (Embryo) มีสีเขียวเข้ม เรียกว่า ดิบัว มีรสขม ดิบัว เป็นส่วนของตันอ่อนที่อยู่ในเมล็ดบัวหลวง ดิบัวมีลักษณะคล้ายสาก มีความยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร มีใบอ่อน 2 ใบ ใบหนึ่งสั้น ส่วนอีกใบยาว ใบมีสีเขียวเข้มหรือสีเขียวอมเหลือง ปลายใบมีลักษณะม้วนเป็นรูปคล้ายลูกศร มีตันอ่อนตรง ขนาดเล็กมากอยู่ระหว่างใบอ่อนทั้งสอง มีความยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร โคนตันมีสีเหลืองอ่อนหรือเป็นสีเหลืองอมเขียว ลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกยาวประมาณ 2-4 มิลลิเมตร เนื้อหนาเปราะ ร้อนหน้าตัดจะมีรูเล็ก ๆ จำนวนมาก ดิบัวมีรสขมจัด แต่ไม่มีกลิ่น (อังคณา เทียนกล้า, 2551)

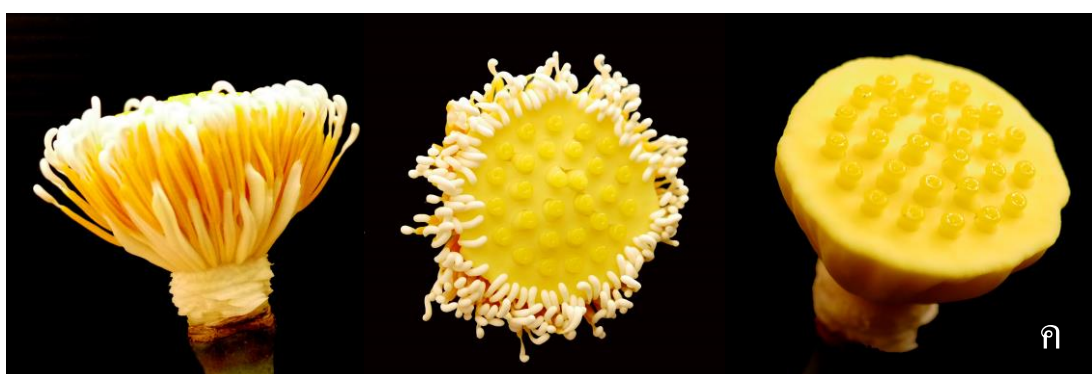
ส่วนต่าง ๆ ของบัวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน มีสรรพคุณในการบำรุงร่างกาย หรือนำมาปรุงเป็นยารักษาโรคได้ เช่น เกสรตัวผู้ บำรุงหัวใจ เกสรปรุงเป็นยาหอมบำรุงหัวใจ บรรเทาอาการหน้ามืด วิงเวียน ทำให้ชื่นใจ เป็นยาสงบประสาท ขับเสมหะ ดอก แก้อาการช้ำใน ช่วยให้นอนหลับ ก้านใบ แก้วริดสีดวงจมูก แก้วลมพิษ ขางจากก้านใบและก้านดอก แก้วท้องเดิน ใช้เป็นยาห้ามเลือด ใบ ใช้ห้ามเลือด ใบอ่อนกินได้เป็นผัก ใบแก่แก้อาการปวดศีรษะ เป็นไข่ ท้องร่วง มีเสมหะปนเลือด เลือดกำเดาไหลและประจำเดือนมาผิดปกติ เมล็ด ได้จากฝักแก่ ใช้รับประทานเป็นอาหาร แก้อาการท้องร่วง ดิบัว มีรสขมจัด ช่วยขยายเส้นเลือดหัวใจ เหง้า เป็นยาเย็น ใช้บำรุงกำลัง แก้วร้อนในกระหายน้ำ แก้วเสมหะ แก้วพุพอง ฝักบัว ได้จากฝักแก่ ที่แกะเมล็ด และเอาก้านออก ใช้แก้ประจำเดือนมามากกว่าปกติหรือตกเลือด แก้วเป็นตะคริวที่ท้อง และห้ามเลือด (สุดารัตน์ หอมหวล, ม.ป.ป.)



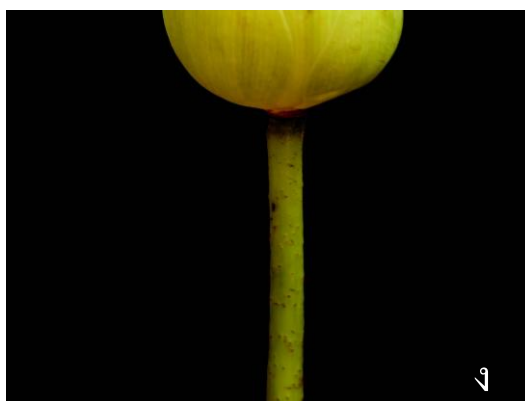
ก



ข



ค



ง



จ

ภาพที่ 2-1 ส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง (ก) บัวหลวงสีชมพู (ข) บัวหลวงสีขาว (ค) เกสรตัวผู้ และฝักอ่อน (ง) ก้านดอก (จ) ใบบัว



## 2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร (นันทวัน บุญยะประภัทร, 2544)

### 2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชนับเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ ซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่ การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้องของพืช เพื่อให้ได้ชื่อพฤกษศาสตร์ และได้ตัวอย่างที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นปน เพราะจะทำให้ได้สารแปลกปลอม ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้นอกจากนี้ ยังทำให้ผลการวิจัยผิดพลาดได้ พืชต้องไม่มีโรค หากตัวอย่างที่เก็บมามีจุลินทรีย์อันเป็นสาเหตุของโรคพืช จุลินทรีย์อาจให้สารซึ่งถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่เราต้องการ นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชทำให้ได้สารที่แตกต่างออกไปจากธรรมชาติ ความแตกต่างของสารสำคัญในพืช (Variation of constituents) ในการเก็บพืชแต่ละครั้งสารสำคัญในพืชอาจแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างเนื่องจากสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก เป็นต้น ดังนั้นจึงควรต้องบันทึก สถานที่ และเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช สำหรับผลของการเก็บรักษาและเตรียมพืช (Effect of preserving and processing process) ในการทำพืชให้แห้งบางครั้งจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรเสียไป เช่น ไธม์ (thyme) สดมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ แต่ถ้าตัวอย่างแห้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจะหมดไป

### 2.2.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสาร ในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ดังนี้

1. มาเชอเนชัน (Maceration หรือ Immersion) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ปากขวดกว้าง หรือถังสเตนเลส เป็นต้น ทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (Marc) ให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง การสกัดถ้าจะสกัดให้หมดจด (Exhausted) อาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2. เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุผงยาที่ละเอียดเป็นชั้นในเพอร์โคเลเตอร์ เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (Solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มรินเอาสารสกัดออกมา โดยค่อย ๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกัน นำไปกรองวิธีนี้อาจพบปัญหา ผลยาอาจจับตัวเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปสกัดได้

การพองตัวมาก ๆ ทำให้ต้องใช้ความดัน และอาจทำให้อุดตัน การบรรจุไม่สม่ำเสมอจะเกิดร่อง ซึ่งตัวทำละลายจะไหลผ่านร่องแทนการแทรกซึมไปตามผงยา ทำให้สกัดไม่สมบูรณ์

3. ซอกซ์เลตเอกแทรกเตอร์ (Soxhlet Extractor) เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในภาชนะระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อตัวทำละลายในเอกซ์แทรกตึงแชมเบอร์ (Extracting chamber) สูงถึงระดับ สารสกัดจะไหลกลับลงไปภาชนะด้วยวิธีการกลั่นน้ำ ภาชนะนี้ได้รับความร้อนจากฮีทติงแมนเทิล (Heating mantle) หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไปถึงสารสกัดไว้ในภาชนะ ตัวทำละลายเมื่อกระทบคอนเดนเซอร์ (Condenser) จะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่ วนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนด้วย จึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว

### 2.2.3 ปัจจัยในการเลือกวิธีการสกัด

การสกัดสารสำคัญในพืชสมุนไพรหลายวิธี ซึ่งวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญ และคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ก็อาจใช้วิธีง่าย ๆ ที่ไม่ยุ่งยากสำหรับความต้องการที่จะให้ได้สารสกัดที่สมบูรณ์ (Exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอเรชัน (Maceration) ก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้น ก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน (Percolation) หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง ธรรมชาติของพืชสมุนไพรพิจารณาจากลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ถ้าสมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอกใบ อาจสกัดด้วยวิธีมาเซอเรชัน (Maceration) หากเป็นพืชสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อแข็งและเหนียว เช่น เปลือก ราก เนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง ความสามารถในการละลายของสารสำคัญ ถ้าละลายได้ดีนิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ในความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อน ควรใช้วิธีมาเซอเรชันหรือเพอร์โคเลชัน

### 2.2.4 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และมีราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ เฮกเซน และแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งในการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ดังนี้ คือ สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุดในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด (Selectivity) และแรง (Force) ที่เกี่ยวข้องกับในการ

ละลายที่สำคัญ เช่น แรงการกระจาย หรือแรงลอนดอน (Dispersion force หรือ London force) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (Dipole-dipole force) และพันธะไฮโดรเจน (H-bonding)

### 2.2.5 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาณมาก และเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนซึ่งมีหลายวิธีดังนี้

1. การระเหย (Free Evaporation) คือ การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือเครื่องให้ความร้อน (Hot plate) บางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปนในสารสกัดด้วยเพื่อให้ระเหยได้เร็วขึ้น

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuo) เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (Distillation flask) คอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอของสารละลาย (Condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (Receiving flask) โดยภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่นจะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำเพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ เครื่องมือที่มีต้องมีระบบการทำสุญญากาศที่ดี ระยะระหว่างภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น และคอนเดนเซอร์ สั้น และมีระบบทำความเย็นของคอนเดนเซอร์ที่ดี

3. การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำ วิธีที่เหมาะสมคือใช้วิธีแช่แข็งโดยการใช้ความเย็น (Lyophilizer หรือ Freeze dryer) แต่เป็นตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่งแยกจาก Concentrated extract โดยการเหวี่ยง วิธีนี้มีข้อดีเหมาะสมกับสารที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน

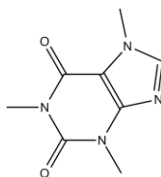
4. อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีมวลโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000

## 2.3 พฤษเคมีเบื้องต้น (วันดี กฤษณพันธ์, 2544)

กลุ่มสารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมาก สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (Biosynthetic origin) ของสารเหล่านี้ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) สารปฐมภูมิ เป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมที่จำเป็น (Essential metabolism) ของเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์

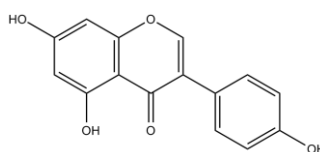
กรดอะมิโนบางชนิด สารปฐมภูมิ เช่น คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) ไขมัน (Lipids) โปรตีน (Protein) กรดอะมิโน (Amino acid) และเอนไซม์ (Enzymes) ส่วนสารทุติยภูมิ เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกัน ในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่าง ชัดเจน อย่างไรก็ตามสารทุติยภูมิก็ยังเกี่ยวข้องกับวงจรเมแทบอลิซึมพื้นฐานในเซลล์สิ่งมีชีวิต สาร ทุติยภูมิสามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

1. แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มักพบมาก ในพืชชั้นสูงมีสูตร โครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ ส่วนใหญ่มักมีรสขม เป็นผลึกไม่มีสี สามารถรวมตัวกับทั้ง กรดอินทรีย์ และกรดอนินทรีย์ อยู่ในรูปของเกลือ ในธรรมชาติมักพบอยู่ในรูปเกลือของกรดอินทรีย์ ในรูปอิสระ (Free base) จะไม่ละลายน้ำ หรือละลายได้เพียงเล็กน้อย แต่สามารถละลายน้ำได้ดีใน ตัวทำละลายอินทรีย์ แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย ตัวอย่างเช่น Caffeine ที่พบในชาและกาแฟ



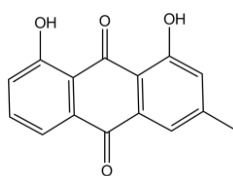
ภาพที่ 2-2 สูตรโครงสร้างของ Caffeine

2. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิก (Polyphenolic compound) จำพวกฟีนิลโครโมน (Phenyl chromones) พบมากในธรรมชาติโดยมักพบเป็นเม็ดสี (Pigment) ใน ส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยเฉพาะในส่วนดอก มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น  $C_6-C_3-C_6$  ส่วนใหญ่จะประกอบ ไปด้วย Pyran ring จับกับ 3 Carbon chain และ 1 Benzene ring ฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีฤทธิ์ทาง เภสัชวิทยา ตัวอย่างเช่น Genistein ที่พบมากในถั่วเหลือง



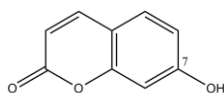
ภาพที่ 2-3 สูตรโครงสร้างของ Genistein

3. แอนทราควิโนน (Anthraquinones) เป็นสารควิโนนที่พบมากที่สุด พบได้ทั้งในรูปอิสระ และกลัยโคไซด์ มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน เป็นสารที่มีสีแดง-ส้ม แต่อาจจะพบได้ตั้งแต่สีเหลือง-น้ำตาล ส่วน Aglycone ของแอนทราควิโนนละลายได้ดีในด่างให้สีชมพู-แดง ละลายได้ในตัวทำละลาย เช่น เบนซีน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม แอนทราควิโนนเกือบทุกตัวมีจุดหลอม-เหลวสูง ส่วนใหญ่นำมาใช้ประโยชน์เป็นยาระบายและยาถ่าย นอกจากนี้ใช้เป็นสีย้อม ยารักษาเชื้อราที่ผิวหนังอีกด้วย ตัวอย่างเช่น Chrysophanol



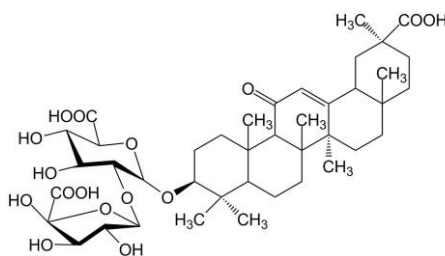
ภาพที่ 2-4 สูตรโครงสร้างของ Chrysophanol

4. คูมาริน (Coumarin) เป็นแลคโตนของ O-hydroxy cinnamic acid ในพืชพบได้ทั้งในรูปอิสระและในรูปกลัยโคไซด์ คูมารินเกือบทั้งหมดในธรรมชาติจะมีออกซิเจนที่ตำแหน่งที่ C-7 (อาจพบในรูปของ hydroxyl หรือ alkoxy) สารบางตัวระเหยได้ นำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น สารแต่งกลิ่น ยาบำรุงเลือด รักษาโรคคางขาว ตัวอย่างเช่น Umbelliferone



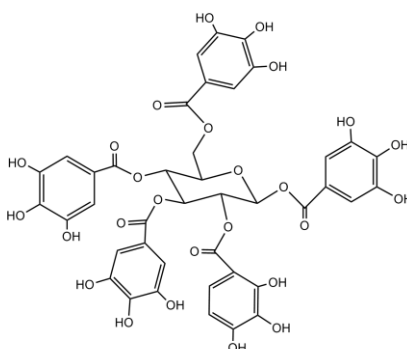
ภาพที่ 2-5 สูตรโครงสร้างของ Umbelliferone

5. ซาโปนิน (Saponins) หรือซาโปนิน กลัยโคไซด์มีส่วน Aglycone เป็นสารพวก Steroids หรือ Triterpenoids ส่วนนี้จะจับกับส่วนน้ำตาล หรืออนุพันธ์ของน้ำตาลที่ตำแหน่ง C<sub>3</sub> ได้เป็น O-glycoside ซาโปนินกลัยโคไซด์มีคุณสมบัติบางอย่างคล้ายสบู่ เช่น สามารถเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดี และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ ตัวอย่างเช่น Glycyrrhizin ซึ่งมี Aglycone เป็น Triterpenoids และมีโมเลกุลของน้ำตาล 2 โมเลกุลเกาะตำแหน่งที่ 3



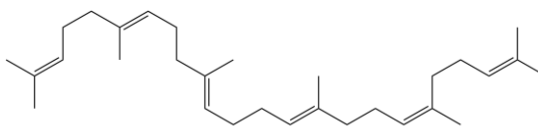
ภาพที่ 2-6 สูตรโครงสร้างของ Glycyrrhizin

6. แทนนิน (Tannins) เป็นสารจำพวกโพลีฟีนอลิกที่มีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่และซับซ้อน พบได้ทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิด เป็นสารที่แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะไม่ตกผลึก พบได้ทั้งในรูปอิสระและรูปกลัยโคไซด์ คุณสมบัติและชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล แทนนินใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เนื่องจากแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนที่หนังสัตว์ได้ หรือใช้เป็นยาฝาดสมาน เป็นส่วนผสมในตำรายาแก้ท้องเสีย หรือใช้กับบาดแผลที่ผิวหนัง เพื่อให้แผลหายเร็วขึ้น ตัวอย่างเช่น Gallotannin



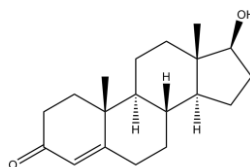
ภาพที่ 2-7 สูตรโครงสร้างของ Gallotannin

7. เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) เป็นสารทุติยภูมิที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ ประกอบด้วยหน่วยที่เล็กที่สุด เรียกว่า Isoprene unit ซึ่งเป็นสายโซ่กิ่ง (Branch chain) ของคาร์บอน 5 อะตอม เทอร์ปีนอยด์ มีโครงสร้างได้หลายแบบ และมีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ต่างๆ กัน ทั้งนี้ขึ้นกับการจัดเรียงตัวของคาร์บอนใน Isoprene unit, การปิดวงแหวน และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) หรือปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction) เทอร์ปีนอยด์ส่วนใหญ่ละลายได้ดีในไขมัน ไม่มีสี พบได้ในไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ของเซลล์ หรือเนื้อเยื่อพิเศษ ตัวอย่างเช่น Squalene ที่พบมากในปลาฉลาม



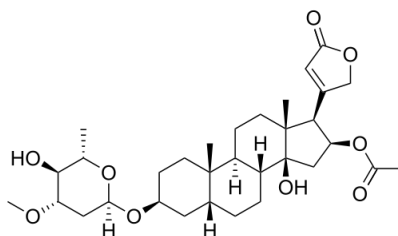
ภาพที่ 2-8 สูตรโครงสร้างของ Squalene

8. สเตียรอยด์ (Steroids) เป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น Cyclopentanoperhydrophenanthrene สารจำพวกสเตียรอยด์มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสารในกลุ่ม Tricyclic Triterpenes มาก เป็นกลุ่มสารที่มีความสำคัญเนื่องจากนำไปใช้ประโยชน์เป็นยาลดการอักเสบ ยารักษาโรคหัวใจ ยาขับปัสสาวะ ตลอดจนนำมาสังเคราะห์เป็นฮอร์โมนเพศ และยากุมกำเนิด ตัวอย่างเช่น Testosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชาย



ภาพที่ 2-9 สูตรโครงสร้างของ Testosterone

9. คาร์ดิแอก ไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) เป็นกลัยโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อหัวใจ โดยไปเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาโรคหัวใจวาย ผลการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของ aglycone และจำนวนของน้ำตาล น้ำตาลจะช่วยให้คาร์ดิแอก กลัยโคไซด์ละลายได้ดีขึ้น เป็นผลให้การดูดซึมและการกระจายตัวของสารในร่างกายเพิ่มขึ้น จึงช่วยให้การออกฤทธิ์ของสารดียิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่น Oleandrin พบในยี่โถ



ภาพที่ 2-10 สูตรโครงสร้างของ Oleandrin

## 2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) เป็นสารที่พบได้ในพืช มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น ละลายน้ำได้ มักพบอยู่ทั่วไปพร้อมกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) ในธรรมชาติ พบสารประกอบฟีนอลิกได้หลายชนิด ที่พบมากที่สุดจะเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และโพลีฟีนอลิก เช่น ลิกนิน (Lignin) และแทนนิน (Tannin) (รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ, 2557) สารประกอบฟีนอลิก มีประโยชน์หลายประการ เช่น มีส่วนช่วยป้องกันมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดสมอง เนื่องจากช่วยลดโคเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอล (LDL) และไตรกลีเซอไรด์ และช่วยเพิ่มระดับโคเลสเตอรอลชนิดเอชดีแอล (LDH) ลดความดันโลหิตและระดับน้ำตาลในเลือด รวมทั้งต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิก จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับ อนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า สารประกอบฟีนอลิกที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด ผล ใบ (รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์, 2555)

## 2.5 อนุมูลอิสระ (Free radical)

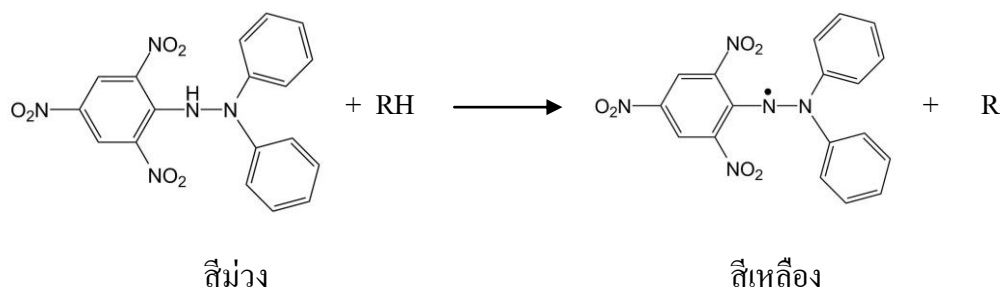
อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (Unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสาร โมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ต่อกันไปเรื่อย ๆ โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วไป ตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และ ความชื้น เป็นต้น อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระ



จะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล  $R^{\cdot}$  แทนอะตอมหรือโมเลกุลของอนุมูลอิสระที่ไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก ( $R^{+}$ ) เช่น อนุมูล pyridinyl ( $NAD^{+}$ ) และประจุลบ ( $R^{-}$ ) เช่น อนุมูล superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล peroxy ( $ROO^{\cdot}$ ) หรืออนุมูล thiyl ( $RS^{\cdot}$ ) เป็นต้น อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical ( $HO^{\cdot}$ ) และ Superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก หรือการเกิดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (Oxidative stress) คือ การที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นใน ปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหลอดเลือดอุดตัน เป็นสาเหตุร่วมกับการเกิดมะเร็ง ทำให้ผิวหนังเกิดรอยเหี่ยวย่น เป็นต้น (Kaewamatawong & Jounmunkong, 2006)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้มี กลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (Scavenge) อนุมูลอิสระ โดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (Chelate) กับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ โดยทั่วไป สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ของมนุษย์ การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญ ของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)

วิธีการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant assay) มีอยู่ด้วยกันมากมายหลายวิธี แต่มีอยู่หนึ่งวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ วิธี DPPH scavenging assay โดย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นได้สารละลาย DPPH จะมีสีม่วงคล้ำที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ได้รับความร้อนจากสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) จะทำให้เปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสารละลายสีเหลือง (ระวีวรรณ แก้วอมดวงค์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549) ดังภาพที่ 2-11



ภาพที่ 2-11 แสดงปฏิกิริยาการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH

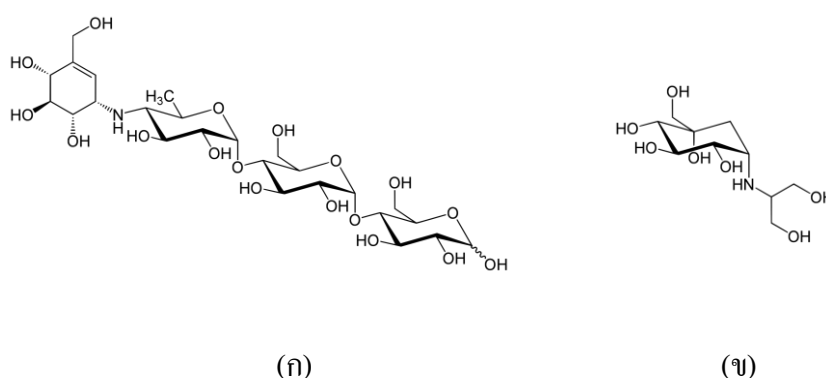
## 2.6 ความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus)

เบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินกว่าที่ควรจะเป็น มีสาเหตุมาจากการหลังอินซูลิน (Insulin) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่เพียงพอ เรียกว่ามี ภาวะขาดอินซูลิน หรือเกิดจากความสามารถในการตอบสนองต่อฤทธิ์ของอินซูลินลดลง เรียกว่ามี ภาวะดื้ออินซูลิน โรคเบาหวานที่พบในปัจจุบันแบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (เดิมเรียก โรคเบาหวานชนิดพึ่งอินซูลินหรือ Insulin-dependent diabetes mellitus) และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (เดิมเรียก โรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลินหรือ Non Insulin-dependent diabetes mellitus) ซึ่งพบว่าปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย คือโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และการที่ผู้ป่วยไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ โดยให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานาน ๆ ส่งผลให้อวัยวะและเนื้อเยื่อทั้งหมดของร่างกายมีความผิดปกติในการทำงานเกิดขึ้น และท้ายที่สุดทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนขึ้นในอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ตา ไต เส้นประสาท และสมอง หัวใจ หรือเกิดปัญหาที่เท้าอีกด้วย (นริศรา ไล่เลิศ, 2554)

การแสดงอาการของโรคเบาหวานคือ ปัสสาวะบ่อย หิวน้ำบ่อย รับประทานอาหารมาก แต่ น้ำหนักลดลง โดยไม่ทราบสาเหตุ ระดับน้ำตาลในเลือดที่เวลาใด ๆ มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ระดับน้ำตาลในเลือดหลังงดน้ำและอาหาร 6-8 ชั่วโมง (Fasting Plasma Glucose; FPG) มากกว่าหรือเท่ากับ 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม นาน 2 ชั่วโมง มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ระหว่างใช้การทดสอบการตอบสนองของฮอร์โมนอินซูลินต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Oral glucose tolerance test; OGTT) สำหรับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การควบคุมอาหาร เพื่อช่วยลดปริมาณกลูโคสที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย โดยการลดปริมาณหรือเปลี่ยนสัดส่วนหรือชนิดของอาหารเพื่อให้ น้ำตาลดูดซึมช้าลง ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ การให้ยารับประทาน ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นให้มีการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินมากขึ้น ทำให้มีการใช้กลูโคสมากขึ้น หรือมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างน้ำตาลจากระบวนการ

สร้างกลูโคส (Gluconeogenesis) และลดการดูดซึมของน้ำตาล เป็นต้น การฉีดอินซูลิน เพื่อทดแทนอินซูลินที่ขาดไป ทำให้กลูโคสเข้าเซลล์ ถูกนำไปใช้ได้ ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง การออกกำลังกาย ทำให้มีการใช้พลังงานมากขึ้น มีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง (ฉัฐกร ประกอบ และคณะ, 2552 อ้างถึงใน วิทยาลัย ศรีมาดา, 2540)

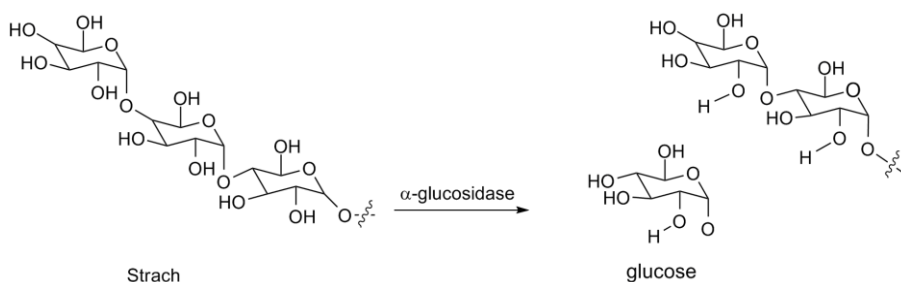
ดังนั้นการรักษาเบาหวานในปัจจุบันมุ่งเน้นเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นปกติ หรือใกล้เคียงปกติมากที่สุด และป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนในระยะยาว ในการรักษาต้องควบคุมอาหารและออกกำลังกายควบคู่ไปกับการใช้ยา การรับประทานยาเพื่อลดระดับน้ำตาลนั้นเป็นสิ่งที่ผู้ป่วยจำเป็นต้องปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอ โดยต้องรับประทานยาให้ตรงตามขนาด ตรงตามเวลา ไม่ควรเพิ่มหรือลดขนาดยาเอง เพราะถ้าไม่พอหรือขาด จะทำให้น้ำตาลในเลือดสูง หรือถ้าได้รับยามากเกินไป จะทำให้ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ ยาแต่ละกลุ่มจะมีการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มยาที่ 1 กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin Secretagogues) แบ่งเป็นกลุ่ม 2 กลุ่มย่อย คือ ซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylurea) และกลุ่มนอลซัลโฟนิลยูเรีย (Non-sulfonylurea) ออกฤทธิ์กระตุ้นเบต้าเซลล์ของตับอ่อนให้สร้างและหลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้น กลุ่มที่ 2 ยาเพิ่มความไวต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin Sensitizer) โดยเพิ่มการใช้กลูโคสของกล้ามเนื้อ และลดการสร้างกลูโคสจากตับ และกลุ่มที่ 3 ยาลดการดูดซึมกลูโคส (Glucose Inhibitor) ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิเดสที่ผนังลำไส้ทำให้ลดการดูดซึมกลูโคส ได้แก่ Acarbose และ Voglibose โดย Voglibose มีผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารน้อยกว่า (ฉัฐกร ประกอบ และคณะ 2552)



ภาพที่ 2-12 สูตร โครงสร้างของ (ก) Acarbose และ (ข) Voglibose

### แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase)

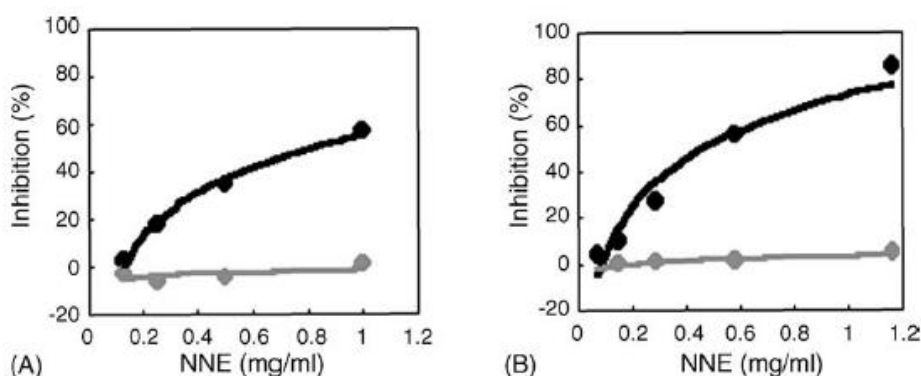
กระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลกลูโคส เพื่อให้ร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ จะเริ่มต้นที่ปากโดยอวัยวะเอนไซม์อะไมเลส ได้เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น จากนั้นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ pancreatic  $\alpha$ -amylase กลายเป็นมอลโทส (maltose) และมอลโตไตรโอส (maltotriose) จากนั้นเอนไซม์กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) จะย่อยโอลิโก-แซ็กคาไรด์ (oligo-saccharides) ให้กลายเป็นกลูโคส (glucose) และถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดบริเวณลำไส้เล็ก ปัจจุบันมีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้หลายวิธี เพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือด และรักษาโรคเบาหวาน เช่น การใช้ยาคาร์โบส (acarbose) หรือใช้พืชสมุนไพร (รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์, 2555)



ภาพที่ 2-13 แสดงปฏิกิริยาการย่อยแป้ง ด้วยเอนไซม์เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส( $\alpha$ -Glucosidase)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ono, Hattori, Fukaya, Imai, and Ohizumi (2006) รายงานการศึกษาผลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบบัวที่มีผลต่อโรคอ้วนในหนูไมซ์ และหนูแรท (mice and rats) ซึ่งสารสกัดมีผลต่อเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อย การดูดซึมไขมัน (Lipid metabolism) และการใช้พลังงานในรูปการสร้างความร้อน (Thermogenesis) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบบัวมีผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไลเปส (Lipase) และเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.46 mg/mL และ 0.82 mg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถลดการย่อยและการดูดซึมไขมันและคาร์โบไฮเดรต และเร่งการเผาผลาญไขมัน ได้อีกด้วย ดังภาพที่ 2-14



(A) ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และ(B) เอ็นไซม์ไลเปส (lipase) ของสารสกัดจากใบบัว, เส้นสีดำ และเส้นสีเทา แสดงผลของสารสกัดจากใบบัว และสารสกัดจากใบบัวที่ไม่มีสารประกอบฟีนอลิก ตามลำดับ

ภาพที่ 2-14 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และเอ็นไซม์ไลเปส (lipase) จากส่วนสกัดจากใบบัว

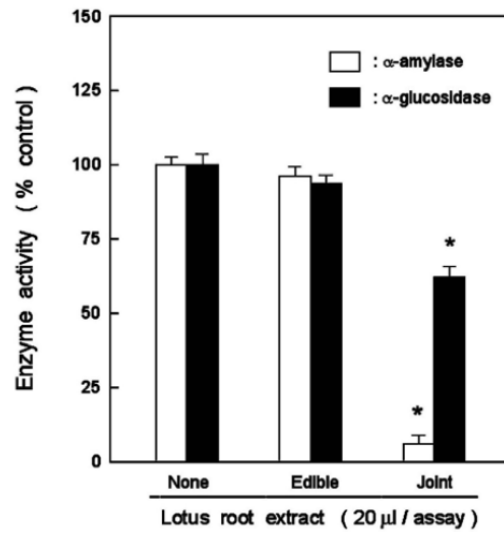
Venkatesh and Dorai (2011) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยใช้วิธี Disc Diffusion และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพู (*Nelumbo nucifera* Gaertn) พบว่าส่วนสกัดชั้นเอทานอลของดอกบัวหลวงสีขาวมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ดีกว่าสีชมพู ดังตารางที่ 2-1 นอกจากนี้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP), วิธี Hemoglobin glycosylation และวิธี Phosphomolybdenum พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลของดอกบัวหลวงทั้ง 2 ชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีเทียบเท่าสารมาตรฐานวิตามินซีอีกด้วย

ตารางที่ 2-1 ผลการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพู  
ด้วยวิธี Disc Diffusion

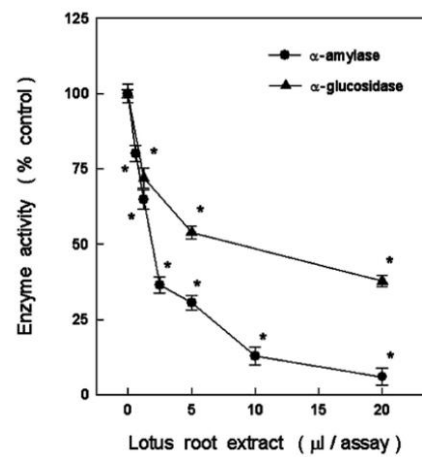
Microorganism	Inhibition Zone (mm)*				
	White <i>Nelumbo nucifera</i> flower		Pink <i>Nelumbo nucifera</i> flower		Chloramphenicol (Control)
	1000 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	30 $\mu\text{g/mL}$
<i>Escherichia coli</i>	16	11	14	9	30
<i>Klebsiella pneumonia</i>	12	6	10	8	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	7	8	5	29
<i>Bacillus Subtilis</i>	15	9	13	5	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	10	11	7	27

\*n=3

Nishibori et al. (2012) ศึกษาผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) จากส่วนสกัดชั้นน้ำของเหง้าบัว โดยแบ่งเหง้าบัวออกเป็น 2 ส่วนคือ หัวบัว (ส่วนที่กินได้) และ ส่วนข้อของเหง้าบัว พบว่าส่วนสกัดของหัวบัวไม่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) แต่ส่วนสกัดของส่วนข้อ มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) โดยมีค่าการยับยั้ง 95% และ 40% ตามลำดับ โดยผลของการยับยั้งขึ้นกับความเข้มข้นของสาร (ภาพที่ 2-15 และ ภาพที่ 2-16)



ภาพที่ 2-15 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) จากส่วนสกัดของหัวบัว (edible) และส่วนข้อของเหง้าบัว (joint)



ภาพที่ 2-16 ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์  $\alpha$ -amylase และ  $\alpha$ -glucosidase จากส่วนสกัดส่วนข้อของเหง้าบัว (joint) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Liu et al. (2013) รายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (Porcine pancreatic lipase), แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) และแอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) และภาวะไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia) ของสารสกัดปลาไวโนยด์จากไบบัว พบว่าส่วนสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (lipase), แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) และแอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.38\pm 0.022$ ,  $2.20\pm 0.18$  และ  $1.86\pm 0.018$  mg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ส่วนสกัดที่มีปลาไวโนยด์เป็นองค์ประกอบ ยังมีผลในการลดระดับภาวะไขมันในเลือดสูง ในภาวะต่าง ๆ เช่น ลดคลอเรสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ได้อีกด้วย ดังตารางที่ 2-2 และ 2-3

ตารางที่ 2-2 ผลการยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, และ porcine pancreatic lipase

Groups	$IC_{50}$ value <sup>a</sup> (mg/mL)		
	PPL	$\alpha$ -amylase	$\alpha$ -glucosidase
NLF	$0.380\pm 0.022$	$2.200\pm 0.180$	$1.860\pm 0.018$
Acarbose	-	$0.470\pm 0.034$	$0.690\pm 0.047$
Orlistat	$0.290\pm 0.003$	-	-

NLF: สารสกัดปลาไวโนยด์จากไบบัว, PPL: เอนไซม์ porcine pancreatic lipase (n=3)

<sup>a</sup> $IC_{50}$ : ความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, และ porcine pancreatic lipase ได้ 50%

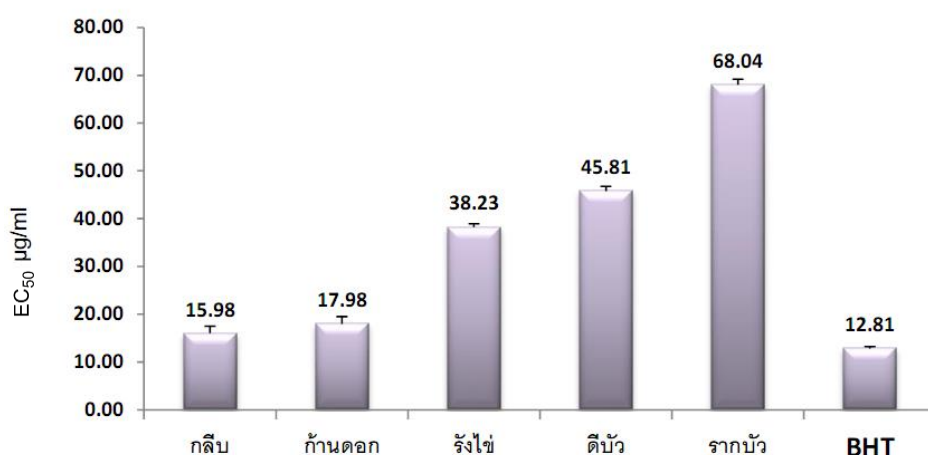
ตารางที่ 2-3 ผลการทดสอบ TC, TG, HDL-C และ LDL-C ในหนู

Groups	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
Normol	$1.88\pm 0.38$	$1.80\pm 0.34$	$0.79\pm 0.19$	$0.19\pm 0.04$
NLF(100 mg/kg)	$1.78\pm 0.15$	$1.40\pm 0.32$	$0.74\pm 0.10$	$0.17\pm 0.02$
NLF(150 mg/kg)	$1.61\pm 0.25$	$0.94\pm 0.28$	$0.69\pm 0.12$	$0.16\pm 0.02$
NLF(200 mg/kg)	$1.65\pm 0.30$	$0.82\pm 0.24$	$0.73\pm 0.114$	$0.15\pm 0.02$

Normol : กลุ่มควบคุม, NLF: กลุ่มที่ได้รับสารสกัดปลาไวโนยด์จากไบบัวในปริมาณที่ต่างกัน (n=10)



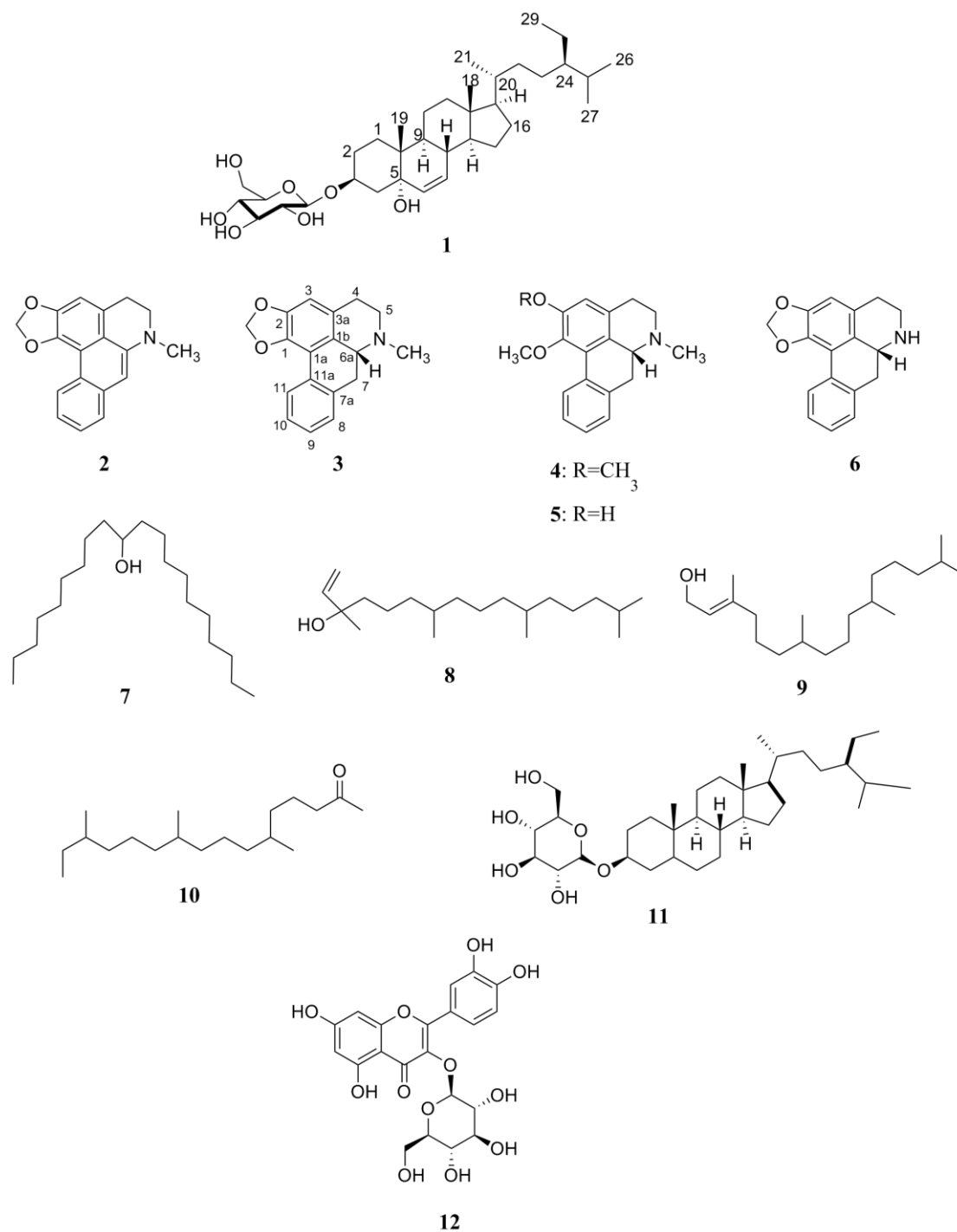
Wongklang, Steinrut and Itharat (2014) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn) 10 ตัวอย่าง คือ กลีบดอก เกสร เมล็ด ดิบัว รังไข่ ใบอ่อน ใบแก่ ก้านดอก ไหล และราก วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ากลีบบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 15.98  $\mu\text{g/mL}$  รองลงมาคือ ก้านดอก ( $EC_{50}$  17.98  $\mu\text{g/mL}$ ) รังไข่ ( $EC_{50}$  38.23  $\mu\text{g/mL}$ ) ดิบัว ( $EC_{50}$  45.81  $\mu\text{g/mL}$ ) และราก ( $EC_{50}$  68.04  $\mu\text{g/mL}$ ) ส่วน เกสร ใบอ่อน ใบแก่ เมล็ด และไหล ไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ( $EC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ ) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT) (ภาพที่ 2-17)



ภาพที่ 2-17 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn)

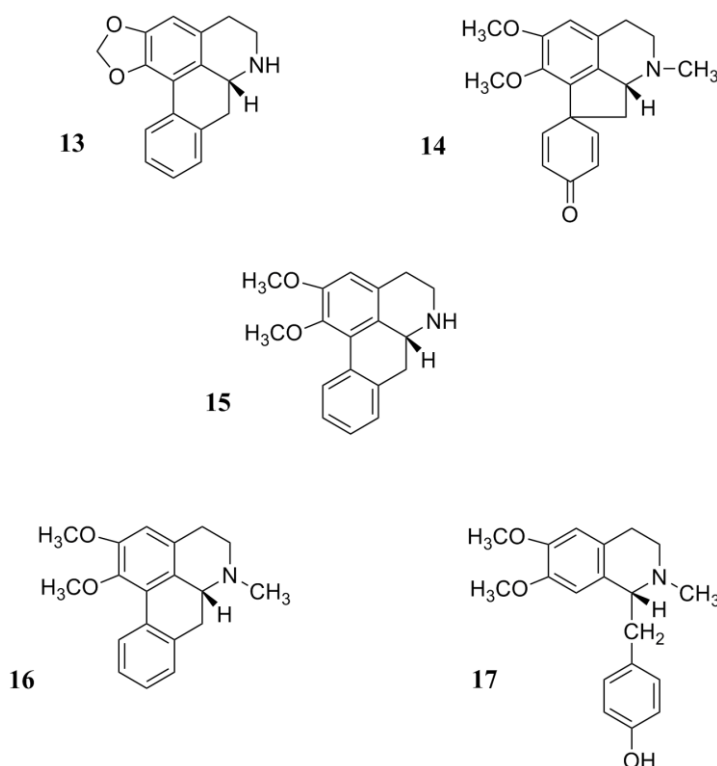
Agnihotri et al. (2008) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของใบบัว สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 12 สาร (ภาพที่ 2-18) เป็นสารที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน 1 สาร คือ 24(R)-ethylcholest-6-ene-5 $\alpha$ -ol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (1) และสารที่มีรายงานแล้วอีก 11 สาร (2-12) โครงสร้างของสารทั้งหมดยืนยันด้วยเทคนิคสเปคโทสโกปี นอกจากนี้สาร (R)-roemerine (3) และ N-methylasi milobine (5) นำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ คือฤทธิ์การต้านเชื้อรา *Candida albicans* และฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) พบว่า (R)-roemerine (3) มีฤทธิ์การต้านเชื้อรา *Candida albicans* ที่ค่า MIC เท่ากับ 10  $\mu\text{g/mL}$  และพบว่า (R)-roemerine (3) และ N-methylasi milobine (5) มีฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) สายพันธุ์ chloroquine sensitive

(D6 clones) มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.2 และ 4.8  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ และสายพันธุ์ chloroquine resistant (W2 clones) มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.4 และ 4.8  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ



ภาพที่ 2-18 โครงสร้างของสารประกอบ 12 สาร จากใบบัว (*Nelumbo nucifera*)

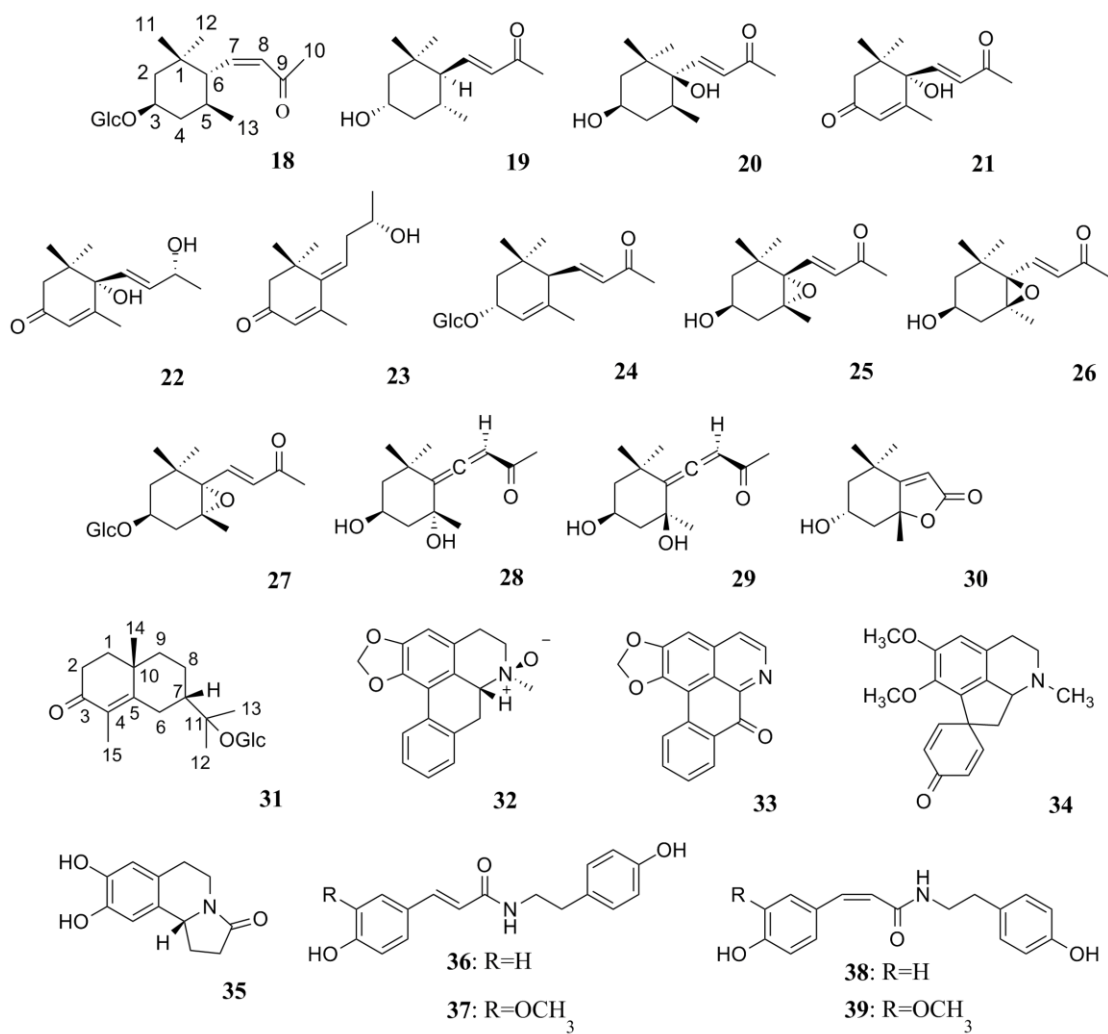
Hu et al. (2010) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของใบบัว (*Nelumbo nucifera* Gaertn) ด้วยวิธี high-speed counter-current chromatography (HSCCC) พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ที่มีรายงานแล้ว 5 ชนิด คือ anonaine (**13**, 14.6 mg), pronuciferine (**14**, 29.7 mg), N-nornuciferine (**15**, 31.4 mg), nuciferine (**16**, 22.1 mg) และ armepavine (**17**, 23.3 mg) แสดงโครงสร้างดังภาพที่ 2-19



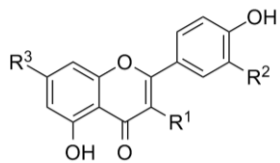
ภาพที่ 2-19 โครงสร้างของสารประกอบในกลุ่มแอลคาลอยด์ 5 สาร จากใบบัว (*Nelumbo nucifera*)

Ahn et al. (2013) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากส่วนสกัดหยาบชั้นเอทิลแอลกอฮอล์ของใบบัว พบสาร megastigmanes สารใหม่ 1 สาร คือ nulumnucifoside A (**18**) และสาร megastigmanes ที่เคยมีรายงานแล้วอีก 12 สาร (**19-30**) รวมทั้งพบสาร eudesmane sesquiterpene ชนิดใหม่ 1 สาร คือ nelumnucifoside B (**31**) นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ที่มีรายงานมาแล้วอีก 11 สาร (**32-39**) และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีรายงานมาแล้วอีก 11 สาร (**40-50**) โครงสร้างของสารทั้งหมดยืนยันด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี นอกจากนี้นำสารที่แยกได้บางชนิดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเบาหวาน ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การยับยั้งเอนไซม์ไลเปส และการยับยั้ง adipocyte differentiation พบว่าสาร trans-N-coumaroyltyramine (**36**) และ cis-N-feruloyltyramine (**39**) มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไลเปสที่ดี

ในขณะที่สาร (6R,6aR)-roemerine-N $\beta$ -oxide (32) และ liriodenine (33) มีผลต่อการยับยั้ง adipocyte differentiation ที่ดีอีกด้วย



ภาพที่ 2-20 โครงสร้างของสารประกอบ 33 สาร จากใบบัว (*Nelumbo nucifera*)



40: R<sup>1</sup>=OH, R<sup>2</sup>=OH, R<sup>3</sup>=OH

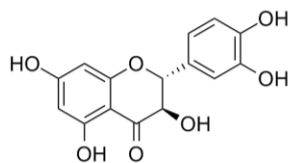
41: R<sup>1</sup>=OH, R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=OH

42: R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=OH, R<sup>3</sup>=OH

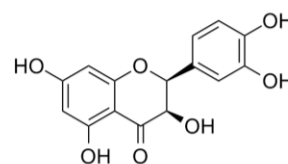
43: R<sup>1</sup>=OGlc, R<sup>2</sup>=OH, R<sup>3</sup>=OH

44: R<sup>1</sup>=OGlc, R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=OH

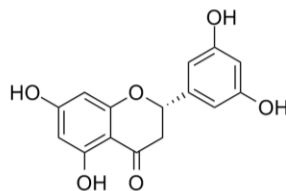
45: R<sup>1</sup>=OH, R<sup>2</sup>=OCH<sub>3</sub>, R<sup>3</sup>=OGlc



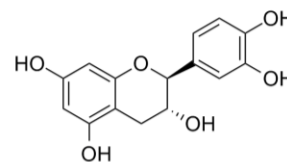
46



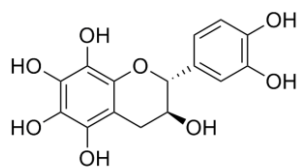
47



48



49



50

ภาพที่ 2-20 โครงสร้างของสารประกอบ 33 สาร จากใบบัว (*Nelumbo nucifera*) (ต่อ)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

##### 3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ (Rotary evaporator) บริษัท Buchi รุ่น R-3
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง บริษัท Mettler รุ่น AE200
3. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer บริษัท Thermo Scientific รุ่น Genesys 20
4. เครื่องอ่างน้ำ (Water bath) บริษัท Heto DT Hetrotherm
5. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) บริษัท Wisemix รุ่น VM-10
6. เครื่องดูดจ่ายสารละลายปิเปต (Micropipette) บริษัท eppendorf
7. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในไมโครเพลท (Microplate Reader) บริษัท Biotek รุ่น EPOCH-2 microplate reader
8. เครื่องเขย่า 96 well plate บริษัท Oragon Lab รุ่น MX-M
9. เครื่องวัดพีเอช (pH-meter) บริษัท Mettler toledo
10. จานหลุม (96-well plate)
11. ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip)
12. บีกเกอร์ (Beaker)
13. กระจกตวง (Graduated cylinder)
14. ขวดรูปหม้อ (Erlenmeyer Flask)
15. กรวยแก้ว (Glass funnel)
16. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
17. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
18. ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (Vial)
19. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
20. หลอดทดลอง (Test tube)
21. หลอดหยด (Dropper)
22. กระดาษฟอยล์ (Foil)

23. ช้อนตักสาร (Spatula)
24. ที่ตั้งหลอดทดลองสแตนเลส (Stainless test tube rack)
25. สามขา (Tripod)
26. หม้อสแตนเลส

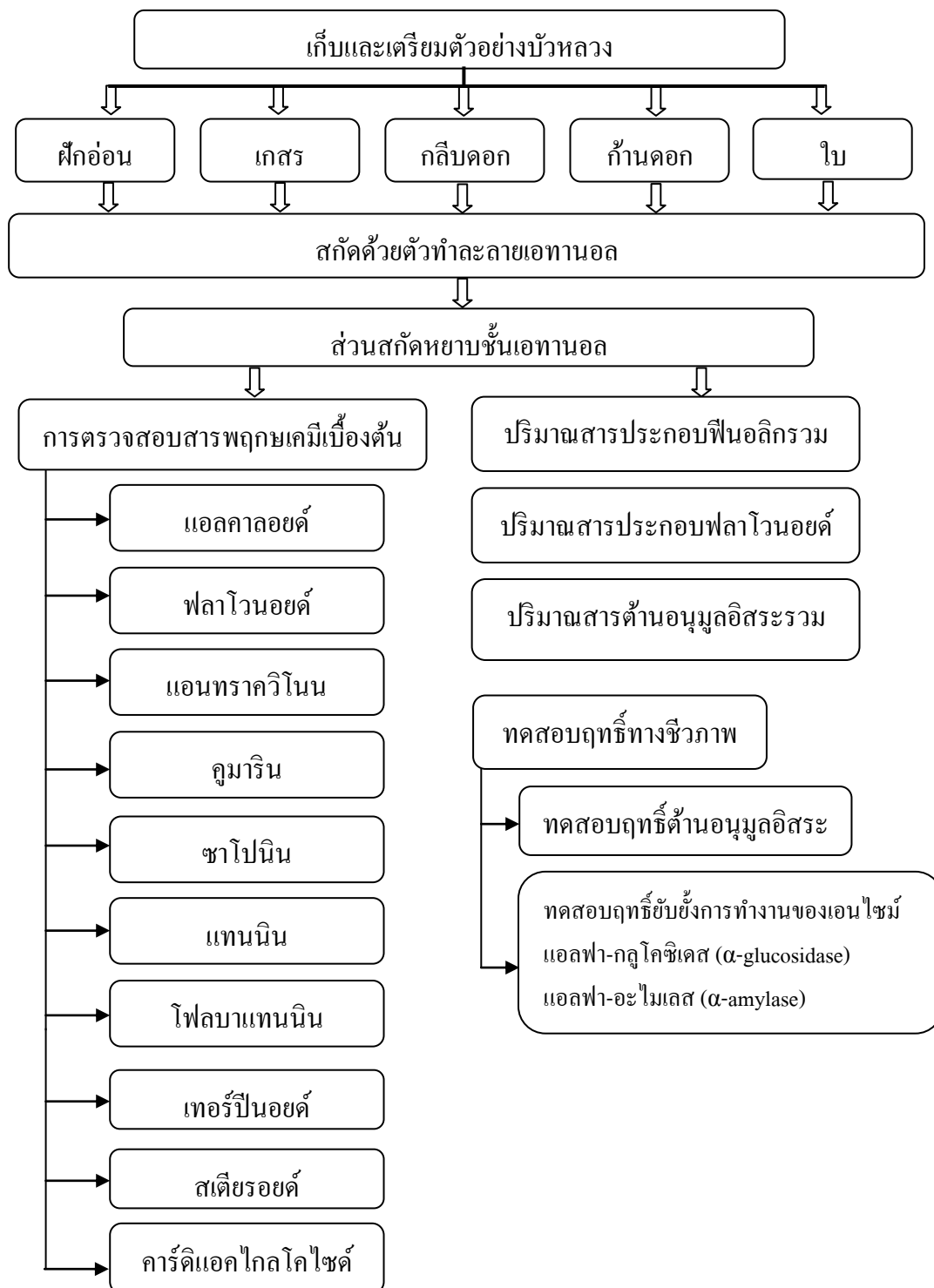
### 3.1.2 สารเคมี

1. น้ำกลั่น (Distilled water)
2. เอทานอล (Ethanol,  $C_2H_5OH$ )
3. เมทานอล (Methanol,  $CH_3OH$ )
4. คลอโรฟอร์ม (Chloroform,  $CHCl_3$ )
5. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid,  $H_2SO_4$ )
6. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid,  $HCl$ )
7. กรดแกลเซียลแอซิดิก (Glacial acetic acid,  $CH_3COOH$ )
8. แอมโมเนีย (Ammonia,  $NH_3$ )
9. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate,  $Na_2CO_3$ ) No.A463-500 G, Univar
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide,  $NaOH$ ) No.480507, Carlo erba
11. โซเดียม ฟอสเฟต (sodium phosphate tribasic dodecahydrate,  $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ )  
No. 10101-89-0, Sigma-Aldrich
12. โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (Sodium Dihydrogen Phosphate Monohydrate,  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ ) No.10049-21-5, Merck
13. ไดโซเดียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (di-Sodium hydrogen phosphate,  $Na_2HPO_4$ )  
No. 7558-79-4, Merck
14. เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride,  $FeCl_3$ ) No.803945, Merck-Schuchardt
15. อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (Aluminium trichloride,  $AlCl_3$ ) No.801081, Merck-Schuchardt
16. แอมโมเนียม โมลิบเดต (Ammonium molybdate,  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ) No.0716-01, Baker Analyzed
17. ลวดแมกนีเซียม (Mg ribbon)
18. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) No.43180, Fluka
19. กรดแกลลิก (Gallic acid) No.48630, Fluka
20. วิตามินซี (Ascorbic acid) No.1.00127.0100, Merck

21. เควอซีติน (Quercetin) No.33795-1, Aldrich
22. อคาร์โบส (Acarbose) No.P500253, Fluka
23. น้ำยาทดสอบคราเจนดอร์ฟ (Dragendroff's reagent)
24. น้ำยาทดสอบ ฟอลิน ซีโอแคลเตอ (Folin-Ciocalteu reagent) No.463562,  
Carlo erba
25. เอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) No.G0660-750 (U.N),  
Sigma-Aldrich,  $\alpha$ -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*
26. เอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) No.10065-10G, Sigma-Aldrich,  
 $\alpha$ -Amylase from *Aspergillus oryzae*
27. p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-G) No.N1377-1G, Sigma-Aldrich
28. 2-chloro-4-nitro-phynyl- $\alpha$ -D-maltotrioside (CNPG3) No.93834-100MG,  
Sigma-Aldrich



### 3.2 แผนการดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 3-1 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย

### 3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.3.1 การเก็บตัวอย่างบัวหลวง

สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerth) สีมชมพูและสีขาว ประกอบด้วย ฝักอ่อน เกสร กลีบดอก ก้านดอก และใบ ซึ่งมาจากตลาดหนองมน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2557

#### 3.3.2 การเตรียมสารสกัดหยาบของบัวหลวง

นำตัวอย่างบัวหลวงทั้งสีชมพูและสีขาว ทั้ง 5 ส่วน ได้แก่ ฝักอ่อน เกสร กลีบดอก ก้านดอก และใบ มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น โดยทำการแยกบดแต่ละส่วนของบัวหลวง และนำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างทั้ง 5 ส่วนของบัวหลวงมาสกัดด้วย ตัวทำละลาย 95% เอทานอล ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายของแต่ละตัวอย่างโดยใช้กรวยแก้วและสำลี นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (Ethanol extract) แล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่าง ที่ได้ และเก็บตัวอย่างไว้ตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

#### 3.3.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ออกเป็น 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลิฟีนอล แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอนดังนี้ (Ayoola et al., 2008)

##### 1. การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 10%  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

##### 2. การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่ากรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

### 3. การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthraquinones)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10%  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปเติมสารละลายแอมโมเนีย (10%  $NH_3$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

### 4. การตรวจสอบคูมาริน (Coumarin)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M  $NaOH$ ) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบคูมาริน

### 5. การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins)

ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบซาโปนิน

### 6. การตรวจสอบแทนนิน (Tannins)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1%  $FeCl_3$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบแทนนิน

### 7. การตรวจสอบโพลบาแทนนิน (Phlobatannins)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (10%  $HCl$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบโพลบาแทนนิน

### 8. การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับ กรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

### 9. การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Steroids)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมกรดแกลเซียลแอซีติก (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ ) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์

### 10. การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides)

ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1%  $FeCl_3$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า เติมกรดแกลเซียลแอซีติก (Glacial acetic acid) จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติม กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

#### 3.3.4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic Skerget และ Knez (2007) ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกรวมจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย Phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกรวม เกิดเป็น Tungsten และ Molybdenum blue ซึ่งให้สีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.1–0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10% (v/v) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $Na_2CO_3$ ) ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract)

#### 3.3.5 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ด้วยวิธี Aluminium trichloride ( $AlCl_3$ ) colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand, Vennat, Pourrat, and Legret (1994) โดยใช้เคอร์ซีติน (quercetin) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะใช้ phenolic hydroxyl

groups ทำปฏิกิริยากับ  $AlCl_3$  เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ( $AlCl_3$  reagent) ความเข้มข้น 1.0% (w/v) ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mg QE/g dried extract)

### 3.3.6 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content)

การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ด้วยวิธี Phosphomolybdate colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Prieto, Pineda, and Aguilar (1999) โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Phosphomolybdate reagent สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารต้านอนุมูลอิสระรวมเกิดเป็น Molybdenum blue ซึ่งให้สีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (ความเข้มข้น 0.5-0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Phosphomolybdate reagent ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มบนเครื่องอังน้ำ ที่อุณหภูมิ 78 °C เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานวิตามินซี ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Ascorbic acid equivalents, mg AE/g dried extract)

### 3.3.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca, Sortino, Politi, Morelli, and Mendez (2002) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid), เคอร์ซีติน (Quercetin) และวิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือสารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

3.3.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti- $\alpha$ -glucosidase assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui, Yoshimoto, Osajima, Oki, and Osajima (1996) โดยใช้ อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ ในการทดลองจะใช้ p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-G) เป็นสารละลายใสไม่มีสี ทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยา โดยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ PNP-G ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส และ p-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/mL) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/mL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 10 U/mL ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-G) ความเข้มข้น 2.0 mM ปริมาตร 20  $\mu$ L ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1.0 mM ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วยเครื่อง

Microplate Reader คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (%  $\alpha$ -glucosidase inhibition) จากสูตร

$$\% \alpha\text{-glucosidase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

3.3.9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Anti- $\alpha$ -amylase assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Gella, Gubern, Vidal, and Canalias (1997) โดยใช้ อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ที่ปาก และบริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ ในการทดลองจะใช้ 2-chloro-4-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-maltotriose (CNPG3) เป็นสารละลายใสไม่มีสี ทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยา โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จะทำปฏิกิริยไฮโดรไลซิสกับ CNP ได้เป็นน้ำตาลมอลโทส และ p-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/mL) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/mL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 10 mg/mL ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2-chloro-4-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-maltotriose (CNPG3) ความเข้มข้น 2.0 mM ปริมาตร 20  $\mu$ L ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1.0 mM ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%  $\alpha$ -amylase inhibition) จากสูตร

$$\% \alpha\text{-amylase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ



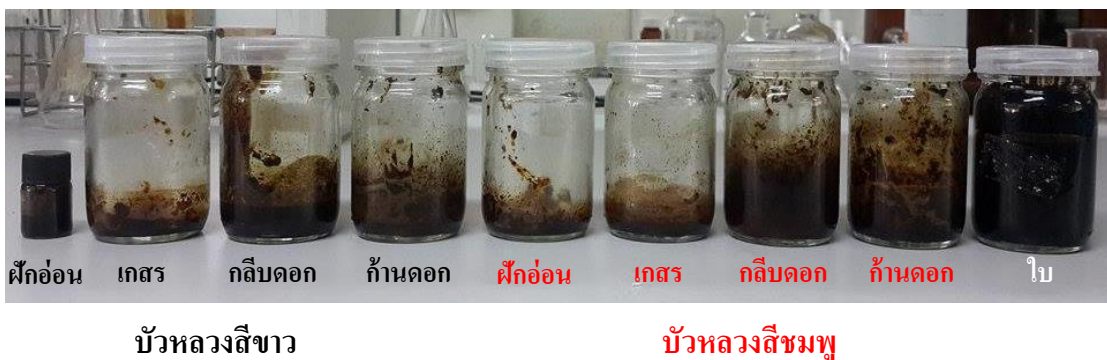
## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

การศึกษาศารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) สีชมพูและสีขาว ในการทดลองในครั้งนี้ ได้แบ่งการทดลองออกเป็น การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening) การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน คือ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase) และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงทั้งสองชนิด ซึ่งมีผลการทดลองเป็นดังนี้

#### 4.1 การสกัดสารสกัดดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

จากการนำตัวอย่างบัวหลวงสีชมพูและสีขาว โดยแบ่งเป็น 5 ส่วน ได้แก่ ฝักอ่อน เกสร กลีบดอก ก้านดอก และใบ มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น โดยทำการแยกบดแต่ละส่วนของบัวหลวง และนำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างทั้ง 9 ส่วนของบัวหลวงมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) นำสารละลายที่กรองได้มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้ส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (Ethanol extract) ที่มีน้ำหนักสารสกัดหยาบ ร้อยละผลผลิต (%Yield) และลักษณะต่าง ๆ ทางกายภาพ ดังแสดงในตารางที่ 4-1, 4-2 และภาพที่ 4-1



ภาพที่ 4-1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

ตารางที่ 4-1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

ตัวอย่าง	ลักษณะของสารสกัดที่ได้	
	บัวหลวงสีขาว	บัวหลวงสีชมพู
ฝักอ่อน (Pods)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
เกสร (Pollens)	ของเหลวชั้นหนืดสีเหลืองเข้ม	ของเหลวชั้นหนืดสีเหลืองเข้ม
กลีบดอก (Petals)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
ก้านดอก (Twigs)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
ใบ <sup>a</sup> (Leaves)	ของเหลวชั้นหนืดสีเขียวเข้ม	

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ตารางที่ 4-2 น้ำหนักและร้อยละของสารสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

ตัวอย่าง	บัวหลวงสีขาว		บัวหลวงสีชมพู	
	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละ (%)	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละ (%)
ฝักอ่อน	3.56	1.87	2.39	1.37
เกสร	5.83	4.37	5.36	5.49
กลีบดอก	19.66	1.21	33.08	1.99
ก้านดอก	4.31	1.06	5.24	1.55
ใบ <sup>a</sup>	77.63	12.22		

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

จากผลการทดลองที่ได้พบว่า ร้อยละของสารสกัดหยาบเอทานอลของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพูนั้นจะมากกว่าร้อยละของสารสกัดหยาบเอทานอลของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวเกือบทุก ๆ ส่วน ยกเว้นในส่วนของฝักอ่อนบัวหลวงสีขาวได้ร้อยละของสารสกัดหยาบมากกว่าส่วนของฝักอ่อนบัวหลวงสีชมพู

## 4.2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ออกเป็น 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอก โกลโคไซด์ อาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบว่าได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4-3 และ 4-4

ตารางที่ 4-3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว

สารพฤกษเคมี	บัวหลวงสีขาว			
	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก
ซาโปนิน	-	+	-	+
แทนนิน	+	+	+++	-
โพลบาแทนนิน	-	-	-	-
เทอร์ปีนอยด์	+++	+++	+++	++
สเตียรอยด์	-	-	-	-
คาร์ดิแอกโกลโคไซด์	-	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	+++	+++	+++	+
คูมาริน	++	++	+++	+
แอนทราควิโนน	-	-	-	-
แอลคาลอยด์	-	-	-	-

“หมายเหตุ”

- หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ
- + หมายถึง ตรวจสอบพบน้อย
- ++ หมายถึง ตรวจสอบพบปานกลาง
- +++ หมายถึง ตรวจสอบพบมาก

ตารางที่ 4-4 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู

สารพิษเคมี	บัวหลวงสีชมพู				
	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก	ใบ <sup>a</sup>
ซาโปนิน	+	+	-	+	-
แทนนิน	+	++	+++	+	-
โพลบาแทนนิน	-	-	-	-	-
เทอร์ปีนอยด์	++	++	+	+	++
สเตียรอยด์	-	-	-	+	+
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-	+	+
ฟลาโวนอยด์	++	+	+	++	+
คูมาริน	++	+++	+	+	-
แอนทราควิโนน	-	-	-	-	-
แอลคาลอยด์	-	-	-	-	-

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

“หมายเหตุ” - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ  
 + หมายถึง ตรวจสอบพบน้อย  
 ++ หมายถึง ตรวจสอบพบปานกลาง  
 +++ หมายถึง ตรวจสอบพบมาก

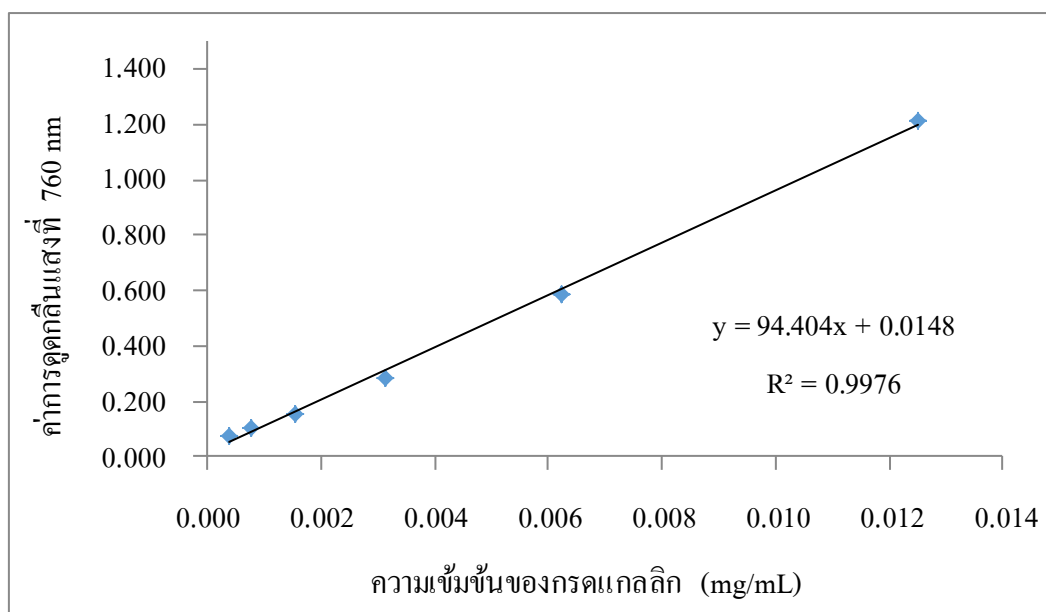
จากผลการทดลองดังตารางที่ 4-3 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว พบสารพิษเคมี 5 ชนิด คือ ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แต่ไม่พบสารในกลุ่มโพลบาแทนนิน สเตียรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน และแอลคาลอยด์

ผลการทดลองในตารางที่ 4-4 พบว่าสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของบัวหลวงสีชมพู พบสารพิษเคมี 7 ชนิด คือ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แต่ไม่พบสารในกลุ่มโพลบาแทนนิน แอนทราควิโนน และแอลคาลอยด์

จากการเปรียบเทียบสารทุติยภูมิที่ตรวจพบจากบัวหลวงทั้งสีขาว และสีชมพูนั้น พบว่ามีความคล้ายคลึงกันแต่มีปริมาณแตกต่างกัน และส่วนใหญ่พบเหมือนกัน แบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือสารในกลุ่มฟีนอลิก (ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และคูมาริน) และคือสารในกลุ่มเทอร์พีน (เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และซาโปนิน) ซึ่งสารเหล่านี้มีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย

### 4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าได้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกดังภาพที่ 4-2 ( $y = 94.404x + 0.0148$ ,  $R^2 = 0.9976$ )



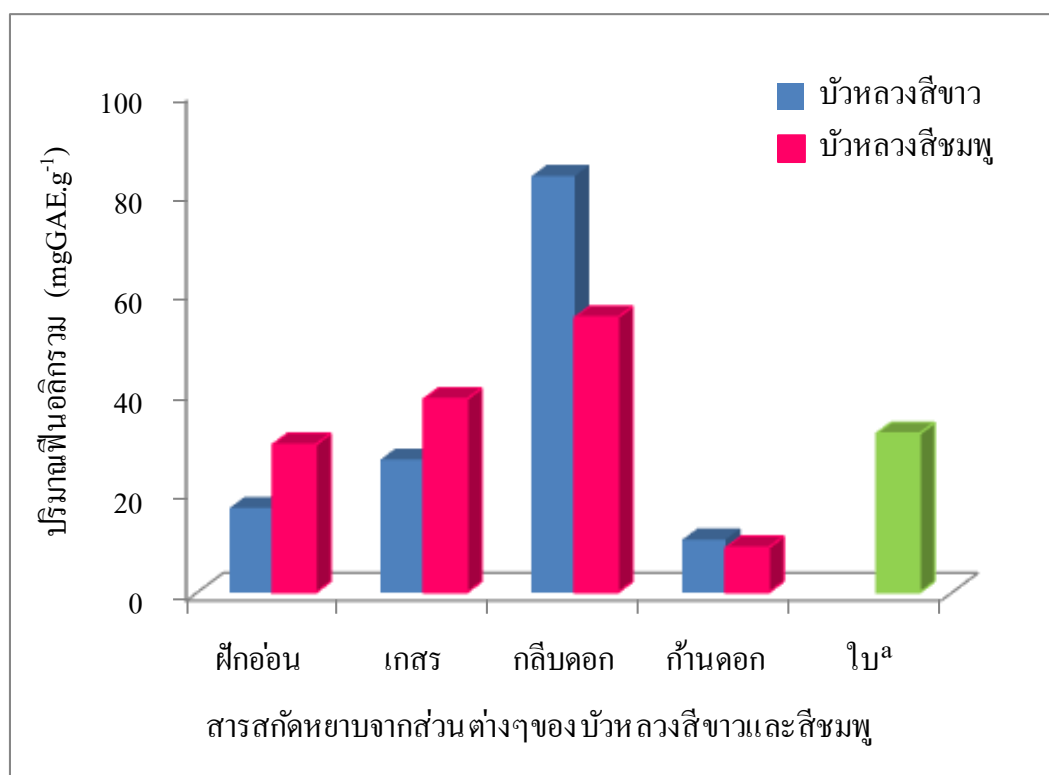
ภาพที่ 4-2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3

ตารางที่ 4-5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)	
	บัวหลวงสีขาว	บัวหลวงสีชมพู
ฝักอ่อน	16.89 ± 0.54	29.58 ± 1.57
เกสร	26.58 ± 1.14	38.66 ± 1.14
กลีบดอก	83.28 ± 2.49	55.00 ± 1.12
ก้านดอก	10.59 ± 0.27	8.96 ± 0.51
ใบ <sup>a</sup>	31.77 ± 2.81	

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



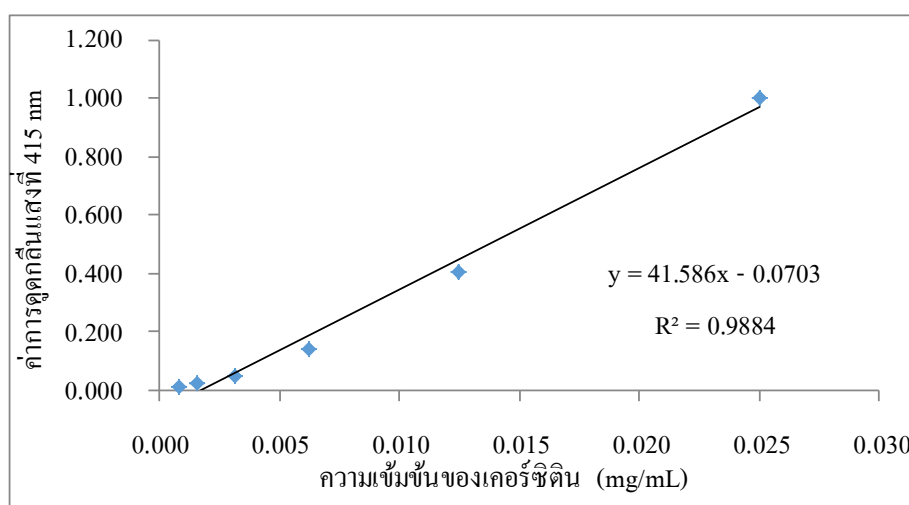
a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาพที่ 4-3 ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว ส่วนของกลีบดอกมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ  $83.28 \pm 2.49$  mgGAE/g รองลงมา ได้แก่ ส่วนของเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก เท่ากับ  $26.58 \pm 1.14$ ,  $16.89 \pm 0.54$ ,  $10.59 \pm 0.27$  mgGAE/g ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพู ส่วนของกลีบดอกมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ  $55.00 \pm 1.12$  mgGAE/g รองลงมา ได้แก่ ส่วนของเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก เท่ากับ  $38.66 \pm 1.14$ ,  $29.58 \pm 1.57$ ,  $8.96 \pm 0.51$  mgGAE/g ตามลำดับ ส่วนของใบมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ  $31.77 \pm 2.81$  mgGAE/g จากผลดังกล่าวพบว่าส่วนกลีบดอกทั้งบัวหลวงสีขาวและสีชมพูจะพบปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด

#### 4.4 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง ด้วยวิธี Aluminium trichloride ( $AlCl_3$ ) colorimetric โดยใช้เคอร์ซีติน (quercetin) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าได้กราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินดังภาพที่ 4-4 ( $y = 41.586x - 0.0703$ ,  $R^2 = 0.9884$ )



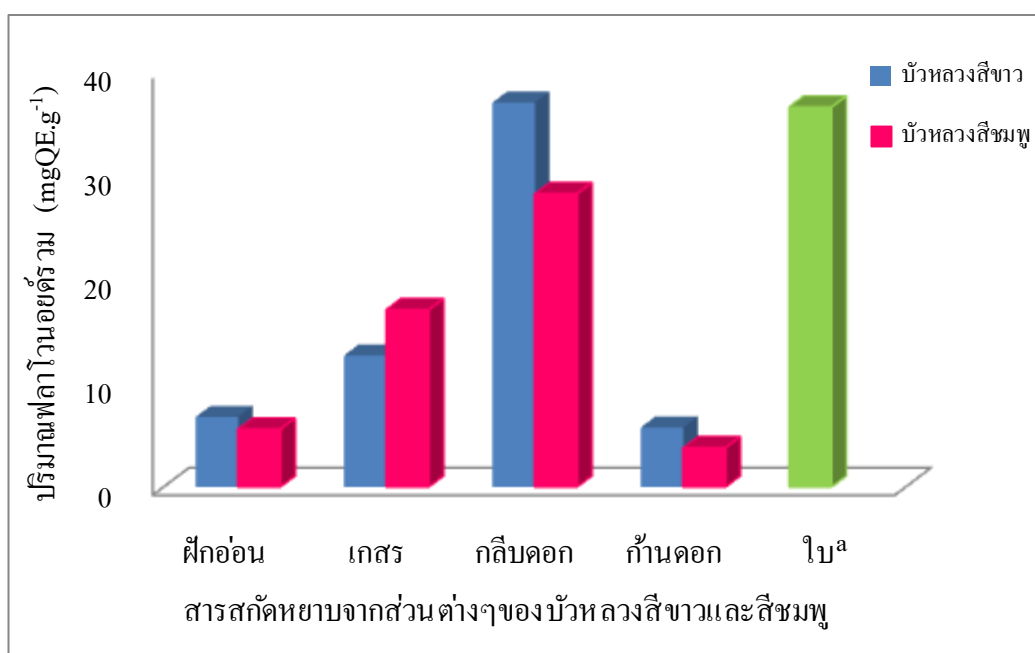
ภาพที่ 4-4 กราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE/g dried extract) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-5

ตารางที่ 4-6 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)	
	บัวหลวงสีขาว	บัวหลวงสีชมพู
ฝักอ่อน	6.71 ± 0.35	5.56 ± 0.18
เกสร	12.63 ± 1.10	17.03 ± 0.38
กลีบดอก	36.95 ± 1.72	28.19 ± 1.29
ก้านดอก	5.71 ± 0.03	3.76 ± 0.17
ใบ <sup>a</sup>	36.53 ± 0.51	

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



ภาพที่ 4-5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

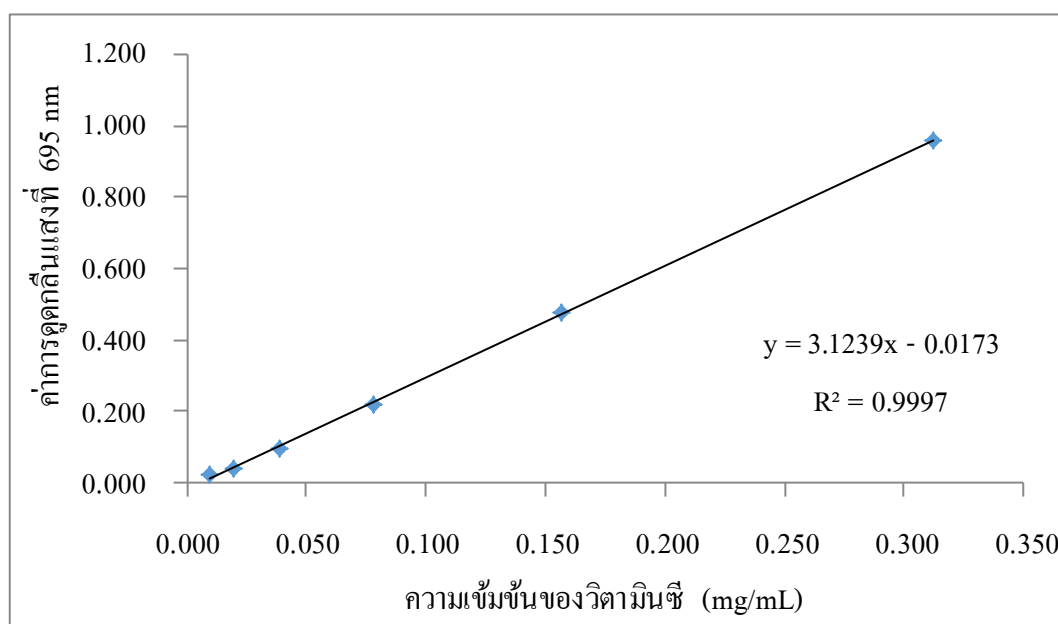
ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว ส่วนของกลีบดอกมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด เท่ากับ



36.95 ± 1.72 mgQE/g รองลงมาได้แก่ ส่วนของเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก เท่ากับ 12.63 ± 1.10, 6.71 ± 0.35, 5.71 ± 0.03 mgQE/g ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพู ส่วนของกลีบดอก มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด เท่ากับ 28.19 ± 1.29 mgQE/g รองลงมาได้แก่ ส่วนของเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก เท่ากับ 17.03 ± 0.38, 5.56 ± 0.18, 3.76 ± 0.17 mgQE/g ตามลำดับ ส่วนของใบมีสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 36.53 ± 0.51 mgQE/g จากผลดังกล่าว พบว่าส่วนกลีบดอกทั้งบัวหลวงสีขาวและสีชมพูจะพบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด

#### 4.5 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content)

การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง ด้วยวิธี Phosphomolybdate colorimetric โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าได้กราฟมาตรฐานวิตามินซี ดังภาพที่ 4-6 ( $y = 3.1239x - 0.0173$ ,  $R^2 = 0.9997$ )



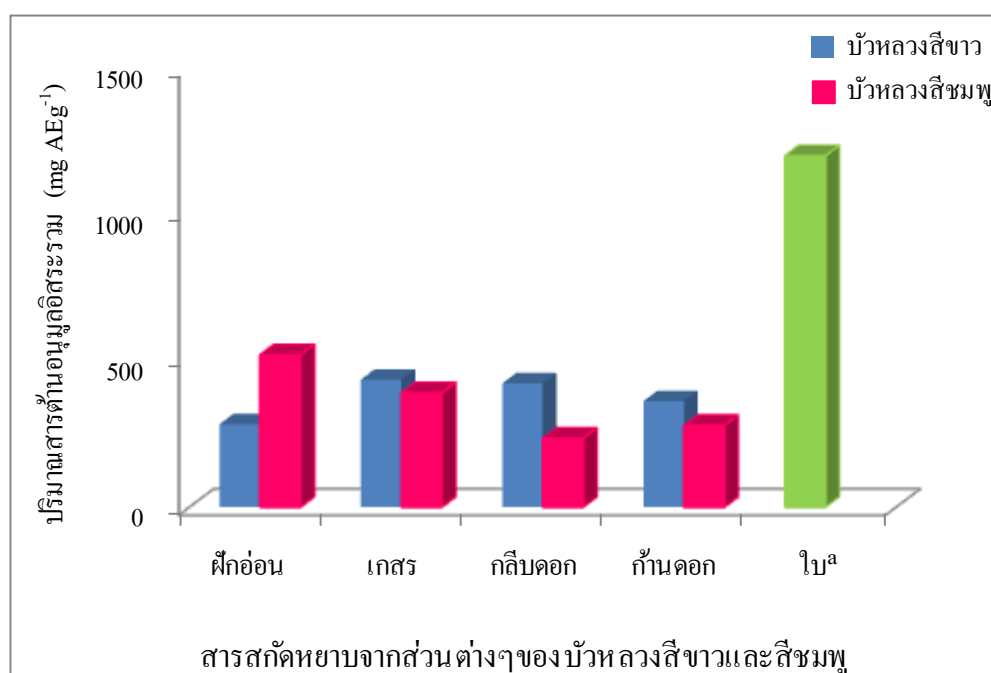
ภาพที่ 4-6 กราฟมาตรฐานวิตามินซี

การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมของสารสกัดคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานวิตามินซี ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Ascorbic acid equivalents, mgAE/g dried extract) ดังแสดงในตารางที่ 4-7 และภาพที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) ของสารสกัดหยาบ  
เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

สารสกัด	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (mgAE/g)	
	บัวหลวงสีขาว	บัวหลวงสีชมพู
ฝักอ่อน	284.35 ± 2.28	521.45 ± 11.40
เกสร	436.77 ± 30.79	391.61 ± 10.26
กลีบดอก	423.87 ± 26.23	235.97 ± 2.28
ก้านดอก	363.39 ± 18.25	280.32 ± 1.14
ใบ <sup>a</sup>	1202.90 ± 42.20	

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



ภาพที่ 4-7 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) ของสารสกัดหยาบ  
เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาวและสีชมพู

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว ส่วนของเกสรมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมสูงสุด เท่ากับ  $436.77 \pm 30.79$  mg AE/g รองลงมาได้แก่ ส่วนของกลีบดอก ก้านดอก และฝักอ่อน เท่ากับ  $423.87 \pm 26.23$ ,  $363.39 \pm 18.25$ ,  $284.35 \pm 2.28$  mgAE/g ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพู ส่วนของฝักอ่อน มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมสูงสุด เท่ากับ  $521.45 \pm 11.40$  mg AE/g รองลงมาได้แก่ ส่วนของเกสร ก้านดอก และกลีบดอก เท่ากับ  $391.61 \pm 10.26$ ,  $280.32 \pm 1.14$ ,  $235.97 \pm 2.28$  mgAE/g ตามลำดับ ส่วนของใบมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ  $1202 \pm 42.20$  mgAE/g จากผลดังกล่าวพบว่าส่วนฝักอ่อนบัวหลวงสีชมพูพบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมสูงที่สุด

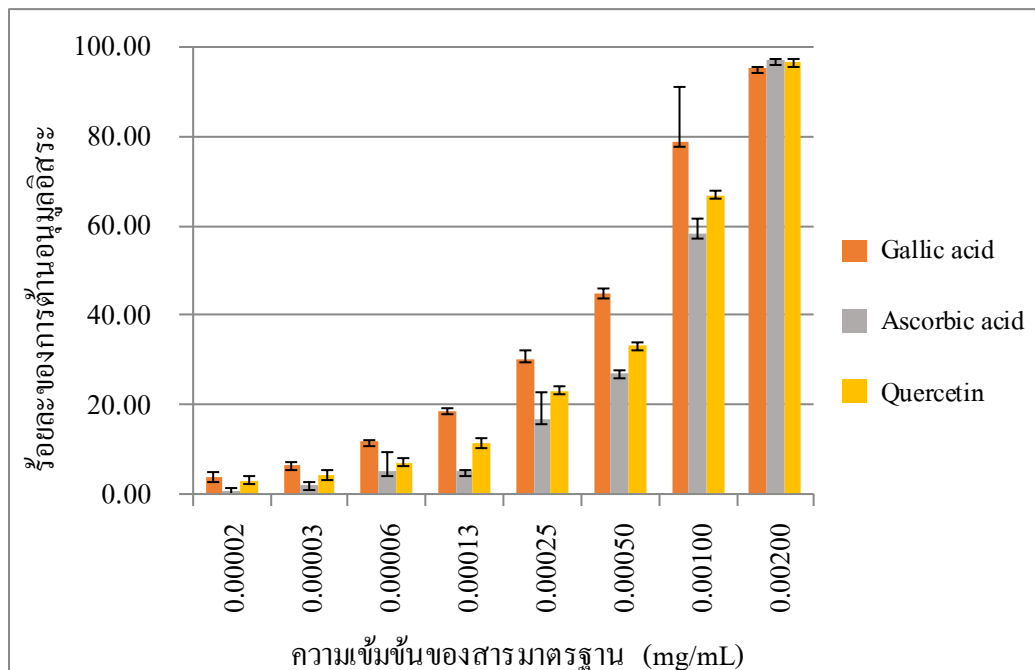
#### 4.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เคอร์ซีติน (Quercetin) และวิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ได้ผลการทดลองแสดงเป็นค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ดังแสดงในตารางที่ 4-8 และภาพที่ 4-8

ตารางที่ 4-8 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH free radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin)

ความเข้มข้น ( $\times 10^{-3}$ mg/mL)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition)		
	Gallic acid	Ascorbic acid	Quercetin
0.016	$3.70 \pm 0.90$	$0.52 \pm 0.52$	$2.90 \pm 1.46$
0.031	$6.30 \pm 0.51$	$1.87 \pm 0.65$	$4.02 \pm 0.45$
0.063	$11.63 \pm 0.46$	$4.79 \pm 4.42$	$6.92 \pm 1.18$
0.125	$18.52 \pm 0.56$	$4.79 \pm 0.57$	$11.31 \pm 1.12$
0.250	$30.15 \pm 2.00$	$16.40 \pm 6.08$	$23.07 \pm 8.82$
0.500	$44.67 \pm 1.02$	$26.89 \pm 0.47$	$32.96 \pm 0.90$
1.000	$78.59 \pm 12.39$	$58.28 \pm 3.37$	$66.82 \pm 3.88$
2.000	$95.19 \pm 0.26$	$97.23 \pm 0.13$	$96.50 \pm 0.13$



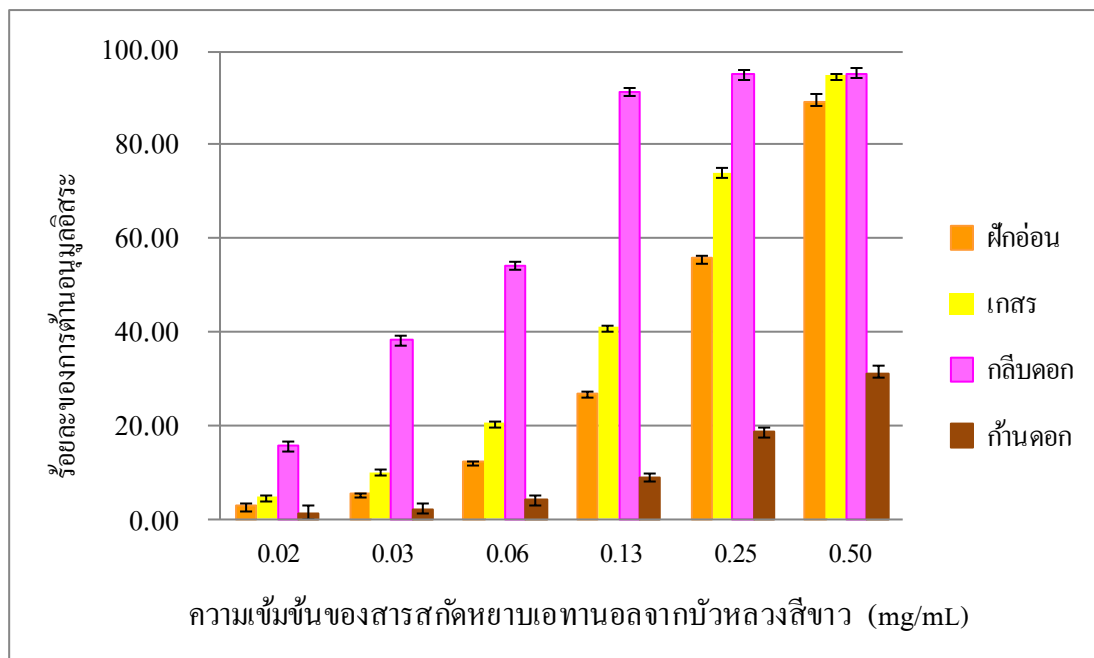
ภาพที่ 4-8 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสารมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid), วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว และ สีม่วง ด้วยวิธีเดียวกันกับการทดสอบสารมาตรฐานข้างต้น แสดงผลการทดลองเป็นค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีขาว และสีม่วงดังแสดงในตารางที่ 4-9, 4-10 และภาพที่ 4-9, 4-10

ตารางที่ 4-9 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ(% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบ  
เอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีขาว

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition)			
	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก
0.016	2.76 ± 0.70	4.70 ± 0.12	15.51 ± 1.79	1.07 ± 1.70
0.031	5.48 ± 0.14	10.11 ± 0.31	38.18 ± 0.44	2.20 ± 1.20
0.063	12.36 ± 0.12	20.50 ± 0.36	54.11 ± 8.75	4.07 ± 0.83
0.125	26.91 ± 0.19	41.01 ± 0.14	91.23 ± 0.88	8.87 ± 0.81
0.250	55.75 ± 0.33	73.97 ± 1.22	94.95 ± 0.00	18.53 ± 0.92
0.500	89.29 ± 1.55	95.05 ± 0.21	95.30 ± 0.24	31.07 ± 1.81

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

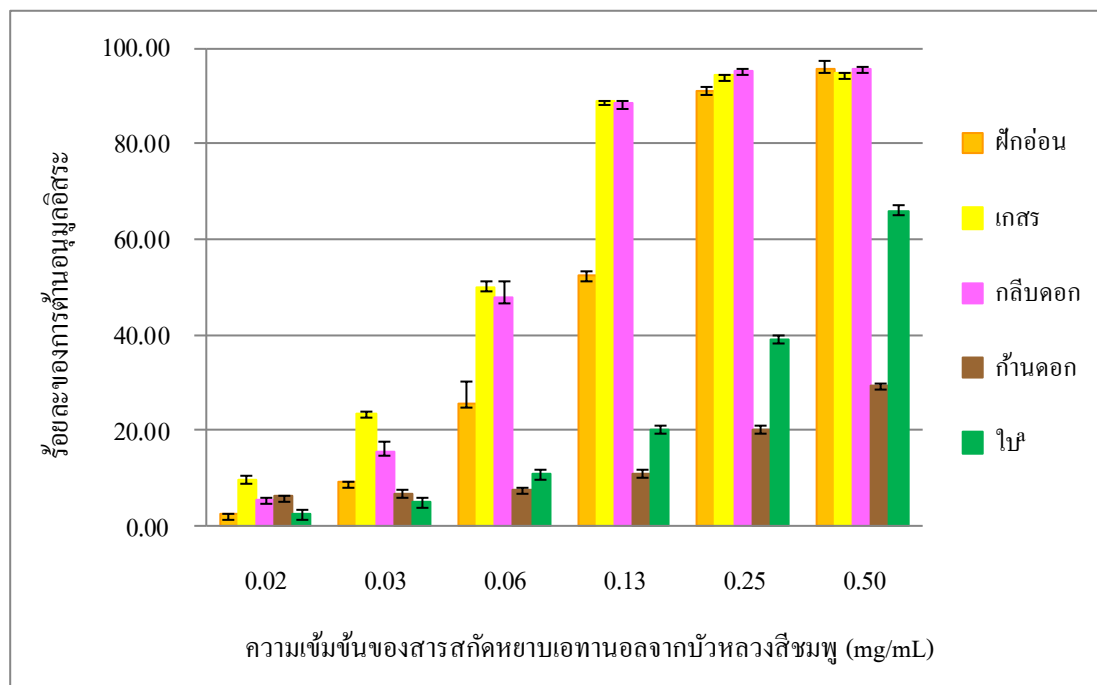


ภาพที่ 4-9 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสกัดหยาบเอทานอล  
จากบัวหลวงสีขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ตารางที่ 4-10 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพู

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition)				
	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก	ใบ <sup>a</sup>
0.016	2.45 ± 0.12	9.86 ± 0.62	5.57 ± 0.45	6.13 ± 0.33	2.41 ± 0.62
0.031	9.07 ± 0.22	23.63 ± 0.14	15.69 ± 2.02	6.91 ± 0.44	4.90 ± 0.37
0.063	25.77 ± 4.25	49.92 ± 1.29	47.72 ± 3.37	7.69 ± 0.30	10.85 ± 1.31
0.125	52.27 ± 1.14	89.05 ± 0.14	88.50 ± 0.43	11.04 ± 0.54	20.11 ± 0.35
0.250	91.29 ± 0.82	94.37 ± 0.23	95.44 ± 0.22	20.16 ± 0.65	39.00 ± 0.46
0.500	95.90 ± 1.31	94.68 ± 0.36	95.81 ± 0.13	29.56 ± 0.12	66.01 ± 1.00

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาพที่ 4-10 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสกัดหยาบเอทานอล จากบัวหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL คือ สารสกัดส่วนกลีบดอก มีค่าเท่ากับ  $95.95 \pm 0.00$  รองลงมาได้แก่สารสกัดส่วนเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก มีค่าเท่ากับ  $73.97 \pm 1.22$ ,  $55.75 \pm 0.33$  และ  $18.53 \pm 0.92$  ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-9 และภาพที่ 4-9 และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพู มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL คือสารสกัดส่วนกลีบดอก มีค่าเท่ากับ  $95.44 \pm 0.22$  รองลงมาได้แก่สารสกัดส่วนเกสร ฝักอ่อน และก้านดอก เท่ากับ  $94.37 \pm 0.23$ ,  $91.29 \pm 0.82$  และ  $20.16 \pm 0.65$  ตามลำดับ และสารสกัดส่วนใบมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL เท่ากับ  $39.00 \pm 0.46$  ดังแสดงในตารางที่ 4-10 และภาพที่ 4-10

#### 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

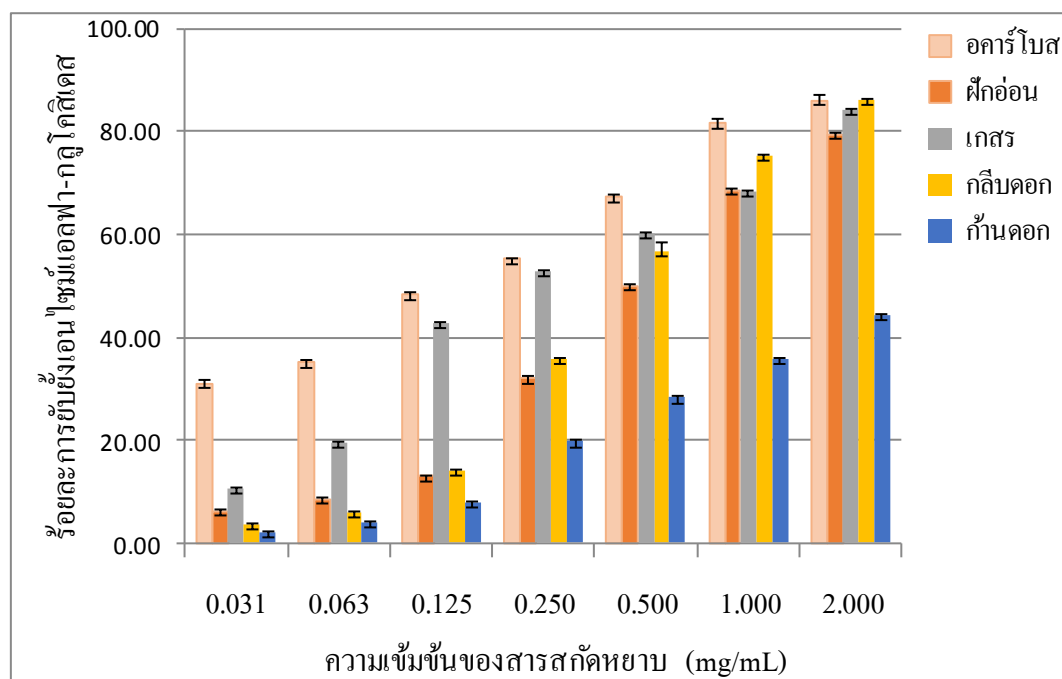
##### (Anti- $\alpha$ -glucosidase assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric โดยใช้ อคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ ในการทดลองจะใช้ p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-G) เป็นสารละลายสีไม่มีสี ทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยา โดยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ PNP-G ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส และ p-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ซึ่งผลการทดสอบของอคาร์โบส (Acarbose) และสารสกัดจากบัวหลวงสีขาวและสีชมพูในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสแสดงในตารางที่ 4-11, 4-12 และภาพที่ 4-11, 4-12

ตารางที่ 4-11 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (% $\alpha$ -glucosidase inhibition)				
	อการ์โบส <sup>b</sup>	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก
0.031	30.98± 0.63	6.27±0.19	10.55±0.07	3.73±0.15	1.95±0.13
0.063	35.05± 0.56	8.56±0.32	19.55±0.33	5.94±0.15	4.16±0.13
0.125	48.33± 0.31	13.00±0.07	42.79±0.19	14.21±0.15	7.92±0.13
0.250	55.19±0.16	32.11±0.26	52.71±0.13	35.84±0.19	19.70±0.20
0.500	67.21±0.54	49.98±0.19	60.28±0.13	56.79±1.59	28.23±0.20
1.000	81.57±0.94	68.66±0.15	68.14±0.19	75.19±0.13	35.89±0.15
2.000	86.09±0.87	79.50±0.07	84.03±0.19	86.17±0.19	44.20±0.15

b: สารมาตรฐาน



ภาพที่ 4-11 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของอการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ บั้วหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

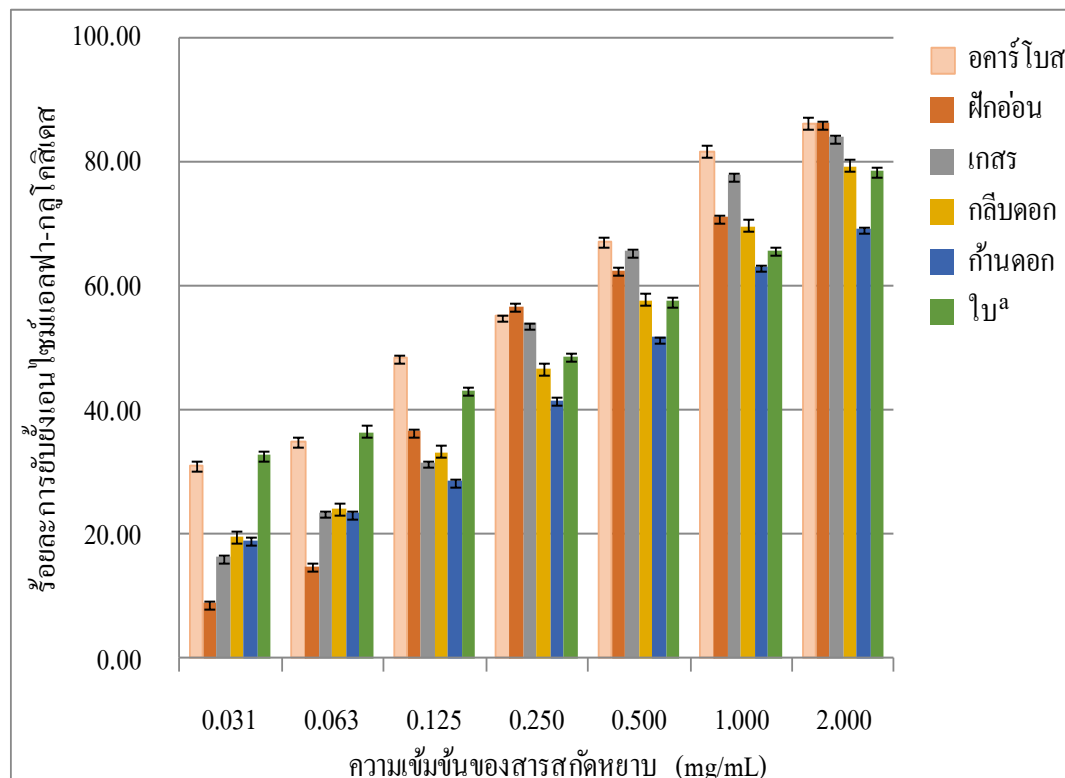


จากการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของอคาร์โบส (Acarbose) ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน พบว่าอคาร์โบส (positive control) ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 30.98%, 35.05%, 48.33%, 55.19%, 67.21%, 81.57% และ 86.09% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11) และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั่วหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 6.27%, 8.56%, 13.00%, 32.11%, 49.98%, 68.66% และ 79.50% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11) ซึ่งสารสกัดจากส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 79.50% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั่วหลวงสีขาวส่วนของเกสร ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 10.55%, 19.55%, 42.79%, 52.71%, 60.28%, 68.14% และ 84.03% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11) ซึ่งสารสกัดจากส่วนเกสร ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 84.03% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั่วหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 3.73%, 5.94%, 14.21%, 35.84%, 56.79%, 75.19% และ 86.17% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11) ซึ่งสารสกัดจากส่วนกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 86.17% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั่วหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 1.95%, 4.16%, 7.92%, 19.70%, 28.23%, 35.89% และ 44.20% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11) ซึ่งสารสกัดจากส่วนก้านดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 44.20%

ตารางที่ 4-12 ผลการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส  
ของสารมาตรฐานอการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวง  
สีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (% $\alpha$ -glucosidase inhibition)					
	อการ์โบส <sup>b</sup>	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก	ใบ <sup>a</sup>
0.0313	30.98±0.63	8.88±0.14	16.24±0.18	19.50±0.07	19.09±0.25	32.80±0.35
0.0625	35.05±0.56	14.90±0.26	23.54±0.07	23.99±0.18	23.39±0.32	36.49±1.03
0.1250	48.33±0.31	36.57±0.19	31.60±0.18	33.26±0.24	28.55±0.16	43.19±0.51
0.250	55.19±0.16	56.79±0.22	53.97±0.07	46.58±0.14	41.56±0.41	48.69±0.40
0.500	67.21±0.54	62.60±0.36	65.70±0.07	57.72±0.18	51.72±0.09	57.48±0.65
1.000	81.57±0.94	71.15±0.19	77.79±0.18	69.60±0.38	63.23±0.16	65.73±0.31
2.000	86.09±0.87	86.14±0.19	84.00±0.07	79.29±0.18	69.30±0.09	78.54±0.65

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้, b: สารมาตรฐาน



ภาพที่ 4-12 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารมาตรฐานอการ์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั้วหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 8.88%, 14.90%, 36.57%, 56.79%, 62.60%, 71.15% และ 86.14% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 86.14% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั้วหลวงสีขาวส่วนของเกสร ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 16.24%, 23.54%, 31.60%, 53.97%, 65.70%, 77.79% และ 84.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนของเกสร ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 84.00% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบั้วหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 19.50%, 23.99%, 33.26%, 46.58%, 57.72%, 69.60% และ 79.29% ตามลำดับ

(ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 79.29% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอกที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 19.09%, 23.39%, 28.55%, 41.56%, 51.72%, 63.23% และ 69.30% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนก้านดอกที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 69.30% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้เท่ากับ 32.80%, 36.49%, 43.19%, 48.69%, 57.48%, 65.73% และ 78.54% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดคือ 78.54%

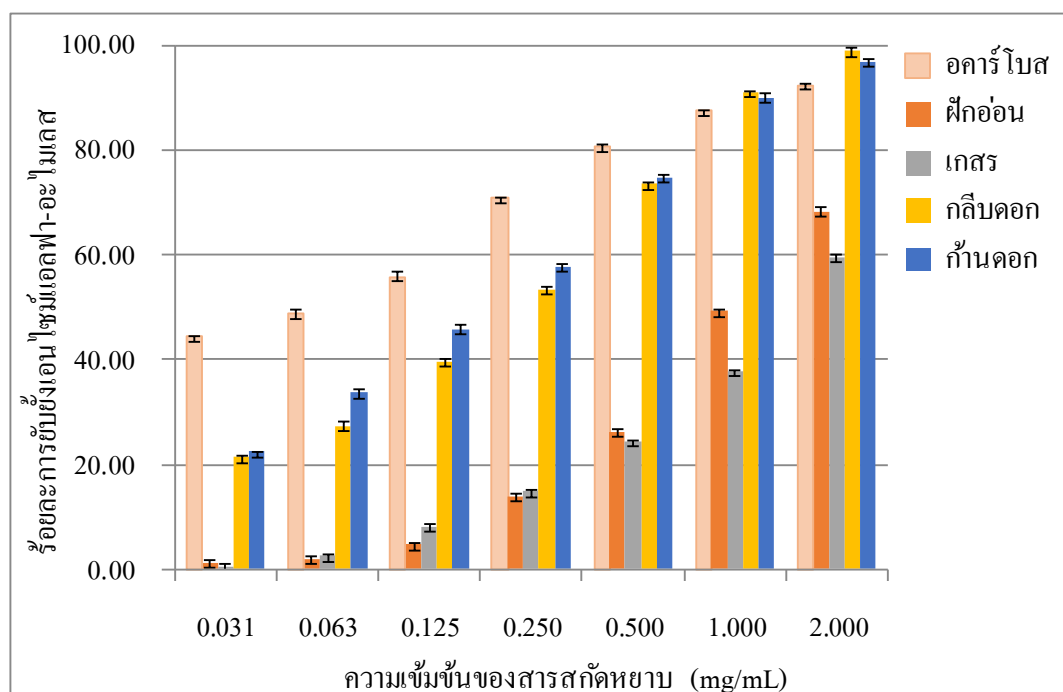
#### 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Anti- $\alpha$ -amylase assay)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส ด้วยวิธี p-nitrophenol โดยใช้คาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ เอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส เป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ที่ปากทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ ในการทดลองจะใช้ 2-chloro-4-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-maltotrioxide เป็นสารละลายสีไม่มีสี ทำหน้าที่เป็นสับสเตรทในปฏิกิริยา โดยเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส จะทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับ 2-chloro-4-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-maltotrioxide ได้เป็นน้ำตาลมอลโทส และ p-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร การทดสอบของคาร์โบส (Acarbose) และสารสกัดจากบัวหลวงสีขาวและสีชมพูในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส แสดงในตารางที่ 4-13, 4-14 และภาพที่ 4-13, 4-14

ตารางที่ 4-13 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (% $\alpha$ -amylase inhibition)				
	อคาร์โบส <sup>b</sup>	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก
0.031	44.38±0.19	1.11±0.51	0.52±0.36	21.34±0.19	22.44±0.00
0.063	48.70±0.75	1.88±0.38	2.51±0.31	27.39±0.87	33.65±0.56
0.125	55.94±0.86	4.65±0.33	8.15±0.31	39.71±0.50	45.94±0.67
0.250	70.84±0.32	13.95±0.33	14.84±0.18	53.58±0.38	57.91±0.49
0.500	80.78±0.37	26.14±0.69	24.35±0.18	73.60±0.33	74.89±0.49
1.000	87.58±0.19	49.28±0.19	37.83±0.18	91.20±0.19	89.96±0.81
2.000	92.55±0.32	68.22±1.01	59.56±0.54	99.01±0.57	97.01±0.49

b: สารมาตรฐาน



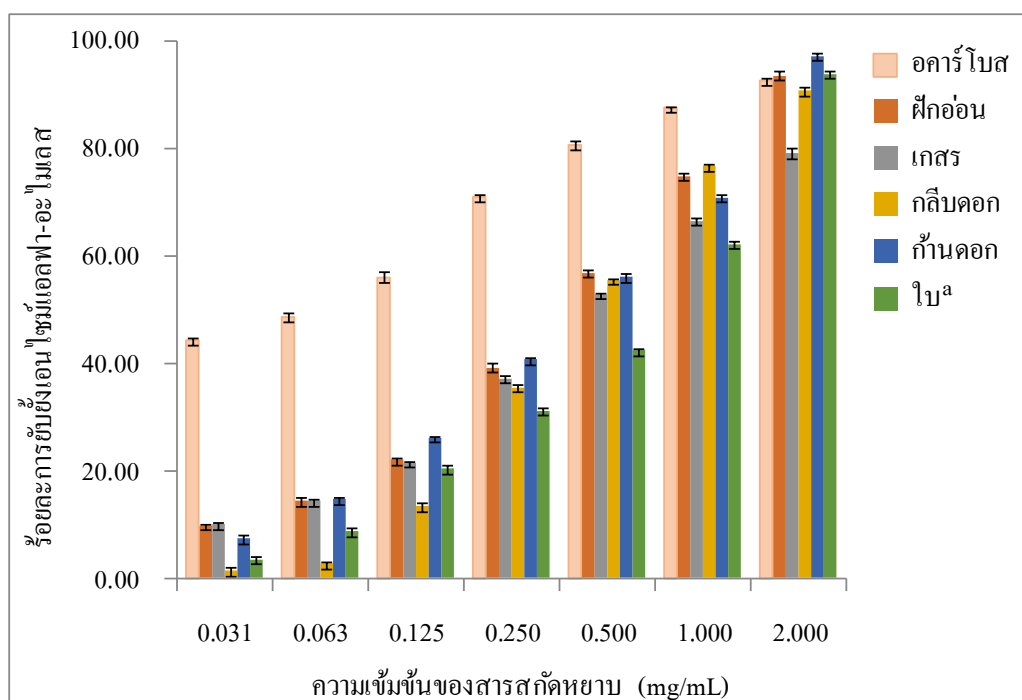
ภาพที่ 4-13 ร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บั้วหลวงสีขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากบัวหลวงสีขาวและสีชมพูต่อการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยการวัดอัตราการปลดปล่อย p-nitrophenol จาก 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriose (CNP3) ซึ่งใช้ CNP3 เป็นสารตั้งต้น (Substrate) และอคาร์โบส (Acarbose) เป็นสารมาตรฐานพบว่า อคาร์โบส (positive control) ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้เท่ากับ 44.38%, 48.70%, 55.94%, 70.84%, 80.78%, 87.58% และ 92.55% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-12) และพบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้เท่ากับ 1.11%, 1.88%, 4.65%, 13.95%, 26.14%, 49.28% และ 68.22% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 68.22% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้เท่ากับ 0.52%, 2.51%, 8.15%, 14.84%, 24.35%, 37.83% และ 59.56% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนเกสร ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 59.56 % และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 21.34%, 27.39%, 39.71%, 53.58%, 73.60%, 91.20% และ 99.01% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-12) สารสกัดจากส่วนกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 99.01% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 22.44%, 33.65%, 45.94%, 57.91%, 74.89%, 89.96% และ 97.01% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-12) ซึ่งสารสกัดจากส่วนก้านดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 97.01%

ตารางที่ 4-14 ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (% $\alpha$ -amylase inhibition)					
	อคาร์โบส	ฝักอ่อน	เกสร	กลีบดอก	ก้านดอก	ใบ <sup>a</sup>
0.031	44.38±0.19	9.85±0.20	10.08±0.20	1.36±0.48	7.30±0.50	3.61±0.33
0.063	48.70±0.75	14.32±0.52	14.32±0.20	2.73±0.18	14.71±0.33	8.63±0.68
0.125	55.94±0.86	22.11±0.20	21.53±0.20	13.31±0.65	26.25±0.19	20.44±0.38
0.250	70.84±0.32	39.29±0.52	37.23±0.52	35.53±0.31	40.74±0.38	31.15±0.33
0.500	80.78±0.37	56.93±0.40	52.81±0.20	55.56±0.18	55.99±0.50	42.40±0.19
1.000	87.58±0.19	74.91±0.34	66.55±0.52	76.73±0.31	70.81±0.38	62.30±0.33
2.000	92.55±0.32	93.59±0.86	79.04±1.03	90.78±0.48	97.17±0.50	93.88±0.50

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



ภาพที่ 4-14 ร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของสารมาตรฐานอคาร์โบส และสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ บัวหลวงสีชมพูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 9.85%, 14.32%, 22.11%, 39.29%, 56.93%, 74.91% และ 93.59% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-14) ซึ่งสารสกัดจากส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 93.59 % และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 10.08%, 14.32%, 21.53%, 37.23%, 52.81%, 66.55% และ 79.04% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-14) ซึ่งสารสกัดจากส่วนเกสร ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 79.04 % และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 1.36%, 2.73%, 13.31%, 35.53%, 55.56%, 76.73% และ 90.78% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-14) ซึ่งสารสกัดจากส่วนกลีบดอก ที่ความเข้มข้น 20 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 90.78 % และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอกที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 7.30%, 14.71%, 26.25%, 40.74%, 55.99%, 70.81% และ 97.17% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-14) ซึ่งสารสกัดจากส่วนก้านดอก ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 97.17% และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ ที่ความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ เท่ากับ 3.61%, 8.63%, 20.44%, 31.15%, 42.40%, 62.30% และ 93.88% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-14) ซึ่งสารสกัดจากส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้สูงสุดคือ 93.88%



## บทที่ 5

### สรุปผล

#### 5.1 อภิปรายผลและสรุปผล

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาว และสีชมพู (*Nelumbo nucifera*) โดยแบ่งเป็น 5 ส่วน ได้แก่ ฝักอ่อน เกสร กลีบดอก ก้านดอก และใบสามารถตรวจพบสารพฤกษเคมี 7 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ของส่วนต่างๆ ทั้งสีขาวและสีชมพูนั้น เราพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูง ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีรายงานว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (Venkatesh & Dorai, 2011) ดังนั้นจึงนำส่วนสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงทั้งสีขาว และสีชมพู ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่ากลีบดอกบัวหลวงสีขาวและสีชมพูมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL (% DPPH Radical Inhibition) ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมที่หาได้จากข้างต้น

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน คือเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของส่วนสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง พบว่าส่วนกลีบดอกบัวหลวงสีขาว และส่วนฝักอ่อนบัวหลวงสีชมพูมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 2.0 mg/mL โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งเท่ากับ  $86.17 \pm 0.19$  และ  $86.14 \pm 0.19$  ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดดังกล่าวข้างต้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส ( $86.09 \pm 0.87$ ) อีกด้วย และจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของส่วนสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวง พบว่าส่วนกลีบดอกบัวหลวงสีขาว และส่วนก้านดอกบัวหลวงสีชมพูมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 2.0 mg/mL โดยมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ  $99.01 \pm 0.57$  และ  $97.17 \pm 0.50$  ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดดังกล่าวข้างต้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส สูงกว่าสารมาตรฐานอคาร์โบส ( $92.55 \pm 0.32$ ) อีกด้วย

จากการศึกษาส่วนสกัดหยาบเอทานอลของบัวหลวงพบว่ากลีบดอกบัวหลวงสีขาว มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด และยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งที่เกี่ยวข้อง

กับโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิด สูงที่สุดอีกด้วย ซึ่งผลดังกล่าวพบว่าสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอ็นไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน น่าจะเป็นสารประกอบในกลุ่มของฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์

นอกจากนี้ผู้วิจัยพบว่าบัวหลวงสีขาวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวานดีกว่าบัวหลวงสีชมพู ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น คือในบัวหลวงสีขาวพบฟลาโวนอยด์ คูมาริน และเทอร์ปีนอยด์ มากกว่าบัวหลวงสีชมพู

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบ ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ ในการวิจัยต่อไปควรศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ เช่นความเป็นพิษต่อเซลล์จากตับ เซลล์จากไต รวมทั้งเซลล์มะเร็ง เพื่อเป็นข้อมูลที่สนับสนุนการพัฒนาสมุนไพรมาใช้แทนยาแผนปัจจุบันในการรักษาโรคต่อไป

## บรรณานุกรม

- กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2542). *ผักพื้นบ้านภาคกลาง*. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- จันทร์วรรณ แสงแข และเพชรรัตน์ ตรงต่อศักดิ์. (2548). *ผลของสารสกัดหยาบจากใบบัวหลวงต่อหลอดเลือดเออร์ตาที่แยกจากหนูขาวที่มีสภาวะความดันโลหิตสูงและหนูขาวที่มีความดันโลหิตปกติ*. โครงการวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหามาม, (2554) *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา*. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1), 59-70.
- ชูศรี ตลับมูข, รติรส วิรัตน์ และจุฑารัตน์ ทองปน, (2552). *ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดปลีกล้วยในหนูเบาหวาน*. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 348-358.
- ณัฐกร ประกอบ. (2552). *ประสิทธิผลของการบริหารจัดการโรคเชิงบูรณาการสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานในพื้นที่เครือข่ายบริการสุขภาพโรงพยาบาลลพบุรี*. โครงการวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์, สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์, สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, กระทรวงสาธารณสุข.
- นริศรา ไล่เลิศ. (2554) *รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและภาวะแทรกซ้อนของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2*. สาขาวิชาสัตววิทยา, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นันทวัน บุญยะประภัสร์. (2544). *การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร*. ใน นพมาศ สุมทรเจริญนนท์ (บรรณาธิการ), *เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1*. (หน้า 129-162). กรุงเทพฯ: แสงเทียนการพิมพ์.
- รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ. (2557) *ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในจังหวัดจันทบุรี*. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก, 7(1), 24-30.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. (2549). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด*, วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 8(2), 76-88.

- รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์. (2555). ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคซิเดส. สาขาวิชาสารวิทยา, สำนักวิชาวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- วันดี กฤษณพันธ์. (2544). พฤษเคมีเบื้องต้น. ใน นพมาศ สุมทรเจริญนนท์ (บรรณาธิการ), เกษัช วจินัญ ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1 (หน้า 34-102). กรุงเทพฯ: แสงเทียนการพิมพ์.
- ศิริอร สิ้นธุ และพิเชต วงรอด. (2557). การจัดการรายกรณีผู้ป่วยโรคเบาหวานและความดันโลหิตสูง (พิมพ์ครั้งที่2). กรุงเทพฯ: วัฒนาการพิมพ์.
- สุดารัตน์ หอมหวล. (ม.ป.ป.). *บัว สมุนไพร ในตำหรับยาหอม*. เข้าถึงได้จาก <http://www.phargarden.com/main.php?action=articlehttp>.
- อังคณา เทียนกล้า. (2551). *ไม้ดอกประเภทหัว*. คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏ-สกลนคร.
- Agnihotri, V. K., ElSohly, H. N., Khan, S. I., Jacob, M. R., Joshi, V. C., Smillie, T., Khan, I. A., & Walker, L. A. (2008). Constituents of *Nelumbo nucifera* leaves and their antimalarial and antifungal activities. *Phytochemistry Letters*, 1, 89–93.
- Ahn, J. H., Kim, E. S., Lee C., Kim, S., Cho, S., Hwang, B. Y., & Lee, M. K. (2013). Chemical constituents from *Nelumbo nucifera* leaves and their anti-obesity effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 3604–3608.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. de Pharmacie de Belgique*, 49, 462-468.
- Ayoola, G.A., Coker, H.A.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., & Atangbayila, T.O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019–1024.
- Braca, A., Sortion, C., Politi, M., Morelli, I., & Meddez, J. (2002). Antioxidant activity of flavonoids from *Liccania licaniaeflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 379–381.

- Gell, F.J., Gubern, G., Vidal, R., & Canalias, F. (1997) Determination of total and pancreatic  $\alpha$ -amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriose as substrate. *Clin. Chim Acta*, 259, 147-160.
- Hasanuzzaman, Md., Ali, Md.R., Hossain, M., Kuri, S., & Islam, Md.S. (2013). Evaluation of total phenolic content, free radical scavenging activity and phytochemical screening of different extracts of *Averrhoa bilimbi* (fruit). *International Current Pharmaceutical Journal*. 2(4), 92-96.
- Hu, J., Shan, B., Deng, Z., Li, J., Fan, Y., Ruan, Z., & Liu, R. (2010). Application of high-speed counter-current chromatography for the isolation of 5 alkaloids from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves. *Food Science and Biotechnology*, 19(6), 1661-1665.
- Kaewamatawong, R., & Jounmunkong, Z. (2006) DPPH free radical scavenging activity and total phenol compounds content of some Thai medicinal plant extracts. *Journal of Ubon Ratchathani University*, 2(8), 76-88
- Liu, S., Li, D., Huang, B., Chen, Y., Lu, X. & Wang, Y. (2013). Inhibition of pancreatic lipase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, and hypolipidemic effects of the total flavonoids from *Nelumbo nucifera* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 149, 263–269.
- Majhenic, L., Skerget, M., & Knez, Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of quarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104(3), 1258-1268.
- Matsui, T., Yoshimoto, C., Osajima, K., Oki, T., & Osajima, Y. (1996). In vitro survey of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory food components. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 60, 2019-2022.
- Nishibori, N., Sawaguchi, M., Hiroi, T., Sagara, T., Itoh, M., Her, S., Lee, M. S., & Morita, K. (2012). Inhibitory effects of aqueous extract prepared from joint part of lotus root on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities. *Phytopharmacology*, 3(1), 1-11
- Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S., & Ohizumi, Y. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 238–244.
- Phonkot, N., Wangsomnuk, P., & Aromdee, C. (2008). Antioxidant activity and DNA fingerprint of four varieties of lotus stamens (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). *Songklanakalin Journal of Science and Technology*, 30(1), 55–58.

- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- Radhika, S., Senthilkumar, R., & Arumugam, P. (2014). Appraisal of in vitro antioxidant propective of *premna corymbosa*. *International Research Journal of Biological Science*, 3(10), 70-75.
- Shyam-Krishnan, M., Dhanalakshmi, P., Yamini, S.G., Gopalakrishnan, S., Manimaran, A., Sindhu, S., Sagadevan, E., & Arumugam, P. (2013). Evaluation of phytochemical constituents and antioxidant activity of indian medicinal plant *Hydnocarpus pentandra*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 453-458.
- Siddiqui, S., Verma, A., Rather, A.A., Jabeen, F., & Meghvansi, M.K. (2009). Preliminary phytochemical analysis of some important medicinal and aromatic plants. *Advances in Biological Research*, 3(5-6), 188-195.
- Sombie, P.A.E.D., Hilou, A., Mounier, C., Coulibaly, A.Y., Kiendrebeogo, M., Millogo, J.F., & Nacoulma, O.G. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activities from galls of *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae). *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(4), 448-461.
- Venkatesh, B., & Dorai, A. (2011). Antibacterial and antioxidant potential of white and pink *Nelumbo Nucifera* Gaertn flowers. *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics IPCBEE*, 5, 213-217.
- Wongklang, S., Steinrut, L., & Itharat, A. (2014). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* Gaerth. extract. *Journal of Agricultural Science*, 45(2)(Suppl.), 673-676.
- Yadav, M., Chatterji, S., Gupta, S.K., & Watal, G. (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 539-542.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร และการคำนวณหาปริมาณฟินอลิกรวม



## 1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

### 1.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

1.1.1 สารละลาย Folin-Ciocalteu โดยเจือจางเป็น 1:10 (v/v) ด้วยน้ำกลั่น

1.1.2 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 2.5% (w/v)

1.1.3 สารละลายมาตรฐานแกลลิก (Gallic acid) ที่มีความเข้มข้น 0.1 mg/mL ในเมทานอล โดยชั่ง Gallic acid 0.1 mg ละลายในเมทานอล 1 mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 100-0.19  $\mu\text{g/mL}$  เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1.4 สารละลายตัวอย่างในตัวทำละลายเมทานอล เข้มข้น 2.0 mg/mL

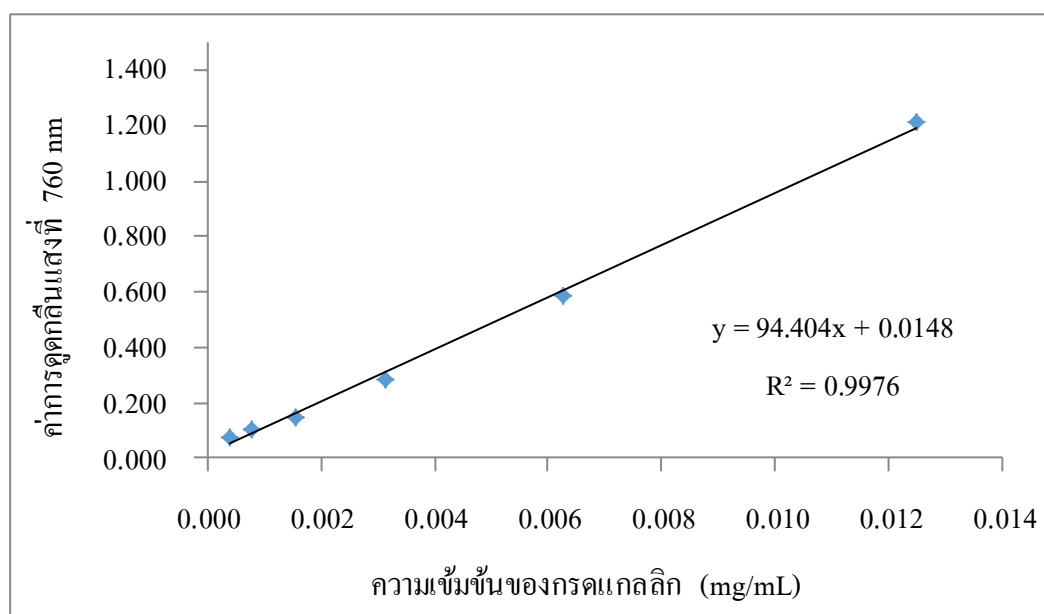
### 1.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

ผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.1–0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10% (v/v) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE/g dried extract)

1.3 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานแกลลิก ทำการหาสมการเส้นตรง และค่า  $R^2$  จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

ความเข้มข้น ของกรดแกลลิก ( $\times 10^{-2}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.039	0.075	0.075	0.078	0.076	0.00
0.078	0.092	0.086	0.137	0.105	0.03
0.156	0.148	0.153	0.150	0.150	0.00
0.313	0.291	0.295	0.271	0.286	0.01
0.625	0.578	0.589	0.585	0.584	0.01
1.250	1.205	1.180	1.248	1.211	0.03



กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid ได้สมการ  $y = 94.404x + 0.0148$ ,  $R^2 = 0.998$

ภาพที่ ก-1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm กับ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานแกลลิก (Gallic acid)

1.4 ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวง  
สีขาว ในหน่วย mgGAE.g<sup>-1</sup>

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid คือ  $y = 94.404x + 0.0148$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น  
0.2 mg/mL ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.322 จะได้ว่า

$$\text{จากสมการ} \quad y = 94.404x + 0.0148$$

$$\text{แทนค่า} \quad y = 0.322$$

$$0.322 = 94.404x + 0.0148$$

$$x = 0.00325$$

ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น 0.2 mg/mL มีปริมาณ  
ฟีนอลิกรวม เท่ากับ 0.00325 mgGAE

**การคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม ในหน่วย mgGAE.g<sup>-1</sup>**

สารสกัดตัวอย่าง 0.200 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก 0.00325 mg

$$\begin{aligned} \text{ถ้าสารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก} & \quad \frac{0.00325 \text{ mg} \times 1,000 \text{ mg}}{0.200 \text{ mg}} \\ & = 16.27 \text{ mgGAE.g}^{-1} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว มีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ  
16.27 mgGAE.g<sup>-1</sup>

นำค่าปริมาณฟีนอลิกรวมที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณฟีนอลิกรวม  
ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว

1.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง  
สีขาและบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขา

สารสกัด บัวหลวงสีขา	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.2	0.322	0.341	0.338
เกสร	0.2	0.496	0.539	0.515
กลีบดอก	0.1	0.777	0.802	0.824
ก้านดอก	0.2	0.214	0.220	0.210

ตารางที่ ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง  
สีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.2	0.540	0.597	0.583
เกสร	0.2	0.721	0.763	0.750
กลีบดอก	0.1	0.522	0.538	0.542
ก้านดอก	0.2	0.173	0.190	0.189
ใบ <sup>a</sup>	0.2	0.554	0.637	0.653

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

1.6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบของบัวหลวงสีขาวและบัวหลวงสีชมพู  
ในหน่วย mgGAE.g<sup>-1</sup>

ตารางที่ ก-4 ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว

สารสกัด บัวหลวงสีขาว	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณฟีนอลิกรวม mgGAE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.2	16.27	17.28	17.12	16.89	0.54
เกสร	0.2	25.49	27.76	26.49	26.58	1.14
กลีบดอก	0.1	80.74	83.39	85.72	83.28	2.49
ก้านดอก	0.2	10.55	10.87	10.34	10.59	0.27

ตารางที่ ก-5 ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง  
สีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณฟีนอลิกรวม mgGAE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.2	27.82	30.84	30.10	29.58	1.57
เกสร	0.2	37.40	39.63	38.94	38.66	1.14
กลีบดอก	0.1	53.73	55.42	55.85	55.00	1.12
ก้านดอก	0.2	8.38	9.28	9.23	8.96	0.51
ใบ <sup>a</sup>	0.2	28.56	32.96	33.80	31.77	2.81

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสาร และการคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

## 2. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ด้วยวิธี Aluminium trichloride (AlCl<sub>3</sub>) colorimetric

### 2.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

2.1.1 สารละลาย aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>) ความเข้มข้น 2.0 % (w/v) ในตัวทำละลายเมทานอล

2.1.2 สารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน(Quercetin)ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.1-0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่ง Quercetin 0.1 mg ละลายในเมทานอล 1 mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 100-0.19 µg/mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.3 สารละลายตัวอย่างในตัวทำละลายเมทานอล เข้มข้น 2.0 mg/mL

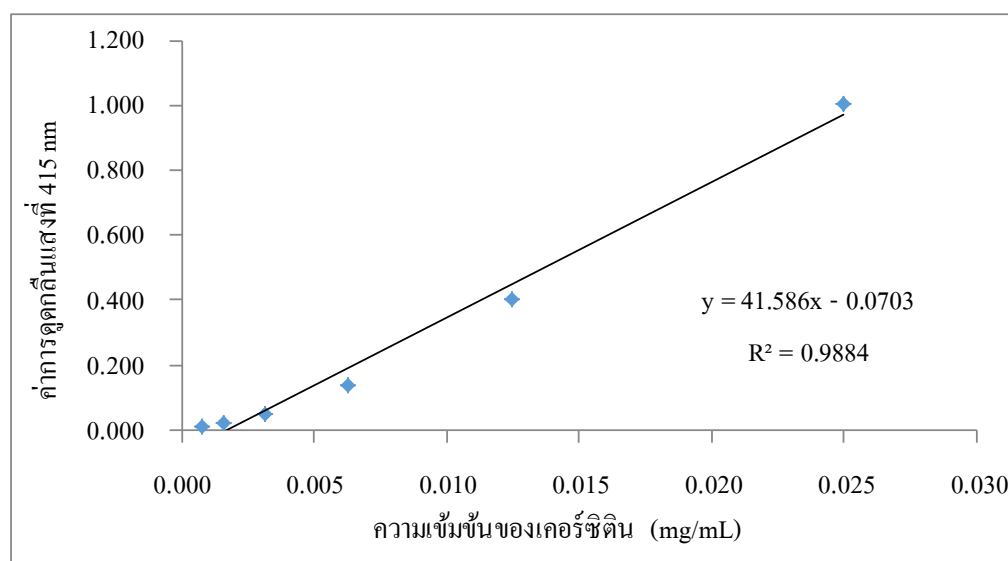
### 2.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

ผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl<sub>3</sub> reagent) ความเข้มข้น 1.0% (w/v) ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mgQE/g dried extract)

2.3 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน ทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R<sup>2</sup> จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin)

ความเข้มข้น ของเคอร์ซีติน ( $\times 10^{-2}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.078	0.012	0.008	0.010	0.010	0.00
0.156	0.023	0.020	0.020	0.021	0.00
0.313	0.054	0.045	0.041	0.047	0.01
0.625	0.144	0.142	0.134	0.140	0.00
1.250	0.379	0.467	0.368	0.405	0.05
2.500	1.048	0.977	0.983	1.003	0.04



กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์ซีติน ได้สมการ  $y = 41.586x - 0.0703$ ,  $R^2 = 0.9884$

ภาพที่ ข-1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน



2.4 ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ในหน่วย  $\text{mgQE.g}^{-1}$

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Quercetin คือ  $y = 41.586x - 0.0703$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น  $0.5 \text{ mg/mL}$  ครั้งที่ 1 เท่ากับ  $0.061$  จะได้ว่า

$$\text{จากสมการ} \quad y = 41.586x - 0.0703$$

$$\text{แทนค่า} \quad y = 0.061$$

$$0.061 = 41.586x - 0.0703$$

$$x = 0.00316$$

ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น  $0.5 \text{ mg/mL}$  มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ  $0.00316 \text{ mgQE}$

**การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในหน่วย  $\text{mgQE.g}^{-1}$**

สารสกัดตัวอย่าง  $0.500 \text{ mg}$  มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีติน  $0.00316 \text{ mg}$

$$\begin{aligned} \text{ถ้าสารสกัดตัวอย่าง } 1,000 \text{ mg} \text{ มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีติน} & \quad \frac{0.00316 \text{ mg} \times 1,000 \text{ mg}}{0.500 \text{ mg}} \\ & = 6.31 \text{ mgQE.g}^{-1} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ  $6.31 \text{ mgQE.g}^{-1}$

นำค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว

2.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ ข-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว

สารสกัด บัวหลวงสีขาว	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.5	0.061	0.072	0.075
เกสร	0.5	0.166	0.203	0.208
กลีบดอก	0.5	0.657	0.717	0.721
ก้านดอก	0.5	0.021	0.048	0.049

ตารางที่ ข-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.5	0.041	0.047	0.048
เกสร	0.5	0.276	0.292	0.284
กลีบดอก	0.5	0.485	0.533	0.530
ก้านดอก	0.5	0.004	0.010	0.010
ใบ <sup>a</sup>	0.5	0.470	0.697	0.682

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

2.6 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบของบัวหลวงสีขาวและบัวหลวงสีชมพู  
ในหน่วย mgGAE.g<sup>-1</sup>

ตารางที่ ข-4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของ  
บัวหลวงสีขาว

สารสกัด บัวหลวงสีขาว	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม mgQE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.5	6.31	6.84	6.99	6.71	0.35
เกสร	0.5	11.36	13.14	13.38	12.63	1.10
กลีบดอก	0.5	34.97	37.85	38.04	36.95	1.72
ก้านดอก	0.5	4.39	5.69	5.74	5.71	0.03

ตารางที่ ข-5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของ  
บัวหลวงสีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความ เข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม mgQE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.5	5.35	5.64	5.69	5.56	0.18
เกสร	0.5	16.65	17.42	17.03	17.03	0.38
กลีบดอก	0.5	26.70	29.00	28.86	28.19	1.29
ก้านดอก	0.5	3.57	3.86	3.86	3.76	0.17
ใบ <sup>a</sup>	0.5	25.98	36.89	36.17	36.53	0.51

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสาร และการคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม

### 3. ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content) ด้วยวิธี

#### Phosphomolybdate colorimetric

##### 3.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

##### 3.1.1 สารละลาย Phosphomolybdate reagent โดยผสมสารดังต่อไปนี้

1. 0.6 M sulfuric acid ( $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 100 mL
2. 4.0 mM ammonium molybdate ปริมาตร 100 mL
3. 28.0 nM sodium phosphate ( $Na_3PO_4$ ) ปริมาตร 100 mL

3.1.2 สารละลายมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 5 mg/mL โดยชั่ง Ascorbic acid 5.0 mg ละลายในเมทานอล 1 mL จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.5-0.001 mg/mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

##### 3.1.3 เตรียมสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 2.0 mg/mL ในเมทานอล

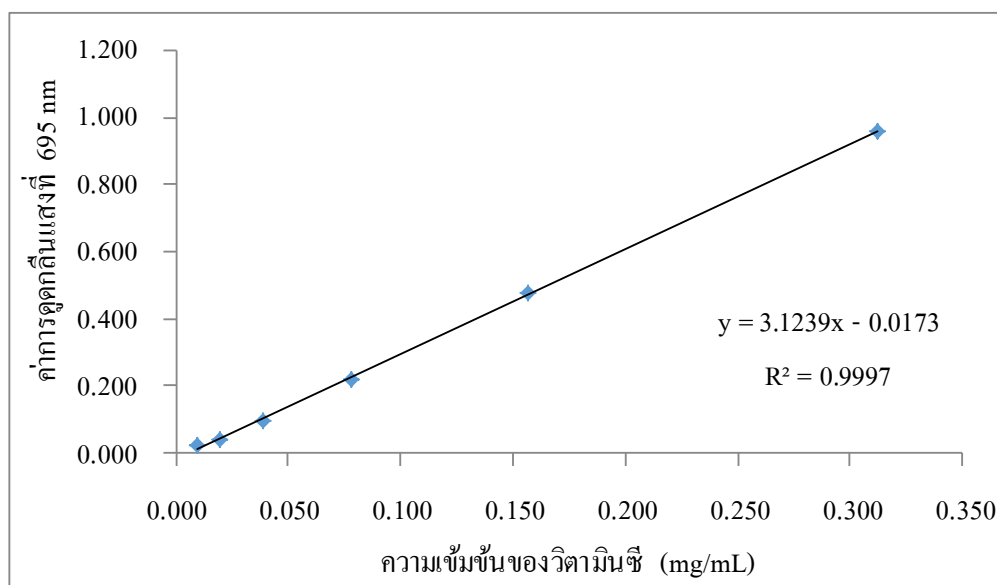
##### 3.2 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total Antioxidant Content)

ผสมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (ความเข้มข้น 0.5-0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Phosphomolybdate reagent ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มบนเครื่องอังน้ำ ที่อุณหภูมิ 78 °C เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานวิตามินซี ในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Ascorbic acid equivalents, mg AE/g dried extract)

3.3 สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานวิตามินซี ทำการหาสมการเส้นตรง และค่า  $R^2$  จากกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ ค-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid)

ความเข้มข้น ของวิตามินซี ( $\times 10^{-2}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.977	0.021	0.024	0.024	0.023	0.00
1.953	0.040	0.043	0.044	0.042	0.00
3.906	0.099	0.095	0.101	0.098	0.00
7.813	0.216	0.222	0.222	0.220	0.00
15.625	0.484	0.473	0.471	0.476	0.01
31.250	0.957	0.968	0.951	0.959	0.01



กราฟมาตรฐานของสารละลายวิตามินซี ได้สมการ  $y = 3.1239x - 0.0173$ ,  $R^2 = 0.9997$

ภาพที่ ค-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานวิตามินซี

3.4 การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของ บัวหลวงสีขาว ในหน่วย  $\text{mgAE.g}^{-1}$

สมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Ascorbic acid คือ  $y = 3.1239x - 0.017$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น  $0.2 \text{ mg/mL}$  ครั้งที่ 1 เท่ากับ  $0.145$  จะได้ว่า

$$\text{จากสมการ} \quad y = 3.1239x - 0.0173$$

$$\text{แทนค่า} \quad y = 0.145$$

$$0.145 = 3.1239x - 0.0173$$

$$x = 0.052$$

ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว ที่ความเข้มข้น  $0.2 \text{ mg/mL}$  มีปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระรวม เท่ากับ  $0.052 \text{ mg AE}$

**การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในหน่วย  $\text{mgAE.g}^{-1}$**

สารสกัดตัวอย่าง  $0.200 \text{ mg}$  มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี  $0.052 \text{ mg}$

$$\begin{aligned} \text{ถ้าสารสกัดตัวอย่าง } 1,000 \text{ mg} \text{ มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซี} & \quad \frac{0.052 \text{ mg} \times 1,000 \text{ mg}}{0.200 \text{ mg}} \\ & = 260 \text{ mgAE.g}^{-1} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม เท่ากับ  $260 \text{ mgAE.g}^{-1}$

นำค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระรวม ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว

3.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของ บัวหลวงสีขาวและบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว

สารสกัด บัวหลวงสีขาว	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.2	0.145	0.160	0.158
เกสร	0.2	0.240	0.298	0.267
กลีบดอก	0.2	0.234	0.257	0.290
ก้านดอก	0.2	0.200	0.216	0.247

ตารางที่ ค-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 nm		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ฝักอ่อน	0.2	0.259	0.301	0.311
เกสร	0.2	0.191	0.230	0.221
กลีบดอก	0.2	0.130	0.138	0.128
ก้านดอก	0.2	0.140	0.157	0.156
ใบ <sup>a</sup>	0.2	0.626	0.747	0.710

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้



3.6 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบของบัวหลวงสีขาวและบัวหลวงสีชมพู ในหน่วย mgAE.g<sup>-1</sup>

ตารางที่ ค-4 ค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว

สารสกัด บัวหลวงสีขาว	ความเข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม mgAE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.2	261.77	285.97	282.74	284.35	2.28
เกสร	0.2	415.00	508.55	458.55	436.77	30.79
กลีบดอก	0.2	405.32	442.42	495.65	423.87	26.23
ก้านดอก	0.2	350.48	376.29	426.29	363.39	18.25

ตารางที่ ค-5 ค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีชมพู

สารสกัด บัวหลวงสีชมพู	ความ เข้มข้น (mg/mL)	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม mgAE.g <sup>-1</sup>				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
ฝักอ่อน	0.2	445.65	513.39	529.52	521.45	11.41
เกสร	0.2	335.97	398.87	384.35	391.61	10.26
กลีบดอก	0.2	237.58	250.48	234.35	235.97	2.28
ก้านดอก	0.2	253.71	281.13	279.52	280.32	1.14
ใบ <sup>a</sup>	0.2	1,037.58	1,232.74	1,173.06	1,202.90	42.19

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาคผนวก ง  
การเตรียมสาร และการคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ  
โดยวิธี DPPH radical scavenging

#### 4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging

##### 4.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

4.1.1 สารละลาย DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.05 mM (20 µg/mL) โดยชั่ง DPPH 10 mg ละลายในเมทานอล 500 mL

4.1.2 สารมาตรฐาน Gallic acid, Quercetin และ Ascorbic acid ที่มีความเข้มข้น 1 mg/mL ในเมทานอล โดยชั่งสารมาตรฐานอย่างละ 0.1 mg ละลายในเมทานอล 1 mL แล้วเจือจางแบบ 2-fold ให้มีความเข้มข้นในช่วง 2-0.016 µg/mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

4.1.3 สารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 5 mg/mL ในเมทานอล ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วเจือจางแบบ 2-fold ให้มีความเข้มข้นในช่วง 500-15.625 µg/mL

##### 4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH radical scavenging

โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition)

4.3 ตัวอย่างการคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.036 (A) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ เท่ากับ 0.463 (B)

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } \% \text{ DPPH radical inhibition} &= [(A - B)/A] \times 100 \\ \text{แทนค่า } \% \text{ DPPH} &= [(0.463 - 0.036)/0.463] \times 100 \\ &= 92.225 \end{aligned}$$

สารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 0.250 mg/mL ครั้งที่ 1 มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 92.225

นำค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว

4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid), เคอร์ซีติน (Quercetin) และวิตามินซี (L-ascorbic acid)

ตารางที่ ง-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

ความเข้มข้น ของกรดแกลลิก ( $\times 10^{-3}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
0.016	0.438	0.431	0.431	2.67	4.22	4.22	3.70	0.90
0.031	0.419	0.423	0.423	6.89	6.00	6.00	6.30	0.51
0.063	0.396	0.397	0.400	12.00	11.78	11.11	11.63	0.46
0.125	0.369	0.364	0.367	18.00	19.11	18.44	18.52	0.56
0.250	0.315	0.323	0.305	30.00	28.22	32.22	30.15	2.00
0.500	0.253	0.244	0.250	43.78	45.78	44.44	44.67	1.02
1.000	0.035	0.110	0.144	92.22	75.56	68.00	78.59	12.39
2.000	0.023	0.021	0.021	94.89	95.33	95.33	95.19	0.26
Control (A)	0.446	0.451	0.454	(เฉลี่ย = 0.450)				

ตารางที่ ง-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic acid)

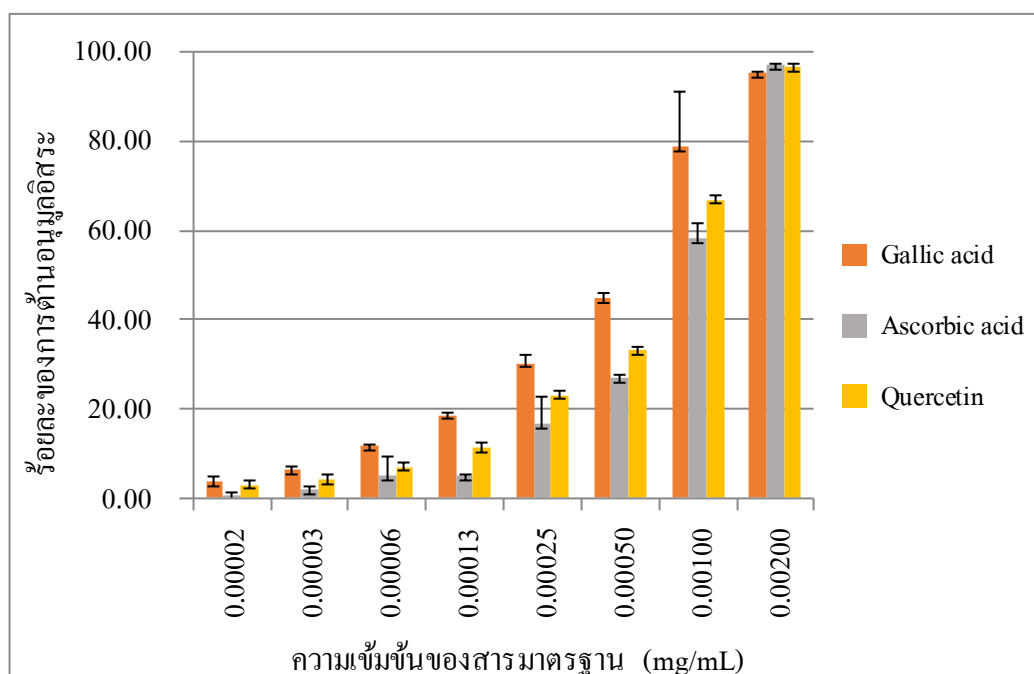
ความเข้มข้น ของวิตามินซี ( $\times 10^{-3}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
0.016	0.440	0.444	0.444	1.12	0.22	0.22	0.52	0.52
0.031	0.440	0.435	0.435	1.12	2.25	2.25	1.87	0.65
0.063	0.401	0.436	0.434	9.89	2.02	2.47	4.79	4.42
0.125	0.421	0.426	0.424	5.39	4.27	4.72	4.79	0.57
0.250	0.384	0.341	0.391	13.71	23.37	12.13	16.40	6.08
0.500	0.323	0.326	0.327	27.42	26.74	26.52	26.89	0.47
1.000	0.203	0.177	0.177	54.38	60.22	60.22	58.28	3.37
2.000	0.012	0.012	0.013	97.30	97.30	97.08	97.23	0.13
Control (A)	0.443	0.445	0.446	(เฉลี่ย = 0.445)				

ตารางที่ ง-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin)

ความเข้มข้น ของเคอร์ซีติน ( $\times 10^{-3}$ mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
0.016	0.429	0.434	0.442	4.24	3.13	1.34	2.90	0.13
0.031	0.432	0.428	0.430	3.57	4.46	4.02	4.02	3.88
0.063	0.415	0.423	0.413	7.37	5.58	7.81	6.92	0.90
0.125	0.392	0.402	0.398	12.50	10.27	11.16	11.31	8.82
0.250	0.359	0.300	0.375	19.87	33.04	16.29	23.07	1.12
0.500	0.301	0.296	0.304	32.81	33.93	32.14	32.96	1.18
1.000	0.129	0.162	0.155	71.21	63.84	65.40	66.82	0.45
2.000	0.016	0.016	0.015	96.43	96.43	96.65	96.50	1.46
Control (A)	0.450	0.447	0.448	(เฉลี่ย = 0.448)				

ตารางที่ ง-4 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน (Quercetin)

ความเข้มข้น ( $\times 10^{-3}$ mg/mL)	% DPPH free radical inhibition		
	Gallic acid	Ascorbic acid	Quercetin
0.016	3.70 $\pm$ 0.90	0.52 $\pm$ 0.52	2.90 $\pm$ 1.46
0.031	6.30 $\pm$ 0.51	1.87 $\pm$ 0.65	4.02 $\pm$ 0.45
0.063	11.63 $\pm$ 0.46	4.79 $\pm$ 4.42	6.92 $\pm$ 1.18
0.125	18.52 $\pm$ 0.56	4.79 $\pm$ 0.57	11.31 $\pm$ 1.12
0.250	30.15 $\pm$ 2.00	16.40 $\pm$ 6.08	23.07 $\pm$ 8.82
0.500	44.67 $\pm$ 1.02	26.89 $\pm$ 0.47	32.96 $\pm$ 0.90
1.000	78.59 $\pm$ 12.39	58.28 $\pm$ 3.37	66.82 $\pm$ 3.88
2.000	95.19 $\pm$ 0.26	97.23 $\pm$ 0.13	96.50 $\pm$ 0.13



ภาพที่ ง-1 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของกราฟมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid) วิตามินซี (L-ascorbic acid) และเคอร์ซีติน(Quercetin)

4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ ง-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน ฝักอ่อน (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
0.016	0.782	0.785	0.793	3.33	2.97	1.98	2.76	0.70	
0.031	0.764	0.764	0.766	5.56	5.56	5.32	5.48	0.14	
0.063	0.709	0.708	0.710	12.36	12.49	12.24	12.36	0.12	
0.125	0.593	0.591	0.590	26.70	26.95	27.07	26.92	0.19	
0.250	0.359	0.360	0.355	55.62	55.50	56.12	55.75	0.33	
0.500	0.101	0.081	0.078	87.52	89.99	90.36	89.29	1.55	
Control	0.808	0.809	0.809	(เฉลี่ย = 0.809)					

ตารางที่ ง-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน เกสร (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.769	0.770	0.771	4.83	4.70	4.58	4.70	0.12
0.031	0.724	0.726	0.729	10.40	10.149	9.78	10.11	0.31
0.063	0.639	0.644	0.644	20.90	20.30	20.30	20.50	0.36
0.125	0.476	0.476	0.478	41.10	41.09	40.84	41.01	0.14
0.250	0.199	0.217	0.215	75.37	73.14	73.39	73.97	1.22
0.500	0.041	0.041	0.038	94.93	94.93	95.30	95.05	0.21
Control	0.804	0.808	0.812	(เฉลี่ย = 0.808)				

ตารางที่ ง-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ  
เอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน กลีบดอก (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.411	0.395	0.398	13.47	16.84	16.21	15.51	1.79
0.031	0.293	0.296	0.292	38.32	37.68	38.53	38.18	0.44
0.063	0.203	0.186	0.265	57.26	60.84	44.21	54.11	8.75
0.125	0.045	0.043	0.037	90.53	90.95	92.21	91.23	0.88
0.250	0.024	0.024	0.024	94.95	94.95	94.95	94.95	0.00
0.500	0.021	0.023	0.023	95.58	95.16	95.16	95.30	0.24
Control	0.473	0.477	0.476	(เฉลี่ย = 0.475)				



ตารางที่ ง-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
หยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน ก้านดอก (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.485	0.501	0.498	3.00	-0.20	0.40	1.07	1.70
0.031	0.483	0.489	0.495	3.40	2.20	1.00	2.20	1.20
0.063	0.481	0.475	0.483	3.80	5.00	3.40	4.07	0.83
0.125	0.455	0.460	0.452	9.00	8.00	9.60	8.87	0.81
0.250	0.410	0.410	0.402	18.00	18.00	19.60	18.53	0.92
0.500	0.355	0.341	0.338	29.00	31.80	32.40	31.07	1.81
Control	0.499	0.497	0.503	(เฉลี่ย = 0.500)				

ตารางที่ ง-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ  
เอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน ฝักอ่อน (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.452	0.451	0.452	2.38	2.59	2.38	2.45	0.12
0.031	0.421	0.420	0.422	9.07	9.29	8.85	9.07	0.22
0.063	0.321	0.356	0.354	30.67	23.11	23.54	25.77	4.25
0.125	0.227	0.219	0.217	50.97	52.70	53.13	52.27	1.14
0.250	0.036	0.043	0.042	92.23	90.71	90.93	91.29	0.82
0.500	0.012	0.023	0.022	97.41	95.03	95.25	95.90	1.31
Control	0.462	0.461	0.466	(เฉลี่ย = 0.463)				

ตารางที่ ง-10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
 หยาดเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของเกสร

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน เกสร (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.382	0.387	0.383	10.33	9.16	10.09	9.86	0.62
0.031	0.326	0.325	0.325	23.47	23.71	23.71	23.63	0.14
0.063	0.207	0.217	0.216	51.41	49.06	49.30	49.92	1.29
0.125	0.047	0.046	0.047	88.97	89.20	88.97	89.05	0.14
0.250	0.024	0.025	0.023	94.37	94.13	94.60	94.37	0.23
0.500	0.021	0.023	0.024	95.07	94.60	94.37	94.68	0.36
Control	0.423	0.426	0.428	(เฉลี่ย = 0.426)				

ตารางที่ ง-11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
 หยาดเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน กลีบดอก (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.433	0.437	0.436	6.07	5.21	5.42	5.57	0.45
0.031	0.393	0.378	0.395	14.75	18.00	14.32	15.69	2.02
0.063	0.242	0.225	0.256	47.51	51.19	44.47	47.72	3.37
0.125	0.053	0.051	0.055	88.50	88.94	88.07	88.50	0.43
0.250	0.022	0.021	0.020	95.23	95.45	95.66	95.45	0.22
0.500	0.020	0.019	0.019	95.66	95.88	95.88	95.81	0.13
Control	0.461	0.461	0.461	(เฉลี่ย = 0.461)				

ตารางที่ ง-12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
 หยาดเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน ก้านดอก (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.438	0.439	0.441	6.41	6.20	5.77	6.13	0.33
0.031	0.435	0.438	0.434	7.05	6.41	7.27	6.91	0.44
0.063	0.431	0.433	0.431	7.91	7.48	7.91	7.69	0.30
0.125	0.416	0.414	0.419	11.11	11.54	10.47	11.04	0.54
0.250	0.373	0.377	0.371	20.30	19.44	20.73	20.16	0.65
0.500	0.330	0.330	0.329	29.49	29.49	29.70	29.56	0.12
Control	0.487	0.455	0.463	(เฉลี่ย = 0.468)				

ตารางที่ ง-13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm และค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
 หยาดเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ

ความเข้มข้น สารสกัดส่วน ใบ <sup>a</sup> (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% DPPH radical inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.016	0.792	0.798	0.802	3.06	2.33	1.84	2.41	0.62
0.031	0.774	0.777	0.780	5.26	4.90	4.53	4.90	0.37
0.063	0.716	0.734	0.735	12.36	10.16	10.04	10.85	1.31
0.125	0.651	0.651	0.656	20.32	20.32	19.71	20.11	0.35
0.250	0.494	0.501	0.500	39.54	38.68	38.80	39.00	0.46
0.500	0.287	0.274	0.272	64.87	66.46	66.71	66.01	1.00
Control	0.812	0.821	0.817	(เฉลี่ย = 0.817)				

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาคผนวก จ

การเตรียมสาร และการคำนวณฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

(Anti- $\alpha$ -glucosidase assay)

## 5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Anti- $\alpha$ -glucosidase assay)

### 5.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

#### 5.1.1 การเตรียม phosphate buffer pH 6.8 50 mM โดยผสมสารดังต่อไปนี้

A: เตรียม mono basic sodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0.2 M

(Stock A : ชั่ง  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  15.601 g (MW = 156.01 g/mol) ละลายในน้ำ 500 mL)

B: เตรียม dibasic sodium phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0.2 M

(Stock B : ชั่ง  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  17.799 g (MW = 177.99 g/mol) ละลายในน้ำ ปริมาตร 500 mL)

5.1.2 นำสารละลาย A ปริมาตร 51 mL และสารละลาย B ปริมาตร 49 mL มาผสมกัน วัด pH ให้ได้ 6.8 ถ้าไม่ได้ให้ปรับ pH ด้วยสารละลาย NaOH หรือ HCl เมื่อได้ pH 6.8 แล้ว ให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 200 mL (0.1 M) แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 50 mM

5.1.3 สารละลาย PNPG ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 2 mM (ชั่ง PNPG 15 mg ละลายในน้ำ 25 mL)

5.1.4 เอนไซม์  $\alpha$ -glucosidase ละลายใน phosphate buffer 10 U/mL

5.1.5 สารละลาย Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 1 mM

5.1.6 สารมาตรฐาน Acabose ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 20–0.15 mg/mL (เตรียม Acabose 20 mg/mL: ชั่ง Acabose 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL แล้วเจือจางแบบ 2-fold จนได้ความเข้มข้นในช่วง 20–0.15 mg/mL)

5.1.7 สารละลายตัวอย่าง ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 20–0.15 mg/mL

### 5.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ( $\alpha$ -glucosidase)

ผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/ml) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/ml) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ความเข้มข้น 10 U/mL ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-G) ความเข้มข้น 2.0 mM ปริมาตร 20  $\mu\text{L}$  ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

ความเข้มข้น 1.0 mM ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader

5.3 ตัวอย่างการคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (%  $\alpha$ -glucosidase inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \alpha\text{-glucosidase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.161 (A) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ เท่ากับ 0.787 (B)

$$\text{จากสมการ } \% \alpha\text{-glucosidase inhibition} = [(A - B)/A] \times 100$$

$$\text{แทนค่า} = [(0.787 - 0.161)/0.787] \times 100$$

$$= 79.543$$

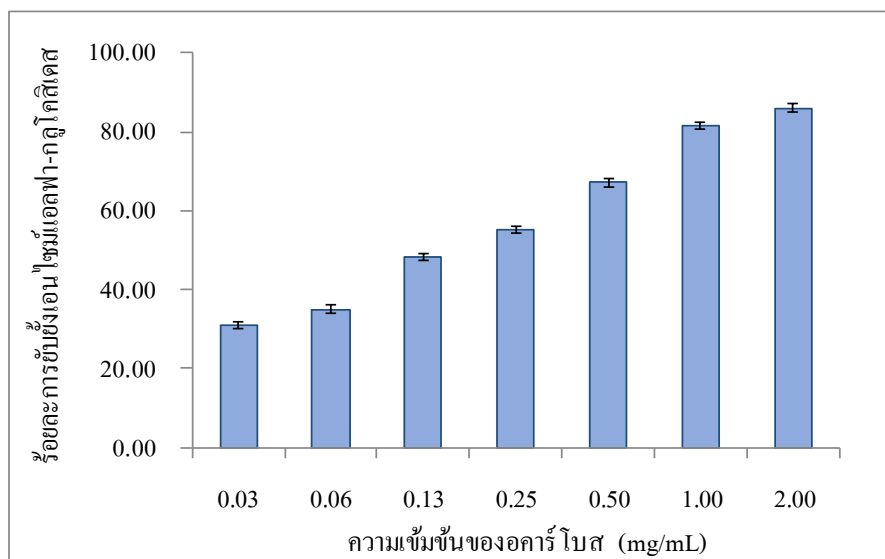
สารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL ครั้งที่ 1 มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส เท่ากับ 79.543

5.4 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอคาร์โบส

ตารางที่ จ-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานอคาร์โบส

ความเข้มข้น ของอคาร์โบส <sup>b</sup> (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.256	0.252	0.256	30.62	31.71	30.62	30.99	0.63
0.063	0.239	0.238	0.242	35.23	35.50	34.42	35.05	0.56
0.125	0.190	0.192	0.190	48.51	47.97	48.51	48.33	0.31
0.250	0.165	0.166	0.165	55.29	55.01	55.29	55.19	0.16
0.500	0.121	0.123	0.119	67.21	66.67	67.75	67.21	0.54
1.000	0.070	0.064	0.070	81.03	82.66	81.03	81.57	0.94
2.000	0.055	0.050	0.049	85.10	86.45	86.72	86.09	0.87
Control (A)	0.370	0.366	0.370	(ค่าเฉลี่ย = 0.369)				

b: สารมาตรฐาน



ภาพที่ จ-1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารมาตรฐานออร์โบส

5.5 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงสีขาว และบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ จ-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition			เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
0.031	0.738	0.736	0.739	6.23	6.48	6.10	6.27	0.19
0.063	0.717	0.720	0.722	8.90	8.51	8.26	8.56	0.32
0.125	0.684	0.685	0.685	13.09	12.96	12.96	13.00	0.07
0.250	0.532	0.535	0.536	32.40	32.02	31.89	32.11	0.27
0.500	0.395	0.392	0.394	49.81	50.19	49.94	49.98	0.19
1.000	0.246	0.246	0.248	68.74	68.74	68.49	68.66	0.15
2.000	0.161	0.162	0.161	79.54	79.42	79.54	79.50	0.07
Control	0.786	0.785	0.789	(ค่าเฉลี่ย = 0.787)				



ตารางที่ จ-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.709	0.709	0.710	10.59	10.59	10.47	10.55	0.07
0.063	0.639	0.635	0.640	19.42	19.92	19.29	19.55	0.33
0.125	0.454	0.455	0.452	42.75	42.62	43.00	42.79	0.19
0.250	0.376	0.375	0.374	52.59	52.71	52.84	52.71	0.13
0.500	0.314	0.315	0.316	60.40	60.28	60.15	60.28	0.13
1.000	0.251	0.253	0.254	68.35	68.10	67.97	68.14	0.19
2.000	0.127	0.128	0.125	83.99	83.86	84.24	84.03	0.19
Control	0.791	0.794	0.794	(ค่าเฉลี่ย = 0.793)				

ตารางที่ จ-4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.758	0.756	0.756	3.56	3.82	3.82	3.73	0.15
0.063	0.738	0.740	0.740	6.11	5.85	5.85	5.94	0.15
0.125	0.675	0.675	0.673	14.12	14.12	14.38	14.21	0.15
0.250	0.504	0.503	0.506	35.88	36.01	35.62	35.84	0.19
0.500	0.354	0.331	0.334	54.96	57.89	57.51	56.79	1.59
1.000	0.195	0.194	0.196	75.19	75.32	75.06	75.19	0.13
2.000	0.110	0.107	0.109	86.01	86.39	86.13	86.18	0.19
Control	0.785	0.785	0.789	(ค่าเฉลี่ย = 0.786)				

ตารางที่ จ-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.754	0.755	0.756	2.08	1.95	1.82	1.95	0.13
0.063	0.739	0.737	0.738	4.03	4.29	4.16	4.16	0.13
0.125	0.708	0.710	0.709	8.05	7.79	7.92	7.92	0.13
0.250	0.618	0.617	0.620	19.74	19.87	19.48	19.70	0.20
0.500	0.551	0.554	0.553	28.44	28.05	28.18	28.23	0.20
1.000	0.493	0.493	0.495	35.97	35.97	35.71	35.89	0.15
2.000	0.431	0.429	0.429	44.03	44.29	44.29	44.20	0.15
Control	0.772	0.769	0.770	(ค่าเฉลี่ย = 0.770)				

ตารางที่ จ-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.733	0.731	0.731	8.72	8.97	8.97	8.88	0.14
0.063	0.684	0.681	0.685	14.82	15.19	14.70	14.90	0.26
0.125	0.511	0.508	0.509	36.36	36.74	36.61	36.57	0.19
0.250	0.346	0.346	0.349	56.91	56.91	56.54	56.79	0.22
0.500	0.297	0.302	0.302	63.01	62.39	62.39	62.60	0.36
1.000	0.232	0.233	0.230	71.11	70.98	71.36	71.15	0.19
2.000	0.110	0.113	0.111	86.30	85.93	86.18	86.14	0.19
Control	0.805	0.802	0.802	(ค่าเฉลี่ย = 0.803)				

ตารางที่ จ-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของเกสร

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.694	0.691	0.693	16.08	16.45	16.20	16.24	0.19
0.063	0.632	0.633	0.632	23.58	23.46	23.58	23.54	0.07
0.125	0.564	0.566	0.567	31.80	31.56	31.44	31.60	0.19
0.250	0.381	0.381	0.380	53.93	53.93	54.05	53.97	0.07
0.500	0.283	0.284	0.284	65.78	65.66	65.66	65.70	0.07
1.000	0.185	0.184	0.182	77.63	77.75	77.99	77.79	0.19
2.000	0.132	0.133	0.132	84.04	83.92	84.04	84.00	0.07
Control	0.827	0.826	0.829	(ค่าเฉลี่ย = 0.827)				

ตารางที่ จ-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.686	0.687	0.687	19.58	19.46	19.46	19.50	0.07
0.063	0.648	0.650	0.647	24.03	23.80	24.15	23.99	0.18
0.125	0.567	0.570	0.571	33.53	33.18	33.06	33.26	0.24
0.250	0.457	0.455	0.455	46.42	46.66	46.66	46.58	0.14
0.500	0.362	0.361	0.359	57.56	57.68	57.91	57.72	0.18
1.000	0.257	0.258	0.263	69.87	69.75	69.17	69.60	0.38
2.000	0.178	0.175	0.177	79.13	79.48	79.25	79.29	0.18
Control	0.851	0.853	0.856	(ค่าเฉลี่ย = 0.853)				

ตารางที่ จ-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่  
ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
0.031	0.503	0.502	0.500	18.87	19.03	19.36	19.09	0.25	
0.063	0.477	0.475	0.473	23.07	23.39	23.71	23.39	0.32	
0.125	0.444	0.443	0.442	28.39	28.55	28.71	28.55	0.16	
0.250	0.360	0.365	0.362	41.94	41.13	41.61	41.56	0.41	
0.500	0.300	0.299	0.299	51.61	51.77	51.77	51.72	0.09	
1.000	0.229	0.228	0.227	63.07	63.23	63.39	63.23	0.16	
2.000	0.190	0.190	0.191	69.36	69.36	69.19	69.30	0.09	
Control	0.622	0.619	0.619	(ค่าเฉลี่ย = 0.620)					

ตารางที่ จ-10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสที่  
ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -glucosidase inhibition				เฉลี่ย	S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
0.031	0.333	0.336	0.333	33.00	32.39	33.00	32.80	0.35	
0.063	0.317	0.320	0.310	36.22	35.61	37.63	36.49	1.03	
0.125	0.282	0.280	0.285	43.26	43.66	42.66	43.19	0.51	
0.250	0.257	0.255	0.253	48.29	48.69	49.10	48.69	0.40	
0.500	0.210	0.215	0.209	57.75	56.74	57.95	57.48	0.65	
1.000	0.169	0.170	0.172	66.00	65.80	65.39	65.73	0.31	
2.000	0.103	0.109	0.108	79.28	78.07	78.27	78.54	0.65	
Control	0.497	0.498	0.496	(ค่าเฉลี่ย = 0.497)					

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้

ภาคผนวก จ

การเตรียมสาร และการคำนวณฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

(Anti- $\alpha$ -amylase assay)

## 6. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Anti- $\alpha$ -amylase assay)

### 6.1 เตรียมสารละลายในการทดสอบ

#### 6.1.1 การเตรียม phosphate buffer pH 6.8 50 mM โดยผสมสารดังต่อไปนี้

1. A: เตรียม Monobasicsodiumphosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0.2 M

(stock A: ชั่ง  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  15.601 g (MW = 156.01 g/mol) ละลายในน้ำ 500 mL)

2. B: เตรียม dibasicsodiumphosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0.2 M

(stock B: ชั่ง  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  17.799 g (MW = 177.99 g/mol) ละลายในน้ำปริมาตร 500 mL)

3. นำสารละลาย A ปริมาตร 51 mL และสารละลาย B ปริมาตร 49 mL มาผสมกัน วัด pH ให้ได้ 6.8 ถ้าไม่ได้ให้ปรับ pH ด้วยสารละลาย NaOH หรือ HCl เมื่อได้ pH 6.8 แล้ว ให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 200 mL (0.1 M) แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 50 mM

6.1.2 สารละลาย PNPG ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 2 mM (ชั่ง PNPG 6.6 mg, (MW= 659.98) ละลายในน้ำ 5 mL)

6.1.3 เอนไซม์  $\alpha$ -amylase ละลายใน phosphate buffer 10 mg/mL (324 U/mL)

6.1.4 สารละลาย sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 1 mM

6.1.5 สารมาตรฐาน Acabose ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 20–0.15 mg/mL (เตรียม Acabose 20 mg/mL: ชั่ง Acabose 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL แล้วเจือจางแบบ 2-fold จนได้ความเข้มข้นในช่วง 20–0.15 mg/mL)

6.1.6 สารละลายตัวอย่าง ในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 20–0.15 mg/mL

### 6.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/ml) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 20 mg/ml) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย sodium phosphate buffer (pH 6.8) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 10 mg/mL ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2-chloro-4-nitro-phenyl- $\alpha$ -D-maltotriose ความเข้มข้น 2.0 mM ปริมาตร 20  $\mu\text{L}$  ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 นาที สุดท้ายเติมสารละลายโซเดียม คาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 1.0 mM ปริมาตร 40 ไมโครลิตร แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ด้วย

เครื่อง Microplate Reader คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%  $\alpha$ -amylase inhibition)

6.3 การคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%  $\alpha$ -amylase inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \alpha\text{-amylase inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.299 (A) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ เท่ากับ 0.301 (B)

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad \% \alpha\text{-amylase inhibition} &= [(A - B)/A] \times 100 \\ \text{แทนค่า} &= [(0.301 - 0.299)/0.301] \times 100 \\ &= 0.664 \end{aligned}$$

สารสกัดหยาบจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 2 mg/mL ครั้งที่ 1 มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เท่ากับ 0.664

นำค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่คำนวณได้ทั้ง 3 ครั้งมาหาค่าเฉลี่ย จะได้ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในสารสกัดหยาบจากฝักอ่อนของบัวหลวงสีขาว

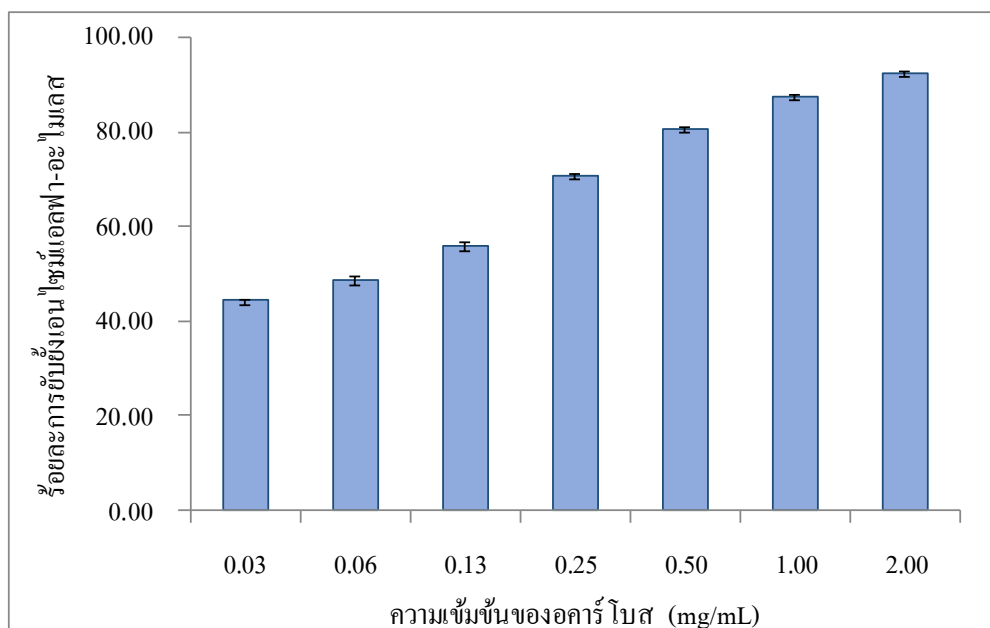
6.4 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารมาตรฐานอการ์โบส

ตารางที่ ฅ-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารมาตรฐานอการ์โบส

ความเข้มข้น ของอการ์โบส <sup>b</sup> (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
0.031	0.172	0.172	0.171	44.28	44.28	44.60	44.38	0.19
0.063	0.161	0.157	0.157	47.84	49.14	49.14	48.70	0.75
0.125	0.137	0.133	0.138	55.62	56.91	55.29	55.94	0.86
0.250	0.091	0.090	0.089	70.52	70.84	71.17	70.84	0.32
0.500	0.058	0.060	0.060	81.21	80.56	80.56	80.78	0.37
1.000	0.039	0.038	0.038	87.37	87.69	87.69	87.58	0.19
2.000	0.022	0.023	0.024	92.87	92.55	92.23	92.55	0.32
Control (A)	0.309	0.308	0.309	(เฉลี่ย = 0.309)				

b: สารมาตรฐาน





ภาพที่ ๑-1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ของสารมาตรฐานอการ์โบส

6.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆของบัวหลวงสีขาวและบัวหลวงสีชมพู

ตารางที่ ๑-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				S.D.
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
0.031	0.299	0.298	0.296	0.66	1.00	1.66	1.11	0.51
0.063	0.296	0.296	0.294	1.66	1.66	2.33	1.88	0.38
0.125	0.288	0.286	0.287	4.32	4.98	4.65	4.65	0.33
0.250	0.259	0.260	0.258	13.95	13.62	14.29	13.95	0.33
0.500	0.224	0.220	0.223	25.58	26.91	25.91	26.14	0.69
1.000	0.153	0.152	0.153	49.17	49.50	49.17	49.28	0.19
2.000	0.093	0.095	0.099	69.10	68.44	67.11	68.22	1.02
Control	0.302	0.302	0.299	(เฉลี่ย = 0.301)				

ตารางที่ น-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของเกสร

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.316	0.318	0.318	0.94	0.31	0.31	0.52	0.36
0.063	0.311	0.310	0.312	2.51	2.82	2.19	2.51	0.31
0.125	0.294	0.292	0.293	7.84	8.46	8.15	8.15	0.31
0.250	0.272	0.271	0.272	14.73	15.05	14.73	14.84	0.18
0.500	0.241	0.241	0.242	24.45	24.45	24.14	24.35	0.18
1.000	0.199	0.198	0.198	37.62	37.93	37.93	37.83	0.18
2.000	0.130	0.130	0.127	59.25	59.25	60.19	59.56	0.54
Control	0.321	0.318	0.317	(เฉลี่ย = 0.319)				

ตารางที่ น-4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.239	0.238	0.238	21.12	21.45	21.45	21.34	0.19
0.063	0.219	0.218	0.223	27.72	28.05	26.40	27.39	0.87
0.125	0.181	0.184	0.183	40.26	39.27	39.60	39.71	0.50
0.250	0.140	0.140	0.142	53.80	53.80	53.14	53.58	0.38
0.500	0.081	0.080	0.079	73.27	73.60	73.93	73.60	0.33
1.000	0.027	0.026	0.027	91.09	91.42	91.09	91.20	0.19
2.000	0.002	0.005	0.002	99.34	98.35	99.34	99.01	0.57
Control	0.305	0.302	0.301	(เฉลี่ย = 0.303)				

ตารางที่ น-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีขาวส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.242	0.110	0.109	22.44	64.74	65.06	22.44	0.00
0.063	0.209	0.206	0.206	33.01	33.97	33.97	33.65	0.56
0.125	0.171	0.167	0.168	45.19	46.47	46.15	45.94	0.67
0.250	0.133	0.131	0.130	57.37	58.01	58.33	57.91	0.49
0.500	0.077	0.078	0.080	75.32	75.00	74.36	74.89	0.49
1.000	0.034	0.031	0.029	89.10	90.06	90.71	89.96	0.81
2.000	0.009	0.011	0.008	97.12	96.47	97.44	97.01	0.49
Control	0.314	0.312	0.310	(เฉลี่ย = 0.312)				

ตารางที่ น-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของฝักอ่อน

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.262	0.263	0.262	9.966	9.622	9.966	9.851	0.198
0.063	0.248	0.251	0.249	14.777	13.746	14.433	14.318	0.525
0.125	0.227	0.226	0.227	21.993	22.337	21.993	22.108	0.198
0.250	0.177	0.175	0.178	39.175	39.863	38.832	39.290	0.525
0.500	0.126	0.124	0.126	56.701	57.388	56.701	56.930	0.397
1.000	0.074	0.073	0.072	74.570	74.914	75.258	74.914	0.344
2.000	0.016	0.021	0.019	94.502	92.784	93.471	93.585	0.865
Control	0.289	0.291	0.293	(เฉลี่ย = 0.291)				

ตารางที่ น-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของเกสร

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.262	0.261	0.262	9.97	10.31	9.97	10.08	0.20
0.063	0.249	0.249	0.250	14.43	14.43	14.09	14.32	0.20
0.125	0.228	0.229	0.228	21.65	21.31	21.65	21.54	0.20
0.250	0.181	0.184	0.183	37.80	36.77	37.11	37.23	0.53
0.500	0.138	0.137	0.137	52.58	52.92	52.92	52.81	0.20
1.000	0.097	0.099	0.096	66.67	65.98	67.01	66.55	0.53
2.000	0.058	0.061	0.064	80.07	79.04	78.01	79.04	1.03
Control	0.291	0.293	0.289	(เฉลี่ย = 0.291)				

ตารางที่ น-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของกลีบดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.314	0.315	0.312	1.26	0.94	1.89	1.36	0.48
0.063	0.309	0.310	0.309	2.83	2.52	2.83	2.73	0.18
0.125	0.275	0.278	0.274	13.52	12.58	13.84	13.31	0.66
0.250	0.205	0.206	0.204	35.54	35.22	35.85	35.54	0.31
0.500	0.141	0.142	0.141	55.66	55.35	55.66	55.56	0.18
1.000	0.075	0.074	0.073	76.42	76.73	77.04	76.73	0.31
2.000	0.031	0.028	0.029	90.25	91.20	90.88	90.78	0.48
Control	0.317	0.321	0.317	(เฉลี่ย = 0.318)				

ตารางที่ ๙-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่  
ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงสีชมพูส่วนของก้านดอก

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.285	0.282	0.284	6.86	7.84	7.19	7.30	0.50
0.063	0.262	0.260	0.261	14.38	15.03	14.71	14.71	0.33
0.125	0.226	0.225	0.226	26.14	26.47	26.14	26.25	0.19
0.250	0.182	0.182	0.180	40.52	40.52	41.18	40.74	0.38
0.500	0.133	0.136	0.135	56.54	55.56	55.88	55.99	0.50
1.000	0.088	0.090	0.090	71.24	70.59	70.59	70.81	0.38
2.000	0.009	0.007	0.010	97.06	97.71	96.73	97.17	0.50
Control	0.306	0.305	0.308	(เฉลี่ย = 0.306)				

ตารางที่ ๙-10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm และค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส  
ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากบัวหลวงส่วนของใบ

ความเข้มข้นของ สารสกัด (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)			% $\alpha$ -amylase inhibition				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	S.D.
0.031	0.293	0.294	0.295	3.93	3.61	3.28	3.61	0.33
0.063	0.278	0.281	0.277	8.85	7.87	9.18	8.63	0.68
0.125	0.244	0.242	0.242	20.00	20.66	20.66	20.44	0.38
0.250	0.210	0.211	0.209	31.15	30.82	31.48	31.15	0.33
0.500	0.175	0.176	0.176	42.62	42.30	42.30	42.40	0.19
1.000	0.116	0.115	0.114	61.97	62.30	62.62	62.30	0.33
2.000	0.020	0.019	0.017	93.44	93.77	94.43	93.88	0.50
Control	0.306	0.306	0.303	(เฉลี่ย = 0.305)				

a: ไม่สามารถจำแนกชนิดของบัวได้