



การศึกษาอิทธิพลของการเตรียมกระชายขาวด้วยความร้อนต่อฤทธิ์
การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS ASSAY ในห้องปฏิบัติการ
EFFECT OF HEAT EXPOSURE ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
FINGERROOT: AN IN VITRO STUDY USING ABTS ASSAY

ฉัตร โรจน์บวรวิทยา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2564

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาอิทธิพลของการเตรียมกระชายขาวด้วยความร้อนต่อฤทธิ์
การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS ASSAY ในห้องปฏิบัติการ
EFFECT OF HEAT EXPOSURE ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
FINGERROOT: AN IN VITRO STUDY USING ABTS ASSAY

ฉัตร โรจน์บวรวิทยา

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาอิทธิพลของการเตรียมกระชายขาวด้วยความร้อนต่อฤทธิ์
การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS ASSAY ในห้องปฏิบัติการ
EFFECT OF HEAT EXPOSURE ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
FINGERROOT: AN IN VITRO STUDY USING ABTS ASSAY

ฉัตร โรจน์บวรวิทยา

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

2564

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทรวรรณ สิริธิประภาพร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ดร.อาริญา สาริกะภูติ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นฤนันท์ วุฒิสินธุ์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปันดี)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จากความกรุณาของคณาจารย์สำนักวิชา
เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และความช่วยเหลือของศูนย์ความเป็น
เลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อาริญา สาริกะภูติ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วย
ศาสตราจารย์ ดร.นฤนันท วุฒิสินธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ แนวทาง และช่วย
ตรวจทานแก้ไขการค้นคว้าอิสระนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทรวรรณ สิริประภาพร ประธานกรรมการสอบ
และรองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปันดี กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำแก้ไข

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.สังวรรณ กิจทวี ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาทางด้าน
สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรเมศร์ พิทักษ์อรรถนพ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการ
จัดทำบทคัดย่อ

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวของผู้วิจัย ที่คอยสนับสนุน
ช่วยเหลือ จนการค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จสมบูรณ์

ฉัตร โรจน์บวรวิทยา

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การศึกษาอิทธิพลของการเตรียมกระชายขาวด้วยความร้อน ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS Assay ในห้องปฏิบัติการ
ชื่อผู้เขียน	ฉัตร โรจน์บวรวิทยา
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.อาริญา สาริกะภูติ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นณันท์ วุฒิสินธุ์

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกาย ทำให้เกิดความชราและโรคต่าง ๆ ตามมา ซึ่งเราไม่สามารถหลีกเลี่ยงการเกิดอนุมูลอิสระได้ แต่การเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระให้แก่ร่างกายจะช่วยชะลอความเสื่อมนี้ได้ สมุนไพรไทยหลายชนิด รวมทั้งกระชายขาว เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

วัตถุประสงค์: การศึกษาครั้งนี้มุ่งตอบคำถามวิจัยที่ว่า “การเตรียมกระชายขาวด้วยการใช้ความร้อนมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรนี้อย่างไร”

วิธีการ: ผู้วิจัยได้ออกแบบและดำเนินการวิจัยในห้องปฏิบัติการ โดยใช้กระชายขาว 5 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดสอบ ตัวแปรทำนายของงานวิจัยนี้คือวิธีการเตรียมกระชายขาว ได้แก่ กลุ่มที่ 1 สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง กลุ่มที่ 2 สกัดด้วยน้ำต้มเดือด และกลุ่มที่ 3 อบด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำต้มเดือด ตัวแปรตามที่น่าสนใจคือ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกระชายด้วยวิธี ABTS assay ตัวสถิติที่เหมาะสมถูกใช้ในการคำนวณนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษา: วิธีการเตรียมกระชายเป็นตัวแปรที่ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกระชายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพิจารณาจาก % radical scavenging (กลุ่มที่ 1-3:

5.59±0.05, 27.94±0.71, และ 69.94±1.44 ตามลำดับ; $P < 0.0001$ ทดสอบด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว) และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC; กลุ่มที่ 1-3: 1.96±0.02, 9.79±0.25, และ 24.49±0.5; ตามลำดับ; $P < 0.0001$ ทดสอบด้วยตัวสถิติเดียวกัน)

สรุปผลการศึกษา: ผลการศึกษาชี้ว่า การอบกระชายขาวก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำต้มเดือดจะได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

คำสำคัญ: กระชายขาว, การเตรียมด้วยความร้อน, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, ABTS Assay



Independent Study Title	Effect of Heat Exposure on Antioxidant Activity of Fingerroot: An in Vitro Study Using ABTS Assay
Author	Chat Rojborwonwitaya
Degree	Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Science)
Advisor	Ariya Sarikaphuti, Ph. D.
Co-Advisor	Asst. Prof. Narunan Wuttisin, Ph. D.

ABSTRACT

Background: Free radicals linked to physical deterioration in humans are not completely preventable, but their effects can be counterbalanced by antioxidants. Fingerroot is one of the Thai herbals with antioxidants.

Objective: The aim of this study was to answer the research question: "How does heat exposure influence the antioxidant activity of fingerroot?"

Methods: The investigator designed and implemented an in vitro experimental study design using five samples in each experiment group. The primary predictor variable was antioxidant extraction methods (fresh fingerroot extracted with room-temperature water [group 1] vs. with boiling water [group 2] vs. with boiling water after being baked at 60 °C for six hours [group 3]). The main outcome variable was antioxidant activity as assessed by the ABTS assay. Appropriate statistics were computed at $\alpha = 95\%$.

Results: The antioxidant extraction (i.e., heat exposure) method was a significant predictor for percent radical scavenging (group 1, 2, and 3: $5.59 \pm 0.05\%$ vs. $27.94 \pm 0.71\%$

vs. $69.94 \pm 1.44\%$; one-way ANOVA: $P < 0.0001$) and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC; group 1, 2, and 3: 1.96 ± 0.02 vs. 9.79 ± 0.25 vs. $24.49 \pm 0.5\%$; one-way ANOVA: $P < 0.001$).

Conclusions: The results of this study suggest that the fingerroot should be baked before boiling to achieve the highest antioxidant activity.

Keywords: Fingerroot, Heat Exposure, Antioxidant Activity, ABTS Assay



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 สมมติฐาน	3
1.4 ขอบเขตการศึกษา	3
1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย	4
1.6 ตัวแปรที่ศึกษา	4
1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
2 ทบทวนวรรณกรรม (เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง)	7
2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกระชาย	7
2.2 อนุมูลอิสระ (Free Radical)	8
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	9
2.4 สารประกอบฟีนอลิกในพืชและคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน	10
2.5 การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน	10
2.6 การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS Assay	12
2.7 ผลกระทบของการได้รับความร้อนต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ	16

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	18
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	18
3.2 สถานที่ทำการศึกษา	19
3.3 ขั้นตอนการศึกษา	19
3.4 สถิติทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูล	22
4 ผลการวิจัย	23
4.1 กราฟมาตรฐาน Trolox โดยใช้ ABTS Assay	23
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay	24
5 สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ	27
5.1 สรุปผลการศึกษา	27
5.2 อภิปรายผล	27
5.3 ข้อเสนอแนะ	29
รายการอ้างอิง	30
ภาคผนวก	34
ภาคผนวก ก แบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบ	35
ภาคผนวก ข กราฟแสดงผลการทดสอบ	36

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
4.1 ความเข้มข้นของ Trolox และ % Inhibition ที่นำมาใช้สร้างกราฟมาตรฐาน Trolox	23
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay	24
4.3 ค่า % Radical Scavenging ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม	25
4.4 ค่า TEAC ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม	26



สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดงานวิจัย	4
1.2 ปฏิกริยาระหว่างอนุมูลอิสระ ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ	5
2.1 ปฏิกริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ	9
2.2 การกำจัดอนุมูลอิสระโดยการถ่ายโอนอะตอมของไฮโดรเจน	11
2.3 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนเพื่อลดไอออนที่เป็นโลหะ หมู่คาร์บอนิล และอนุมูลอิสระ	11
2.4 การเกิดปฏิกิริยาของ ABTS	13
2.5 การสร้างอนุมูลอิสระ ABTS ที่เสถียรจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง ABTS กับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต	13
2.6 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ	14
2.7 การคำนวณหาค่า %ABTS Radical Cation Scavenging Activity	14
2.8 การเปลี่ยนของสีใน ABTS Assay	15
4.1 กราฟมาตรฐาน Trolox โดยใช้ ABTS Assay	24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กระชาย (fingerroot) (กระชายขาว, กระชายเหลือง) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นอยู่ใต้ดินมีรากติดเป็นกระจุกเป็นที่สะสมอาหาร ใบเป็นใบเดี่ยว มีดอกเป็นช่อ (สำนักงานความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้ กรมป่าไม้, 2564)

ประโยชน์ของกระชาย คือ

1. บำรุงผม

กระชายสามารถช่วยบำรุงเส้นผมแห้งเสียหรืออ่อนแอให้กลับมาแข็งแรง ช่วยแก้ปัญหาผมขาวให้กลับมาดำ เปลี่ยนผมบางเป็นผมหนาได้ สามารถจัดการปัญหาผมร่วงและผมหงอกได้

2. ด้านการอักเสบ

การรับประทานกระชายอย่างต่อเนื่อง จะได้รับผลเหมือนการทานยาแอสไพริน โดยจะช่วยแก้ปัญหการอักเสบเรื้อรังของร่างกาย

3. เพิ่มพลังให้ร่างกาย

กระชายสามารถนำมาทำเครื่องดื่มบำรุงกำลังได้ โดยการนำมาปั่นแล้วดื่ม กระชายจะช่วยให้เพิ่มความสดชื่นให้ร่างกาย ทำให้รู้สึกมีพลัง กระปรี้กระเปร่า

4. รักษาโรคทั่วไป

กระชายใช้เป็นยารักษาโรคได้หลายขนาน เช่น บำรุงสมอง แก้อาการวิงเวียนศีรษะ ทำให้ความดันโลหิตเป็นปกติ บำรุงตับ รักษาโรคกระเพาะ ทำให้ไตแข็งแรง ช่วยป้องกันไทรอยด์เป็นพิษ แก้อาการแน่นหน้าอก และแก้โรคในปาก

5. ใช้ลดน้ำหนัก

จากการศึกษาวิจัยในประเทศเกาหลีใต้พบว่า การรับประทานกระชายวันละ 300 – 600 มิลลิกรัม จะทำให้อ้วนและระดับไขมันลดลงได้ใน 12 สัปดาห์

6. บำรุงลำไส้

เหง้ากระชายมีรสชาติเผ็ดร้อน สามารถใช้บรรเทาอาการปวดท้อง ท้องอืดท้องเฟ้อได้ นอกจากนี้ กระชายยังมีสารซิเนออล หรือซิเนโอเล (cineol, cineole) ที่มีฤทธิ์ช่วยลดการบีบตัวของลำไส้ ช่วยบรรเทาอาการปวดท้อง นอกจากนี้ยังใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังได้ด้วย

7. แก้อาการบิด

เหง้าและรากของกระชายสามารถใช้รักษาอาการบิด ถ่ายเป็นมูกเลือดได้ ช่วยขับปัสสาวะ และยังใช้เป็นยารักษากลากเกลื้อนได้

8. ส่งเสริมสมรรถภาพทางเพศ

กระชายช่วยส่งเสริมสมรรถภาพทางเพศให้ดีขึ้นได้ เนื่องจากกระชายมีส่วนช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดไปยังอวัยวะเพศ เพิ่มปริมาณและความหนาแน่นของอสุจิ ทำให้ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเพิ่มขึ้นได้

สรรพคุณทางยาของกระชาย

เหง้าและรากใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง ท้องเดิน ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้ปวดท้อง แก้บิด แก้โรคกระเพาะ แก้อาการไอหอบ อักเสบ ยาบำรุงหัวใจ แก้ใจสั่น บำรุงกำหนด ลดน้ำตาลในเลือด ยารักษาโรคผิวหนัง ทวาร ยาแก้ไอ แก้แผลในปาก ยาอายุวัฒนะ มีรสเผ็ดร้อนขม กลิ่นหอมฉุนเฉพาะตัว (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2564)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) ในอะตอมหรือโมเลกุล เกิดได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) และจะไปทำลายชีวโมเลกุลได้ทุกประเภท เป็นสาเหตุให้เกิดเซลล์ตาย การกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) รวมทั้งโรคทางเดินหายใจต่าง ๆ โดยนอกจากอนุมูลอิสระจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วยังเกิดได้จากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) จากรังสี จากมลภาวะ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร และจากยาบางชนิด จะเห็นได้ว่า อนุมูลอิสระนั้นเกิดได้จากหลายสาเหตุ และส่งผลเสียต่อร่างกายเป็นวงกว้าง ซึ่งเราไม่สามารถหลีกเลี่ยงอนุมูลอิสระในชีวิตประจำวันได้

สารต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยกลไกหลายแบบ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระนั้นมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ในส่วนของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาตินั้นสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอ็นไซม์ วิตามินและสารอื่น ๆ (บุหรัน พันธุ์สุวรรณ, 2556)

ในส่วนของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระชายนั้น จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากระชายเป็นพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาร Boesenbergin A (Isa et al., 2012) แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระชายขาว เมื่อเปรียบเทียบกระชายแบบสดกับกระชายที่ผ่านความร้อนโดยการอบหรือต้มเดือดนั้น กระชายในรูปแบบใดจะให้หรือคงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไว้ได้มากกว่ากัน ซึ่งถ้ารูปแบบใดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่านั้น ก็สามารถนำไปปรับใช้ในรูปแบบการรับประทานหรือออกเป็นแนวทางในการใช้กระชายขาวเพื่อให้ได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay

1.3 สมมติฐาน

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกระชายอบสูงกว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกระชายสด

1.4 ขอบเขตการศึกษา

1.4.1 เตรียมสารสกัดกระชายขาว 3 กลุ่มตัวอย่าง คือ

กลุ่มที่ 1 กระชายขาวสด สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง

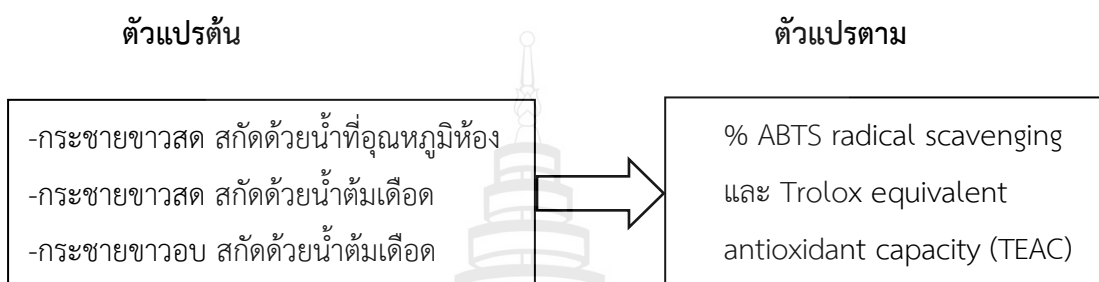
กลุ่มที่ 2 กระชายขาวสด สกัดด้วยน้ำต้มเดือด

กลุ่มที่ 3 กระชายขาวอบ สกัดด้วยน้ำต้มเดือด

1.4.2 ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายขาว 3 กลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธี ABTS Assay

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย

การเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay ดังภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

1.6 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้นคือเหง้ากระชายแบบสด และเหง้ากระชายแบบอบ ตัวแปรตามคือระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ

1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.7.1 กระชาย

กระชาย (กระชายขาว, กระชายเหลือง) มีชื่อสามัญว่า Fingerroot, Chinese ginger, Chinese keys, Galingale มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. จัดอยู่ในวงศ์ขิง (zingiberaceae) สมุนไพรกระชาย มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า วานพระอาทิตย์ (กรุงเทพมหานคร), กระชายดำ กะแอน จิงทราย (มหาสารคาม), จีปู ซีฟู เปาซอเระ๊ะ เป้าสี่ เป้าสี่ ระแอน เป้าซอเระ๊ะ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), ละแอน (ภาคเหนือ), ขิงจีน เป็นต้น

กระชายจัดเป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าสั้น แตกหน่อได้ มีรากอวบ เป็นรูปทรงกระบอกหรือรูปทรงไข่ค่อนข้างยาว ปลายเรียว มีความยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร

ออกเป็นกระจุก ผิวมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนเนื้อในมีสีเหลืองและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มักพบขึ้นในป่าดิบร้อนชื้น (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์ จังหวัดสุรินทร์, 2564)

ส่วนของกระชายที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นส่วนส่วนเหง้า แ่ง หรือไรโซม (rhizome) ของกระชาย เนื่องจากเป็นส่วนที่นิยมใช้รับประทานทั้งในรูปแบบของเครื่องเทศและสมุนไพร (Chaiyasit et al., 2021)

1.7.2 กระชายสด

ส่วนเหง้า แ่ง หรือไรโซม (rhizome) ของกระชายขาว

1.7.3 กระชายอบ

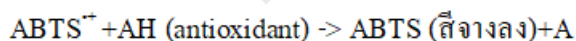
ส่วนเหง้า แ่ง หรือไรโซม (rhizome) ของกระชายขาวอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (กวิน สุขสิงห์ และวรรณิ จิรภาคย์กุล, 2554)

1.7.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วัดคุณสมบัติในการยับยั้ง ABTS radical ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยดูจากค่า % ABTS radical scavenging และค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ของกระชายสด กระชายอบและกระชายต้มเดือด

1.7.5 วิธีวิเคราะห์ ABTS Assay

วิธี ABTS assay หรือ ABTS radical cation decolorization assay ในการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารจำเพาะหรือสารสกัด เป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระ ABTS โดยสาร ABTS (ABTS^{•+}, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารที่มีสีเขียวปนน้ำเงินดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร และด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่สูงของ ABTS สาร ABTS จึงต้องถูกเจือจางด้วยสารฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ก่อนนำ ABTS ไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ซึ่งจะทำให้สีจางลง ดังภาพที่ 1.2



ที่มา บุهران พันธุ์สุวรรณค์ (2556)

ภาพที่ 1.2 ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยจะหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้จากการวัดค่าสีที่จางลง จากนั้นนำไป
คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม (เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง)

2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกระชาย

กระชาย (กระชายขาว, กระชายเหลือง) มีชื่อสามัญว่า Fingerroot, Chinese ginger, Chinese keys, Galangale มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. จัดอยู่ในวงศ์ ิง (zingiberaceae) สมุนไพรกระชาย มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า ว่านพระอาทิตย์ (กรุงเทพมหานคร), กระชายดำ กะแอน ิงทราย (มหาสารคาม), จี๊ปู ซีฟู เปาซอเราะะ เป้าสี่ เป้าสี่ ระแอน เป้าซอเราะะ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), ละแอน (ภาคเหนือ), ิงจิ้น เป็นต้น

ลักษณะของกระชาย

ต้นกระชาย มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยจัดเป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าสั้น แดงหน่อได้ มีรากอวบ เป็นรูปทรงกระบอกหรือรูปทรงไข่ค่อนข้างยาว ปลายเรียว มีความยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร ออกเป็นกระจุก ผิวมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนเนื้อในมีสีเหลืองและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มักพบขึ้นในป่าดิบร้อนชื้น

ใบกระชาย คือลักษณะของส่วนที่อยู่เหนือดิน มีประมาณ 2-7 ใบ ลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ ลักษณะเป็นรูปรี ใบยาวประมาณ 12-50 เซนติเมตรและกว้างประมาณ 5-12 เซนติเมตร โคนใบมนหรือแหลม ส่วนปลายใบเรียวแหลม มีขอบเรียบ เส้นกลางใบ ด้านใบ และกาบใบด้านบนจะเป็นร่อง ส่วนด้านล่างจะนูนเป็นสัน ด้านใบเรียบมีความยาวประมาณ 7-25 เซนติเมตร ส่วนกาบใบเป็นสีชมพูยาวประมาณ 7-25 เซนติเมตร ระหว่างก้านใบและกาบใบจะมีลิ้นใบ

ดอกกระชาย ออกดอกเป็นช่อแบบช่อเชิงลด โดยจะออกที่ยอดระหว่างกาบใบคู่ในสุด มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร แต่ละดอกจะมีใบประดับ 2 ใบ มีสีขาวหรือสีขาวอมชมพูอ่อน ๆ เป็นรูปใบหอกกว้างประมาณ 8 มิลลิเมตร และยาวประมาณ 3.5-4.5 เซนติเมตร ที่กลีบเลี้ยงมีสีขาวหรือสีขาวอมชมพูอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 1.7 เซนติเมตร ปลายจะแยกเป็น 3 แฉก ส่วนกลีบดอกมีสีขาวหรือสีขาวอมชมพูอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร และปลายแยกเป็น 3 กลีบ เป็นรูปใบหอก มีขนาดไม่เท่ากัน กลีบใหญ่มี 1 กลีบ กว้างประมาณ 7 มิลลิเมตรและยาวประมาณ

1.8 เซนติเมตร ส่วนอีก 2 กลีบจะมีขนาดเท่ากัน กว้างประมาณ 5 มิลลิเมตร และยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร มีเกสรตัวผู้อยู่ 6 อัน แต่มี 5 อันที่เปลี่ยนไปมีลักษณะเหมือนกลีบดอก โดย 2 กลีบบนมีสีชมพู รูปไข่กลับขนาดเท่ากัน มีความกว้างประมาณ 1.2 เซนติเมตร และยาวประมาณ 1.7 เซนติเมตร ส่วนอีก 3 กลีบล่างมีสีชมพูติดกันเป็นกระพุ้ง มีความกว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2.7 เซนติเมตร และที่ปลายจะแผ่กว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร มีสีชมพูหรือสีม่วงแดงเป็นเส้นอยู่เกือบทั้งกลีบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งตรงกระเปาะและปลายกลีบ จะมีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์อยู่ 1 อัน ก้านชูอับเรณูหุ้มก้านเกสรตัวเมีย

ผลกระชาย ผลแก่จะแตกเป็น 3 เลี้ยง มีเมล็ดค่อนข้างใหญ่ (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์ จังหวัดสุรินทร์, 2564)

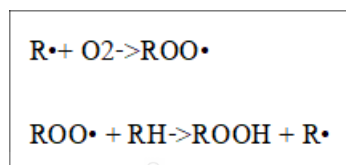
ในปี 2560 พิชญา ฤทธิ์เจริญ ได้ศึกษาการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายเหลือง กระชายแดง และ กระชายดำ พบว่าจากสารสกัดกระชายทั้ง 3 ชนิด สารสกัดกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด และสารสกัดกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด และสารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ขณะที่การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) พบว่าสารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระชายต่างชนิดกันมีปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน (พิชญา ฤทธิ์เจริญ, 2560)

ในปี 2021 Chaiyasit et al. ได้ทำการศึกษาพืชที่มีผลทางการแพทย์และการสื่อสารอย่างระมัดระวังในการใช้สมุนไพรระหว่างการติดเชื้อใหญ่ของ COVID-19 ได้ให้รายละเอียดว่า ส่วนไรโซม (rhizome) หรือส่วนเหง้าหรือแง่นั้นเป็นส่วนของกระชาย (*boesenbergia rotunda* หรือ finger root) ที่นิยมใช้เป็นเครื่องเทศหรือสมุนไพร (Chaiyasit et al., 2021)

2.2 อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระ หรือ Free radical คือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือในโมเลกุล พบได้ทั้งในสิ่งแวดล้อมและในสิ่งมีชีวิต กระบวนการสร้างพลังงานในเซลล์หรือกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) เป็นกลไกที่ทำให้เกิดการย้ายอิเล็กตรอน ทำให้เกิดโมเลกุลที่ไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระซึ่งมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา สามารถดึงอิเล็กตรอน

จากโมเลกุลอื่นมาทดแทนอิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดสมดุล ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ตลอดเวลา ดังภาพที่ 2.1



ทิมา บุหรีน พันธุ์สุวรรณค์ (2556)

ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen radical, อนุพันธ์ของ oxygen radical, hydrogen peroxide, transition metals, carbonate radical, nitrate radical, methyl radical, superoxide radical, peroxy radical, reactive oxygen species เป็นต้น

อนุมูลอิสระสามารถทำลายสารชีวโมเลกุลได้ทุกประเภท เป็นเหตุให้เซลล์ตาย เกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ ก่อให้เกิดโรคและความเสื่อมต่าง ๆ (บุหรีน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญในการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในสิ่งมีชีวิตเองจะมีระบบป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ คือสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ โดยสารเหล่านี้มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ กัน แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง คือสารต้านอนุมูลอิสระแบบสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) (บุหรีน พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

2.4 สารประกอบฟีนอลิกในพืชและคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

สารประกอบฟีนอลิกสามารถทำตัวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในหลายกลไก หมู่ไฮดรอกซิลฟีนอลิกเป็นตัวให้อิเลคตรอนที่ดี โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ให้อิเลคตรอนสามารถทำปฏิกิริยากับสารสกุรีแอคทีฟออกซิเจนและรีแอคทีฟไนโตรเจนได้ในขั้นสุดท้ายของปฏิกิริยาซึ่งจะตัดวงจรการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นใหม่ ตามการเกิดปฏิกิริยากับสารสกุรีแอคทีฟเริ่มต้นนั้น สารต้านอนุมูลอิสระถูกสร้างอยู่ในรูปอนุมูลอิสระซึ่งจะเสถียรกว่าอนุมูลอิสระเริ่มต้น ปฏิกิริยาระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของสารฟีนอลิกกับ π อิเล็กตรอนของวงแหวนเบนซีนให้คุณสมบัติเฉพาะของโมเลกุล ส่วนใหญ่จะทำให้อนุมูลอิสระเสถียรมากขึ้นโดยการย้ายตำแหน่ง

ความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระให้คุณลักษณะในการมีความสามารถที่จะจับกับไอออนของโลหะที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำตัวเป็นสารโปรออกซิแดนซ์ได้ด้วย โดยการจับโลหะซึ่งจะรักษาหรือเพิ่มการกระตุ้นหรือโดยการรีดิวซ์โลหะ ดังนั้นจึงเป็นการไปเพิ่มความสามารถที่จะเพิ่มการเป็นอนุมูลอิสระได้

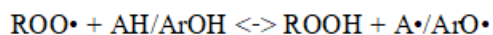
โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิกมักจะมีศักยภาพในการทำปฏิกิริยากับโปรตีน เนื่องจากว่ามีวงแหวนเบนซีนที่ไม่ชอบน้ำและมีศักยภาพในการเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิก ด้วยเหตุนี้ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์บางตัวที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลอิสระ เช่น cytochrome P450, lipoxygenases, cyclooxygenase และ xanthine oxidase (David et al., 2009)

2.5 การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธีตามปฏิกิริยาทางเคมี และอีกวิธีที่เกิดจากการผนวก 2 วิธีข้างต้นไว้ด้วยกัน วิธีการวิเคราะห์นั้น ได้แก่

2.5.1 Hydrogen Atom Transfer (HAT)

การทดสอบนี้อาศัยหลักการการถ่ายโอนอะตอมไฮโดรเจนโดยวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมของไฮโดรเจน กลไกของ HAT ถูกพิสูจน์ออกมาโดยมีการให้อะตอมของไฮโดรเจน (H) ของฟีนอล (ArOH) แก่อนุมูล peroxy สรุปเป็นปฏิกิริยาได้ดังภาพที่ 2.2



ที่มา Irina et al. (2021)

ภาพที่ 2.2 การกำจัดอนุมูลอิสระโดยการถ่ายโอนอะตอมของไฮโดรเจน

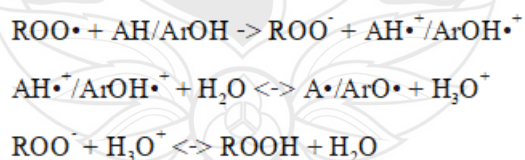
อนุมูล aryloxy (ArO•) ถูกสร้างจากปฏิกิริยาของฟีนอล (ArOH, สารต้านอนุมูลอิสระ) กับอนุมูล peroxy และ AH คือชีวโมเลกุลที่ถูกปกป้อง

สารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกที่มีประสิทธิภาพควรจะทำปฏิกิริยาเร็วกว่าสารชีวโมเลกุล (โมเลกุลที่ถูกปกป้อง) ที่มีอนุมูลอิสระเพื่อให้เกิดผลเป็นการป้องกันการเกิดออกซิเดชันนั้น

ตัวอย่างการทดสอบที่อาศัยหลักการของ HAT คือ Oxygen Radical Absorption Capacity (ORAC), Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP) และ Total Oxyradical Scavenging Capacity (TOSC) assays

2.5.2 Single Electron Transfer (SET)

การทดสอบอาศัยหลักการการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเดี่ยว เรียกอีกอย่างว่า การทดสอบการถ่ายโอนอิเล็กตรอน หรือ electron transfer (ET) โดยจะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่จะถ่ายโอนอิเล็กตรอนเพื่อลดไอออนที่เป็นโลหะ หมู่คาร์บอนิล และอนุมูลอิสระกลไกของ SET ในการเกิดปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระสรุปได้ดังภาพที่ 2.3



ที่มา Irina et al. (2021)

ภาพที่ 2.3 การถ่ายโอนอิเล็กตรอนเพื่อลดไอออนที่เป็นโลหะ หมู่คาร์บอนิล และอนุมูลอิสระ

การเกิดปฏิกิริยาของ SET จะขึ้นกับ pH อนุมูล aryloxy (ArO•) จะถูกออกซิไดซ์ร่วมกับควิโนน (Ar=O) ยิ่งการทำให้อนุมูล aryloxy เสถียรขึ้นเท่าไร การเกิดออกซิเดชันจาก ArOH เป็น Ar=O ก็ยิ่งง่ายขึ้นเท่านั้น เนื่องจากการลดลงของความสามารถในการเกิดรีดอกซ์ ปฏิกิริยาที่เกิดจากสารต้านอนุมูลอิสระในการทดสอบเหล่านี้มักถูกกระตุ้นด้วยตัวอย่างที่มีสีที่เหมาะสม

วิธีทดสอบของ SET ได้แก่ Folin–Ciocalteu test (FC) ferric reduction of antioxidant power (FRAP) และการทดสอบการรีดิวซ์ cupric antioxidant capacity (CUPRAC) ระดับของการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ (total antioxidant capacity)

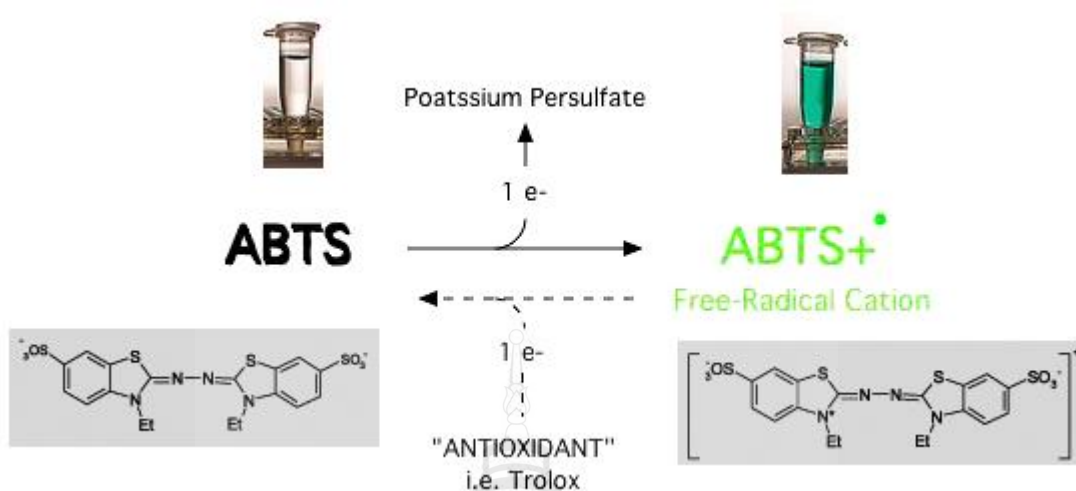
2.5.3 วิธีผสมผสาน (Mixed Mode tests, HAT/SET)

วิธีแบบผสมผสานนี้อาศัยหลักการการกำจัดโครโมฟอร์ที่เสถียร (เช่น 2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS) และ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)) วิธีผสมผสานประกอบไปด้วย ABTS/Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) test, DPPH radical neutralisation test และ N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (DMPD) radical neutralisation test (Irina et al., 2021)

2.6 การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS Assay

ABTS assay หรือ ABTS radical cation decolorization assay มีชื่ออีกอย่างหนึ่งว่า TEAC assay หรือ Trolox equivalent antioxidant capacity assay เป็นวิธีการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารจำเพาะหรือสารสกัด ซึ่งอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับสารอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกของ ABTS (ABTS•+, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) (Shahidi & Zhong, 2015)

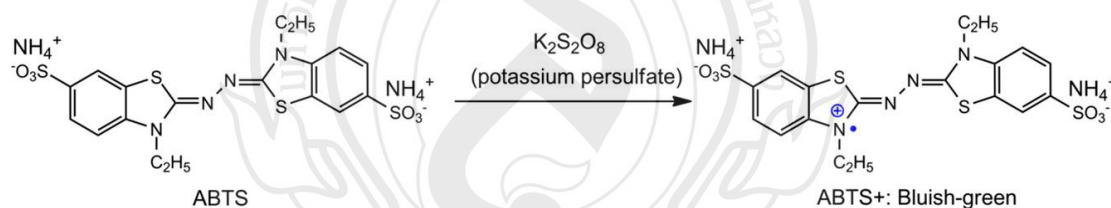
ABTS assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถฟอกสีอนุมูลอิสระของ ABTS ในเฟสที่เป็นน้ำ ได้ต่างกัน เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (อนุพันธ์วิตามินอีที่ละลายน้ำ) ABTS•+ จะถูกสร้างขึ้นโดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารออกซิไดซ์ที่มีความแรง (เช่นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต หรือโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต) กับเกลือของ ABTS ดังภาพที่ 2.4



ที่มา Boligon et al. (2014)

ภาพที่ 2.4 การเกิดปฏิกิริยาของ ABTS

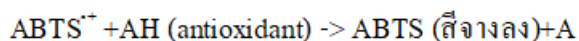
จากนั้นจะเกิดเป็นสารอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ซึ่งเป็นสารที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน มีโครงสร้างดังภาพที่ 2.5



ที่มา Fan et al. (2020)

ภาพที่ 2.5 การสร้างอนุมูลอิสระ ABTS ที่เสถียรจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง ABTS กับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต

ABTS^{•+} ดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร และด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่สูง สาร ABTS^{•+} จึงต้องถูกเจือจางด้วยสารฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ก่อนนำ ABTS ไปทำปฏิกิริยากับสาร Trolox หรือสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยให้สีเขียวนั้นจางลง ดังภาพที่ 2.4 และภาพที่ 2.6



ที่มา บุหรณ์ พันธุ์สุวรรณค์ (2556)

ภาพที่ 2.6 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะสามารถหาได้จากการวัดค่าสีที่จางลง จากนั้นนำไปคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน (บุหรณ์ พันธุ์สุวรรณค์, 2556)
คำนวณหาค่า % ABTS radical cation scavenging activity ตามภาพที่ 2.7

$$\% \text{ ABTS radical cation scavenging activity} = (\text{A control} - \text{A measure}) / \text{A control} \times 100$$

ที่มา มะลิวรรณ อมตธงไชย (2553)

ภาพที่ 2.7 การคำนวณหาค่า %ABTS radical cation scavenging activity

โดย A control เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม และ A measure เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง (มะลิวรรณ อมตธงไชย, 2553)

แล้วนำค่า % ABTS radical cation scavenging activity มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน โดยทั่วไปจะวัดผลที่ได้ในรูปของ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

ข้อดีของวิธีนี้คือ เกิดปฏิกิริยาได้รวดเร็ว ABTS^{•+} สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้สามารถวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งตัวอย่างหรือสารประกอบที่ชอบน้ำและชอบไขมัน และนอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยาได้ในช่วง pH กว้าง จึงมีประโยชน์ในการศึกษาผลของ pH ที่มีต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Boligon et al., 2014)

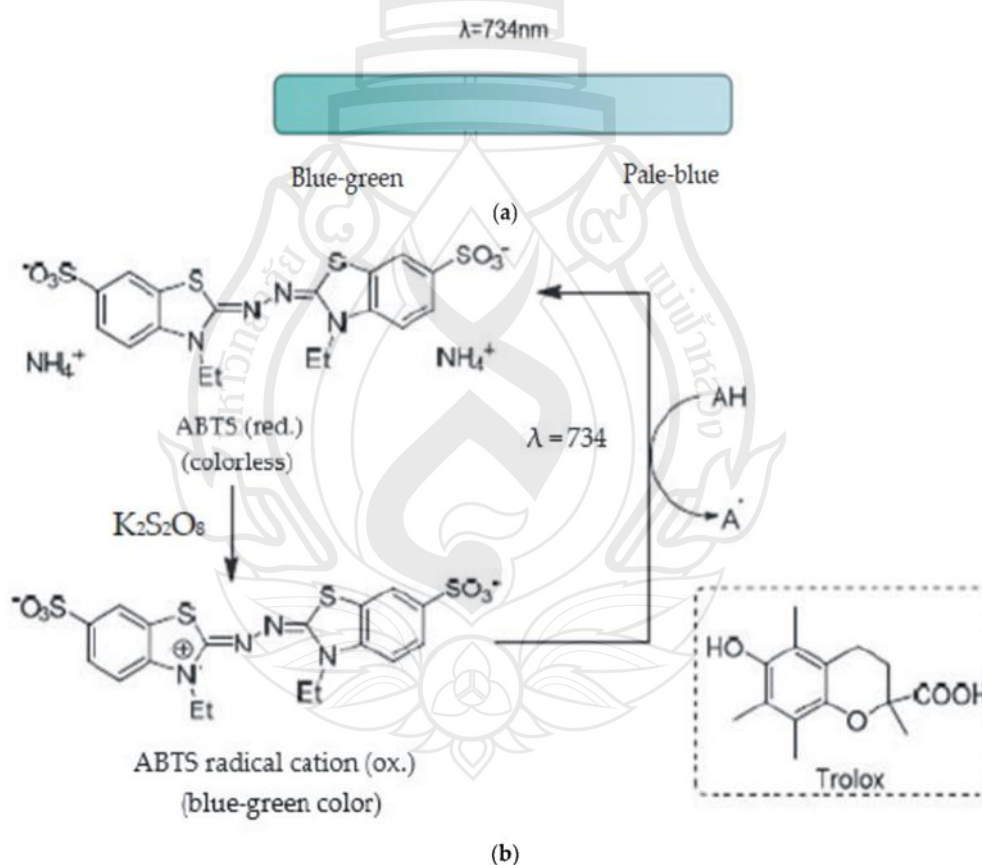
ข้อเสียของวิธีนี้คือ ABTS เป็นสารสังเคราะห์ที่ไม่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนที่จะเป็นอนุมูลอิสระ (บุหรณ์ พันธุ์สุวรรณค์, 2556)

ในปี 1993 Miller et al. ได้เสนอวิธีในการวัด total antioxidant capacity (TAC) ของสารคัดหลั่งจากร่างกายและสารละลายยา โดยอาศัยการดูดกลืนแสงของสาร ABTS^{•+} ซึ่งเป็นสารประจุ

บวกที่เป็นอนุมูลอิสระ มีสีเขียวน้ำเงินดูดกลืนแสงในช่วง 734 นาโนเมตร เมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มของสีจะลดลง แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรลดลงตามลำดับ ในตอนต้น metmyoglobin และ hydrogen peroxide ถูกใช้ในการสร้างสารอนุมูลอิสระตัวกลาง ferryl myoglobin ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ ABTS ต่อไป แล้วเกิดเป็น $ABTS^{\bullet+}$ ตามมา (Miller et al., 1993)

ในปี 1999 Re et al. ได้ปรับปรุงวิธีการทำให้เกิด $ABTS^{\bullet+}$ โดยเปลี่ยนจากการทำให้เกิดสาร ตัวกลาง ferryl myoglobin เป็นการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่าง ABTS และโพแทสเซียมเปอร์ ซัลเฟต ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ต่อโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (Re et al., 1999)

ในปี 2005 Huang et al. ได้ใช้สารอนุมูลอิสระในรูปแบบ $ABTS^{\bullet-}$ แทน $ABTS^{\bullet+}$ โดยเตรียม $ABTS^{\bullet-}$ จากการเกิดออกซิเดชันของ $ABTS^{2-}$ กับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต และ $ABTS^{\bullet-}$ จะถูกรีดิวซ์ โดยสารต้านอนุมูลอิสระกลายเป็นสาร $ABTS^{2-}$ ที่ไม่มีสีต่อไป (Huang et al., 2005)



ที่มา Irina et al. (2021)

ภาพที่ 2.8 การเปลี่ยนของสีใน ABTS Assay

ในปี 2012 Durmaz ได้เตรียมผงของอนุมูลอิสระ ABTS•+ โดยการบ่ม ABTS กับ โพแทสเซียมเปอร์ออกไซด์ซัลเฟตตามด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสารละลายอนุมูลอิสระนั้น ผงอนุมูลอิสระที่ผ่านการแช่เยือกแข็งจะถูกใช้แทนสารละลายอนุมูลอิสระที่จะถูกเตรียม (Durmaz , 2012)

ในปี 2551 มีการศึกษาผลของตัวทำละลายต่างชนิดกันที่มีต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกระชายเหลือง ทำการศึกษาด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดคือ อะซีโตน 80%เอทานอล 80%เมทานอล และน้ำ พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซีโตน และ80%เอทานอล ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ 80%เมทานอล และน้ำ ตามลำดับ (ธนศักดิ์ แซ่เลี้ยว และคณะ, 2551)

2.7 ผลกระทบของการได้รับความร้อนต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ในปี 2554 กวิน สุขสิงห์ และวรรณิ จิรภาคย์กุล ได้ทำการศึกษาผลของการทำแห้งกระชายเหลืองที่มีต่อความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยทำแห้งกระชายเหลืองที่ 3 สภาวะ ได้แก่ ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 และ 6 ชั่วโมง ศึกษาความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่ากระชายเหลืองที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันมากที่สุด รองลงมาเป็นการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตามลำดับ (กวิน สุขสิงห์ และวรรณิ จิรภาคย์กุล, 2554)

ในปี 2558 มีการศึกษาผลของกรรมวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในดอกขมจันทร์พบว่า ทุกกรรมวิธีการประกอบอาหารที่ให้ความร้อนนั้นมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการนึ่งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงสุด ไม่ต่างกับดอกสด รองลงมาคือการต้ม การตาก และการอบตามลำดับ โดยการนึ่งนั้นทำให้เกิดการอ่อนนุ่มของผนังเซลล์และเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกปลดปล่อยออกมาได้เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูง (พัชรี สิริตระกุลศักดิ์ และสกุลกานต์ สิมลา, 2558)

ทั้งนี้ มีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า แครอท กะหล่ำดอก ถั่ว และแตงกวาญี่ปุ่น ที่ผ่านการอบจะทำให้สูญเสียความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไป 30-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการต้มเซเลอรี่จะทำให้

ให้สูญเสียความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไป 14 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากอุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ในทางกลับกันก็มีพืชอีกหลายชนิดที่เมื่อได้รับความร้อนแล้วนั้น กลับช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น เปปเปอร์มินต์ สเปียร์มินต์ และไทม์ ที่หากผ่านการทำแห้งด้วยการตากแดดนั้น จะช่วยให้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันของสารประกอบต่าง ๆ เกิดเป็นสารใหม่ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (พัชรี สิริตระกูลศักดิ์ และสกุลกานต์ สิมลา, 2558) เช่นเดียวกับการทำแห้งซึ่งโดยการอบลมร้อน ทำให้พืชมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวอย่างสด เนื่องจากการได้รับความร้อนเป็นตัวกระตุ้นให้เกิด shogaol (สารประกอบเคมีที่เป็นส่วนประกอบของขิงและทำให้ขิงมีกลิ่น มีความเผ็ด และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ) และzingerone (สารที่ให้รสชาติเผ็ดชนิดหนึ่งของขิง และมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน) ทำให้ได้ปริมาณสารดังกล่าวมากกว่าในตัวอย่างสด (Puengphian & Sirichote, 2008)

ในปี 2021 มีการศึกษาผลของวิธีการปรุงอาหารกับคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในข้าวซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับกระชายขาว โดยศึกษาการให้ความร้อนข้าวด้วยการอบที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับข้าวที่ผ่านการต้มเดือด แล้วนำไปสกัดด้วย 70 % เอทานอล ทำการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay และ FRAP assay พบว่าการปรุงอาหารเพิ่มฤทธิ์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระถึง 1.52-2.73 เท่า เมื่อเทียบกับตัวอย่างสด โดยตัวอย่างที่ผ่านการอบร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดข้าวที่ผ่านการอบร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารสกัดข้าวที่ผ่านการต้มเดือด และสารสกัดข้าวสดตามลำดับ (Ruangawang & Niamsup, 2021)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยทางห้องปฏิบัติการ (laboratory research) โดยการวิเคราะห์เหง้ากระชายแบบสด และเหง้ากระชายแบบอบ โดยการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องและน้ำต้มเดือด มีตัวแปรต้นคือเหง้ากระชายแบบสด และเหง้ากระชายแบบอบ มีตัวแปรตามคือระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

เหง้ากระชายขาว สายพันธุ์ Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. อายุ 1 ปี จากระอยทางบ้านสวน เกษตรอินทรีย์ฟาร์ม อ.สวี จ.ชุมพร

3.1.2 อุปกรณ์

- 3.1.2.1 โกร่งสำหรับบด
- 3.1.2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (TE1502S, sartorius)
- 3.1.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง balance (TB-214, denver instrument)
- 3.1.2.4 หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)
- 3.1.2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Z326K, hermlle)
- 3.1.2.6 Microcentrifuge
- 3.1.2.7 ขวดรูปชมพู่
- 3.1.2.8 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25mL 100mL และ 1,000mL
- 3.1.2.9 ปีกเกอร์ ปริมาตร 100 ml
- 3.1.2.10 กระบอกตวง ปริมาตร 50 ml
- 3.1.2.11 เครื่องดูดจ่ายสารละลายไมโครปิเปต Pipette (research plus, eppendorf)
- 3.1.2.12 ทิปปิเปต

- 3.1.2.13 Syringe filter (0.45 μ m PTFE)
- 3.1.2.14 แผ่นอะลูมิเนียม
- 3.1.2.15 Hot air oven (UFE600, memmert)
- 3.1.2.16 Hot plate stirrer (LMS-100, daihan labtech)
- 3.1.2.17 Vortex mixer (VM-10, daihan scientific)
- 3.1.2.18 Microplate reader (epoch, biotek)
- 3.1.2.19 Magnetic bar

3.1.3 สารเคมี

- 3.1.3.1 น้ำปราศจากไอออน (deionized water)
- 3.1.3.2 Sodium dihydrogen phosphate dihydrate $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Ajax finechem)
- 3.1.3.3 Sodium dihydrogen phosphate NaH_2PO_4 (ajax finechem)
- 3.1.3.4 ABTS; 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (sigma aldrich)
- 3.1.3.5 Potassium persulphate $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (ajax finechem)
- 3.1.3.6 Trolox; ($\pm$)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (sigma aldrich)

3.2 สถานที่ทำการศึกษ

ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ อาคารปฏิบัติการ 6 มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ต.ท่าสูด อ.เมือง จ.เชียงราย

3.3 ขั้นตอนการศึกษา

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างกระชายขาว

นำส่วนเหง้าของกระชายขาวจากรอยทางบ้านสวน เกษตรอินทรีย์ฟาร์ม อ.สวิ จ.ชุมพร มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา ล้างน้ำสุดท้ายด้วยน้ำปราศจากไอออน ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 24

ชั่วโมง จากนั้นหั่นส่วนของเหง้ากระชายให้เป็นชิ้นเล็กๆสม่ำเสมอ นำชิ้นส่วนที่ได้มาบดละเอียดด้วยโกร่ง แล้วเก็บไว้ในถุงซิปล็อคที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.2 การเตรียมสารสกัดจากกระชายขาว

นำกระชายขาวที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.3.1 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยชั่งตัวอย่างกระชายขาวแต่ละกลุ่มเป็นจำนวน 5 กรัม กลุ่มแรกเป็นกระชายขาวแบบสด กลุ่มที่สองเป็นกระชายขาวอบลมร้อนด้วย hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (กวิน สุขสิงห์ และวรรณจิราภรณ์กุล, 2554) จากนั้นตวงน้ำปราศจากไอออน ด้วยกระบอกตวงปริมาตร 50 ml ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml

นำตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมาสกัดด้วยตัวทำละลาย

3.3.2.1 กระชายสด

แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องในอัตราส่วน 1:10 W/V (พิชญากุทธิ์เจริญ, 2560) เป็นเวลา 10 นาที (Ruangsawang & Niamsup, 2021) กรองเอากากออก นำส่วนใสไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

ส่วนที่สอง สกัดด้วยน้ำต้มเดือดในอัตราส่วน 1:10 W/V เป็นเวลา 10 นาที (Ruangsawang & Niamsup, 2021) โดยทำการต้มให้เดือดบน hotplate stirrer (อุณหภูมิประมาณ 92 องศาเซลเซียส) แล้วจึงใส่ตัวอย่างกระชายขาวลงไป จับเวลา 10 นาที โดยมีการกวนตัวอย่างด้วย magnetic bar ขณะจับเวลา กรองเอากากออก นำส่วนใสไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

3.3.2.2 กระชายอบ

สกัดด้วยน้ำต้มเดือดในอัตราส่วน 1:10 W/V เป็นเวลา 10 นาที (Ruangsawang & Niamsup, 2021) โดยทำการต้มให้เดือดบน hotplate stirrer (อุณหภูมิประมาณ 92 องศาเซลเซียส) แล้วจึงใส่ตัวอย่างกระชายขาวลงไป จับเวลา 10 นาที โดยมีการกวนตัวอย่างด้วย magnetic bar ขณะจับเวลา กรองเอากากออก นำส่วนใสไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

ในขั้นตอนการกรองของทั้ง 3 กลุ่ม ได้นำตัวอย่างกรองเอากากออก โดยผ่านการกรองหยาดด้วยสำลี จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 g นาน 5 นาที แล้วจึงกรองด้วย syringe filter (0.45 μ m PTFE) เก็บตัวอย่างไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำส่วนใสไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ต่อไป

3.3.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong et al. (2006)

ในวิธีของ Thaipong et al. ในปี 2006 วิธีการทำ ABTS assay ได้ถูกดัดแปลงจาก Arnao et al. (2001) เล็กน้อย สารอนุมูลอิสระ ABTS•+ จะถูกเตรียมจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM กับสารละลาย potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ในปริมาณที่เท่ากัน เก็บสารผสมในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 ชั่วโมง

จากนั้นสารละลายจะถูกเจือจางโดยการผสมสารละลาย ABTS•+ 1 ml กับ 50mM Phosphate buffer pH 7.0 ปรับให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงผ่าน spectrophotometer ไม่เกิน 1.000 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละครั้ง สารละลาย ABTS•+ จะถูกเตรียมใหม่

สารสกัดจากกระชายขาว (10 µl) จะถูกนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS•+ 190 µl ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจะถูกวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

กราฟมาตรฐานจะเป็นเส้นตรงของค่าการดูดกลืนแสงของสาร Trolox จากความเข้มข้น 5 ถึง 150 µM ผลที่ได้จะแสดงออกในหน่วย mg Trolox equivalents (TE) /ml sample (Thaipong et al., 2006)

วิธีทดสอบ ABTS assay นำตัวอย่าง 10 µL เดิมสารละลาย ABTS•+ 190 µL ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดนาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง สารผสมแต่ละตัวจะถูกวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ microplate reader (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของ Trolox

กิจกรรมการจับสารอนุมูลอิสระ ABTS•+ จะถูกแสดงออกตาม Trolox equivalent และรายงานผลเป็น % ABTS radical scavenging และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (mg TEAC/ml sample)

ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ ABTS•+ จะถูกคำนวณได้ตามสมการ

$$\% \text{ ABTS radical scavenging} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

โดย A0 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม และ A1 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมที่มีตัวอย่าง

ค่า % ABTS radical scavenging และค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ที่มากจะบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการจับสารอนุมูลอิสระ ABTS•+ ที่สูง

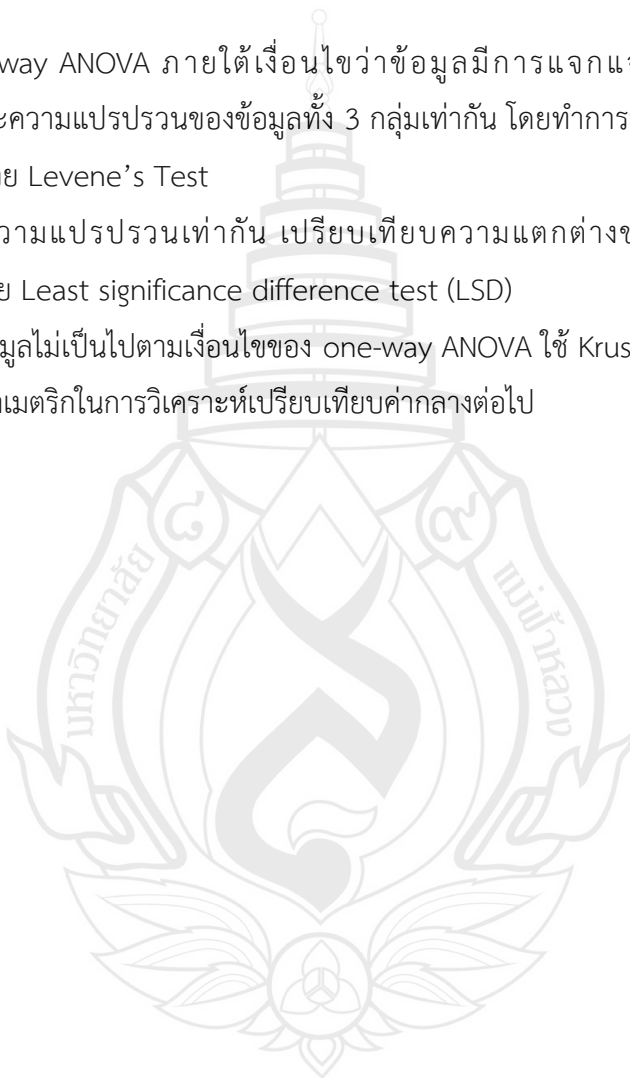
3.4 สถิติทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูล

สกัดสารตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม นำมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของแต่ละตัวอย่าง อย่างละ 5 ครั้ง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S) เพื่อแสดงค่าที่ได้ในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ S เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยข้อมูลทั้ง 3 กลุ่ม ซึ่งเป็นอิสระต่อกัน

ใช้ one-way ANOVA ภายใต้เงื่อนไขว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) และความแปรปรวนของข้อมูลทั้ง 3 กลุ่มเท่ากัน โดยทำการทดสอบความเท่ากันของความแปรปรวนด้วย Levene's Test

กรณีที่ความแปรปรวนเท่ากัน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (multiple comparison) ด้วย Least significance difference test (LSD)

กรณีที่ข้อมูลไม่เป็นไปตามเงื่อนไขของ one-way ANOVA ใช้ Kruskal-Wallis Test ในกลุ่มของสถิตินอนพารามตริกในการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่ากลางต่อไป



บทที่ 4

ผลการวิจัย

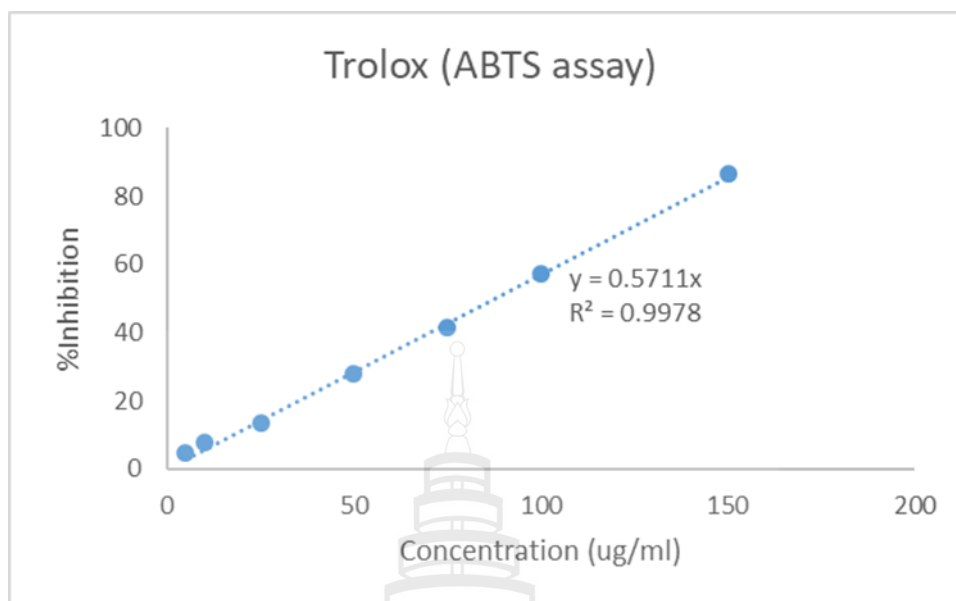
4.1 กราฟมาตรฐาน Trolox โดยใช้ ABTS Assay

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของ Trolox และ % Inhibition ที่นำมาใช้สร้างกราฟมาตรฐาน Trolox

ความ เข้มข้นของ Trolox ($\mu\text{g/ml}$)	5	10	25	50	75	100	150
ตัวอย่างที่ 1	5.874	8.047	13.620	29.113	42.098	57.089	88.408
ตัวอย่างที่ 2	4.536	8.047	13.286	26.772	40.760	57.256	86.068
ตัวอย่างที่ 3	5.038	7.546	13.286	27.608	41.095	56.253	85.399
ตัวอย่างที่ 4	5.038	6.877	13.453	27.441	41.596	58.426	86.904
ตัวอย่างที่ 5	4.369	7.880	14.456	28.444	41.596	56.754	85.566
%	4.971 $\pm$	7.679 $\pm$	13.620 $\pm$	27.876 $\pm$	41.429 $\pm$	57.156 $\pm$	86.469 $\pm$
Inhibition (Mean $\pm$ S)	0.586	0.493	0.487	0.913	0.515	0.807	1.232

นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้น (แกน X) กับ % Inhibition (แกน y) แทนค่าในสมการถดถอย (regression) $y = bx + a$ โดยจะได้ % Inhibition = 0.5711 (ความเข้มข้น) + 0, ในส่วนของค่า $R^2 = 0.9978$ แปลได้ว่า ค่า x ในสมการสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่า y ได้ 99.78 %

ซึ่งกราฟมาตรฐาน Trolox ของการศึกษานี้เป็นดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐาน Trolox โดยใช้ ABTS Assay

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay

ในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS assay ตัวอย่างที่นำมาทดสอบคือสารสกัดจากกระชายขาวที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ได้ข้อมูล ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกระชายสด และกระชายอบ ด้วยวิธี ABTS Assay

ค่าที่วัด	% Radical scavenging (%)			TEAC (mg/ml)		
กลุ่มของการทดสอบ	กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด
ตัวอย่างที่ 1	5.618	28.438	71.749	1.967	9.959	25.127
ตัวอย่างที่ 2	5.633	27.943	69.605	1.973	9.786	24.376

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ค่าที่วัด	% Radical scavenging (%)			TEAC (mg/ml)		
	กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด
ตัวอย่างที่ 3	5.618	26.789	70.430	1.967	9.382	24.665
ตัวอย่างที่ 4	5.510	27.943	70.100	1.930	9.786	24.549
ตัวอย่างที่ 5	5.587	28.603	67.792	1.956	10.017	23.741
ค่าเฉลี่ย	5.593	27.943	69.935	1.959	9.786	24.491
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.049	0.709	1.437	0.017	0.248	0.503

4.2.1 การวิเคราะห์ค่า % ABTS Radical Scavenging

จากการวิเคราะห์ one-way ANOVA ค่า F ที่ได้ มี P-value น้อยกว่า 0.05 แปลผลได้ว่ามีค่าเฉลี่ยอย่างน้อย 1 คู่ที่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ผลแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่า % Radical Scavenging ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่มตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย (%)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	P-value
กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	5	5.593 ^a	0.049	<0.001
กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	5	27.943 ^b	0.709	
กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	5	69.935 ^c	1.437	

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงคู่ที่แตกต่างกัน

ซึ่งจากการทดสอบพบว่ามีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญของข้อมูลทุกคู่ ทำให้สรุปได้ว่า ค่า % radical scavenging ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่า % radical scavenging ของกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด (69.935 ± 1.437 %)

มากกว่ากระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด (27.943 ± 0.709 %) และกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง (5.593 ± 0.049 %) ตามลำดับ

4.2.2 การวิเคราะห์ค่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

จากการวิเคราะห์ one-way ANOVA ค่า F ที่ได้ มี P-value น้อยกว่า 0.05 แปลผลได้ว่ามีค่าเฉลี่ยอย่างน้อย 1 คู่ที่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ผลแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่า TEAC ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม

กลุ่มตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย (mg/ml)	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	P-value
กระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง	5	1.959 ^a	0.017	<0.001
กระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	5	9.786 ^b	0.248	
กระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด	5	24.491 ^c	0.503	

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงคู่ที่แตกต่างกัน

ซึ่งจากการทดสอบพบว่ามี ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญของข้อมูลทุกคู่ ทำให้สรุปได้ว่า ค่า TEAC ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่า TEAC ของกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือด (24.491 ± 0.503 mg/ml) มากกว่ากระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด (9.786 ± 0.248 mg/ml) และกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง (1.959 ± 0.017 mg/ml) ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายขาวทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยวิธี ABTS assay พบว่า

ค่า % radical scavenging ของกลุ่มกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือดมีค่าเฉลี่ยของ % radical scavenging สูงกว่ากลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด และสูงกว่ากลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ

ค่า TEAC ของกลุ่มกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือดมีค่าเฉลี่ยของ TEAC สูงกว่ากลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด และสูงกว่ากลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ

โดยเมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่าการต้านอนุมูลอิสระทั้ง % radical scavenging และ TEAC แล้ว พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้งค่า % radical scavenging และ TEAC เป็นไปในทิศทางเดียวกัน นั่นคือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือดมีมากกว่ากลุ่มของกระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด และกลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ

5.2 อภิปรายผล

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ทำให้ทราบว่ากระชายขาวมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบดังนี้ โดยสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม Flavanones ได้แก่ Pinostrobin, Pinocembrin, Alpinetin, 5,7-dimethoxyflavanone และ Sakuranetin สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม Flavones ได้แก่ Dimethoxyflavone, 3',4',5,7-tetramethoxyflavone สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม Chalcones ได้แก่ 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone, Cardamonin, Panduratin A, Panduratin B, Boesenbergin A, Boesenbergin B, Rubranine, 4-Hydroxypanduratin A และสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม Diterpenes คือ Pimaric acid (ชนศักดิ์ แซ่เลี้ยว และคณะ, 2551)

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายขาวทั้ง 3 กลุ่ม ผลที่ได้ทั้งค่า % ABTS radical scavenging และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) มีความสอดคล้องกัน โดยในกลุ่มกระชายอบสกัดด้วยน้ำต้มเดือดให้ค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มของกระชายสดสกัดด้วยน้ำต้มเดือด และกลุ่มกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ

แสดงให้เห็นว่า ผลจากการให้ความร้อนโดยการอบลมร้อนให้แห้งก่อนทำการสกัดด้วยน้ำต้มเดือดนั้น เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการอบลมร้อนเป็นการรีดให้เกิดไอน้ำระเหยจากตัวอย่าง ทำให้เกิดความเข้มข้นของสารประกอบมากขึ้น อีกทั้งยังอาจเกิดจากการสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ ส่งผลให้สารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น และอาจมีการรวมตัวของสารประกอบต่าง ๆ เกิดเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (พัชรี สิริตระกูลศักดิ์ และสกุลกานต์ สิมลา, 2558)

ซึ่งผลจากการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทำแห้งซึ่งด้วยการอบลมร้อน ซึ่งทำให้จึงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในตัวอย่างสด (Puengphian & Sirichote, 2008)

นอกจากนี้ยังมีความสอดคล้องกับการศึกษาผลของวิธีการปรุงร้อนชาที่มีต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยการทดสอบสารสกัดชาที่ผ่านการอบร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดชาที่ผ่านการอบร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารสกัดชาที่ผ่านการต้มเดือด และสารสกัดชาสดตามลำดับ (Ruangsaewang & Niamsup, 2021)

ซึ่งทั้งชงและชาเป็นพืชวงศ์เดียวกับกระชายขาว จึงอนุมานได้ว่าพืชในวงศ์นี้มีคุณสมบัติการเพิ่มหรือลดของสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อได้รับความร้อนเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำผลการทดสอบที่ได้ไปปรับใช้เป็นแนวทางในการรับประทานกระชายขาวได้ว่า เมื่อกระชายสดได้รับความร้อนโดยการอบแล้วนำมาสกัดด้วยน้ำต้มเดือด เช่น ในลักษณะของการทำชานั้น จะทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด รองลงมาจะเป็นการนำกระชายสดไปผ่านการสกัดด้วยน้ำต้มเดือด เช่น การทำน้ำกระชายโดยผ่านการต้มแล้วกรองเอากากออกไป และการนำกระชายสดสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ดังเช่นการรับประทานกระชายสด หรือน้ำคั้นกระชายที่ไม่ผ่านการต้ม ตามลำดับ

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของกระชายขาวเพิ่มเติม เช่น การเก็บตัวอย่างกระชายขาวจากพื้นที่หรือภูมิภาคที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีปัจจัยแวดล้อมที่แตกต่างกันจากลักษณะทางภูมิศาสตร์และภูมิอากาศสภาพดิน สภาพน้ำ รวมถึงการเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูกาลต่างกัน ปัจจัยเหล่านี้อาจมีผลต่อการเจริญของกระชายขาว และอาจส่งผลต่อการให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มากน้อยต่างกัน

5.3.2 ศึกษาวิธีการสกัดและชนิดของตัวทำละลายเพิ่มเติม เพื่อให้ได้วิธีการสกัดและชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสม

5.3.3 ศึกษาถึงอันตรายกิริยาของกระชายขาวกับยาแผนต่าง ๆ และการเกิดพิษต่อผู้รับประทาน ก่อนการนำกระชายขาวหรือสารสกัดกระชายขาวไปใช้เพื่อหวังผลในการสร้างเสริมสุขภาพจากการมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เพื่อให้มีความปลอดภัยในการบริโภค



รายการอ้างอิง



รายการอ้างอิง

- กวิน สุขสิงห์ และวรรณิ จิรภาคย์กุล. (2554). ผลของการทำแห้งต่อปริมาณสารประกอบ
ฟลาโวนอยด์และสมบัติต้านออกซิเดชันในกระชายเหลือง. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49* (หน้า 641-648). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- ธนศักดิ์ แซ่เลี้ยว, ศศิธร จันทนวรารังกู และวรรณิ จิรภาคย์กุล. (2551). ผลของตัวทำละลายต่อ
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง
(*Boesenbergia pandurata*). ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46* (หน้า 538-545). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูล
อิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3), 275-286.
- พัชริ สิริตระกูลศักดิ์ และสกุลกานต์ สิมลา. (2558). ผลของกรรมวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณ
สารต้านอนุมูลอิสระในดอกขมจันทร์. *วารสารแก่นเกษตร*, 43(1), 875-80.
- พิชญา ฤทธิ์เจริญ. (2560). การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายเหลือง
กระชายแดง และ กระชายดำ. การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- มะลิวรรณ อมตธงไชย. (2553). วิถีวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลในการประเมินความสามารถต้านอนุมูล
อิสระโดยรวมอย่างรวดเร็ว. *วารสารวิชาการ ม.อบ.*, 12(2), 49-59.
- สำนักงานเกษตรและสหกรณ์ จังหวัดสุรินทร์. (2564). *กระชาย สรรพคุณและประโยชน์ของกระชายเหลือง*.
https://www.opsmoac.go.th/surin-local_wisdom-preview-422891791854
- สำนักงานความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้ กรมป่าไม้. (2564). *กระชาย*.
[http://biodiversity.forest.go.th/index.php?option=com_dofplant&id=156&view=s
howone&Itemid=132](http://biodiversity.forest.go.th/index.php?option=com_dofplant&id=156&view=showone&Itemid=132)

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). (2564). *ฐานข้อมูลงานวิจัยกระชาย*.

http://agknowledge.arda.or.th/boesenbergiarotunda/?page_id=887

Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73, 239–244.

Boligon, A. A., Machado, M. M., & Athayde, M. L. (2014). Technical evaluation of antioxidant activity. *Medicinal Chemistry*, 4(7), 517-522.

<https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000188>

Chaiyasit K., Tokaew W., & Boonsiri, K. (2021). Medicinal plants and the communication on precautionary use of herbs during COVID-19 outbreak in Thailand. *Bioactive Compounds in Health and Disease 2021*, 4(8), 180-188.

<https://www.doi.org/10.31989/bchd.v4i8.825>

David, M. P., Patricia, V., José, A. P., & Paula, B. A. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14(6), 2202-2211.

<https://doi.org/10.3390/molecules14062202>

Durmaz, G. (2012). Freeze-dried ABTS+ method: A ready-to-use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils. *Food Chemistry*, 113, 1658–1663.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.064>

Fan, X., Tao, X., Baiyi, L., & Ruihai, L. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.

<https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Irina Georgiana, M., & Constantin, A. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3380), 3380-3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

<https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

- Isa, N. M., Abdelwahab, S. I., Mohan, S., Abdul, A. B., Sukari, M. A., Taha, M. M. E., . . . Mustafa, M. R. (2012). In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) (fingerroot). *Brazilian Journal of Medical & Biological Research*, 45(6), 524-530.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407-412.
<https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Puengphian, C., & Sirichote, A. (2008). [6]-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts from supercritical CO₂ extraction. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 1(1), 29-36.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ruangswang, S., & Niamsup, H. (2021). Antioxidant activity of galangal: Effects of cooking methods. In *proceeding of 7th International Conference on Biochemistry and Molecular Biology* (pp. 1-7).
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>



ภาคผนวก ก

แบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบ



ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Center of Excellence in Natural Products Innovation)
อาคารปฏิบัติการ 6 (S6) มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง 333 ม.1 ต.ท่าสูด อ.เมือง จ.เชียงราย 57100
โทร 053-917552 โทรสาร 053-917548 e-mail: cenpi@mfu.ac.th

FM-RE-01
เลขที่รายงาน 65/025
วันที่ออกผล 13/6/65
แผ่น : 1/1

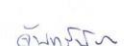
แบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบ (TEST REPORT)

ชื่อหน่วยงาน / ผู้ส่งตัวอย่างที่ระบุในใบรายงานผล (Company name for test report).....	
.....นายฉัตร ใจงาม มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.....	
ที่อยู่ใบรายงานผล (Address for test report).....	
.....83/494 คลองไผ่ล้อม ตำบลวังเหนือ อำเภอวังเหนือ จังหวัดลำปาง 76100.....	
Tel:.....090-4169995.....	Fax:..... E-mail:.....6352003256@lamduan.mfu.ac.th.....

เลขที่รับงาน (Received no.).....65/027.....

Sample	Antioxidant activity: ABTS assay (mg TEAC/ml)
กระชายขาวสด DI	1.959 ± 0.017
กระชายขาวสด Hot DI	9.786 ± 0.248
กระชายขาวแห้ง Hot DI	24.491 ± 0.503

หมายเหตุ: แสดงผลเป็น Mean ± S.D.
TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity

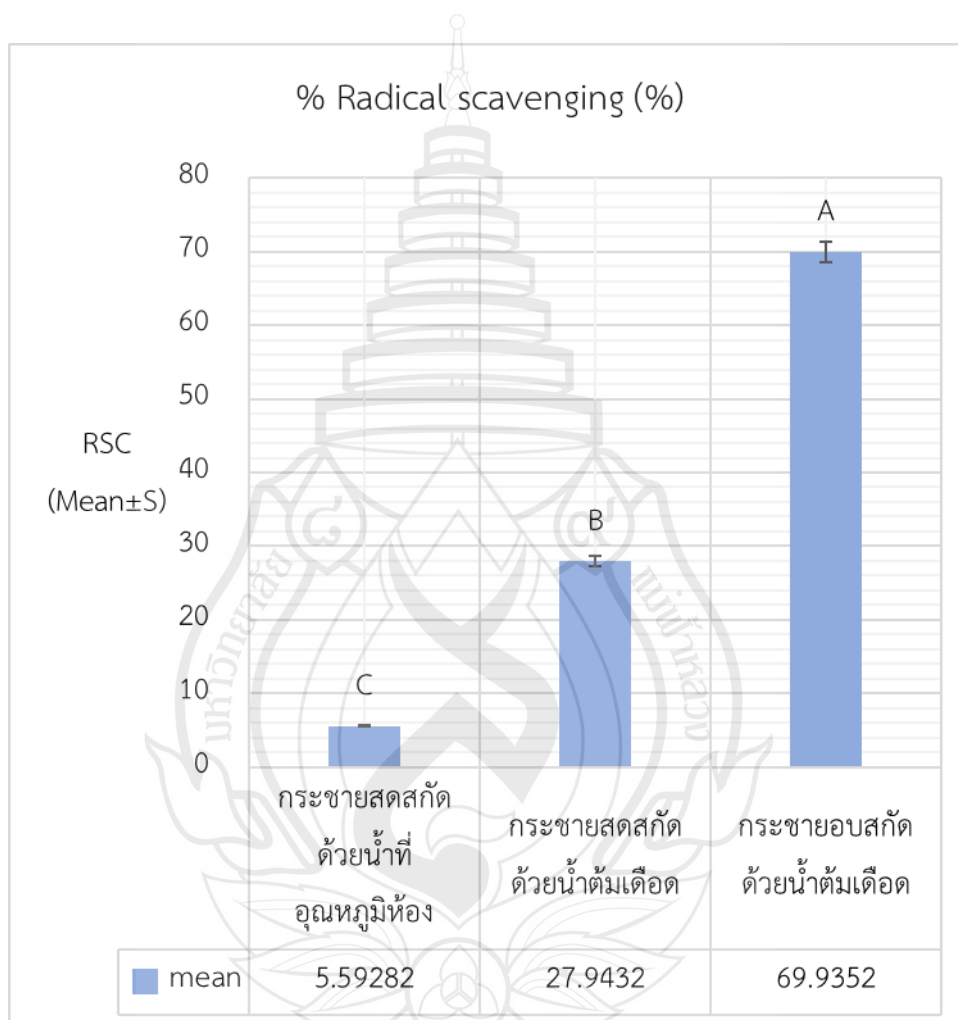
ผู้ทดสอบ/ Tested by	ผู้ตรวจสอบ/ Checked by	ผู้อนุมัติ/ Approved by
 (นางสาวจินตนา นามะทิพย์) นักวิทยาศาสตร์ วันที่ 10/6/65	 (นางสาวพรชิตา วงษ์นิธิธร) นักวิทยาศาสตร์ วันที่ 13/6/65	 (นางสาวปริญญาพร ปราณีกุล) ปฏิบัติงานแทน วิชาการแทนหัวหน้าศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ วันที่ 13/6/65

หมายเหตุ:
รายงานฉบับนี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ส่งมาทดสอบเท่านั้น ในกรณีนำข้อมูลการทดสอบไปเพื่อจุดประสงค์ใดๆ ก็ตาม ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จะไม่รับผิดชอบต่อความเสียหายที่เกิดขึ้น ห้ามสำเนาหรือเผยแพร่ผลการทดสอบเพียงบางส่วน ยกเว้นทำทั้งฉบับ และให้นำผลการทดสอบไปโฆษณาโดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ภาพที่ ก1 แบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบ

ภาคผนวก ข

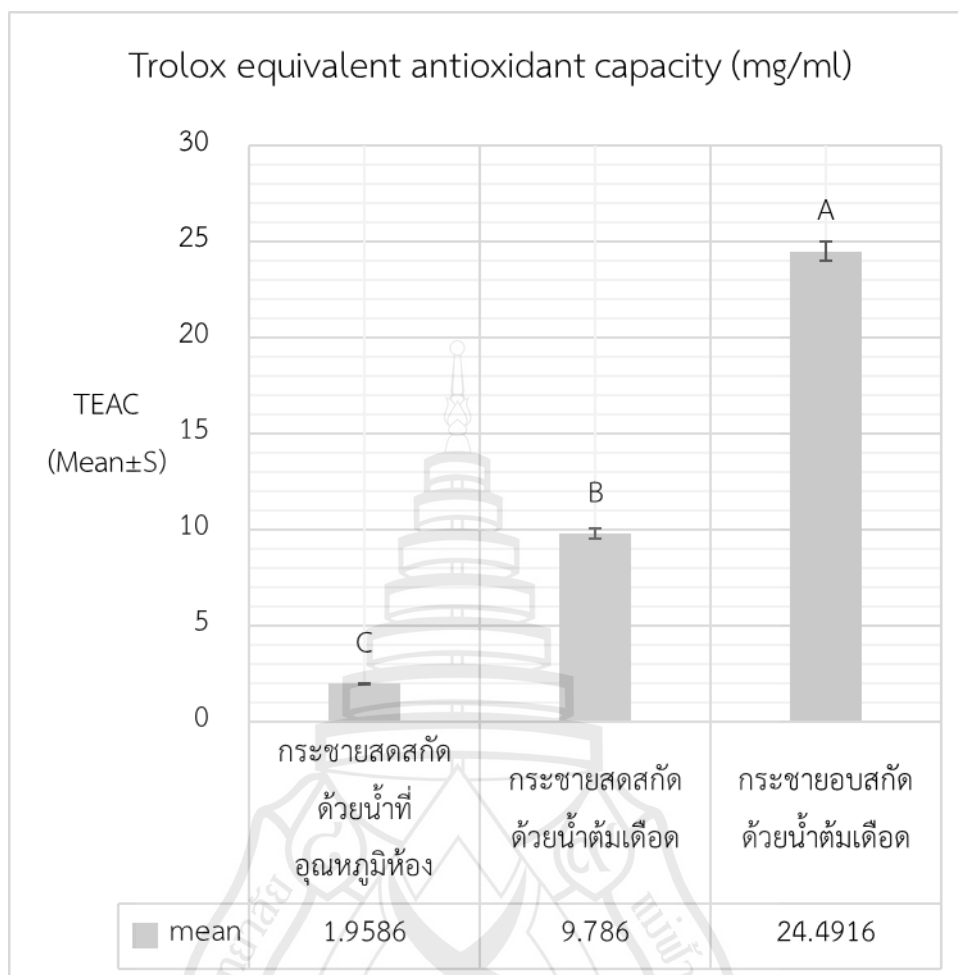
กราฟแสดงผลการทดสอบ



หมายเหตุ RSC = % ABTS radical scavenging

ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกัน

ภาพที่ ข1 กราฟค่า % Radical Scavenging ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม



หมายเหตุ TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity

ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกัน

ภาพที่ ข2 กราฟค่า TEAC ของตัวอย่างกระชายทั้ง 3 กลุ่ม