บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปราย

จากการทดลองเตรียมสารละลาย 200 μM, DPPH นำมาวัดค่า absorbance (Abs) ที่ความยาวคลื่นในช่วง 370 – 900 nm ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3 นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟจะได้

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Wavelength และ Abs ของสารละลาย DPPH

Wavelength (nm)	Abs
370	0.52
375	0.485
380	0.435
385	0.4
390	0.382
395	0.37
400	0.37
405	0.365
410	0.36
415	0.36
420	0.369
425	0.37
430	0.375
435	0.39
440	0.45
445	0.42
450	0.443
455	0.46
460	0.498

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Wavelength และ Abs ของสารละลาย DPPH (ต่อ)

Wavelength (nm)	Abs
465	0.548
470	0.6
475	0.664
480	0.72
485	0.8
490	0.87
495	วัดไม่ได้
500	วัดไม่ได้
505	1.05
510	1.09
515*	**1.12**
520	1.11
525	1.08
530	1.05
535	1.01
540	0.97
545	0.94
550	0.87
555	0.82
560	0.78
565	0.73
570	0.69
575	0.67
580	0.64
585	0.618

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Wavelength และ Abs ของสารละลาย DPPH (ต่อ)

Wavelength (nm)	Abs
590	0.61
595	0.57
600	0.54
605	0.535
610	0.55
615	0.495
620	0.485
625	0.475
630	0.46
635	0.445
640	0.435
645	0.42
650	0.415
655	0.395
660	0.389
665	0.368
670	0.355
675	0.335
680	0.328
685	0.312
690	0.292
695	0.283
700	0.272
705	0.26
710	0.245

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Wavelength และ Abs ของสารละลาย DPPH (ต่อ)

Wavelength (nm)	Abs
715	0.235
720	0.223
725	0.205
730	0.18
735	0.178
740	0.178
745	0.173
750	0.142
755	0.13
760	0.132
765	0.115
770	0.099
775	0.058
780	0.058
785	0.057
790	0.054
795	0.0538
800	0.0518
805	0.055
810	0.05
815	0.045
820	0.042
825	0.034
830	0.035
835	0.034

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Wavelength และ Abs ของสารละลาย DPPH (ต่อ)

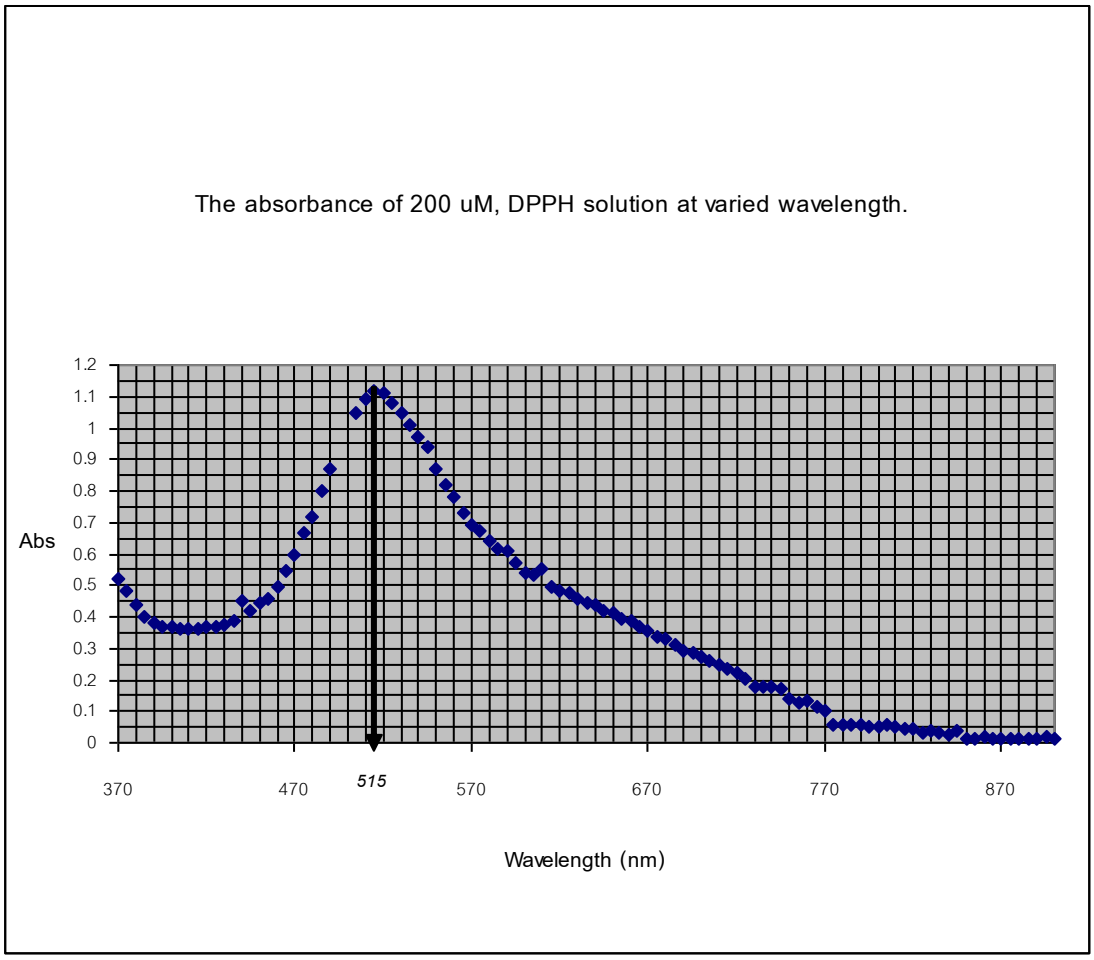
Wavelength (nm)	Abs
840	0.024
845	0.035
850	0.0138
855	0.0138
860	0.2
865	0.0138
870	0.012
875	0.012
880	0.015
885	0.011
890	0.012
895	0.018
900	0.01

ภาพที่ 9 ซึ่งพบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (Abs) จะพบที่ความยาวคลื่น (wavelength) เท่ากับ 515 nm ดังนั้น จึงเลือกที่ความยาวคลื่นนี้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงสารละลาย DPPH ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา

ในการทดลองได้ทำการวัดค่า antioxidant ของ ascorbic acid โดยสารละลาย DPPH มาทำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย ascorbic acid ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสม (อัตราส่วน 1: 1) หลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที (A_{30}) ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ 515 nm ของ สารละลาย DPPH นำผลไปคำนวณหา % RS (ตารางที่ 4) แล้วนำข้อมูลมาเขียนกราฟระหว่าง

ตารางที่ 4 แสดงค่า %RS และ Total C of sample (μg/mL) ของ ascorbic acid

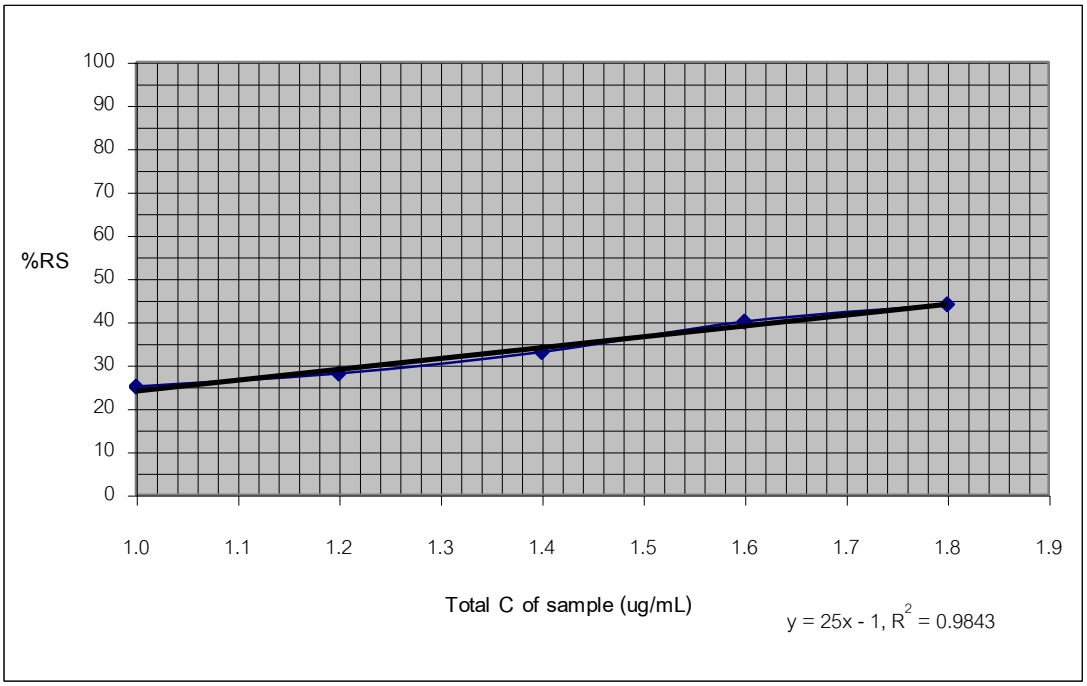
%RS	Total C of sample (μg/mL)
75	1.0
71	1.2
66	1.4
60	1.6
54	1.4



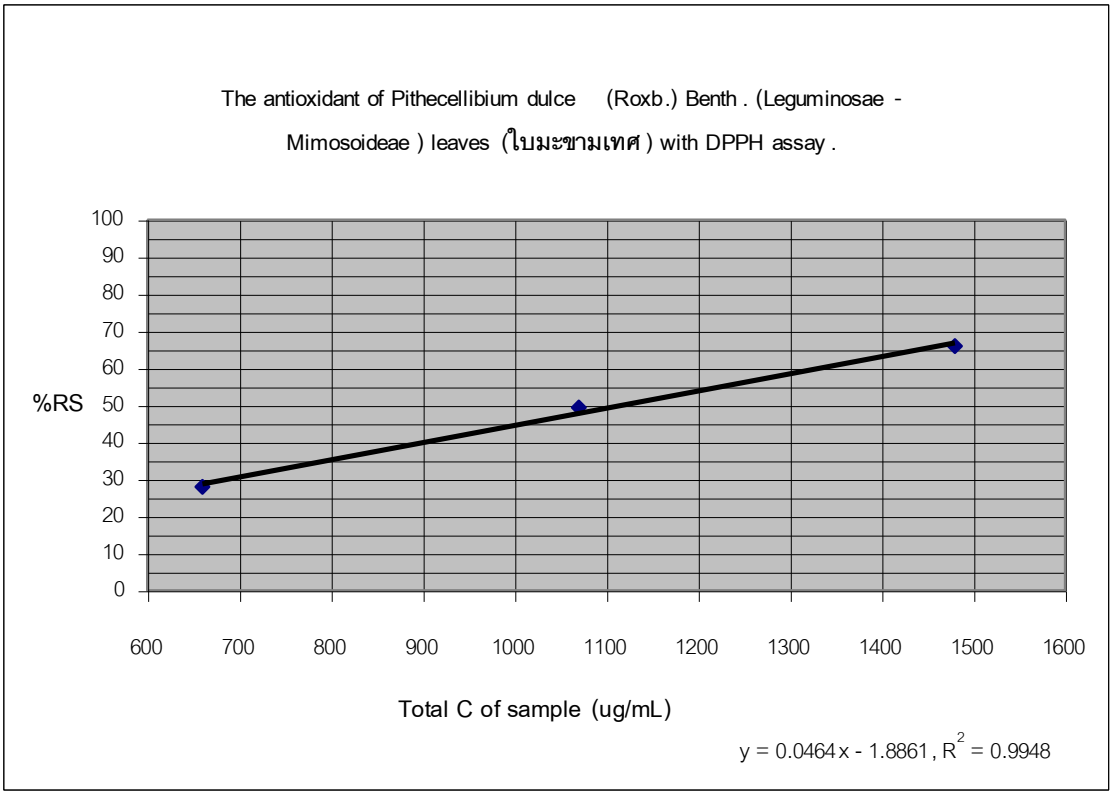
ภาพที่ 9 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Abs และ Wavelength ของสารละลาย DPPH

%RS และ Total C of sample จะได้ภาพที่ 10 โดยสมการเส้นตรงที่สอดคล้องกับกราฟ คือ y = 25x –1; (R^2 = 0.9843) แทนค่า y = 50 หาค่า x หรือ EC_{50} (ascorbic acid) = 1.97 μg / mL ซึ่งสอดคล้องกับค่าของปวีณา ช่วงทิพย์ (2546) =1.63 μg / mL แต่แตกต่างจากค่าของ Kim *et al.* (2002) และ Badami *et al.* (2005) ซึ่งเท่ากับ 5.00 และ 8.80 μg / mL ตามลำดับ

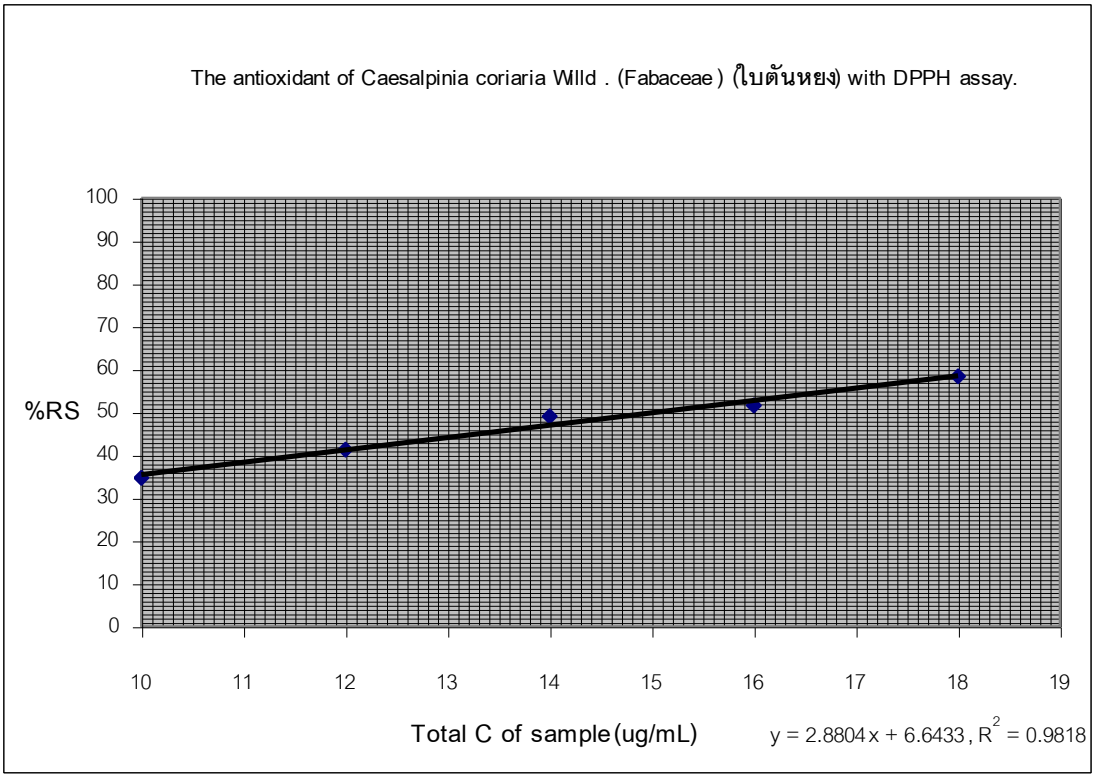
จากนั้นจึงนำสารสกัดจากใบสดพืชแต่ละชนิด ได้แก่ มะขามเทศ ตันหยง หว้า หูกวาง และปอบิด มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมในอัตราส่วน 1 : 1 เช่นกัน หลังจากตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้องแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง (515 nm) นำไปคำนวณหา %RS เพื่อเขียนกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของพืชแต่ละชนิดจะได้ภาพที่ 11 - 15 ตามลำดับ



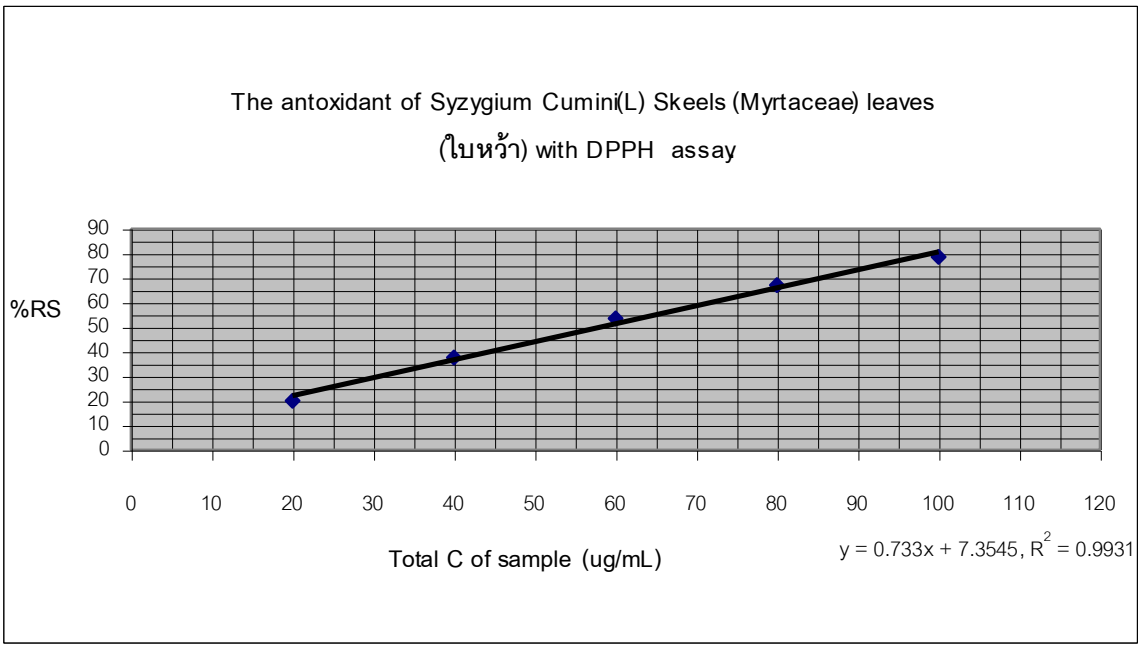
ภาพที่ 10 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของ ascorbic acid



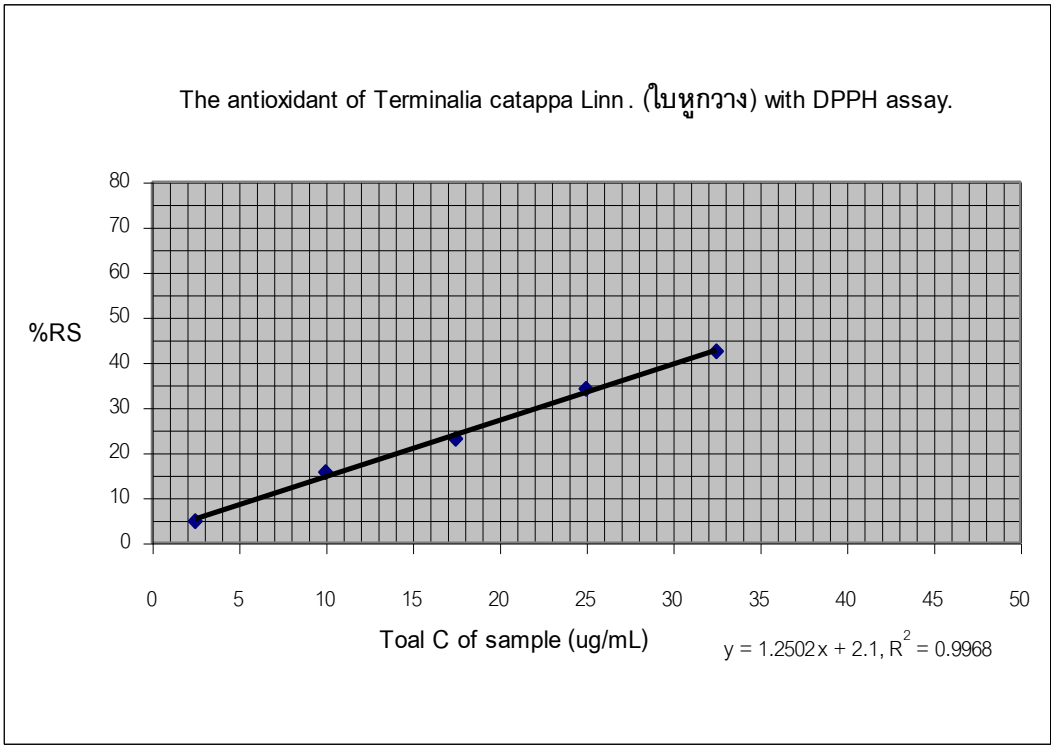
ภาพที่ 11 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของมะขามเทศ



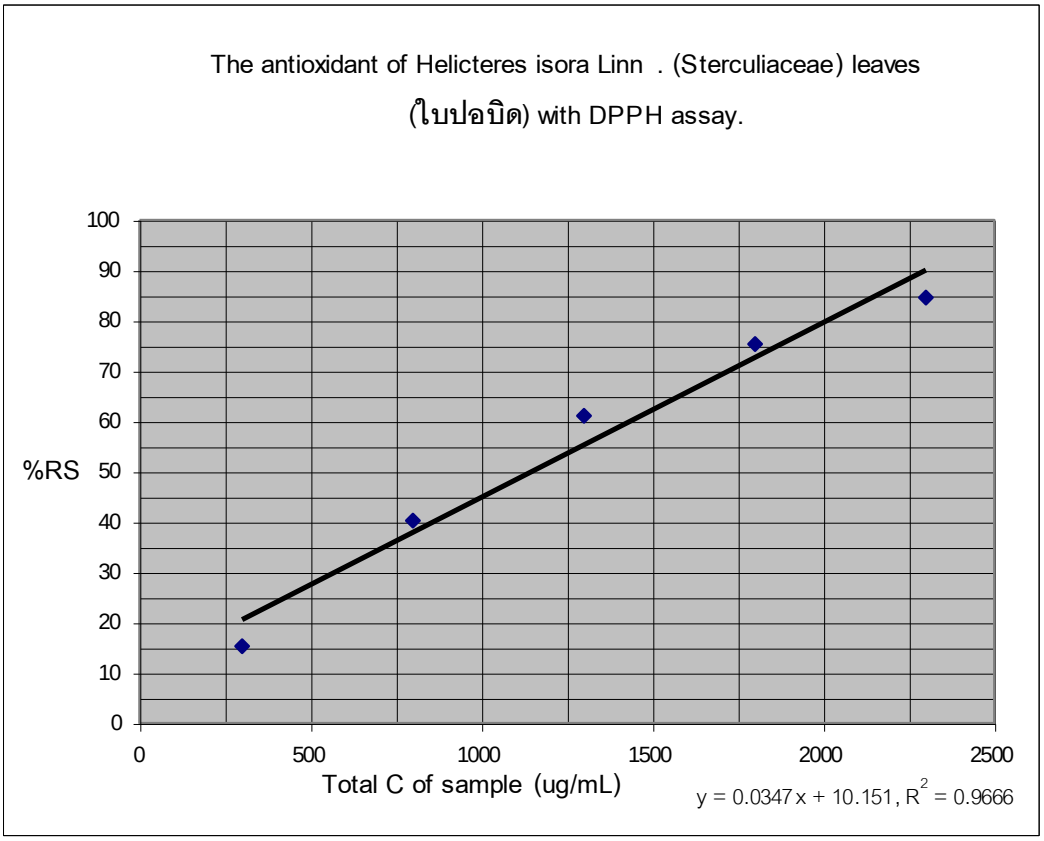
ภาพที่ 12 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของตันหยง



ภาพที่ 13 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของหว้า



ภาพที่ 14 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของหูกวาง



ภาพที่ 15 แสดงกราฟระหว่าง %RS และ Total C of sample ของปอบิด

จากสมการเส้นตรงของกราฟของพืชแต่ละชนิด สามารถนำมาคำนวณหาค่า EC_{50} ของพืชแต่ละชนิดได้ และได้ทำการหา % Solid content ของพืชแต่ละชนิดโดยการนำไปอบที่ 80-90 ^{o}C จนน้ำหนักคงที่ (ประมาณ 6-8 ชม.) (ตาราง 5)

ส่วนปริมาณหมู่ phenol ที่มีในพืชได้ทำการหาโดยใช้ Folin –Ciocalteu reagent (FCR, สีเหลือง) โดยใช้ gallic acid เป็นสารอ้างอิง (Mongkolsilp S, 2004) ซึ่ง FCR จะสามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ที่มีหมู่ phenol ในสภาวะที่เป็นด่าง (Na_2CO_3) และทำให้เกิดสารละลายสีฟ้า ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm นำไปเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Abs) กับ Total C of sample ของ gallic acid (ภาพที่ 16) จากนั้นนำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดมาทำปฏิกิริยากับ FCR และบันทึกค่าการดูดกลืนแสง

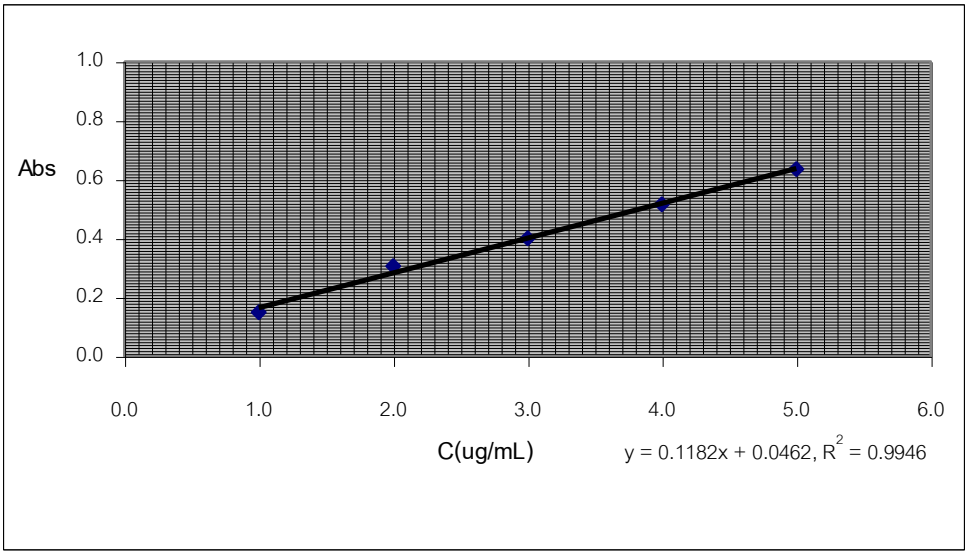
ตารางที่ 5 แสงค่า EC_{50}, GAE และ % Solid content ของใบสดพืชสมุนไพร

Entry	EC_{50} [a]	GAE [b]	% Solid Content [c]
มะขามเทศ	1,118.23	0.52	32.93
ตันหยง	15.05	84.51	49.64
หว้า	58.18	2.39	25.82
หูกวาง	38.31	3.75	28.88
ปอบิด	11,480.39	0.26	28.81

[a] μg / mL

[b] mg gallic acid / 100 mg, sample

[c] อบที่ 80 -100 ^{o}C จนน้ำหนักคงที่ (ประมาณ 6-8 ชม.)



ภาพที่ 16 แสดงกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Abs) กับ Total C of sample ของ gallic acid

จากตารางที่ 5 สามารถเรียงลำดับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ได้ ดังนี้ ตันหยง > หว้า > มะขามเทศ > ปอบิด ตามลำดับ ค่า GAE ของตันหยงมีค่ามากที่สุด รองลงมาได้แก่ หูกวาง หว้า มะขามเทศ และปอบิด เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตันหยงกับค่า GAE สอดคล้องกัน จึงเชื่อได้ว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ของตันหยงน่าจะมาจากบทบาทของหมู่ phenol ส่วนหูกวางมีฤทธิ์สูงกว่าหว้า ซึ่งสอดคล้องกับค่า GAE ส่วนมะขามเทศและปอบิดมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับค่า GAE

จากผลการทดลองที่ได้ ตันหยง หว้า และหูกวาง เป็นพืชที่น่าสนใจในการศึกษาเชิงลึกในการพิสูจน์หาสารออกฤทธิ์ (active compound) ต่อไป