

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารละลายสำหรับงานวิจัย

การเตรียม Gallic acid ความเข้มข้น 1000 ppm

ทำการชั่ง Gallic acid มา 25 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 25 มิลลิลิตร

การเตรียม 20% Sodium carbonate

ทำการชั่ง Sodium carbonate มา 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.3 mM

ชั่ง DPPH มา 0.003 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 25 มิลลิลิตร

การเตรียมวิตามินซี ความเข้มข้น 100 ppm

ทำการชั่งวิตามินซีมา 0.05 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

การเตรียมวิตามินอีความเข้มข้น 100 ppm

ทำการชั่งวิตามินอีมา 0.05 กรัม ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

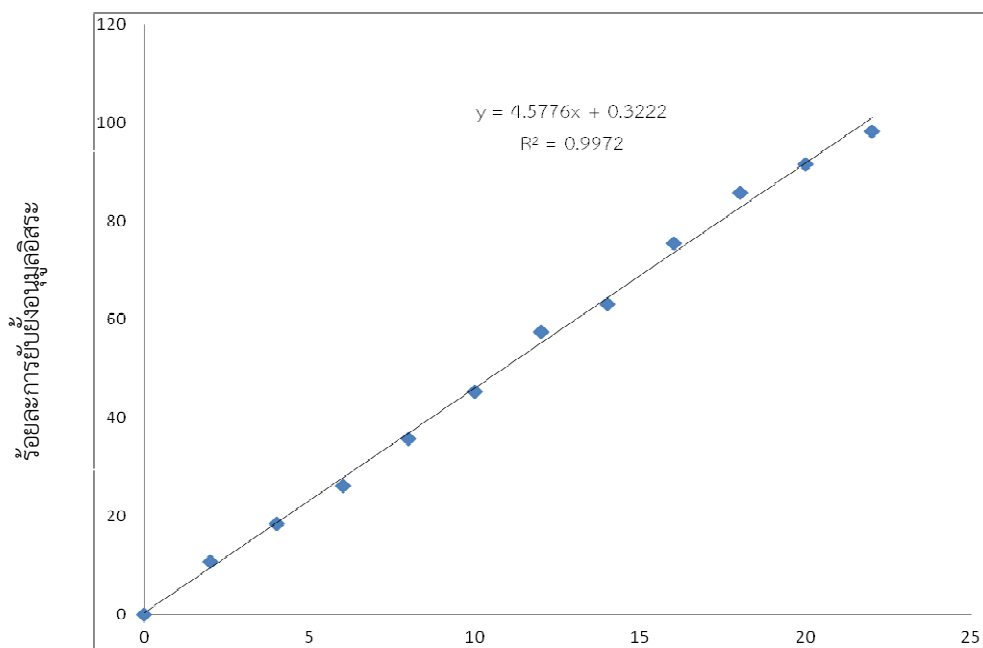
การเตรียม 10% ไตรคลอโรอะซิติกแอซิด

ทำการชั่งไตรคลอโรอะซิติกแอซิดมา 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข
กราฟมาตรฐานวิตามินซี

ตาราง ข-1 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินซีและความเข้มข้นที่ 0- 22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)	ร้อยละการยับยั้ง
0	0.00
2	10.81
4	18.49
6	26.20
8	35.67
10	45.40
12	57.42
14	63.18
16	75.47
18	85.73
20	91.52
22	98.22



ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ภาพ ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานวิตามินซีด้วยวิธี DPPH assay

ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณ

วิธีการคำนวณ % Inhibition

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[A_{\text{DPPH}} - B_{\text{sample}}]}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$$

A_{DPPH} = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH หลังเติมลงในสารตัวอย่าง

คำนวณเช่นนี้ทุกความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน/สารสกัดตัวอย่าง แล้วนำค่า % Inhibition ที่ได้พลอตกราฟ ดังภาคผนวก ข

การคำนวณค่า IC_{50}

เมื่อทำการพลอตกราฟระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้นต่างๆ จากสมการของกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินซีโดย DPPH assay ตัวอย่างเช่น

$$\text{สมการที่ได้จากกราฟ } y = 9.6853x + 2.6052$$

$$y = \% \text{ Inhibition}$$

$$x = \text{ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง } (\mu\text{g/mL})$$

จากสมการ จะได้ว่า

$$50 = 9.6853x + 2.6052$$

$$50 - 2.6052 = 9.6853x$$

$$x = 4.89$$

ดังนั้น ค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานวิตามินซี คือ 4.89 $\mu\text{g/mL}$

และทำการคำนวณหาค่า IC_{50} สารตัวอย่างชนิดอื่นๆ คิคำนวณในทำนองเดียวกัน

วิธีการคำนวณหา % yield (%g/g)

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนัก extract ที่ได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ภาคผนวก ง
การคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกในสารสกัด

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds)

สารสกัดแก่นมะหาดชั้นโพรพิลีน ไกลคอล เจือจาง 5 เท่า จาก 0.4259 g/50 มิลลิลิตร

วัดค่า abs ที่ 728 nm ได้ = 0.2754

จาก calibration curve ของสารมาตรฐาน gallic acid ให้สมการเส้นตรง

$$y = 0.0605x + 0.0048$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

แทนค่า abs = 0.2754 จะได้ $x = 4.4724$ ppm

สารละลาย 1000 mL มีปริมาณ gallic acid 4.4727 mg

สารละลาย 10 mL มีปริมาณ gallic acid 0.0447 mg

สารละลายที่ปีเปตมา 0.20 มล. ก็มีปริมาณ gallic acid 0.0447 mg ด้วย

ดังนั้น สารละลาย 1 มล. มีปริมาณ gallic acid 0.2235 mg

การคำนวณหาปริมาณสารสกัดที่ต้องเติมลงในครีม

ความหนาแน่นของเอทานอลและโพรพิลีน ไกลคอล คือ 0.789 และ 0.920 กรัมต่อมิลลิลิตร
ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารสกัดแก่นมะหาดที่ใส่ลงในสูตรตำรับ 100 g ได้ดังนี้

$$(2.04 \times 10^{-6} \text{ g}) \div 1.12 \text{ g/mL} = 1.491 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$$

ในตำรับ 100 g w/w จะต้องใส่สารสกัดแก่นมะหาดชั้นเอทานอล 10 เท่าของ IC_{50}

$$= (1.491 \times 10^{-6} \text{ g}) \times 100 \times 10$$

$$= 0.00746 \text{ กรัม}$$