การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย

GRAD VRU

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
พ.ศ. 2558

DEVELOPMENT OF AN ANTIOXIDANT SERUM MADE FROM CRUDE EXTRACTS OF *Thunbergia laurifolia* Linn. LEAVES AND *Nelumbo nocifera* Gaertn. POLLEN

THUNYALUCK PINNOI

GRAD VRU

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN SCIENCE EDUCATION
GRADUATE SCHOOL
VALAYA ALONGKORN RAJABHAT UNIVERSITY
UNDER THE ROYAL PATRONAGE PATHUM THANI
2015

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ชื่อนักศึกษา	ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย
รหัสประจำตัว	54B54670101
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(อาจารย์ ดร.เปรมจิตร บุญสาย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุพดี เส้นขาว)

..... กรรมการและเลขานุการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิ
(อาจารย์ ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 19 เดือน มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๕

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

GRAD VRU

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ชื่อนักศึกษา	ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย
รหัสประจำตัว	54B54670101
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา
ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและตรวจหาฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง 2) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง 3) หาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 4) พัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 5) ถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้ให้กับนักเรียน โดยทำการสกัดสารสำคัญที่อยู่ในใบรางจืด และเกสรบัวหลวงโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยตัวทำละลายเอทานอล นำสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงไปตรวจหาฟลาโวนอยด์ โดยใช้เทคนิครงคเรขผิวบาง จากนั้นนำสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงไปวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ แล้วหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง นำสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่ม ทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่ม และนำผลงานวิจัยมาถ่ายทอดความรู้โดยการพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้สำหรับกิจกรรมชมรมวิทยาศาสตร์ เครื่องมือที่ใช้ได้แก่ ชุดกิจกรรมการเรียนรู้หาค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหาโดยการหาค่าดัชนีความสอดคล้องก่อนนำไปใช้ในกระบวนการเรียนการสอน สถิติที่ใช้ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัยพบว่า

1) ปริมาณฟินอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงเท่ากับ 0.11 และ 1.81 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.32 และ 27.71 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ และตรวจหาสารกลุ่มสำคัญจากสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

2) สารสกัดหยาบเกสรบัวหลวงและใบรางจืดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.04 และ 7.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3) อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบเกสรบัวหลวงและใบรางจืดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคืออัตราส่วนที่ 1 โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์

4) การผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงพบว่ามีสีใส ไม่แยกชั้น มีความคงตัว และทดสอบค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์ มีค่าเท่ากับ 7

5) ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ทั้งสามชุดกิจกรรม คือ ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการทำเซรั่มจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่าดัชนีความสอดคล้อง เฉลี่ยเท่ากับ 1.00

GRAD VRU

Thesis Title	Development of an Antioxidant Serum made from Crude Extracts of *Thunbergia laurifolia* Linn. Leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. Pollen
Student	Thunyaluck Pinnoi
Student ID	54B54670101
Degree	Master of Science
Field of Study	Science Education
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr.Sasamol Phasuk
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Dr.Pannraphat Takolpuckdee

ABSTRACT

The purposes of this research were 1) to study the chemical structures of leaves of *Thunergia laurifolia* Linn. and pollen of *Nelumbo nucifera* Gaertn. and identify their flavonoids, 2) to study the efficiency of the antioxidants of crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen, 3) to investigate the optimum ratio between crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen as an antioxidant agent, 4) to develop an antioxidant herbal serum using the mix of crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen and 5) to transfer the research knowledge to student. The crude extracts from the *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen were obtained via a maceration process using ethanol as a solvent. The flavonoids found in the crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen were identified using the TLC fingerprint technique. The total phenolic and flavonoid contents, and the antioxidant efficiency of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen crude extracts were analyzed. Then, the optimum ratio between the crude extract of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen, as an antioxidant agent was determined. A cytotoxicity test of the crude extract of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen crude was performed. The physical properties and some chemical properties of the developed herbal serum using *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen were tested. Moreover, in order to transfer the research knowledge, learning lessons for science club members were developed. The education tool used was the learning lessons using the Index of Congruence. The statistics used were Mean and Standard deviation.

The results were as follows:

1) The total phenolic contents of the crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen were 0.11 and 1.81 mg of gallic / g extract, respectively. As for, the total contents of flavonoids, they were 0.32 and 27.71 mg of rutin / g extract, respectively. The identification of the crude extracts from *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen were done using the TLC fingerprint technique. The flavonoids were also identified.

2) The crude extracts of *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen showed an antioxidant agent with EC_{50} of 3.04 and 7.45, mg / mL. compared to using BHT (EC_{50} = 1.12 mg /mL).

3) The optimum ratio of the antioxidant agent from *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen was found to be "1" with EC_{50} 0.42 mg / mL. No cytotoxicity was observed.

4) The development of the serum from the crude extracts showed that the white serum was homogeneous and without any phase separations. The pH value of the serum was 7.

5) The learning lessons were divided as follows; the first learning lesson was entitled "Thai herbal plants: *Thunergia laurifolia* Linn. and *Nelumbo nucifera* Gaertn." The second learning lesson was "The extraction of significant compounds from *Thunergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen." Finally, the third learning lesson was entitled "The production of an antioxidant serum using crude extracts of *Thunbergia laurifolia* Linn. leaves and *Nelumbo nucifera* Gaertn. pollen." An Index of Congruence = 1.00.

GRAD VRU

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จด้วยความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง โดยเฉพาะผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาให้คำแนะนำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์อย่างใกล้ชิดจนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จเรียบร้อยสมบูรณ์

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี และอาจารย์ ดร.เปรมจิตร บุญสาย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุพดี เส้นขาว และ ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม ที่ให้ความอนุเคราะห์เป็นกรรมการสอบปากเปล่า รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ แสง-ชูโต จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาศ พุ่มพิมล จากมหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด จากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เป็นผู้ทรงคุณวุฒิตรวจเครื่องมือที่ใช้ ในการสร้างชุดกิจกรรมการเรียนรู้

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและฝึกทักษะการวิเคราะห์และพัฒนาเซรั่ม ได้แก่ นางสาวเยาวนารถ งามนนท์ และ นางสาวอิศรา กีตา จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ และขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ที่ได้ให้ความช่วยเหลือแนะนำทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของบิดา มารดา ตลอดจนคณาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

GRAD VRU

ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย..... 2

1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

2.1 การสกัดและแยกสารสำคัญจากพืช..... 5

2.2 อนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระ..... 9

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ..... 12

2.4 ความรู้เกี่ยวกับใบรางจืด และเกสรบัวหลวง..... 20

2.5 เทคนิคการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชั่น..... 22

2.6 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว..... 26

2.7 ชุดกิจกรรมการเรียนรู้..... 27

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 27

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย..... 39

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน..... 41

3.2 การวางแผนการทดลอง..... 41

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการ..... 41

3.4 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัย..... 47

GRAD VRU

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 49
4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเอทานอล..... 49
4.2 ผลการตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ด้วยเทคนิครงคเรขผิวบาง..... 50
4.3 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบ ใบรางจืด และเกสรบัวหลวง..... 51
4.4 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง..... 53
4.5 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง..... 54
4.6 ผลการพัฒนาและศึกษาคุณสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบ ใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ..... 55
4.7 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลการวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้..... 55
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 57
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 57
5.2 อภิปรายผล..... 58
5.3 ข้อเสนอแนะ..... 60
บรรณานุกรม..... 61
ภาคผนวก 66
ภาคผนวก ก รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ..... 67
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้องชุดกิจกรรมการเรียนรู้..... 69
ภาคผนวก ค ชุดกิจกรรมการเรียนรู้..... 73
ภาคผนวก ง ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวง..... 122
ประวัติผู้วิจัย..... 124

GRAD VRU

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงการเติมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	47
3.2	แสดงส่วนประกอบและคุณสมบัติของสารในเซรั่ม	47
4.1	ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล	49
4.2	ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก	51
4.3	ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานรูทิน	52
4.4	ผลการหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA	53
4.5	ผลการหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงในอัตราส่วนที่ 1 และอัตราส่วนที่ 2 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT	54

GRAD VRU

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แสดงโครงสร้างผิวหนัง	12
2.2	แสดงชนิดของแสงและความสามารถในการผ่านชั้นโอโซนในบรรยากาศ	15
2.3	แสดงความสามารถในการผ่านชั้นผิวหนังของรังสีอัลตราไวโอเลต	16
2.4	แสดงใบรางจืด	20
2.5	แสดงเกสรบัวหลวง	21
3.1	แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	40
4.1	TLC Fingerprints ขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบของใบรางจืด และเกสรบัวหลวง	50
4.2	กราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic Acid)	51
4.3	กราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน	52
4.4	กราฟสารละลายมาตรฐานของสารมาตรฐาน BHT	54

GRAD VRU

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันมนุษย์มีความใส่ใจใจในด้านสุขภาพ ความงามและการดูแลตนเองมากขึ้น ทั้งการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย การออกกำลังกาย และการแสวงหาวิธีการต่างๆ ที่จะสามารถช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นกับร่างกาย โดยเฉพาะผิวหนังเป็นอวัยวะที่สำคัญ ซึ่งมีส่วนที่ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้แก่ร่างกาย อีกทั้งยังควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร เมื่อผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงก็มักที่จะหันมาดูแลสุขภาพผิวหนังเพิ่มขึ้น ทั้งการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ครีม โลชั่น หรือเซรั่มเพื่อช่วยในการชะลอการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นกับผิวหนัง ช่วยชะลอริ้วรอย ชะลอความแก่ และต้านการอักเสบ

ผลิตภัณฑ์เซรั่มเป็นรูปแบบหนึ่งของผลิตภัณฑ์ที่ช่วยปกป้องผิวหนังจากปัจจัยต่างๆ ทั้งจากภายนอกร่างกายและจากภายในร่างกาย เนื่องมาจากผลิตภัณฑ์เซรั่มเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งที่โมเลกุลขนาดเล็กอุดมไปด้วยสารอาหารที่เข้มข้นกว่าครีม แต่จะมีความเบาของเนื้อมากกว่าสามารถซึมเข้าสู่ผิวได้ลึกและเร็ว เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์เข้มข้น เนื้อเซรั่มอาจจะเป็นเจลหรือจะเป็นอิมัลชั่นก็ได้ ที่สามารถซึมผ่านผิวหนังชั้นนอกลงไปสู่ผิวหนังชั้นใน โดยทำปฏิกิริยากับเซลผิวชั้นหนังแท้ให้นุ่มชุ่มชื่น ใสตึงกระชับ ไม่มันโดยไม่มีผลข้างเคียงใดๆ ทั้งนี้สารออกฤทธิ์โดยเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เติมลงไปในเซรั่มจะสามารถส่งผลและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนังได้อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับการใช้ครีม

เมื่อคนเราอายุมากขึ้นเซลล์ในร่างกายทุกเซลล์จะผลิตอนุมูลอิสระมากขึ้น และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระก็ลดลงทำให้ร่างกายเสื่อมโทรมอย่างรวดเร็ว ซึ่งแม้ว่าร่างกายจะสร้างเอนไซม์ที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระได้แต่ก็ยังไม่เพียงพอ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญยิ่งในด้านการปกป้องร่างกายไม่ให้แก่เร็วก่อนวัยอันควร ชะลอริ้วรอยชะลอความเสื่อม และมีข้อมูลวิจัยที่บ่งชี้ว่า อนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับสุขภาพอีกหลายอย่าง เช่น ก่อให้เกิดการอักเสบ การทำลายเนื้อเยื่อ เกิดโรคมะเร็ง เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งอนุมูลอิสระมีแหล่งที่มาทั้งจากภายนอกและภายในร่างกาย ภายนอกได้แก่ มลพิษในอากาศควันบุหรี่ แสงแดด รังสีแกมมา คลื่นความร้อน และอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหรือธาตุเหล็ก ในปริมาณสูงกว่าปกติ ส่วนแหล่งจากภายในร่างกายคือ การเกิดเมแทบอลิซึมของออกซิเจนภายในเซลล์ หรือการย่อยทำลายแบคทีเรียในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน การต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทั้งจากภายในร่างกายและภายนอกร่างกายสามารถเลือกปฏิบัติได้หลากหลายวิธีด้วยกัน แต่ทั้งนี้การเลือกวิธีที่จะต้านอนุมูลอิสระควรคำนึงถึงรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เลือกใช้ กลุ่มสารสำคัญที่จะช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ อาทิ การเลือกใช้สมุนไพรที่มีกลุ่มสาระสำคัญจำพวกฟลาโวนอยด์สามารถช่วยในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกที่กำลังได้รับความนิยมสมุนไพรที่มีกลุ่มสารสำคัญจำพวกฟลาโวนอยด์จะความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ อาทิ ใบรางจืด

(ภารดี เทียมตะวัน , 2553) และบัวหลวง (Rai Wahile, Mukherjee, Saha & Mukherjee, 2006) เป็นต้น

ใบรางจืด (Thunbergia Lauriforia) ในตำรายาไทยใช้ใบในการถอนพิษต่างๆ จากการศึกษาสารเคมีในใบรางจืดพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีรายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการป้องกันรังสียูวีอีกด้วย (ภารดี เทียมตะวัน, 2553) และการต้านการอักเสบ (ผการัตน์ ตั้งเขื่อนขันธ์, 2540)

เกสรบัวหลวงมีสรรพคุณในการบำรุงร่างกายหรือนำมาปรุงเป็นยารักษาโรคได้ เช่น เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รากบัว เหง้าบัวและเปลือกผลพบสารพวกแทนนินเป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ยับยั้งอาการท้องเดิน เมล็ดบัว มีสารไขมันช่วยเพิ่มพลังงาน บำรุงไขข้อเอ็นและสารสกัดจากเมล็ดบัวหลวงและเกสรบัวหลวงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (Rai Wahile, Mukherjee, Saha & Mukherjee, 2006)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการนำสารสกัดหยาบของพืชทั้งสองชนิดมาผสมกันและในการศึกษายังเป็นการทดลองเพื่อพัฒนาเซรั่มให้มีคุณค่าและคุณภาพทั้งยังเป็นการศึกษาอัตราส่วนของสารสกัดที่เหมาะสมที่จะสามารถจะเติมลงในเซรั่มจากสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบคุณสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่ม และ เป็นการส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์ โดยสามารถ นำความรู้ จากงานวิจัยไปพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้ในกิจกรรมชมรมวิทยาศาสตร์เพื่อเป็นพื้นฐานในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและตรวจหาฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

1.2.3 เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.2.4 เพื่อพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงและทดสอบคุณสมบัติบางประการของเซรั่ม

1.2.5 เพื่อถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยโดยพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้ในกิจกรรมชมรมวิทยาศาสตร์สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดและตรวจหาฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค TLC-Fingerprint

1.3.2 ศึกษาฤทธิ์ต้านการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH Radical Scavenging

1.3.3 ทดสอบคุณสมบัติบางประการของเซรั่ม ได้แก่ ทดสอบสี กลิ่น ความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และความเป็นพิษต่อเซลล์

1.3.4 พัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้ชมรมวิทยาศาสตร์สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยชุดกิจกรรมจำนวน 3 ชุดคือ เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและเกสรบัวหลวง เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และเรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1.4.1 เซรั่ม (Serum) หมายถึง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งซึ่งมีสารประกอบที่ใช้ทำจะมีโมเลกุลขนาดเล็กกว่าของครีม มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เนื้อเซรั่มเป็นเจล สามารถซึมผ่านผิวหนังชั้นนอกลงไปสู่ผิวหนังชั้นในโดยทำปฏิกิริยากับเซลล์ผิวชั้นหนังแท้ ให้นุ่มชุ่มชื่น ใสตึงกระชับ ไม่มัน ไม่เยิ้ม โดยไม่มีผลข้างเคียงใดๆ

1.4.2 การแยกองค์ประกอบทางเคมี หมายถึง การใช้เทคนิคทางเคมี ได้แก่ เทคนิครงคเรขผิวบาง แยกองค์ประกอบทางเคมีตามลักษณะสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

1.4.3 สารสกัดหยาบ หมายถึง สารที่ได้จากการนำใบรางจืด และเกสรบัวหลวงสกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการแช่ยุ่ย (Maceration) ระเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

1.4.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หมายถึงความสามารถโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยายาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (Free Radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

1.4.5 ชุดกิจกรรม หมายถึง ชุดของสื่อประสมที่มีการนำสื่อและกิจกรรมหลาย ๆ ชนิด มาประกอบกันเพื่อใช้ในการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนในกิจกรรมชมรมวิทยาศาสตร์ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ประกอบด้วยชุดกิจกรรมจำนวน 3 ชุดคือ เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและเกสรบัวหลวง เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และเรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบเซรั่ม และทราบถึงการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมต่อการใช้งาน

1.5.2. ได้ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีการทดสอบสมบัติบางประการ ความคงตัวทางกายภาพและความคงตัวทางเคมี ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

1.5.3 เป็นทางเลือกในการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากธรรมชาตินำไปทดแทนสารเคมีสังเคราะห์

GRAD VRU

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเรื่องการพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบของใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งผู้วิจัยขอนำเสนอเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นพื้นฐาน ดังนี้

2.1 การสกัดและแยกสารสำคัญจากพืช

2.2 อนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระ

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.4 ความรู้เกี่ยวกับใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

2.5 เทคนิคการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชั่น

2.6 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

2.7 ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การสกัดและแยกสารสำคัญจากพืช

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547) ได้อธิบายว่าการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้โดยพืชที่จะนำมาสกัดอาจอยู่รูปพืชสดหรือพืชแห้ง แต่ควรมีการคำนึงถึงการตรวจเอกลักษณ์ให้ถูกต้อง เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ นอกจากนี้หากเป็นพืชสมุนไพรที่หายากและขาดแคลนอาจมีการปลอมปน ส่วนพืชที่ได้จากการเพาะปลูกมักไม่ค่อยพบปัญหาในเรื่องนี้และแน่ใจได้ว่าเป็นพืชที่ถูกต้องและเชื่อถือได้

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

วันดี กฤษณพันธ์ (2536) ได้อธิบายว่า การเตรียมตัวอย่างพืชเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่

2.1.1.1 การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้อง

2.1.1.2 ไม่มีพืชอื่นปนเพราะอาจจะทำให้ได้สารแปลกปลอม ซึ่งอาจเป็นอันตราย

2.1.1.3 ไม่มีโรคพืช

2.1.1.4 ความแตกต่างของสารสำคัญในพืชในการเก็บพืชแต่ละครั้ง เพื่อนำมาสกัดสารสำคัญในพืช อาจแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างเนื่องจากสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก เป็นต้น

2.1.1.5 ผลของการเก็บรักษาและการเตรียมพืช

2.1.2 การทำตัวอย่างพืชให้แห้ง

โดยทั่วไปแล้วการสกัดจะได้ผลดีเมื่อเราสามารถสกัดจากพืชสดโดยการนำเอาพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์เพื่อยับยั้งเอนไซม์เสียก่อนเป็นการป้องกันไม่ให้สารเคมีในพืชเกิดการเปลี่ยน

แปลงจากนั้นนำไปทำการสกัดหรือเก็บพืชสดมาแช่แอลกอฮอล์ระหว่างที่ยังไม่ได้สกัดแต่วิธีการเหล่านี้ไม่สะดวกและไม่เหมาะสมกับอุตสาหกรรม จึงจำเป็นต้องนำเอาตัวอย่างพืชสดมาทำให้แห้งก่อนวิธีทำให้แห้งโดยคงคุณภาพของตัวอย่างพืช ควรทำให้แห้งด้วยวิธีที่เร็ว และใช้อุณหภูมิต่ำๆ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สาระสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลงไปได้ การทำให้แห้งอาจทำได้โดย

2.1.2.1 การทำให้แห้งในอากาศ (Air Drying) อาจเป็นการทำให้แห้งในที่ร่ม (Shade Drying) หรือนำมาตากแดด (Sun Drying)

2.1.2.2 การทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากพลังงานอื่นๆ (Artificial Heat) เช่น ไฟฟ้า ได้แก่ การทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบ ซึ่งจะเป็นการควบคุมอากาศที่ผ่านเข้าออกและอุณหภูมิ วิธีนี้จะดีกว่าวิธีแรก ที่สามารคควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน

2.1.3 การแตกย่อยเนื้อเยื่อตัวอย่างพืช

เป็นขบวนการแตกย่อยเนื้อเยื่อของพืชให้มีขนาดเล็กลง เพื่อทำให้การสกัดสารสำคัญจากพืชได้ผลดี

2.1.4 การสกัดสาระสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้น ไม่ว่าการสกัดด้วยวิธีการใดหรือการใช้ตัวทำละลายใด ก็จะได้องค์ประกอบเป็นของผสม หรือสารสกัดหยาบซึ่งเป็นสิ่งที่หลุดออกมาจากสมุนไพรซึ่งจะมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เรียกว่า สารสำคัญ และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอร์ หรือสารละลายของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้กรด-ด่าง เติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-เป็นด่างของน้ำยาสกัด ให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม มีใช้บ้างเฉพาะกรณี เมื่อทำการสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาตรมาก และเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อนซึ่งอาจทำได้หลายวิธีที่นิยมใช้กันมาก คือ การระเหย การกลั่นในสุญญากาศ การแช่แข็ง เป็นต้น (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

การสกัดองค์ประกอบทางเคมีจากพืช มีหลายวิธี ได้แก่

(1) มาเซอเรชัน (Marceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่หรือโถ เป็นต้น ทิ้งไว้ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง การสกัดถ้าจะสกัดให้หมดจด อาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อนแต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย

เนื่องจากกระบวนการสกัดด้วยวิธีมาเซอเรชันช้า จึงมีผู้ดัดแปลงใช้เครื่องผสมหรือเครื่องบด มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออกการสกัดจึงเร็วขึ้นเรียกวิธีการสกัดนี้ว่าการสกัดแบบวอร์ทิคอล (Vortical (Turbo) Extraction) ซึ่งต่อมาได้พัฒนาใช้การสกัดแบบอัลตราซาวด์ (Ultrasound Extraction) โดยใช้เสียงที่มีความถี่สูงเกิน 20,000 เฮิร์ซ แต่การใช้เสียงช่วยในการสกัดอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็นเปอร์ออกไซด์ ซึ่งอาจมีผลต่อสารที่สกัด

และยังอาจทำให้เกิดการออกซิเดชันต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้อัลตร้าซาวด์จะเกิดช่องว่างและมีอากาศเข้าไปแทรกในตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังอาจเพิ่มความเร็วในการสกัด โดยเพิ่มอุณหภูมิแต่ต้องระวังการสลายตัวของสารสำคัญ เช่นกัน และยังมีผู้พัฒนาใช้ประจุจากกระแสไฟฟ้าในการช่วยทำให้เนื้อเยื่อแตกและการสกัดเร็วขึ้น โดยกระแสไฟฟ้าจะทำให้ช่องว่างและพลังงานซึ่งเคลื่อนที่ด้วยความเร็วและแรงพอที่จะทำให้เนื้อเยื่อแตกออก

(2) เปอโคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือ ที่เรียกว่าเปอร์โคเลเตอร์ (Percolator) โดยนำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1ชั่วโมงเพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยๆ บรรจุผงสมุนไพรทีละน้อยเป็นชั้นลงในเปอร์โคเลเตอร์เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (Solvent Head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตรทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกโดยคอยเติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้งเก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันนำไปกรอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารในขั้นอุตสาหกรรมใช้เปอร์โคเลเตอร์ต่อกันหลายตัว เรียกว่า Countercurrent – Operated Percolator Battery และมีการดัดแปลงวิธีการสกัดให้มีการเคลื่อนที่ของสารที่จะสกัดและตัวทำละลายเข้าหากัน เรียกว่า Counter Current Extraction

(3) การสกัดด้วยซอร์กเลต (Soxhlet Extraction) เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในขวดกลั่นระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบิล (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อตัวทำละลายในเครื่องสกัด (Extracting Chamber) สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในขวดกลั่นด้วยวิธีการกาลักน้ำ ขวดกลั่นนี้ได้รับความร้อนจากเตาให้ความร้อน (Heating Mantle) หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไป ทิ้งสารสกัดไว้ในขวดกลั่น ตัวทำละลายเมื่อกระทบเครื่องควบแน่นจะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่วนเวียนเช่นนี้ จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนด้วยจึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว

(4) การสกัดของเหลว – ของเหลว (Liquid – Liquid Extraction) เป็นการสกัดสารจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่ผสม กับตัวทำละลายชนิดแรกการสกัดวิธีนี้ เป็นเทคนิคที่ง่ายและใช้กันทั่วไป โดยมีจุดประสงค์ดังนี้

4.1) แยกสารที่ละลายน้ำออกจากสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์

4.2) แยกสารที่มีสมบัติเป็นกรดหรือเบสโดยการสกัด ด้วยสารละลายเบสและกรดตามลำดับ แล้วนำมาสะเทินแล้วสกัดใหม่ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อีกทีหนึ่ง

ในการสกัดแบบใดก็ตามเมื่อได้ชั้นของสารอินทรีย์ (Organic Layer) ต้องนำมากำจัดน้ำที่หลงเหลือด้วยโซเดียมซัลเฟตหรือแมกนีเซียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำก่อน จากนั้นก็กรองแล้วนำไประเหยแห้ง

2.1.5 การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสาระสำคัญของพืช

วันดี กฤษณพันธ์ (2536) ได้อธิบายว่า ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีสมบัติ

GRAD VRU

1) เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี

2) ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

3) ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

4) ไม่เป็นพิษ

5) ราคาไม่แพง

และในการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ต่อไปนี้

1) สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน

2) ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุดขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด

3) แรงซึ่งเกี่ยวข้องในการละลายที่สำคัญ คือ

1) Dispersion Force เป็นแรงที่เกิดจาก Transient Charger Induced ในโมเลกุล พวกตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะประกอบด้วยโมเลกุลซึ่งเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ทำให้พวกสารที่ไม่มีขั้วเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างโมเลกุลได้ง่าย

2) Dipole-Dipole Force เป็นแรงที่พบในตัวทำละลายที่มีขั้วเหนี่ยวนำโมเลกุลเกิดเป็นขั้วบวก และขั้วลบ ทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายที่มีขั้วจับกันแน่น พวกสารที่ไม่มีขั้วจะแทรกเข้าไปได้ยาก

3) H-bonding สารที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับตัวทำละลายได้ดีก็จะละลายได้ดี สารที่สร้างสร้างพันธะไฮโดรเจนได้แบ่งออกเป็น

3.1) สารที่มี Active Hydrogen แต่ไม่มี Donor Atom เช่น $CHCl_3$

3.2) สารที่มี Donor Atom แต่ไม่มี Active Hydrogen

3.3) สารที่มีทั้ง Donor Atom และ Active Hydrogen

3.4) สารที่สามารถจับตัวต่อเนื่องเป็นร่างแห เกิดโมเลกุลใหม่ (Network of Bonding) ได้แก่ น้ำ โพลีฟีนอล และกรดไฮดรอกซี่ เป็นต้น

โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะสมกับสารที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว อาจทำให้การละลายดีขึ้น เช่น กรดสามารถละลายทั้งในเอทานอล อะซิโตน

ตัวทำละลายที่นิยมใช้

1) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มี Selectivity น้อย เกิดอิมัลชั่นง่าย ถ้าใช้สกัดสารที่เป็นด่างแก่ อาจสลายตัวให้กรดเกลือ

2) อีเทอร์ (Ether) มีความสามารถในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่มี Selectivity ดีกว่าคลอโรฟอร์ม ข้อเสีย คือระเหยง่าย ระเบิดง่าย เกิดออกซิไดซ์ได้ง่าย และดูดน้ำได้มาก

3) เฮกเซน (Hexane) เหมาะสำหรับสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากตัวอย่างพืช มีราคาถูก

4) อัลกอฮอล์ (Alcohol) นิยมในเมทานอล และเอทานอลเป็น All Process Solvent เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างมาก และยังใช้ทำลาเอนไซม์ในพืช

2.1.6 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

วันดี กฤษณพันธ์ (2536) อธิบายไว้ว่า เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรและความเจือจางมาก จึงจำเป็นต้องทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี คือ

2.1.6.1 การระเหย (Free Evaporation)

การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water Bath) หรือ Hot Plate บางครั้งอาจเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วย เพื่อให้ระเหยได้ดีขึ้น

2.1.6.2 การกลั่นในภาวะสูญญากาศ (Distillation in Vacum)

2.1.6.3 การแช่แข็ง (Freezing)

ถ้าเป็นการสกัดด้วยน้ำใช้ Lyophi Lizer หรือ Freeze Dryer แต่ถ้าเป็น ตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่จะแข็ง ซึ่งจะสามารถแยกสารสกัดที่เข้มข้นได้โดยการปั่นเหวี่ยง

2.1.6.4 อัลตราฟิวเตรชัน (Ultrafiltration)

เป็นการทำให้สารสกัดเข้มข้นด้วยน้ำโดยการใช้เมมเบรน ซึ่งใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000

2.2 อนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระคืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็คตรอนวงนอกสุด (Outer Orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (Unpaired Electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียรทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมากโดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียรโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไปเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain Reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ (Halliwell, 1991) โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆ ไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น

อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลกษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเลกตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลกษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล R• แทนอะตอมหรอโมเลกุลของอนุมูลอิสระที่ไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก (R+•) เช่น อนุมูล Pyridinyl (NAD+•) และประจุลบ (R-•) เช่น อนุมูล Superoxide (O2-•) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล Peroxyl (ROO•) หรืออนุมูล Thiyl (RS•) เป็นต้น ซึ่งจากคำจำกัดความนี้ส่งผลให้อะตอมของธาตุและสารละลายหลายชนิดถูกจัดเป็นอนุมูลิอสระด้วย เช่น คลอรีนอะตอม (Cl•) และซิลเวอร์อะตอม (Ag•) เป็นต้น (Roberfroid & Calderon, 1995)

2.2.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) หมายถึง ปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่าตัวรีดิวซ์ (Reducing Agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่าตัวออกซิไดซ์ (Oxidizing Agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน มักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องเนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมาย หลายชนิดและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (Garces, 2006)

ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระอนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ

2.2.1.1 ขั้นอินนิทิเอชัน (Chain Initiation)

อนุมูลอิสระเกิดมาจากกลไกต่างๆ กันได้หลายวิธีคือการแตกพันธะของโมเลกุลที่เรียกว่า Homolysis หรือการแตกพันธะเนื่องจากแสง (Photolysis) หรือผลของรังสี (Radiolysis) หรือมาจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox) ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 4 จัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสร้างอนุมูลอิสระจากสารอินทรีย์ (Roberfroid & Calderon, 1995)

(1) Bond homolysis โมเลกุลของสารอินทรีย์ ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Valence Electron) เป็นจำนวนคู่แล้วในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพธ์เป็นอนุมูลอิสระได้ โดยในสภาวะที่อุณหภูมิปกติการที่ อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนท์สามารถแยกจากกันไปให้อะตอมแต่ละตัวได้นั้นต้องเป็นโมเลกุลที่มี พลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก เช่น Disulfide และการเกิดปฏิกิริยาจะมีอัตราที่ช้ามากจึงคาดว่าไม่น่าจะเกิดในระบบของสิ่งมีชีวิตได้ ตัวอย่าง Bond Homolysis แสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

$$ROOR \rightarrow 2RO^{\bullet}$$

(2) Photolysis เป็นการแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอุลตร้าไวโอเลตทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นที่พบมากคือการแตกพันธะของ Hydrogen Peroxide (H_2O_2) กลายเป็นอนุมูล Hydroxyl ($HO^{\bullet}$) โดยในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสง เช่น รงควัตถุและสารอะโรมาติกคาร์บอนบางชนิดหลังดูดพลังงานแสงแล้วจะทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะที่ตื่นตัว (Excited State) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้าสู่สถานะพื้น (Ground State) ดังเดิมและวิธีหนึ่งของการคายพลังงานคือการแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ 2 ตัวดังนี้ (Hudson, 1990)

$$ROCl \rightarrow RO^{\cdot} + Cl^{\cdot}$$

$$(RCOO)_2 \rightarrow 2RCOO^{\bullet}$$

(3) Radiolysis พลังงานจากรังสีชนิดต่างๆ เช่น รังสีแกมมารังสีเอกซ์และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถ ทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนท์ของโมเลกุลสารได้

โดยเฉพาะโมเลกุลน้ำจะให้อนุมูลประจุบวก ($H_2O^{+\bullet}$) และอนุมูล Hydroxyl ($HO^{\bullet}$) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูงทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้รังสียังทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยตรงจากสารองค์ประกอบเคมีของเซลล์อีกด้วย โดยเฉพาะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิตซึ่งปฏิกิริยานี้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

(4) ปฏิกิริยารีดอกซ์ หรือเรียกอีกอย่างว่าปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยาปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน์ แต่มีปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหายโดยสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ที่สำคัญ คือโมเลกุลของอนุมูล Superoxide ($O^{2\ -}$) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโตคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียสนอกจากนี้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกายก็จัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกันโดยเฉพาะเหล็ก ($Fe^{\bullet 2+}$) และทองแดง (Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะ เปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ (Hudson, 1990)

2.2.1.2 ขั้นพรอพาเกชัน (Chain Propagation)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่น ซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อๆ กันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ (Unpaired Electron) ซึ่งสามารถแบ่งกลไก ของปฏิกิริยาในขั้นพรอพาเกชันได้ 3 ชนิดที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตคือ

(1) การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม (Atom or Group Transfer) จัดเป็นกลไกที่เกิดมากที่สุดในลำดับของพรอพาเกชันโดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวข้องกับการดึงไฮโดรเจน ดังสมการ (Hudson, 1990)

$$Cl^{\bullet} + RH \rightarrow HCl + R^{\bullet}$$

$$R^{\bullet}_1 + R_2Cl \rightarrow R_1Cl + R^{\bullet}_2$$

(2) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transfer) เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เป็นกลางหรือมีประจุลบไปให้โมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (Non-radical Molecule) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันในสิ่งมีชีวิต (Lipid Peroxidation) (Roberfroid & Calderon, 1995)

(3) การเติมอนุมูลอิสระ (Addition of Radicals) เป็นการเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่างๆ ดังสมการ

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$

ตัวอย่างของปฏิกิริยานี้ ได้แก่ การเติมอนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปฏิกิริยาออกซิเดชันโมเลกุลของไขมัน (Lipid Peroxidation) แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแสดงได้ดังสมการ (Frankel, 1979)

Chain initiation: $L\text{-}H \rightarrow L^{\bullet} + \text{radial-}H$

Chain propagation: $L^{\bullet} \rightarrow L\text{-}O\text{-}O^{\bullet}$

$L\text{-}O\text{-}O^{\bullet} \rightarrow L\text{-}O\text{-}O\text{-}H + L^{\bullet}$

Chain termination: $L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow L\text{-}L$

2.2.1.3 ขั้นเทอร์มิเนชัน (Chain Termination)

เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระประกอบด้วยกลไกหลัก 3 ชนิด คือ

(1) การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ (Homolinking and Cross-Linking of Radicals) เป็นการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลโดยการนำอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ของแต่ละโมเลกุลอนุมูลอิสระ มาสร้างพันธะกันได้เป็นสารโมเลกุลใหม่ที่มีพันธะร่วมกันหากเป็นการรวมตัวกันระหว่างอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่เป็นชนิดเดียวกันเรียกโมเลกุลสารใหม่ที่ได้ว่า Homodimer แต่ถ้าเป็นการรวมตัวของอนุมูลอิสระต่างชนิดกันเรียก Heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และไขมัน เป็นต้น การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระแสดงได้ดังนี้ (Roberfroid & Calderon, 1995)

$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$

$2ROO^{\bullet} \rightarrow ROO\text{-}OOR$

$2R^{\bullet} \rightarrow R\text{-}R$

(2) การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical Scavenging) คำว่า Scavenge หมายถึง การกำจัดเอาขยะและสิ่งที่ไม่ต้องการออกไปซึ่งในกรณีนี้เปรียบอนุมูลอิสระได้กับสิ่งที่ไม่ต้องการซึ่งการกำจัดออกจะกระทำโดยสารกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า Scavenger หรือสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งจัดเป็น Radical Scavenger ที่มี ประสิทธิภาพรวมทั้งวิตามินซีวิตามินอีวิตามินเอ เป็นต้น

(3) การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transfer) เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุลหรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมี ที่ว่างอยู่ในโมเลกุลทำให้สภาวะการเป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล Superoxide ($O_2^{\bullet}$) เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) เป็นต้น

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

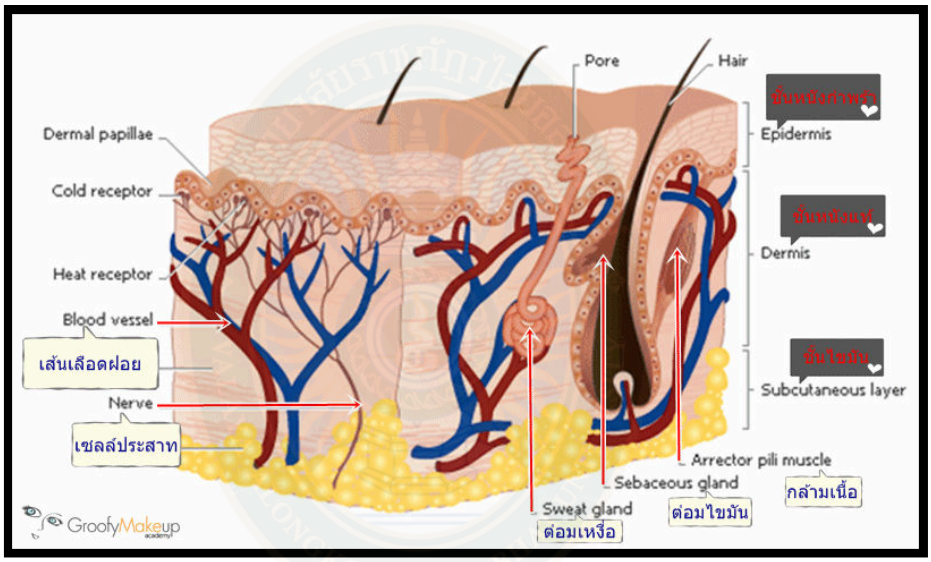
สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชั่น (Antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ๆ คือประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, Catalase, Peroxidase, Cytochrome C Peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม โปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (Ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ ได้แก่ วิตามินอี เบต้าแคโรทีน วิตามินซี Ubiquinone, Uric Acid, Bilirubin, Albumin, Sulfhydryl Groups ใน

กรดอะมิโน Cysteine ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีโนลิก (Phenolic Compounds) และสารกลุ่ม Flavanoids ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย

2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระสำหรับป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่นของผิวหนัง

2.3.1.1 จุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนัง

โดยทั่วไปโครงสร้างของผิวหนังแบ่งออกเป็น 3 ชั้น ดังนี้ ชั้นนอกสุดเป็นชั้นของหนังกำพร้า (Epidermis or Cuticle or Scarf Skin) ชั้นถัดมา คือ หนังแท้ (Dermis or Cuticle Vera) และชั้นที่สาม คือ ชั้นรองรับผิวหนัง (Subcutaneous Tissue or Hypodermis)



ภาพที่ 2.1 แสดงโครงสร้างผิวหนัง

ที่มา: http://topicstock.pantip.com/woman/topicstock/2010

(1) ชั้นหนังกำพร้า หนังกำพร้าเป็นผิวหนังที่อยู่นอกสุด ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย ช่วยรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังและอุณหภูมิในร่างกายให้คงที่ ในชั้นหนังกำพร้ามีเซลล์ที่สำคัญคือคีราติโนไซต์ (Keratinocyte) เป็นเซลล์ที่อยู่ ชั้นล่างสุด มีการแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนเป็นเซลล์ชั้นต่างๆ ถัดขึ้นมาเรียกว่าการผลัดเซลล์ผิว (Keratinization) ในชั้นหนังกำพร้ายังมีเซลล์ที่สำคัญอีก 3 ชนิด คือ เมลาโนไซต์ (Melanocyte) ทำหน้าที่สร้างเม็ดสี (Melanin) ช่วยปกป้องผิวจากแสงแดด Langerhan's Cell ทำหน้าที่คล้าย แมคโครฟาจ (Macrophage) มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของผิวหนัง และ Makel Cell ทำหน้าที่เป็นเซลล์ประสาทในชั้นหนังกำพร้า

(2) ชั้นหนังแท้เป็นชั้นที่อยู่ถัดลงมาจากชั้นหนังกำพร้า ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกระจายตัวเป็นร่างแหเรียกว่าไฟโบรบลาสต์ (Fibroblasts) นอกจากนี้ ยังมีองค์ประกอบพื้นฐานอื่นๆ ที่มีให้ผิวมีความตึง ยืดหยุ่นและอ่อนนุ่ม ชั้นหนังแท้แบ่งออกเป็น 2 ชั้น คือ

1. ชั้นปาปิลลารี (Papillary Layer) เป็นชั้นซึ่งประกอบด้วย หลอดเลือดฝอย ปลายประสาทและมีเซลล์ไฟโบรบลาสต์ทำหน้าที่สร้างคอลลาเจนและอีลาสตินแทรกอยู่ระหว่างกันทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้กับผิวหนังและทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น นอกจาก เส้นใยคอลลาเจนและอีลาสตินดังกล่าวยังมีองค์ประกอบพื้นฐานอื่นๆ แทรกอยู่ระหว่างเส้นใยเหล่านี้ ประกอบด้วย เกลือแร่ น้ำ และ Glycoaminoglycans ที่สำคัญ ได้แก่ กรดไฮยารูโรนิก และ Chondrointin Sulfate ทำหน้าที่ดูดน้ำและอุ้มน้ำ ทำให้ผิวนุ่มและชุ่มชื้น

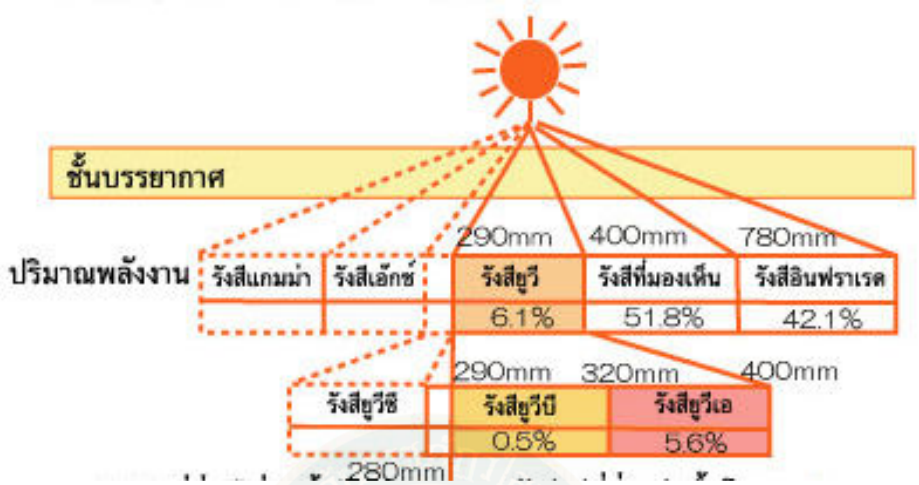
2. ชั้นเรติคิวลา (Reticular Layer) ชั้นนี้มีหลอดเลือด หลอดน้ำเหลือง เส้นประสาท รากผมหรือขน ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน ต่อมกลิ่นและกลุ่มเนื้อเยื่อมากมาย ชั้นนี้เป็นส่วนที่ยืดหยุ่นไม่ดีและเป็นรอยแตกนูนเมื่อถูกยืดออกมากๆ ในชั้นหนังแท้ ยังมี Mast Cells อยู่ใกล้หลอดเลือดซึ่งมีซึ่งมีบทบาทในการสร้างเฮพพารีน (Heparin) ช่วยป้องกันเลือดแข็งตัว และพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandins) มีผลให้ฟลอดเลือดขยายตัวซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนอง ต่อการแพ้และการอักเสบของผิวหนัง

(3) ชั้นรองรับผิวหนัง มีต่อมไขมันซึ่งจะหลั่งไขผิวหนัง (Sebum) เพื่อหล่อลื่นและปกคลุมผิวหนัง เส้นผมหรือขน ต่อมไขมันมีการแบ่งเซลล์ใหม่เพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไป เช่นเดียวกับเซลล์ผิวหนัง การหลั่งไขผิวหนังอยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนเพศชื่อ แอนโดรเจน (Androgen) นอกจากนี้ชั้นไขมันยังทำหน้าที่ให้ความอบอุ่น และลดแรงกระแทกต่อร่างกายด้วย

2.3.1.2 ผลของแสงแดดต่อผิวหนังแสงแดดส่วนที่ส่องลงมายังพื้นโลก ประกอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet Light) หรือรังสียูวี รังสีที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Visible Light) และรังสีอินฟราเรด (Infrared Ligh) รังสีไวโอเลตที่ออกมาจากดวงอาทิตย์ ประกอบด้วยสองส่วน คือ Far-UV มีช่วงความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 180-290 นาโนเมตร เป็นส่วนที่ส่องไม่ถึงพื้นโลก และ Near-UV มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 290-390 นาโนเมตร เป็นส่วนที่ส่องถึงพื้นโลก โดยทั่วไปแสงแดดประกอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตประมาณ 10 % รังสีอินฟราเรดประมาณ 50 % และรังสีที่มองเห็นด้วยตาเปล่าประมาณ 40 % รังสีเหล่านี้มีผลต่อผิวหนังต่างกัน ดังนี้

(1) รังสีอินฟราเรด ทำให้เกิดความร้อน เส้นเลือกขยายตัวและเกิดการแตกของ Mast Cells ทำให้มีการปลดปล่อย Arachidonic Acid และพรอสตาแกลนดิน ส่งเสริมผลของรังสีอัลตราไวโอเลตในการทำลายเซลล์ การสัมผัสรังสีอินฟราเรดเป็นเวลานานๆ มีผลทำลายอีลาสติน (Elastosis) และดีเอ็นเอ ซึ่งมีผลต่อการก่อมะเร็ง (Carcinogenesis) นอกจากนี้ยังส่งเสริมผลของรังสีอัลตราไวโอเลตในการเกิดผิวแก่ก่อนวัย (Photoaging)

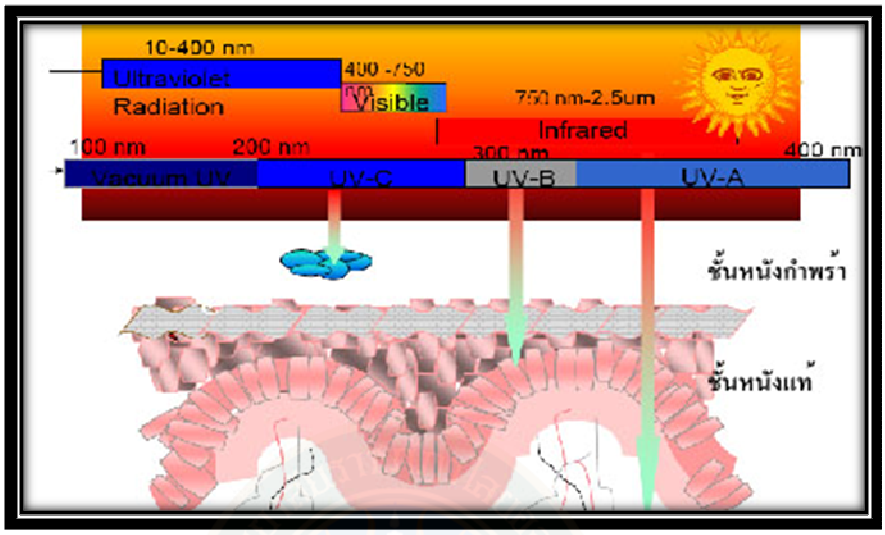
(2) รังที่มองเห็นด้วยตาเปล่า รังสีที่มองเห็นด้วยตาเปล่าสามารถทะลุทะลวงถึงชั้นใต้ผิวหนังจึงมีผลต่อการขยายของเส้นเลือดทำให้เกิดความร้อนและแดงขึ้นมาทันที ที่สัมผัสและหายไปโดยเร็วเมื่อหยุดสัมผัสรังสี จึงไม่มีอันตรายรุนแรงดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 แสดงชนิดของแสงและความสามารถในการผ่านชั้นโอโซนในบรรยากาศ
ที่มา: http://prune-iet.blogspot.com/2012

(3) รังสียูวีเอมีความยาวคลื่นระหว่าง 315-390 นาโนเมตรทำให้เกิด ผิวสีแทนโดยไม่อักเสบอันเป็นผลมาจากการเกิดออกซิเดชันของเมลานินรังสียูวีเอมีพลังงานต่ำจึงทำให้เกิดอาการบวมแดงหรือที่เรียกว่าอาการจากแดดเผาน้อยกว่าประมาณ 1,000 เท่าเมื่อเทียบกับรังสียูวีบี ในกรณีที่ผิวมีสารที่ไวต่อแสงสะสมอยู่จะทำให้เกิดความผิวปกติต่อผิวหนัง ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแพ้แสงได้มากกว่าเพราะมีผลต่อ Langerhan's Cell ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและสามารถทะลุถึงชั้นหนังแท้จึงมีผลต่อคอลลาเจนและอีลาสตินทำให้ผิวหนังเสียความยืดหยุ่นและแก่ก่อนวัยได้ เพราะสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างอนุมูลอิสระออกมาทำลายทั้งคอลลาเจนแลพอีลาสตินได้ทำให้เกิดอาการแดงหลังสัมผัสรังสี 72 ชั่วโมงนอกจากนี้รังสียูวีเอยังเป็นตัวส่งเสริมให้ร่างกายตอบสนองต่อรังสียูวีบีมากขึ้น

(4) รังสียูวีบีมีความยาวคลื่นระหว่าง 290-315 นาโนเมตร มีพลังงานสูงจึงทำลายเซลล์ผิวหนังได้มาก โดยเฉพาะผิวหนังชั้นหนังกำพร้า เพราะไม่สามารถทะลุถึงชั้นหนังแท้ได้ ทำให้เกิดอาการบวมแดงหลังสัมผัส 8 ชั่วโมงและผลยังคงอยู่นานถึง 24 ชั่วโมงหรือมากกว่านั้น ดังแสดงในภาพที่ 2.3 ถ้าสัมผัสรังสียูวีบีนานๆ โดยไม่มีการป้องกัน สามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็งที่ผิวหนังได้ จากการกระตุ้นให้มีการสร้างอนุมูลอิสระไปทำลายดีเอ็นเอของเซลล์ผิวหนัง



ภาพที่ 2.3 แสดงความสามารถในการผ่านชั้นผิวหนังของรังสีอัลตราไวโอเลต
ที่มา: http://www.cmicosmetic.com/2013

(5) รังสียูวีซี มีความยาวคลื่นระหว่าง 180-290 นาโนเมตร ถูกกรองโดยโอโซนในชั้นบรรยากาศ มนุษย์จึงได้รับผลกระทบจากรังสียูวีซีน้อยมาก ตราบใดที่โอโซนในชั้นบรรยากาศยังไม่ถูกทำลายไปเนื่องจากมลพิษทางอากาศ แต่อย่างไรก็ตามมนุษย์อาจได้รับรังสียูวีซีจากการรั่วไหลของโอโซนในชั้นบรรยากาศได้ เพราะรังสีชนิดนี้มีพลังงานสูงสามารถทำลายผิวหนังได้ โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการสร้างดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอและโปรตีน ทำให้เกิดการบวมแดงได้มาก แม้สัมผัสระยะเวลาสั้นๆ นอกจากนี้รังสียูวีซียังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย

โดยทั่วไปเมื่อรังสีจากแสงแดดผ่านเข้าชั้นผิวหนังจะก่อให้เกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาลูกโซ่ลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid Peroxidation) โดยเป้าหมายในการทำลายของอนุมูลอิสระ คือ ฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) เป็นไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบของผิวหนัง ไขมันเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นลิปิดเปอร์ออกไซด์ (Lipid Peroxides) เมื่อทำปฏิกิริยากับโปรตีนจะเกิดเม็ดสีหรือ Lipofuscin และมีการสะสมมากขึ้นตามอายุ ส่วนที่ได้จากการสลายตัวของลิปิดเปอร์ออกไซด์ คือ มาลอนไดแอลดีไฮด์ (Malondiadehyde, MDA) จะเข้าจับและทำลายคอลลาเจน จึงเป็นสาเหตุทำให้ความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลง และดูแก่ก่อนวัย

2.3.1.3 สารต้านอนุมูลอิสระสำหรับป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่นของผิวหนัง

(1) สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มวิตามิน

1. วิตามินเอในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่ สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็น Precursor ของวิตามินเอเรียกว่าโปรวิตามินเอมักพบในพืชผัก ใบเขียวผักและผลไม้ที่มี สีเหลืองหรือสีส้มแดง (Packer & et al., 1999)

2. วิตามินซีมีชื่อทางเคมีว่ากรดแอสคอร์บิค (Ascorbic Acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้นวิตามินซี มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันโดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล Hydroxyl และอนุมูล Peroxyl (Basu & et al., 1999) นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีด้วยโดยทำให้อนุมูล α-tocopherol ($TO^{\bullet}$) เปลี่ยนกลับไปเป็น α-tocopherol (TOH) ดังเดิมดังสมการ (Cadenas & Packer, 1996)

$$TO^{\bullet} + AH^{-} \rightarrow TOH + A^{\bullet}$$

3. วิตามินอีเป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญโดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันตัวอื่นๆ เช่น วิตามินซีและซิลิเนียม เป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่วในธรรมชาติ มีวิตามินอีอยู่หลายชนิดปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอลและโทโคไทอินอลแต่ละกลุ่ม ยังแยกเป็นวิตามินย่อยๆ อีก 4 ชนิดได้แก่ อัลฟ่า (α-) เบต้า (β-) แกมม่า (γ-) และเดลต้า (δ-) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูล Peroxyl ดังสมการ

$$\alpha\text{- tocopherol} + LOO^{\bullet} \rightarrow \alpha\text{- tocopherol}^{\bullet} + LOOH$$

อนุมูล α- $\text{tocopherol}^{\bullet}$ที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูล Peroxyl ตัวอื่นทำให้ได้สารที่มีความเสถียร (LOO-α- tocopherol) ดังสมการเป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุดลง (Basu & et al., 1999)

$$\alpha\text{- tocophero}^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOO\text{- }\alpha\text{- tocopherol}$$

(2) สารต้านอนุมูลอิสระสารสังเคราะห์

1. บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลโทลุอีน (Butylated Hydroxytoluene, BHT) BHT เป็นสารประกอบอินทรีย์ ละลายได้ในไขมันและใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร เครื่องสำอางและยา BHT เกิดจากปฏิกิริยาของ p-cresol กับ Isobutylene ถูกจดสิทธิบัตรในปีคริสตศักราช 1947 และได้ยอมรับในวงการอาหารและยาสำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งและสารกันเสียในอาหารและยา ในปีคริสตศักราช 1954 BHT ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระอย่างช้าๆ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสี กลิ่นในเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของ BHT

2. บิวทิลเลท ไฮดรอกซิลอะนิโซล (Butylated Hydroxyanisole, BHA) BHA เป็นของแข็งคล้ายขี้ผึ้ง มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเหมือน BHT โดย Conjugate Aromatic Ring ของ BHA ทำให้อนุมูลอิสระคงตัวและถูกแยกออกจากกัน และสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระได้ด้วย จึงนิยมใช้ในตำรับเครื่องสำอางเพื่อเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเช่นเดียวดับการใช้ BHT

(3) สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากพืช

1. ฟลาโวนอยด์หรือไบโอฟลาโวนอยด์ (Buhler & Miranda, 2000) ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่งจะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่างคือ เป็นรงควัตถุทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจงและทำหน้าที่ เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไปความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์และคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ยังสามารถช่วยลดการอักเสบช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัวทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้นต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอลและช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซีพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทยและพวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1.1) แอนโธไซยานิดิน (Anthocyanidin) แอนโธคลอร์ส (Anthochlors) และออโรนัส (Auronus) แอนโธไซยานิดินเป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (Red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงินขึ้นกับชนิดของพืชพบในบลูเบอร์รี่เชอรี่องุ่นแดงหัวหอมกะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโธคลอร์สเป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลืองพบมากในดอกไม้

1.2) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (Minor flavonoid) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (Flavonones) ฟลาวาน-3-ออล (Flava-3ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (Dihydroflavone) และไดไฮโดรชาล์โคน (Dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม (Citrus) ได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ

1.3) ฟลาโวน (Flavone) และฟลาโวนอล (Flavonols) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่หวาน บลอคคอลี่ หัวหอม ชาดำชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น

1.4) ไอโซฟลาโวนอยด์ (Isoflavonoid) พบมากในพืชตระกูลถั่ว (*Leguminosae;* Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เทอโรคาร์แปนส์ (Terocarpans) ไอโซฟลาวาน (Isoflavans) และโรทีนอยด์ (Rotenoid) ได้ โดยทั่วไป จะรวมถึงเจนีสทีน (Genistein) ไบโอชานินเอ (Biochanin a) และไดด์ซีน (Daidzein)

1.5) แทนนิน (Tannin) แทนนินหรือโปรแอนโธไซยานิดิน เป็นสารประเภทโพลีฟีนอล (Polyphenols) แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชันเนื่องจากสามารถจับกับโปรตีนได้

2. สารประกอบฟีโนลิก (Phenolic Compounds) สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไปมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้นสามารถละลายน้ำได้ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซล์ (Cellvacuole) สารประกอบฟีโนลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิดมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์(Flavonoids)นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น Simple Monocyclic Phenol, Phenyl Propanoid, Phenolic Quinine และ Polyphenolic ซึ่งได้แก่ พวก Lignin, Tannin เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่ม

ฟีนอล (Phenolic Unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน อัลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น สารประกอบฟีโนลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิกและแทนนินเป็นต้นสารประกอบฟีโนลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคือ อนุมูล Peroxyl (Packer & et al., 1999) โดยมีกลไก 2 แบบ คือเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเทียบกับ สารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีโนลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีโนลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของ โลหะเข้าไว้ ในโมเลกุลเช่นเคอร์ซิทิน (Quercetin) สารประกอบฟีโนลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟด้วยหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารต้าน ออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans & Miller, 1996)

3. แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติจะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืชและพบมากในผักและผลไม้สุก (Tomas-Barberan & Robins, 1997) โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่าTetraterpeneskeletonซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุลวงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้ แคโรทีน (Carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้นเช่นเบต้า-แคโรทีน (β-Carotene) อัลฟ่า-แคโรทีน (α-Carotene) แกมม่า-แคโรทีน (γ-Carotene) ไลโคปีน (Lycopene) เป็นต้นและซึ่ง เบต้า-แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ การเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอโดยการแตกพันธะคู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุลโดย เอนไซม์ Carotene Deoxygenase เมื่อเบต้า-แคโรทีนสามารถดักจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุลแล้วโมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะอยู่ในลักษณะ ที่มีความเสถียร

ออกโซแคโรทีนอยด์ (Oxocarotenoid) หรือแซนโทฟิล (Xanthophyll) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจนเช่นเบต้า-คริบโทแซนทิน (β-Cryptoxanthin) และลูทีน (Lutein)

2.4 ความรู้เกี่ยวกับใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

2.4.1 ความรู้เกี่ยวกับรางจืด

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia Laurifolia* Linn.

ชื่อวงศ์ : Acanthaceae

ชื่อท้องถิ่น : รางจืด, กำลังช้างเผือก, ยาเขียว, เครือเถาเขียว, ขอบชะนาง, ดุเหว่า, คาย, ปังกะล่ะ, เครือเขาเขียว, หนามแน่, ย้ำแย้, รางเย็น, แอดแอ

ภาพที่ 2.4 แสดงใบรางจืด

ที่มา: http://www.thaihof.org/2013

2.4.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ใบเป็นใบเดี่ยวรูปขอบขนานหรือรูปไข่กว้าง 4-7 เซนติเมตร ยาว 8-14 เซนติเมตร ขอบใบเว้าเล็กน้อย

ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีม่วงแกมน้ำเงิน ใบประดับสีเขียวประสีน้ำตาลแดง

สารสำคัญพบสารกลุ่ม Amino acid, Flavonoid และ Carotenoid

2.4.2 ความรู้เรื่องบัวหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Nelumbo Nucifera* Gaertn.

ชื่อสามัญ : Lotus

วงศ์ : Nelumbonaceae

ชื่อท้องถิ่น : บัวหลวง

ภาพที่ 2.5 แสดงเกสรบัวหลวง
ที่มา: http://www.lotus.rmutt.ac.th/wp-content/uploads/2011

2.4.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าและไหลอยู่ใต้ดิน เหง้า จะมีลักษณะเป็นท่อนยาว มีปล้องสีเหลืองอ่อนจนถึงเหลือง แข็งเล็กน้อย ถ้าตัดตามขวางจะเป็นรูกลมๆ หลายรู ไหลจะเป็นส่วนที่เจริญไปเป็นต้นใหม่

ใบ ใบเดี่ยวรูปโล่ ออกสลับ แผ่นใบจะชูเหนือน้ำ รูปใบเกือบกลม ขนาดใหญ่ ขอบเรียบและเป็นคลื่น ผิวใบมีนวล ก้านใบแข็งเป็นหนาม ถ้าตัดตามขวางจะเห็นเป็นรู ภายในก้านใบมีน้ำยางขาว เมื่อหักจะมีสายใยสีขาว ใบอ่อนสีเทานวล ปลายม้วนงอขึ้นทั้งสองด้าน ก้านใบจะติดตรงกลางแผ่นใบ

ดอกเดี่ยว มีสีขาว สีชมพู กลิ่นหอม บัวหลวงจะเริ่มบานตั้งแต่ตอนเช้า ก้านดอกยาวมีหนามเหมือนก้านใบ ชูดอกเหนือน้ำ และชูสูงกว่าใบเล็กน้อย กลีบเลี้ยง 4- 5 กลีบ ขนาดเล็ก สีขาวอมเขียว หรือสีเทาอมชมพู ร่วงง่าย กลีบดอกมีจำนวนมากเรียงซ้อนหลายชั้น

เกสรตัวผู้มีจำนวนมากสีเหลือง ปลายอับเรณูมีรยางค์คล้ายกระบองเล็กๆ สีขาว เกสรตัวเมียจะฝังอยู่ในฐานรองดอกรูปกรวยสีเหลืองนวล

ผล รูปกลมรีสีเขียวนวล มีจำนวนมาก ฝังอยู่ในส่วนที่เป็นรูปกรวย เมื่ออ่อนมีสีเหลือง รูปกรวยนี้เมื่อเป็นผลแก่จะขยายใหญ่ขึ้นมีสีเทาอมเขียว ที่เรียกว่า “ฝักบัว” มีผลสีเขียวอ่อนฝังอยู่เป็นจำนวนมาก

สารสำคัญ : Nucifera Gaertn.) คือดอกใบก้านใบฝักบัวเมล็ดและโดยเฉพาะดีบัว มีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อการขยายเส้นเลือดที่เลี้ยงหัวใจ เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรากบัว เหง้าบัวและเปลือกผล พบสารพวกแทนนิน (Tannin) เป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งอาการท้องเดิน และรากบัวมีสารพวกแคลเซียม (Calcium) ช่วยบำรุงร่างกายเมล็ดบัว มีสารไขมัน (Lipid) ช่วยเพิ่มพลังงาน บำรุงไขข้อและเอ็น

2.5 เทคนิคการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชั่น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity Determination) วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสมารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกันโดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

2.5.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

เป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยอาศัยหลักการต่างๆ เช่น การทำให้เกิดสี การทำให้เกิดตะกอน ความสามารถของการละลาย ในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสารโพลีฟีนอล ชนิดต่างๆ เช่น Shinoda test และ Pew Test โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระ ชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2.5.1.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โดยการทำให้เกิดสี (Colorimetric Assay) เป็นวิธีการนำสารเคมีชนิดต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างและดูสีที่เกิดขึ้น หลังจากการเกิดปฏิกิริยาตัวอย่างของวิธีนี้ ได้แก่

(1) วิธี Shinoda Test เป็นการทดสอบปฏิกิริยากับไซยานิดินส์ (Cyanidins Reaction) โดยการทำปฏิกิริยาของสารตัวอย่างกับผงแมกนีเซียมหรือวงแหวนแมกนีเซียม (Magnesium Ribbon) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและออกทิลแอลกอฮอล์ (Octyl Alcohol) ซึ่งจะเกิดการแยกชั้น ถ้าเกิดสีแดงแสดงว่ามีสารจำพวกฟลาโวนอล (Flavonol) ฟลาวาโนน (Flavanone) ฟลาวาโนนอล (Flavanonol) หรือแซนโทน (Xanthone) หรือถ้าเกิดสีแดงแสดงว่ามีสารจำพวกฟลาโวน (Flavones) ชาลโคน (Chalcone) หรือ ออโรน (Ourone)

(2) วิธี Pew test หรือการทดสอบของพิว เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับผงสังกะสี (Zinc Dust) และกรดไฮโดรคลอริก ถ้าเกิดสีแดงเข้มภายใน 2-5 นาที แสดงว่ามีสารฟลาวาโนนอล (Flavanonol) และฟลาโวนอล-3-ไกลโคไซด์ (Flavonol-3-glycoside) แต่ถ้าเป็นสีจางๆ แสดงว่ามีสารฟลาวาโนน (Flavanone) และฟลาโวนอล (Flavonol)

วิธีการทั้งสองมีข้อดี คือ ทำได้หลายตัวอย่างพร้อมกัน ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่ซับซ้อน และใช้ต้นทุนต่ำในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง แต่มีข้อเสีย คือ มีความไว (Sensitivity) และความแม่นยำ (Precision) ต่ำและเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารตัวอย่างที่บริสุทธิ์ เพราะสารหลาย ๆ ชนิดอยู่ด้วยกัน สีที่เกิดขึ้นสามารถรบกวนกันได้ วิธีการดังกล่าวข้างต้นได้ถูกนำมาวิเคราะห์หาสารโพลีฟีนอล ตัวอย่างเช่น เกสรตัวผู้ของบัวหลวง และย่านาง พบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) เป็นเทคนิคที่ ใช้ในการแยกสารและวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลในเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) โดยอาศัยหลักการการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ (Adsorbent หรือ Stationary Phase) ซึ่งอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างบนตัวดูดซับขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารตัวอย่างกับตัวทำละลาย และความ สามารถในการดูดซับของ

ตัวดูดซับที่มีต่อสารตัวอย่างในแต่ละชนิด สารตัวอย่างที่แตกต่างกันจะถูกละลาย และถูดดูดซับได้ไม่เท่ากัน โดยสารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดีและถูกดูดซับน้อยจะเคลื่อนที่เร็ว ค่า R เข้าใกล้ 1.0 (R= ระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่/ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่) ส่วนสารที่ละลายในตัวทำละลายได้น้อยและ ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ R_f ช้า ค่า Rจะเข้าใกล้ 0 ซึ่งตัวดูดซับที่นิยมใช้ คือ ซิลิกาเจล และตัวทำละลายหรือตัวพาที่นำมาใช้ในการแยกสารมีหลายชนิด ทั้งนี้อาจมีการใช้ตัวทำละลายเพียง ชนิดเดียวหรือหลายชนิดผสมกันเพื่อให้เกิดการแยกที่ดีที่สุด ตัวอย่างของตัวทำละลาย เช่น น้ำ เอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเทต กรดฟอร์มิก คลอโรฟอร์ม สารตัวอย่างบางชนิดสามารถแยกโดยใช้ TLC แล้ว สามารถมองเห็นสีได้ด้วยตาเปล่า ได้แก่ แอนโทไซยานิน ชาลโคน และออโรน แต่บางชนิดต้องนำแผ่น TLC ไปทำปฏิกิริยาต่อกับไอของแอมโมเนีย หรือส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) หรือฉีดพ่นด้วยสารต่างๆ เช่น สารละลายโฟลิน สารละลายวานิลลินในกรดซัลฟูริก สารละลายวานิลลินในกรดไฮโดรคลอริก สารละลาย Freagent และสารละลาย DPPH ข้อดีของวิธีนี้ คือ ใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย วิเคราะห์สารหลายชนิดได้พร้อมกัน ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้ต้นทุนต่ำในการวิเคราะห์ตัวอย่าง สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่างได้ทั้ง ที่มีสีและไม่มีสี แต่มีข้อเสีย คือ มีความไวและความ แม่นยำต่ำ และในกรณีที่องค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่างมีค่าR ใกล้เคียงกันมาก จะไม่สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆ เหล่านั้นออกจากกันได้ หรือแยกได้แต่ไม่บริสุทธิ์ซึ่งตัวอย่างของการวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลพบในย่านาง และผักช้าเลือด โดยการใช้สารละลาย DPPH ฉีดพ่นบนแผ่นโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง

2.5.1.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้หลักการคล้ายกับเทคนิคของ TLC โดยเครื่อง HPLC มีส่วนของปั๊มมาช่วยให้ ตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) และตัวดูดซับหรือเฟสอยู่กับที่ (Stationary Phase) บรรจุเป็นทรงกลมเล็กๆ หรือเรียกว่าคอลัมน์ โดยสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ หรือ Stationary Phase ได้แตกต่างกัน คอลัมน์ต่างชนิดกันแยกสารได้แตกต่างกัน ซึ่งสารที่ถูกดูดซับได้ น้อยจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาก่อน ส่วนสารที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาทีหลัง องค์ประกอบอีกส่วนที่สำคัญ คือ ส่วนตรวจวัดสัญญาณ (Detector) มีหน้าที่ตรวจวัดสัญญาณของสารตัวอย่างที่แยกออกมาแต่ละชนิดซึ่งสัญญาณที่ตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค (Peak) เรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram) โดยส่วนตรวจวัดสัญญาณสามารถตรวจวัดด้วย UV, Fluorescence, IR เป็นต้น ซึ่งแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารแตกต่างกัน การแยกสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้เครื่อง HPLC สามารถตรวจหาสารได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณในเวลาเดียวกัน อีกทั้งสามารถหาสารหลายชนิดไป พร้อมๆ กัน ทั้งนี้ต้องมีสารมาตรฐานในการ เปรียบเทียบโดยสารชนิดเดียวกันจะมีพีคออกมาใน ระยะเวลา (Retention Time) เดียวกันเสมอ ข้อดีของวิธี นี้ คือ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์สารหลายชนิดได้พร้อมกัน และวิเคราะห์สารได้ ในปริมาณต่างๆ แต่มีข้อเสีย คือ มีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากเครื่อง HPLC มีราคาค่อนข้างแพง และ Mobile Phase ต้องใช้ประเภท HPLC Grade ตัวอย่าง ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Catechin, Gallic acid และ Rutin โดยใช้เครื่อง HPLC ในพืชผัก

2.5.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

เป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆ วิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\bullet}$) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ($ABTS^{\bullet+}$) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP Assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน และวิเคราะห์ความสามารถ ในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจโดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสงสารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น $ABTS^{\bullet+}$ และ $DPPH^{\bullet}$ การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น Trolox, Vitamin C และ Ferrous Sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ

แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC_{50} % of Inhibitory Concentration) โดยค่า ตัวเลขต่างๆ แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ μM/mg, mM/mg, μM/mL, mM/mL เป็นต้น

2.5.2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (Diphenyl Picryhydrazyl Radical Scavenging Assay, DPPH) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\bullet}$, diphenyl-Picryhydrazyl Radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ ที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถ หาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้ง อนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณ ได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังนี้

% Radical Scavenging = [(AB - AA) / AB] x100

เมื่อ AA = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

AB = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

สารมาตรฐาน ที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (Trolox, 6-hydroxy2, 5, 7, 8-tetramethylchlorman-2-carboxylic Acid) แสดงค่าเป็น TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ μM/mg ข้อดีของ วิธีนี้คือง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ $DPPH^{\bullet}$ ค่อนข้างเสถียร ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์

ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (Interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้เช่นกัน ได้มีการนำวิธีการนี้ไปใช้ตัวอย่าง เช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกระถิน ติ้ว และกระโดนบก พบว่าสารสกัดทั้งสามให้สารสกัดที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี ขณะที่สารสกัดเมทานอลจากใบของชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แรง กว่าดอกและฝักเช่นเดียวกับใบของมะตูมมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) มากกว่าผลและราก

2.5.2.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS Radical Cation Decolorization Assay) เป็นวิธีการวัดความ สามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS•+,2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-ปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS•+ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS•+ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือ จางซึ่งจะทำให้สีจางลง (ดังสมการ 6) และตั้งทิ้งไว้ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสร ะของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่ จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS•+ ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox กระทำ เช่นเดียวกับวิธี DPPH ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ABTS ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำ ปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ตัวอย่างที่ได้มีการนำวิธีนี้มาใช้ ได้แก่ การตรวจพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโหระพา การตรวจพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนของเมล็ด มะม่วง (*Mangifera indica* L.) มากกว่าใบอ่อน ใบแก่ และเปลือกของผลดิบ และพบว่าส่วนสกัดจากใบผัก ช้าเลือด (*Ceasalpinia Mimosoides* Lamk.) มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของยอดอ่อน ใบ ดอก และลำต้น อีกทั้งได้มีการตรวจพบต้านอนุมูลอิสระสารสกัดจากโด่ไม่รู้ล้ม ผักคราดหัวแหวน หญ้าตดหมา เหียง กะทกรก ทองพันชั่ง ผักหวาน ป่า เพกา และมะระขี้นก

ABTS•++ AH (antioxidant) ABTS (สีจางลง) + A (สมการ 6)

2.5.2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric Ion•Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay) วิธีการนี้ อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน [Fe(III) (TPTZ)2]3+ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นซึ่ง [Fe(II)(TPTZ) มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ [Fe(II)(TPTZ)2]2+ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูปFRAP Value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน [Fe(III)(TPTZ)24]3+ ประกอบ $2,2^{+}$ ด้วยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri(2-Pyridyl)-Striazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเทตบัฟเฟอร์และสารละลายเฟอริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรตจากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดวิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่ายใช้เวลาน้อยไม่แพง

และสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิมแต่ข้อเสียคือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีการดังกล่าว เช่น การตรวจพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเอทิลอะซิเทตและบิวทานอลของใบฝรั่ง สารสกัดรังนกแท้ ในประเทศจีนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเทตในพืชวงศ์ Lamiaceae และวงศ์ Apiaceae จำนวน 7 ชนิด จากประเทศอิหร่าน

2.6 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว หมายถึงผลิตภัณฑ์สำหรับการปกป้องดูแลผิว แบ่งออกตามเนื้อผลิตภัณฑ์ได้ 5 ชนิดดังนี้

1. เนื้อครีมประกอบด้วยน้ำมันและน้ำอาจมีซิลิโคนผสมด้วยเนื้อครีมจะเข้มข้นและหนักกว่าแบบโลชั่นเหมาะสำหรับคนที่มีผิวแห้งหรือผิวที่ต้องการความชุ่มชื้นเป็นพิเศษเนื้อครีมจะซึมผ่านลงสู่ชั้นผิวหนังได้นานกว่าแบบโลชั่นหรือเจล เพราะมีส่วนประกอบของน้ำมันมากกว่า

2. เนื้อโลชั่น ประกอบด้วยน้ำมันและน้ำ ส่วนผสมส่วนใหญ่จะเป็นน้ำ เนื้อโลชั่นจะบางเบาซึมได้เร็วกว่าเนื้อครีม เหมาะสำหรับผิวผสมหรือผิวมัน

3. เนื้ออิมัลชัน มักอยู่ในรูปของเหลวมีเนื้อหนักกว่าโลชั่นมีลักษณะคล้ายน้ำนม เนื้อเบาบางกว่าเนื้อครีมเหมาะสำหรับคนผิวธรรมดาและผิวแห้ง

4. เนื้อเจล ประกอบด้วยน้ำเป็นหลักและมีน้ำมันปริมาณน้อย จึงทำให้ซึมลงสู่ผิวได้ง่ายและรวดเร็วกว่าเนื้อครีมหรือโลชั่น เหมาะสำหรับผิวผสม

5. เนื้อเซรั่ม ประกอบด้วยซิลิโคน น้ำ และสารประสานซิลิโคนกับน้ำ ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์จะคล้ายกับเจลที่สามารถระเหยไว การซึมลงสู่ผิวหนังใกล้เคียงกับเจล เหมาะสำหรับคนผิวแห้ง ผิวธรรมดา และผิวมัน

ผลิตภัณฑ์เซรั่ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่เข้มข้น เนื้อจะเป็นเจลหรือจะเป็นอิมัลชั่นก็ได้ เนื้อสัมผัสแต่ละตัวก็จะต่างกันไป แล้วแต่สารออกฤทธิ์ สามารถซึมผ่านผิวหนังชั้นนอกลงไปสู่ผิวหนังชั้นในโดยทำปฏิกิริยากับเซลผิวชั้นหนังแท้ ทำให้นุ่มชุ่มชื่น ใสตึงกระชับ ไม่มันโดยไม่มีผลข้างเคียงใดๆ ซึ่งบางตำราอาจจัดอยู่ในเวชสำอาง

ข้อเปรียบเทียบระหว่างครีมบำรุงผิวกับเซรั่ม

1. ความเข้มข้นของ Active Ingredients เซรั่มใส่ส่วนผสมที่ออกฤทธิ์เข้มขันกว่าครีม ทำให้เห็นผลได้เร็วกว่าครีม

2. ความชุ่มชื้นผิว ครีมมีส่วนผสมน้ำมันทำให้สามารถให้ความชุ่มชื้นผิวได้มากกว่าเซรั่ม

3. การซึมซับเข้าสู่ผิว เซรั่มซึมลึกเข้าสู่ผิวชั้นในเพื่อแก้ไขปัญญาผิวจากด้านใน ในขณะที่ครีมให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวได้แค่ผิวชั้นนอก

4. ความรู้สึกเหนียวเหนอะแหนะ เนื้อเซรั่มซึมเข้าสู่ผิวได้เร็วและลึกกว่าเนื้อครีม ทำให้เซรั่มรู้สึกเหนียวเหนอะแหนะน้อยกว่าครีม

5. ราคา ครีมมีราคาถูกกว่าเซรั่ม

2.7 ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

ชุดการเรียนหรือชุดกิจกรรม เป็นสื่อที่ครูนำมาใช้ประกอบการสอนแต่ต่อมาแนวคิดในการจัดการเรียนการสอนที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้น ในการวิจัยผู้วิจัยใช้แบบฝึกซึ่งเป็นกิจกรรมหนึ่งของชุดกิจกรรม ดังนั้นการทำกิจกรรมต่างๆ ในชุดแบบฝึกคือการทำกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้ของผู้เรียน ซึ่งมีผู้ให้ความหมายของชุดกิจกรรมไว้ ดังนี้

ดำรงศักดิ์ มีวรรณ์ (2552) สรุปไว้ว่า ชุดกิจกรรม คือ การจัดประสบการณ์เรียนรู้ให้กับผู้เรียน ให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้แก้ปัญหาด้วยตนเอง มีอิสระในการเรียนรู้ โดยใช้แหล่งการเรียนรู้ที่หลากหลาย โดยครูต้องเป็นผู้วางแผน กำหนดเป้าหมายวัตถุประสงคีการเรียนรู้ สิ่งที่ต้องการผู้เรียนเกิดการเรียนรู้และในการจัดกิจกรรมการเรียนรู้โดยครูมีหน้าที่ให้คำปรึกษา

นพคุณ แดงบุญ (2552) สรุปไว้ว่า ชุดกิจกรรม หมายถึง สื่อการสอนที่ผู้สอนสร้างขึ้นประกอบด้วยสื่อวัสดุอุปกรณ์หลายชนิดประกอบเข้ากันเป็นชุด เพื่อเกิดความสะดวกต่อการใช้ในการเรียนการสอน และทำให้การเรียนการสอนบรรลุผลตามเป้าหมายของการเรียนรู้ ทั้งด้านความรู้ด้านทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ และเจตคติต่อวิทยาศาสตร์

ประเสริฐ สำเภารอด (2552) สรุปไว้ว่า ชุดกิจกรรม หมายถึง ชุดการเรียนการสอนประเภทสิ่งตีพิมพ์และกิจกรรมที่เน้นให้ผู้เรียนทำกิจกรรมด้วยกระบวนการกลุ่ม ประกอบด้วย 9 องค์ประกอบ ได้แก่ 1) ชื่อกิจกรรม 2) คำชี้แจง 3) จุดประสงค์ 4) เวลาที่ใช้ 5) วัสดุอุปกรณ์ 6) เนื้อหาและใบความรู้ 7) สถานการณ์ 8) กิจกรรม 9) แบบทดสอบท้ายกิจกรรม

จากความหมายข้างต้น สรุปได้ว่า ชุดกิจกรรมหมายถึง สื่อที่ช่วยให้นักเรียนสามารถเรียนรู้ได้ด้วยตนเอง มีการจัดสื่อไว้อย่างเป็นระบบ ช่วยให้นักเรียนเกิดความสนใจตลอดเวลาเกิดทักษะในการแสวงหาความรู้ และทำให้การเรียนการสอนบรรลุผลตามเป้าหมายของการเรียนรู้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 งานวิจัยในประเทศ

2.8.1.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับใบรางจืด

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ (2549) ได้ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่และโภชนเภสัชของสารสกัดรางจืด (*Thunbergia laurifolia lindl*.) โดยนำไปสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และอะซีโตน จากการตรวจหาส่วนประกอบและตรวจสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่และโภชนเภสัชของสารสกัดรางจืด พบว่ารางจืดมีองค์ประกอบหลักคือฟีนอลิกคาโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์โดยพบปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุด (24.3 ไมโครกรัมของกรดกาลิค) ในสารสกัดน้ำรองลงมาเป็นสารสกัดเอทานอล (5.65 ไมโครกรัมของกรดกาลิคและน้อยที่สุดในสารสกัดอะซีโตน) (1.42 ไมโครกรัมของกรดกาลิค) จากการตรวจหาส่วนประกอบหลักโดยวิธี HPLC พบว่ากรดคาเฟอิก และอะพีจีนิน (Apeginin) เป็นส่วนประกอบหลักในสารสกัดน้ำและสารประกอบคลอโรฟิลล์เป็นสารประกอบหลักในสารสกัดเอทานอลและสารสกัดอะซีโตนในการทดสอบคุณสมบัติในด้านการแก้พิษของสารสกัดรางจืดโดยวัดค่าการเพิ่มการออกตามฤทธิ์ของเอนไซม์ NAD(P)H: Quinine Oxidoreductase (NQO1) ในเซลล์ตับชนิด Hepa 1c1c7 พบว่า สารสกัดอะซีโตนมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ NQO1

สูงสุด 2.8 เท่าเมื่อเทียบกับตัวควบคุมรองลงมาคือสารสกัดเอทานอลและสารสกัดน้ำซึ่งมีฤทธิ์ในการเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ 1.35 และ 1.56 เท่าตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์การเป็นสารก่อกลายพันธุ์และการต่อต้านฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์ พบว่าสารสกัดรางจืดทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของ 2 Amino-Anthracene สูงสุดที่สายพันธุ์ TA98 และ TA100. สารสกัดน้ำแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการตรวจสอบด้วยวิธี DPPH Assay ที่ค่า EC_{50} สูงสุดที่ 0.13 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดเอทานอลและอะซีโตนแสดงค่า EC_{50} ที่ 0.26 และ 0.61 มิลลิกรัมกรดกาลิคต่อมิลลิลิตรตามลำดับนอกจากนี้การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการตรวจสอบด้วยวิธี FRAP Assay สูงสุดที่ 0.93 มิลลิโมลต่อกรัมในสารสกัดน้ำ รองลงมาเป็นสารสกัดเอทานอลและอะซีโตนที่ค่า 0.18 และ 0.04 มิลลิโมลต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดรางจืดในเซลล์ไลน์ L929, BHK(21) C13, Hep G2, และ Caco-2 พบว่า มีค่าความเป็นพิษต่ำกับทุกเซลล์ไลน์ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่า 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาอายุการเก็บของใบรางจืดแห้งและสารสกัดในระยะเวลา 6 เดือน ณ อุณหภูมิแตกต่างกันที่ -25, 25, 30 และ 50°C พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมนัยสำคัญของระดับฟีนอลิกในช่วงอายุการเก็บที่ทดลองทั้งในใบแห้งและสารสกัด ส่วนระดับคลอโรฟิลล์มีระดับลดลงซึ่งแปรผันกลับกับอุณหภูมิของการเก็บที่สูงขึ้นและระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนระดับของลูทีนจะลดลงในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา ณ ทุกอุณหภูมิที่ทำการทดลอง

ศิริพร โอโกโนกิ และคนอื่นๆ (2550) ได้ศึกษาศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพรไทย 26 ชนิดจำนวน 43 ตัวอย่าง แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยใช้วิธี ABST, DPPH, FRAP และ Lipid Peroxidation และได้นำไปศึกษาความพิษต่อเซลล์โดยใช้ Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) เป็นตัวแทนเซลล์ปกติ ผลการทดลองพบว่า ใบรางจืด แสดงค่า IC_{50} ต่อเซลล์ปกติเท่ากับ 5.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สุรีย์พร บุญชื่น (2552) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบรางจืดและเถารางจืดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA โดยศึกษาชนิดของตัวทำละลาย 2 ชนิดคือน้ำและเอทานอล และศึกษาเวลาที่ใช้ในการแช่ในตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ 8 ชั่วโมง 16 ชั่วโมง และ24 ชั่วโมงรวมทั้งศึกษาผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างด้วยว่ามีผลต่อการสูญเสียต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระหรือไม่ ผลการวิจัยพบว่า 1) ส่วนของใบรางจืดที่สกัดด้วยเอทานอลที่เวลา 8 ชั่วโมงให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (85.266 %) ส่วนของเถาเมื่อสกัดด้วยน้ำที่เวลา 16 ชั่วโมง ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (70.530 %) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนของใบและเถารางจืด จะเห็นว่าส่วนของใบจะให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของเถาและเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 3 – tert – Butyl – 4 –Hydroxylanisole (BHA) พบว่าสารมาตรฐาน BHA ในเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารอนุมูลอิสระ 97.067 % และสารมาตรฐาน BHA ในน้ำมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารอนุมูลอิสระ 96.245 % ผลปรากฏว่าส่วนสกัดของใบรางจืดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน BHA มากกว่าส่วนสกัดของเถารางจืดและผลของอุณหภูมิว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพียงเล็กน้อย อีกทั้งผลของความเป็นกรด-ด่างต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่าความเป็น

GRAD MRU

กรด-ด่างมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากใบและเถาของรางจืดเมื่อเพิ่มค่า pH สูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระก็ลดลงมาก

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ (2554) ได้ศึกษาฤทธิทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพร ดังกล่าวเพื่อเป็นองค์ความรู้ประกอบสำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ถูกต้อง และเหมาะสมโดยได้ทำการศึกษาฤทธิทางชีวภาพของสารสกัดย่านางเครือหมาน้อยและรางจืด ได้แก่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Totalphenolic) การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยเตรียมสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำเอทานอลและอะซีโตน จากการศึกษาพบว่าปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดรางจืดน้ำมีปริมาณสูงสุด (2,634.87 mgGAE /100g RM) รองลงมาได้แกสารสกัดน้ำเครือหมาน้อยและย่านาง (1,940.73 mg GAE /100g RM และ 978.99 mg GAE /100 g RM) ตามลำดับ ส่วนสารสกัดรางจืดด้วยอะซีโตนมีปริมาณฟีนอลิกทงหมดต่ำที่สุด (81.58 mg GAE/100 g RM)และเมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, ABTS Assay และ FRAP Assay พบว่าสารสกัดรางจืดน้ำมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดที่ค่า IC_{50} 3.920mg/ml, 1.598 mg/ml และ 0.254 mmol Fe2+/g RM ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดน้ำของสมุนไพรทั้งสามชนิด รองลงมาได้แก่ เครือหมาน้อย และย่านาง ตามลำดับ จากการศึกษาความเป็นพิษตอเซลล์ของสารสกัดสมุนไพรทั้งสามชนิดโดยวิธี MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) Colorimetric Assay พบว่า สารสกัดรางจืด เอทานอล มีความสามารถในเป็นสารต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ดีที่สุดใน Caco-2 Cell Lines รองลงมาคือสารสกัดเครือหมาน้อยและสารสกัดย่านาง โดยมีค่า IC_{50} มากกว่า 100 µg ของสารสกัด/mL ดังนั้นสมุนไพรทั้งสามชนิดจึงจัดอยู่ในประเภทของสารที่มีความเป็นพิษต่ำ

2.8.1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเกสรบัวหลวง

สมอุรา ทองรุ่งโรจน์ (2550) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ของสารหอมระเหยเกสร (ตัวผู้) บัวหลวง 4 สายพันธุ์ในประเทศไทย (ปทุม, บุณฑริก, สัตตบงกช และสัตตบุศย์) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารหอมระเหยเกสรบัวหลวงด้วย เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี (GC-MS) พบว่า บัวแหลม (ปทุม, บุณฑริก) มีองค์ประกอบ 16 และ 9 ชนิด ตามลำดับ ส่วนบัวหลวงฉัตร (สัตตบงกช, สัตตบุศย์) มีองค์ประกอบ 9 และ 13 ชนิด ตามลำดับ สารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ Pentadecaniic Acid, 14-Methyl-, Methyl Ester และ 9, 12, 15-Octadecatrienoic Acid, Methyl Ester และสารสกัดที่ได้จาก เกสรบัวหลวงนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และคนอื่นๆ (2552) ได้ศึกษาวิจัยพบสารชนิดต่างๆ ในส่วนประกอบของบัวหลวงที่มสรรพคุณในการบำรุงร่างกายหรือนำมาปรุงเป็นยารักษาโรคได้ เช่น ส่วนต่างๆ ของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) คือ ดอก ใบ ก้านใบ ฝักบัว เมล็ด และโดยเฉพาะดีบัวมีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อการขยายเส้นเลือดที่เลี้ยงหัวใจ เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รากบัว เหง้าบัว และเปลือกผล พบสารพวกแทนนิน (Tannin) เป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งอาการท้องเดิน และรากบัวมีสารพวกแคลเซียม (Calcium) ช่วยบำรุงร่างกายเมล็ดบัว มีสารไขมัน (Lipid) ช่วยเพิ่ม

พลังงานบำรุงไขข้อและเอ็น (http://www.kmitl.ac.th/agridata/Lotus/article/Lotus.pdf) การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากบัวหลวงในประเทศไทยทำให้ทราบองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง ในการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

อ้อมใจ แต้เจริญวิริยกุล และคนอื่นๆ (2554) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส เบื้องต้นของสารสกัดจากสมุนไพร 20 ชนิด โดยการนำสารสกัดจากสมุนไพรมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1 (2, 4, 6-Trinitrophenyl) hydrazyl (DPPH) Assay เทียบกับวิตามินซี กรดแกลลิก และเคอร์คูมิน คัดเลือกสมุนไพรที่มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 100.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลองเทียบกับอัลโลพูริ-นอล (Allopurinol) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี (IC_{50} น้อยกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดังนี้ คือ โกฐพุงปลา พลู ทับทิม อบเชย เกสรบัวหลวง เสี้ยวแดง พอก ว่านชักมดลูก แพว ติ้ว จันทร์แดง และลูกจันทร์ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส พบว่า สมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Xanthine Oxidase ได้แก่ อบเชย เกสรบัวหลวง พลู แพว และว่านชักมดลูก โดยเทียบกับ ค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งแซนทีนออกซิเดสสมมูลกับอัลโลพูรินอล 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Allopurinol Equivalent Antixanthine Oxidase Activity) การศึกษานี้ทำให้พบว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ โดยสมุนไพรบางชนิดควรได้รับการรักษาโรคเกาต์ในสัตว์ทดลองต่อไป

สุรัตน์วดี วงค์คลัง เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ และ อรุณพร อิฐรัตน์ (2557) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของบัวหลวง การสกัดสมุนไพรด้วยเอทธานอล 95 % จากส่วนต่างๆ ของบัวหลวง 10 ตัวอย่าง โดยนำมาอบ บดให้ละเอียด หมักแล้วนำมากรอง และระเหยให้แห้งจนได้สารสกัดหยาบ (Crude Fiber) ปริมาณสารสกัดจากส่วนของบัวหลวงที่ได้สูงสุดสามอันดับแรกคือ ใบแก่ กลีบดอก และดีบัว ปริมาณสารสกัดที่ได้ 13.82 %, 12.54 % , และ 10.53 % ตามลำดับ และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้ Butylated Hydroxytoluene (BHT) เป็นสารมาตรฐาน ในการทดสอบ ซึ่งมีค่า EC_{50} = 13.19 µg/mL พบว่าส่วนประกอบของบัวหลวงทั้ง 10 ส่วน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน กลีบบัวและก้านดอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยกลีบบัวมีค่า EC_{50} ต่ำสุดคือ 16.32 µg/mL รองลงมาคือก้านดอกมีค่า EC_{50} เท่ากับ 17.98 µg/mLส่วนรังไข่และดีบัวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปานกลาง โดย รังไข่มีค่า EC_{50} เท่ากับ 38.23 µg/mL ส่วนดีบัวมีค่า EC_{50} เท่ากับ 45.81 µg/mL ส่วนรากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยต่ำที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 68.05 µg/mL ส่วน เกสร, ใบอ่อน, ใบแก่, เมล็ด และไหลไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อย (EC_{50} > 100 µg/mL) ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่ากลีบบัวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาคือก้านดอก

2.8.1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง (2549) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวม ของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด พบว่า พืชสมุนไพรที่พบทั่วไปในจังหวัดอุบลราชธานี 8 ชนิด ได้แก่ เหียง กระบก แมงลักคา หูเสือ เอนอ้า มะพอก มะสังและตูมกาขาว ด้วยการนำส่วนต่างๆ ของพืชมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต

และเอทานอล ได้สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตตและเอทานอล ทั้งหมด 36 สารสกัด จากนั้นทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH พบว่าสารสกัดชั้นเอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าสารสกัดในชั้นเอทิลอะซิเตต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 19.8+2.3 ถึง 51.4+1.3 เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้นเดียวกัน (500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่า vitamin C equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) อยู่ในช่วง 4.4+7.2 ถึง 105.9+4.3 มิลลิกรัมวิตามินซี/100 กรัมสารสกัด ส่วนการหาปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดชั้น Ethanol โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu พบว่าปริมาณสารฟีนอลรวมในสารสกัดนี้จะอยู่ในช่วง 5.4+0.1 ถึง 41.5+0.3 มิลลิกรัมแกลลิคแอซิด/กรัมสารสกัด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารฟีนอลรวมกับการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.6

พงศธร ล้อสุวรรณ และคนอื่นๆ (2551) ได้ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 8 ชนิด ได้แก่ มังคุด มะม่วง กล้วยหอม ทุเรียน ลองกอง มะละกอ ส้ม และสับปะรด พบว่าเปลือกมังคุด และเปลือกมะม่วงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenly-1-Picrylhydrazy (DPPH) และอนุมูลอิสระ 2, 2’–azobis (3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonic Acid) Diammonium Salt (ABTS) สูงกว่าเปลือกผลไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้ยังพบว่าเปลือกมังคุดยังมีสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างเปลือกผลไม้ทีทำการศึกษา เมื่อทดสอบสมบัติการต้านจุลินทรีย์พบว่า เปลือกมังคุดและเปลือกมะม่วงมประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์สูงกว่าเปลือกผลไม้ชนิดอื่น และเปลือกผลไม้ที่ได้ทำการทดลองส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ อีกทั้งยังพบว่าเปลือกมังคุดยังมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรา Aspergillus Flavus นอกจากนี้วิธีการเตรียมตัวอย่าง (การทำแห้งแบบแช่แข็งและการเตรียมในรูปแบบเส้นใย) ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และ สมบัติการต้านจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับชนิดของเปลือกผลไม้

ภัทราพร ผูกคล้าย (2552) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรฮวานง็อก พบว่า ฮวานง็อก เป็นพืชสมุนไพรซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเวียดนาม เชื่อกันว่าใบของฮวานง็อกมีสรรพคุณในการรักษาโรคหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ตรวจสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากนัก โดยเฉพาะฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ซึ่งมีสาเหตุสำคัญจากการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรม ดังนั้นการศึกษานีมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอมส์ โดยใช้แบคทีเรีย ซัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 และวิเคราะห์ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรฮว่านง็อกที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าสารสกัดน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์และสามารถยับยั้งการกลายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยสารสกัดน้ำมีค่า IC_{50} ต่อแบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเรียม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่ 15.11 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อเพลทและ 17.99 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อเพลทตามลำดับ ขณะที่สารสกัดเอทานอลมีค่า IC_{50} 8.53 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อเพลท และ 10.49 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อเพลทตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดสมุนไพรจากเอทานอลมีความสามารถในการต้านการกลายพันธุ์

ได้ดีกว่าสารสกัดน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารโพลีฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดเอทานอลมีปริมาณของสารทั้งสองชนิดมากกว่าที่พบในสารสกัดน้ำอยางมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดเอทานอลมปริมาณโพลีฟีนอล 9.2 ± 0.61 mgGAE/g Fresh Weight และ ฟลาโวนอยด์ 2.3 ± 0.37 mgQE/g Fresh Weight ปริมาณโพลีฟนอลและ ฟลาโวนอยด์ของสารสกัดน้ำคือ 1.1 ± 0.06 mgGAE/g Fresh Weight และ 0.5 ± 0.03 mgQE/g Fresh Weight ตามลำดับ จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดของใบฮวานง็อกด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล มีคุณสมบัติในการต้านการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซัลโมเนลลา ธัยฟิมิวเซียม สายพนธุ์ TA98 และ TA100 ดังนั้นฮว่านง็อกจึงเป็นสมุนไพรอีกหนึ่งชนิดที่มีความน่าสนใจอย่างยิ่งในการนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเซลล์มะเร็งและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ต่อไป

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร (2553) ได้ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกข้าวในระหว่างการเก็บ โดยทำการศึกษาศึกษาปริมาณสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์ในเปลือกข้าวที่เก็บรักษาและก่อนการเก็บรักษา วัตถุประสงค์คือเพื่อจะตรวจวิเคราะห์ผลของอายุการเก็บรักษาและอุณหภูมิต่อส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกข้าว ได้สกัดเปลือกข้าวด้วยเมธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์โดยวิธีการวัดสีที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา Folin-Ciocalteau และ Aluminum Chloride ตามลำดับ เปลือกข้าวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟินอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าเปลือกข้าวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เปลือกข้าวก่อนการเก็บรักษามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในการขจัด 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radical และ Anti-lipid Peroxidation มากกว่าเปลือกข้าวภายหลังการเก็บ 1-7 เดือน

จรัสรัตน์ ปานโคก (2555) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด พบว่า จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากพืชทั้ง 7 ชนิด พบว่า ในขิงแก่แห้งมีร้อยละการผลิตน้อยกว่าขิงแก่สด แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอสระสูงกว่า เช่นเดียวกับในขมิ้นและขมิ้นชันที่พืชแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพืชสด และจากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก พบว่าพืชทั้ง 7 ชนิดมีปริมาณของสารฟีนอลิกต่างกัน ซึ่งสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารฟีนอลิคสูงเท่ากับ 260.20 mg GAE/g DW รองลงมาคือ ชาอัสสัม ขมิ้นชัน และข้าวเหนียวดำ และการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกให้ผลสอดคล้องกบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (Figure 1c) ที่พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อม และชาอัสสัมมีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่ากับ 4,191.88 และ 3,549.55 mg/L BHT equivalent/g DW ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารสกัดจากพืชอื่น ซึ่งการทดสอบความสามารถดักจับอนุมูล DPPH• เช่นเดียวกับประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS (Figure 1d) ที่พบว่า สารสกัดจากมะขามป้อมและชาอัสสัม มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่ากับ 1,744.7 และ 841 mg/L BHT equivalent/g DW ตามลำดับ ซึ่งค่าการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบผลการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณพอลีฟีนอล เห็นได้ว่าความสามารถดักจับอนุมูล DPPH และ ABTS กับปริมาณพอลีฟีนอล ในสารสกัดมีความสัมพันธ์กัน

แสดงให้เห็นว่าประสทธิภาพการออกฤทธิ์ต้านอนมูลอิสระของสารสกัดขึ้นกับปริมาณพอลีฟีนอล ในสารสกัดนั้นๆ อย่างไรก็ตามความสามารถให้อิเล็คตรอนของพอลีฟีนอล มิได้อยู่ภายใต้อิทธิพลของจำนวนหมู่ ฟีนอลิกอย่างเดียวเท่านั้น แต่อาจขึ้นกับตำแหน่งของหมู่ Hydroxyl ที่เป็นส่วนประกอบโครงสร้างดังกล่าวด้วย เนื่องจากมีรายงานว่า หมู่ Ortho-dihydroxyl บนวงแหวน (B-ring) ของฟลาโวนอยด์ สามารถให้อิเล็คตรอนได้ดีกว่าหมู่ Hydroxyl ที่ตำแหน่งอื่นๆ บนโมเลกุลเดียวกัน (Morel & et al., 1998)

ชลดา จัดประกอบ (2555) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้า พบว่า การสกัดแอลคาลอยด ได้ % yield สูงสุด คือ 20.82 % รองลงมาคือ การสกัดด้วยเอทานอล (18.5 %) และการสกัดด้วยน้ำ (14.5 %) ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Assay พบว่า สารสกัดที่ให้ค่าอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ สารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าที่สกัดด้วย เอทานอล (8.26±1.40 ไมโครกรัม/มิลลิลตร) รองลงมาคือ การสกัดด้วยน้ำ (20.12±3.65 ไมโครกรัม/มิลลิลตร) และสกัดแอลคาลอยด์ (94.15±9.08 ไมโครกรัม/มิลลิลตร) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic Acid (5.02±0.46 ไมโครกรัม/มิลลิลตร) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP Assay ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดที่ให้ค่าอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ สารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าที่สกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล (0.33±0.017 มิลลิโมล/มิลลิกรัมสารสกัด) รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำ (0.11±0.01 มิลลิโมล/มิลลิกรัมสารสกัด) และสกัดแอลคาลอยด์ (0.13±0.01 มิลลิโมล/มิลลิกรัมสารสกัด) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic Acid (0.34±0.02 มิลลิโมล/มิลลิกรัมสารสกัด)

ลักษณา เจริญชัย (2555) ได้ศึกษาการต้านออกซิเดชั่น ปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกและสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในผักหวานป่า พบว่า ผักหวานป่าเป็นพืชอาหารที่พบได้ในป่าของประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในขณะที่ผักหวานเมาซึ่งมีลักษณะ ทางพฤกษศาสตร์คล้ายกันแต่เป็นพืชมีพิษ จุดมุ่งหมายของงานวิจัยเรื่องนี้คือตรวจสอบ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของผักหวานป่าเปรียบเทียบกับผักหวานเมา ส่วนสกัดของผักหวานเตรียมโดย ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายด้วยชุดสกัด Soxhlet Apparatus ส่วนสกัดของผักหวาน ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-Picryhydrazyl Radical Scavenging Assay (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP) and Nitric Oxide Assay (NO) ผลการวิจัยพบว่า ผักหวานป่าจากจังหวัดสระบุรีและจังหวัดอุทัยธานีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นสูงกว่าผักหวานเมาจากจังหวัดกาญจนบุรีเล็กน้อย โดยเฉพาะส่วนสกัดเมทานอลของผักหวานปาสระบุรีมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 1.94 มคก./มคล. เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแกลลิคแอซิดที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.80 มคก./มคล. เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH นอกจากนี้ส่วนสารสกัดเมทานอลของผักหวานป่าสระบุรีมีค่า DPPH Activity เป็น 35.83+1.24 มก.สมมูลของแกลลิคแอซิดต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง และมีค่า 995.42+31.70 มก.สมมูลของ Trolox ต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้งในการทดสอบ FRAP ปริมาณสารฟีนอลลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์ของส่วนสกัดเมทานอลของผักหวานป่าสระบุรีมค่าเป็น 1506.95+19.78 มก.สมมูลของแกลลิคแอซิดต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง และ 415.82+12.94 มก. สมมูลของ

Catechin ต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง ตามลำดับ ส่วนสกัด เมทานอลนี้ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเกิดไนตริกออกไซด์สูงถึงร้อยละ 93.67 ในการทดสอบ NO ดังนั้น จากผลการวิจัยจำเป็นต้องมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดเมทานอลของผักหวานป่าเพิ่มเติมต่อไป

สุกัญญา เขียวสะอาด (2555) ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระจากต้นกะเพรา โดยพบว่าในกะเพราะพบวิตามินซี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในใบกะเพรา ซึ่งสารกลุ่มเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ มีรายงานพบสาร Luteolin และ Orientin ในกะเพราซึงมีโครงสร้างตรงพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกทกับหมู่ 4-oxo ในวง C ซึงสารทีมีโครงสร้างลักษณะนี้จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคนอื่นๆ (2556) ได้ศึกษาการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากใบข่อยดำแห้งที่สกัดด้วยเอทิลแอซีเตตและเอทานอล 95 % พบสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ แต่ไม่พบแอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซดการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี DPPH assay และ Folin-Ciocaltue ตามลำดับ พบว่าสารสกัดเอทิลแอซีเตตและอทานอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยรายงานเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 4.46±0.04 และ 4.03±0.14 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกดเอทิลแอซีเตตมีค่าเท่ากับ 258.84±3.84 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ในขณะที่สารสกัด เอทานอลมีค่าเท่ากับ 289.49±1.32 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด และพบว่าฤทธิ์ ต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยมีค่าสัมประสิทธสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.8191

2.8.1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดกิจกรรม

สันติภาพ อุดมมงคล (2550) ได้ศึกษาชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่เอื้อ ต่อการดำเนินชีวิตามแนวเศรษฐกิจพอพียง เรื่องการผลิตพืช สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 โรงเรียนเมืองเชลียง อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย พบว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่เอื้อ ต่อการดำเนินชีวิตามแนวเศรษฐกิจพอพียง เรื่องการผลิตพืชมีประสิทธิภาพตามเกณฑ์ 75/75 นักเรียนมีความพึงพอใจต่อชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่เอื้อต่อการดำเนินชีวิตตามแนวเศรษฐกิจพอพียง เรื่องการผลิตพืช ในระดับดีมาก

นพดล ถาวร (2550) ได้ศึกษาการพัฒนาความสามารถทางวิทยาศาสตร์โดยชุดกิจกรรมการเรียนรู้วิทยาศาสตร์เรื่องความหลากหลายชนิดของเฟร์นในอุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน ระดับการศึกษาขั้นพื้นฐาน ช่วงชั้นที่ 4 พบว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้วิทยาศาสตร์เรื่องความหลากหลายชนิดของเฟร์นในอุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน ที่สร้างขึ้นมีประสิทธิภาพ 83.20/82.22 และนักเรียนมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนหลังเรียนสูงกว่าก่อนเรียน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ด้านทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์และด้านเจตคติทางวิทยาศาสตร์ อยู่ในระดับดี

อำไพรินทร์ มุ่งมาตร (2553) ได้ศึกษาการพัฒนาผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องการสลายสารอาหารระดับเซลล์สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 โดยใช้ชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบร่วมมือ พบว่า นักเรียนมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนหลังเรียนเรื่องการสลายสารอาหารระดับ

เซลล์สูงกว่าก่อนเรียน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และประสิทธิภาพของชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบร่วมมือมีค่าเท่ากับ 84.12/82.05 สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ และมีค่าดัชนีประสิทธิผลของชุดกิจกรรม มีค่าเท่ากับ 0.7428

อรพิน ควรสุวรรณ (2555) ได้ศึกษาผลการใช้ชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบสืบเสาะหาความรู้ (5E) ที่มีต่อการพัฒนาทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ขั้นผสมและผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรายวิชาฟิสิกส์ หน่วยการเรียนรู้เรื่องความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก ของนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนประชาราชวิทยา จังหวัดลำปาง พบว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบสืบเสาะหาความรู้ (5E) รายวิชาฟิสิกส์ เรื่องความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก มีค่าประสิทธิภาพ เท่ากับ 82.95/84.89 ทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ขั้นผสมของนักเรียนหลังการเรียนโดยใช้ชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบสืบเสาะหาความรู้ (5E) สูงกว่าก่อนเรียนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และ ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรายวิชาฟิสิกส์ของนักเรียนหลังการเรียนโดยใช้ชุดกิจกรรมการเรียนรู้แบบสืบเสาะหาความรู้ (5E) สูงกว่าก่อนเรียนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

2.8.2 งานวิจัยต่างประเทศ

2.8.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับใบรางจืด

มาริโอ เฟอรัชชี และคนอื่นๆ (Mario Ferruchi & et al., 2008) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษของสารสกัดใบรางจืด โดยทำการสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และอะซีโตน พบว่า เมื่อสกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 2433.9 mgGAE/100g เมื่อสกัดด้วยเอทานอลและอะซีโตน มีปริมาณฟีนอลิก 562 และ 142.1 mgGAE/100g ค่าการต้านอนุมูลอิสระเมื่อสกัดด้วยน้ำ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ 0.13 mg GAE/mL ส่วนในเอทานอลและอะซีโตนมีค่า 0.26 และ 0.61 mg GAE/mL ตามลำดับ

อีริค ชาน และคนอื่นๆ (Eric W.C. Chan & et al., 2009) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของชารางจืด โดยทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากใบรางจืด พบว่า เมื่อนำใบรางจืดทั้งใบสดและใบแห้งมาสกัดด้วยเมทานอลและการต้มด้วยน้ำแล้วทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แล้วทำการเปรียบเทียบกับใบชาในท้องตลาด พบว่าใบรางจืดแห้ง มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบสด และมีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าใบชาทั่วไปที่จำหน่ายในท้องตลาด

อีริค ชาน และคนอื่นๆ (Eric W.C. Chan & et al., 2011) ได้ศึกษาพฤกษเคมีและเภสัชวิทยาคุณสมบัติของ Thunbergia Laurifolia: พบว่ามีสารต้านพิษ พวกเขาจะถูกนำมาใช้เป็นยาแก้พิษและยาเสพติดรวมทั้งการรักษาติดยาเสพติด และยังได้รับรายงานว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระป้องกันโรคเบาหวาน ต้านการอักเสบและคุณสมบัติลดไข้ เป็นสมุนไพรท้องถิ่นมีการผลิตชาสมุนไพรและแคปซูลของ T. Laurifolia เป็นรู้จักกันในรางจืดในไทย สารสกัดจากใบมี Glucosides Iridoid, Grandifloric, Glucopyranosides และอนุพันธ์ของ Apigenin สารอื่นๆ ที่พบในใบและดอกถูก Delphinidin อนุพันธ์และกรดฟีนอลของ Chlorogenic, Caffeic คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสาย

พันธุ์ได้รับการทบทวน คุณสมบัติการตรวจสอบรวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลชีพ และต้านการอักเสบ

อีริค ชาน และคนอื่นๆ (Eric W.C. Chan & et al., 2013) ได้ศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (AOP) ของสมุนไพรคือ ใบหม่อน ใบรางจืด โดยศึกษาปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC), วิตามินซีเทียบเท่าสารต้านอนุมูลอิสระ (Aeac) ธาตุเหล็ก (ไฟเบอร์กลาส) และความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพคีเลต (CEC50) โดยใช้ไมโครเวฟและเตาอบแห้งนำไปสู่การลดลงอย่างมากใน AOP แต่แช่แข็งแห้งผลในการเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญสำหรับใบของดาหลา ใบของดาหลาตอบสนองในทางบวกกับทั้งสามการรักษาการอบแห้ง TPC และไฟเบอร์กลาสต่อไปนี้เตาอบแห้งยังคงไม่เปลี่ยนแปลง แต่ Aeac และ CEC50 เพิ่มขึ้น 27 % และ 22 % ตามลำดับ แช่แข็งแห้งผลในการเพิ่ม TPC (16 %), Aeac (26 %), ไฟเบอร์กลาส (20 %) และ CEC50 (44 %) ไมโครเวฟอบแห้งเพิ่มขึ้น TPC, Aeac และไฟเบอร์กลาสโดย 24 %, 91 % และ 30 % ตามลำดับ ไมโครเวฟอบแห้ง AOP ที่เพิ่มขึ้นของใบ Laurifolia TPC และ Aeac เพิ่มขึ้น 34 % และ 67 % ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการรักษาที่แตกต่างกันในการอบแห้งมีผลตัวแปรที่ AOP ของสมุนไพร รวมถึงผลกระทบน้อยหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญหรือความสูญเสียที่เพิ่มประสิทธิภาพในเนื้อหาของฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระ ลดลงใน AOP ต่อไปนี้การรักษาที่ได้รับการอบแห้งประกอบกับการสลายตัวของสารพฤกษเคมี เอนไซม์ย่อยสลายของสารประกอบฟีนอลและการสูญเสียของกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เหตุผลสำหรับการเพิ่มขึ้นของ AOP ต่อไปนี้การรักษาการอบแห้งรวมถึงการเปิดตัวของสารประกอบฟีนอล จำกัด จากการแตกตัวขององค์ประกอบของเซลล์และการก่อตัวของสารใหม่ ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่ม

2.8.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเกสรบัวหลวง

ฮวน อา จุง และคนอื่นๆ (Hyun Ah Jung & et al., 2003) ได้ศึกษาองค์ประกอบของเกสรบัวหลวงพบว่าเกสรบัวหลวงประกอบประกอบด้วยสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ Quercetin, Luteolin, Isoquercetin, Luteolin-glycoside, β sitosterolglucopyranoside, Myricetin 3, 5-dimethylether 3-0-β-D-glucopyranoside, Kaempferol และอนุพันธ์ และได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเกสรตัวผู้ของบัวหลวงพบว่าสารสกัดเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงในแบบจำลอง Peroxynitriles ($ONOO^-$) System (IC_{50}=18.90$^+$2,14 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำในแบบจำลอง DPPHsystem (IC_{50}=273.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ฮวน อา จุง และคนอื่นๆ (Hyun Ah Jung & et al., 2003) ได้ศึกษาการกำหนดสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติของเกสร *Nelumbo nucifera* พบว่า DPPH สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา ROS (Reactive Oxyen Species) ทั้งมวลในการ Homogenates จะใช้ 2, 7, Dichlorodihy Drofluoresce in Diacetate และสามารถขับสาร Authentic Peroxynitrites สารสกัดเมธานอลที่ได้จากเกสรบัวหลวงแสดงให้เห็นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่

กระบวนการ ONOO และมีปฏิกิริยาเล็กน้อยในกลุ่ม DPPH และในกระบวนการ ROS ยังแตกตัวในสารละลายอินทรีย์หลายชนิด

ดี-เอช ซอห์น และคนอื่นๆ (D.-H. Sohn & et al., 2003) ได้ศึกษาคุณสมบัติการขับอนุมูลอิสระและป้องกันตับของบัวหลวง *Nelumbo nucifera* (ENN) พบว่าสารสกัดเอทานอลจากบัวหลวง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการป้องกันตับ ผลการขจัดอนุมูลอิสระที่มีผลต่อร่างกายอย่างรุนแรง โดยมีค่าความเข้มข้นการยับยั้งเฉลี่ยอยู่ที่ 6.49 µg/ml การรักษาเซลล์ตับโดยใช้ ENN ยับยั้งการผลิต Serum Enzyme การเป็นพิษต่อเซลล์จาก CC14 และหน่วยพันธุกรรมจาก AFB1 ถูกยับยั้งโดย ENN เช่นกัน

โอ เอช และคนอื่นๆ (Oh H & et al., 2004) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของ Luteolin ซึ่งเป็นสารหนึ่งในเกสรบัวหลวง พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิด Superoxide และชนิด DPPH ที่ IC_{50}=5.9+0.3 ไมโครโมลาร์และ 22.7+2.8 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

อารมณ์ดี และคนอื่นๆ (Aromdee & et al., 2005) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากเกสรตัวผู้บัวหลวงในท้องตลาด 14 ตัวอย่าง โดยใช้แบบจำลอง DPPH พบว่า IC_{50}=43.10-195.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งทำให้เข้าใจได้ว่าตัวอย่างของบัวหลวงในท้องตลาด มีความแตกต่างกันในเรื่องของฟทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามก็ยังมีฤทธิ์ดีกว่าที่รายงานโดยจุง (2546) ซึ่งมีค่า IC_{50}=273.50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ฮอง ยู และคนอื่นๆ (Hong-Yu & etal., 2009) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระจากใบบัวหลวง ด้วยวิธี DPPH ยับยั้งความหนาแน่นต่ำไลโปโปรตีนชนิดออกซิเดชันและต้านอนุมูลอิสระ และทำให้บริสุทธิ์กิจกรรมแนะนำที่จะระบุส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระใบบัว (ใบบัวหลวง) สารสกัดเมทานอลของใบบัว ถูกแยกออกเป็นเอทิลอะซิเตท บิวทานอล และน้ำแสดงความสามารถมากขึ้นในการต้าน DPPH ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไลโคโปรตีน พบว่ามีค่าต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า และพบสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ ผลการวิเคราะห์สารเหล่านี้ถูกระบุว่าเป็นสารประกอบคาทิชิน (1), Quercetin (2), Quercetin-3-O-Glucopyranoside (3), Quercetin-3-O-Glucuronide (4), Quercetin-3-O-Galactopyranoside (5), (6) เฟอรอ-3-O-Glucopyranoside และ Myricetin-3-O-Glucopyranoside (7) Quercetin และไกลโคไซด์ของ (สารประกอบ 2-5) กระทำการยับยั้งที่มีศักยภาพของ LDL ออกซิเดชันขณะ Myricetin-3-O-Glucopyranoside แสดงให้เห็นถึงความแข็งแกร่งในการต้านอนุมูลผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระของใบบัวเป็นบางส่วนที่เกี่ยวข้องกับ Flavonoids

2.8.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

เดวี และคนอื่นๆ (Devi & et al., 2000) พบสารฟลาโวนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ Orientin และ Vicenin ในใบกะเพรา ซึ่งสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในตับหนูด้วยความเข้มข้นต่ำประมาณ 10-500 ไมโครโมลาร์ โดยยับยั้งการเกิดอนุมูลไฮดรอกซิลที่เกิดจากปฏิกิริยาเฟนตัน มีรายงานสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารฟีนอลิกในใบกะเพรา 6 ชนิด ได้แก่ Cirsilineol, Crsimaritin, Isothymusin, Isothymonin, Apigenin และ Rosmarinic Acid และพบว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ลี และคนอื่นๆ (Lee & et al., 2002) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกแค็กตัส มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกแค็กตัส มีสมบัติเป็น Free Radical Scavenger ต่อ Superoxide Anion ($O_2^{-\bullet}$) Hydroxyl Radical ($^{-\bullet}OH$) และ DPPH Radical นอกจากนี้ยังมีผลต่อการป้องกัน Plasmid DNA ต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของ Hydroxyl Radical ด้วย

อาดัม และ ลิว (Adom & Liu, 2002) ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต และข้าว ทำการทดสอบวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยการทำปฏิกิริยากับ Folin –Ciocalteu และหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยให้อยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน คือ Flavonoid – Aluminum Complex พร้อมกับทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าข้าวโพดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์สูงสุด รวมทั้งมีสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

GRAD VRU

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบของใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการทดลองตามลำดับขั้นดังนี้

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

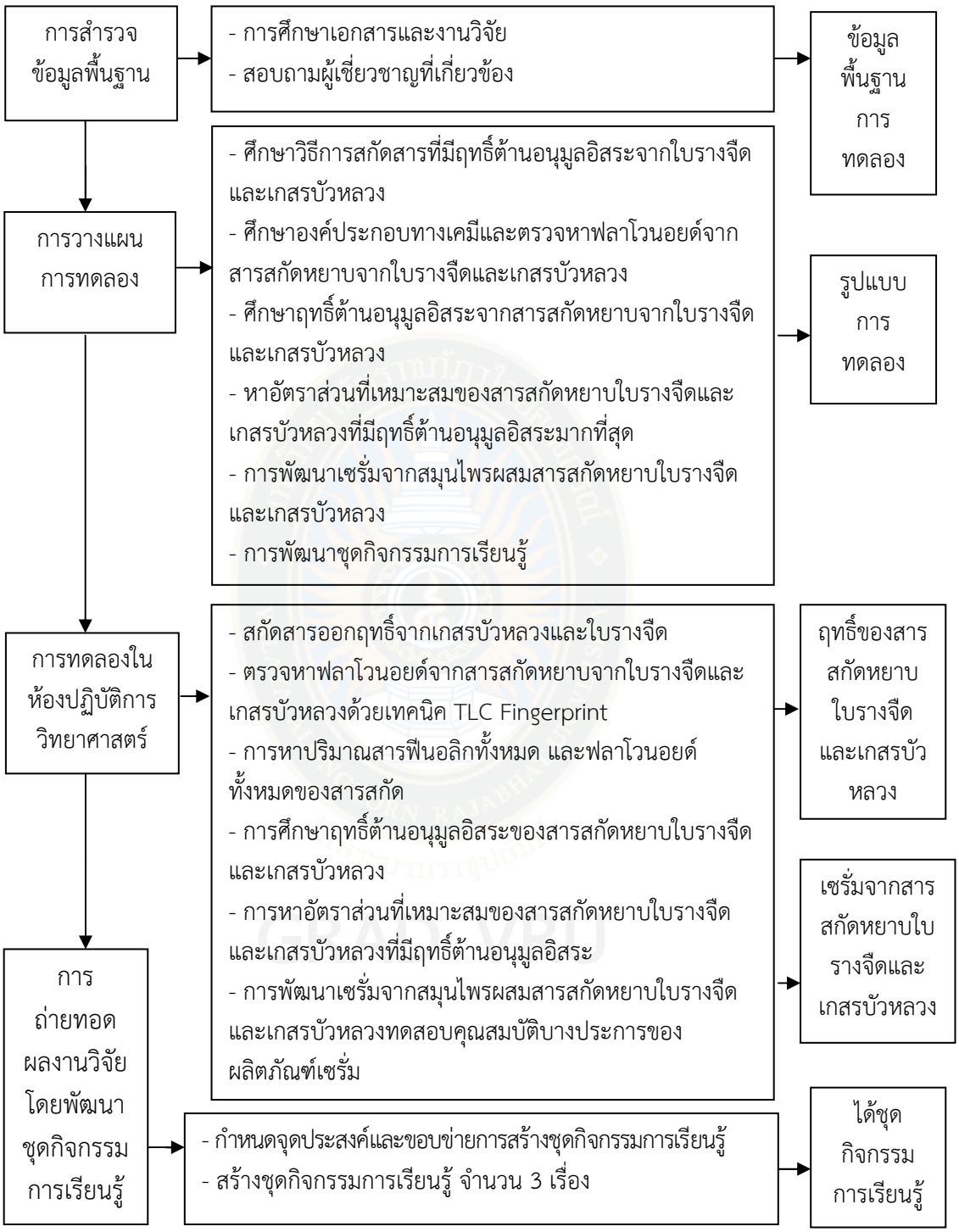
3.2 การวางแผนการทดลอง

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

3.4 การพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้

ในแต่ละขั้นตอนมีกิจกรรมย่อยซึ่งแสดงในแผนภาพที่ 3.1 ได้ดังนี้

GRAD VRU



ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

ขั้นตอนนี้เป็นการสำรวจข้อมูลพื้นฐานจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อคัดเลือกหาคุณประโยชน์ของพันธุ์พืชสมุนไพรไทยที่สนใจโดยสำรวจพันธุ์พืชที่สามารถปกป้องผิวหนังจากอนุมูลอิสระในใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

3.2 การวางแผนการทดลอง

ขั้นตอนนี้เป็นการวางแผนโดยการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีการสกัด การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid) สารสกัดหยาบที่ได้มาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อัตราส่วนที่สามารถเติมลงไปในผลิตภัณฑ์และพัฒนาเซรั่มเพื่อต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์โดยการเตรียมตัวอย่างของใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เพื่อหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และหาปริมาณฟลาโวนอยด์ นำสารสกัดหยาบที่ได้จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงนำมาหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีของศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.3.1.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer)

3.3.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)

3.3.1.3 เครื่องสกัดแบบต่อเนื่อง (Sohlet Extraction)

3.3.1.4 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer, Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา)

3.3.1.5 ตู้อบชนิดลมร้อน (Hot Air Oven)

3.3.1.6 ตู้แช่สารอุณหภูมิ -20^{0}C (Deep Freezer)

3.3.1.7 เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (Ultraviolet Light)

3.3.1.8 เครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dryer)

3.3.1.9 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator)

3.3.1.10 กระดาษกรองเบอร์ 41

3.3.1.11 เครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

3.3.1.12 แผ่น TLC (Aluminium Silica Gel 60 F 254 Merck, Layer Thickness 0.25 mm)

3.1.2 สารเคมี

3.3.2.1 เอทานอล 99.9 % (Ethanol, Mallinckrodt Mexico)

3.3.2.2 เมทานอล (Methanol) Commercial Grade

3.3.2.3 กรดแกลลิก (Gallic Acid, Fluka Germamy)

3.3.2.4 รูทิน (Rutin, Sigma USA)

3.3.2.5 น้ำกลั่น (Purified Water)

3.3.2.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate)

3.3.2.7 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium Dihydrogen Phosphate)

3.3.2.8 โซเดียมไนไตรต์ (Sodium Nitrite, Merck Germany)

3.3.2.9 ฟอร์ลิน (Folin Ciocalteu Reagent)

3.3.2.10 อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium Chloride, Sigma USA)

3.3.2.11 เนเจอรัลโปรดักส์ (NP, Natural Products)

3.3.2.12 โพลีเอธิลลีนไกลคอล (PEG, Polyethylene Glycol)

3.3.2.13 คาร์โบพอล อัลเทรต 10 (Carbopol Ultrez 10)

3.3.2.14 กลีเซอรีน (Glycerine)

3.3.2.15 โพรพีลีนไกลคอล (Propylene Glycol)

3.3.2.16 ดิสโซเดียม อีดีทีเอ (Dissodium EDTA)

3.3.2.17 เตรตระโนลาไมน์ (Tiethanolamine)

3.3.2.18 ไมโครแคร์ พีเอ็ม 50 (Microcare PM50)

3.3.3 วิธีการทดลอง

3.3.3.1 การสกัดสารออกฤทธิ์จากเกสรบัวหลวงและใบรางจืดด้วยเอทานอล

(1) การเตรียมตัวอย่างของเกสรบัวหลวงและใบรางจืด

1. นำเกสรบัวหลวงและใบรางจืดไปอบให้แห้ง นำไปบดให้ละเอียด ชั่งเกสรบัวหลวงและใบรางจืดหนัก 1,000 กรัม แช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 2,000 มิลลิลิตร

2. ใส่ขวดโหลแก้วปิดปากขวดโหลด้วยกระดาษฟรอยด์ให้สนิท ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์

3. กรองตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 41

4. นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนแล้วนำมาทำให้แห้งอีกครั้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็ง จะได้สารสกัดหยาบเกสรบัวหลวงและใบรางจืดชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3.3.3.2 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

(1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

(2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. ชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid) 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. นำมาเจือจางด้วยเอทานอล 20 % ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

(3) การเตรียม 20 % สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ชั่ง Na_2CO_3 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร

(4) การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

1. ปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. ปิเปตสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. เติม Folin - Ciocalteu Reagent 500 ไมโครลิตรเขย่า 1 นาที
4. เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

(5) การเตรียม Blank

1. ปิเปตน้ำกลั่น 8,500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติม Folin- Ciocalteu Reagent 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที
3. เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

3.3.3.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

(1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง อย่างละ 20 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 80 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

(2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. ชั่งสารละลายมาตรฐานรูทิน 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 80 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. นำมาเจือจางด้วยเอทานอล 80 % ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

(3) การเตรียม 5 % โซเดียมไนไตรต์

ชั่งสารโซเดียมไนไตรต์ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

(4) การเตรียม 10 % อะลูมิเนียมคลอไรด์

ชั่งสารอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม ละลายด้วย เมทานอล ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

GRAD VRU

(5) การเตรียม 1 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

(6) การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1. ปิเปตสารตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ)

2. ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 5 % $NaNO_2$

3. ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 10 % $AlCl_3$

4. ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิลิตรของ 1 M NaOH

5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรบันทึกและคำนวณผลการทดลอง

(7) การเตรียม Blank

1. ปิเปตน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

2. ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตร ของ 5 % $NaNO_3$

3. ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตร ของ 10 % $AlCl_3$

4. ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิลิตร ของ 1 M NaOH

5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.3.3.4 ตรวจหาสารฟลาโวนอยด์ในใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเทคนิค TLC Fingerprint

การทำ TLC Fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานรูทิน

- ชั่งผงเกสรบัวหลวงและใบรางจืด 0.5 กรัมอุ่นกับเมทานอล 5 มิลลิลิตรในอ่างน้ำร้อน (Water Bath) ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรอง

- นำสารสกัดที่ได้ ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แบบหมุน (Rotary Evaporator) ให้แห้งแล้วละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายมาตรฐานรูทิน (Rutin) 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล

- นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายสารมาตรฐาน (3 ไมโครลิตร) มาแต้มบนแผ่น TLC ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่อิ่มตัวด้วยน้ำยาเอทิล อะซิเตท- กรดฟอร์มิก -กรดอะซิติก-น้ำ ให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 5 เซนติเมตร

- นำแผ่น TLC ออกมาทิ้งไว้ให้แห้งแล้วพ่นด้วยน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์พอลิเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG) (พ่น PEG ก่อนแล้วจึงพ่นตามด้วย NP) ทิ้งไว้ให้แห้ง และสังเกตการเรืองแสงภายใต้รังสียูวีความยาวคลื่น 366 นาโนเมตรสังเกตและบันทึกผลการทดลอง

- การเตรียมน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG, Natural Products-Polyethylene Glycol)

สารละลาย A: ละลายไดฟินิลโบริลออกซีเอทิลเอมีน 1 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร
สารละลาย B: ละลายโพลีเอทิลีนไกลคอล 5 กรัม ในเอทานอล 100 มิลลิลิตร
วิธีใช้ ฉีดพ่นสารละลาย A แล้วตามด้วยสารละลาย B

3.3.3.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay

ขั้นตอนการทดลองศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลของสารสกัด

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

1. ชั่งสารสกัดหยาบเอทานอล-น้ำจากสารสกัดหยาบใบรางจืด 20 % เกสรบัวหลวง 20 % ละลายด้วย 99.99 % เอทานอล 20 มล. เขย่า 30 นาที เพื่อช่วยการละลาย

2. นำมาเจือจางด้วย 99.99 % เอทานอล ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (500, 250, 150, 50 และ 5 มก./มล.)

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. ชั่งสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) 0.010 กรัม ละลายด้วย 99.99 % เอทานอล 20 มล.เขย่า 30 นาที เพื่อช่วยการละลาย

2. นำมาเจือจางด้วย 99.99 % เอทานอล ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (500, 250, 150, 50 และ 5มก./มล.)

3) การเตรียมสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH

ชั่ง DPPH 0.0237 กรัม ละลายด้วย 99.99 % เอทานอล ปรับปริมาตร 10 มล. จะได้ Stock Solution เข้มข้น 6×10^{-3} โมลาร์ เมื่อจะนำมาใช้ให้เจือจางให้เป็น 6×10^{-5} โมลาร์ โดยปิเปตมา 0.1 มล. ปรับปริมาตร 10 มล.

4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH เทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT และ BHA ผสมสารละลายลงในจานหลายหลุม A, B และ C (ทำ 3 ซ้ำ) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

GRAD VRU

ตารางที่ 3.1 แสดงการเติมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

A (Test Sample):	- สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานใน 99.99 % เอทานอล - สารละลาย DPPH 6 × 10^{-5} โมลาร์ ใน 99.99 % เอทานอล	100 ไมโครลิตร 100 ไมโครลิตร
B (Blank of A):	- สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานใน 99.99 % เอทานอล - 99.99 % เอทานอล	100 ไมโครลิตร 100 ไมโครลิตร
C (Control):	- สารละลาย DPPH 6 × 10^{-5} โมลาร์ ใน 99.99 % เอทานอล - 99.99 % เอทานอล	100 ไมโครลิตร 100 ไมโครลิตร

หลังจากเติมสารที่จะทดสอบลงในจานหลุม (Micro Plate) ดังตารางที่ 3.1 แล้วนำจานหลุมวางลงบนถาดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุม (Micro Plate Reader) ผสมสารทดสอบในแต่ละหลุมให้เข้ากันดี บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีในที่มืด จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

3.3.3.6 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการต้านอนุมูลอิสระ เป็นขั้นตอนเพื่อตรวจสอบว่าสารสกัดหยาบจากเกสรบัวหลวงและใบรางจืดที่มีคุณสมบัติเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระขั้นตอนดังนี้

1) นำสารสกัดหยาบเกสรใบรางจืดและเกสรบัวหลวงมาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ กันจำนวน 2 อัตราส่วน

2) นำสารสกัดทั้ง 2 อัตราส่วนไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธีการข้างต้น (ทำ 3 ซ้ำ)

3.3.3.7 การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบผสมใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

1) สูตรเซรั่มพื้นที่เตรียมไว้

ตารางที่ 3.2 แสดงส่วนประกอบและคุณสมบัติของสารในเซรั่ม

ส่วนประกอบ	คุณสมบัติของสาร
DI water qs.	Diluent
Carbopol Ultrez 10	Jelling Agent
Dissodium EDTA	Chelating Agent
Glycerin	Humectant
Microcare PM5	Preservative
สารสกัดใบรางจืด	Antioxidant
สารสกัดเกสรบัวหลวง	Antioxidant

2) วิธีการเตรียมเซรั่ม

1. เติม EDTA ลงน้ำ คนให้ละลาย จากนั้นเติม Carbopol Ultrez 10 ลงในน้ำ ทิ้งไว้ 10 นาที ให้กระจายตัวในน้ำอย่างทั่วถึง

2. เติม Glycerine กับ Propylene Glycol ลงในสารข้อที่ 1

3. เติมสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4. ปรับ pH ด้วย TEA

3.3.3.8 การทดสอบคุณสมบัติบางประการของเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

(1) ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของเซรั่ม ได้แก่ สี กลิ่น การแยกชั้น และความคงตัวโดยนำเซรั่มที่ได้ผ่านวัฏจักร Heating and Cooling 6 Cycles โดยนำเซรั่มทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating Cooling 6 Cycles (4 $^{\circ}$C 48 ชม. และ 45 $^{\circ}$C 48 ชม.) โดยนำเซรั่มเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็น Control และ ที่อุณหภูมิห้องเป็น Reference เป็นเวลา 2 สัปดาห์

(2) ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของเซรั่ม ได้แก่ ค่า pH

(3) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดหยาบเกสรบัวหลวงและใบรางจืดโดยนำอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนำมาทดสอบโดยส่งให้ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพเป็นผู้ทำการทดสอบ

3.4 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัย

ผู้วิจัยนำความรู้ที่ได้จากผลงานวิจัยไปถ่ายทอดโดยพัฒนาเป็นชุดกิจกรรมการเรียนรู้ให้กับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 โดยชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นมาเพื่อนำไปใช้ในการเรียนการสอน ประกอบด้วยชุดกิจกรรมการเรียนรู้ประกอบด้วย 3 ชุดกิจกรรม ส่วน ดังนี้

ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสาระสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

ชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทั้งนี้ การพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้ทั้ง 3 ส่วน ได้ผ่านการตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา โดยผู้ทรงคุณวุฒิทั้ง 3 ท่านมีค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) มากกว่า 0.5 ขึ้นไป จึงจะสามารถนำไปจัดการเรียนการสอนเพื่อเผยแพร่ความรู้ ให้กับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ได้ต่อไป

3.4.1 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์ข้อมูล ผู้วิจัยได้ใช้สถิติดังต่อไปนี้

3.4.1.1 ค่าเฉลี่ย (Mean, $\overline{X}$) คำนวณได้จากสูตร (อุษา ช่อผล, 2536)

$$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i}{N}$$

$\overline{X}$ แทนค่าเฉลี่ย

X แทนค่าที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้ง

N แทนค่า จำนวนครั้งในการทดลอง

3.4.2.2 ค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหาของเอกสารประกอบการเรียนการสอน ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับการทดลอง และความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับแบบทดสอบความรู้ผู้เรียนหลังใช้ชุดกิจกรรม

การหาค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ได้จากสูตร (พวงรัตน์ ทวีรัตน์, 2538)

$$IOC = \frac{\sum R}{N}$$

เมื่อ IOC แทน ดัชนีความสอดคล้อง

R แทน คะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ

N แทน จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

GRAD VRU

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้ดำเนินการทดลองตามขั้นตอนได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเอทานอล

4.2 ผลการตรวจหากลุ่มสารสำคัญในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเทคนิค TLC Fingerprint

4.3 ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบ ใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

4.4 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

4.5 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

4.6 ผลการพัฒนาและศึกษาคุณสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.7 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลการวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้

4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเอทานอล

4.1.1 การสกัดสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล แสดงดังตารางที่ 4.1

GRAD VRU

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล

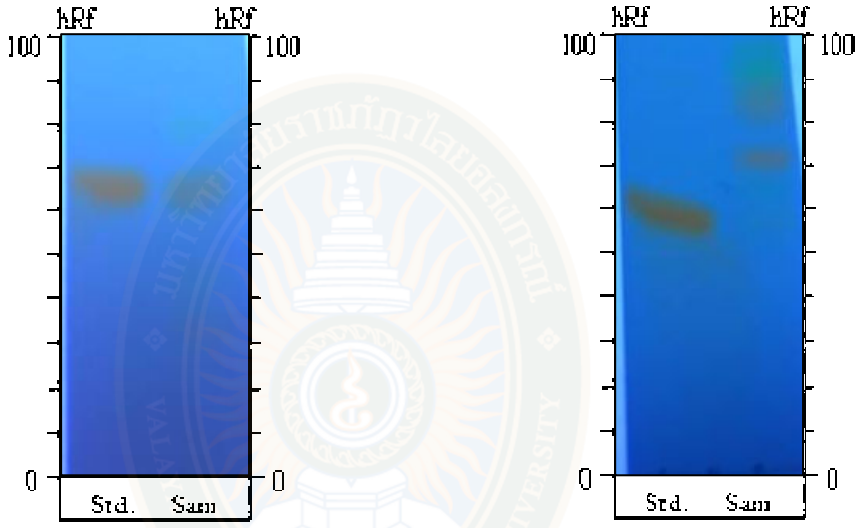
ชนิดของพืชแห้ง	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% Yield)
ใบรางจืด	1,000	221.00	22.10
เกสรบัวหลวง	1,000	147.00	14.70

จากตารางที่ 4.1 การทดลองสกัดสารสกัดจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง โดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล พบว่า สารสกัดหยาบใบรางจืดที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม น้ำหนักของสารสกัดหยาบใบรางจืดเท่ากับ 221.00 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 22.10 และพบว่า สารสกัด

หยาบเกสรบัวหลวงที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเหลืองใส น้ำหนักของสารสกัดหยาบเกสรบัวหลวง เท่ากับ 147.00 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 14.70

4.2 ผลการตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ด้วยเทคนิครงขเรขผิวบาง

การหาชนิดของกลุ่มฟลาโวนอยด์ของใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ผลการทดสอบเทียบกับสารมาตรฐาน (Std.) แสดงดังภาพที่ 4.1



สารสกัดใบรางจืด

EAC: Formic acid: Acetic acid: H_2O

10: 1: 1: 2

สารสกัดเกสรบัวหลวง

EAC: Formic acid: Acetic acid: H_2O

10: 1: 1: 2

ภาพที่ 4.1 TLC Fingerprints ขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบของใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

GRAD VRU

จากภาพที่ 4.1 การตรวจองค์ประกอบทางเคมีของสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงด้วยเทคนิค TLC Fingerprints พบว่ามีกลุ่มสารจำพวกฟลาโวนอยด์ โดยในการวิเคราะห์สารจำพวกฟลาโวนอยด์ใช้ระบบตัวทำละลาย เอทิลแอซิเตต: กรดฟอร์มิก: กรดอะซิติก: น้ำ (10: 1: 1: 2) เมื่อพ่นด้วยน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG, Natural Products-Polyethylene Glycol) ได้ค่า R_f ของสารสกัดหยาบได้ค่า R_f ของกลุ่มสารดังนี้ ค่า R_f ของสารกลุ่ม Flavonoids เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Rutin ได้ R_f ของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เท่ากับ 0.44 และ 0.42 และค่า R_f ของ Rutin เท่ากับ 0.45

4.3 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

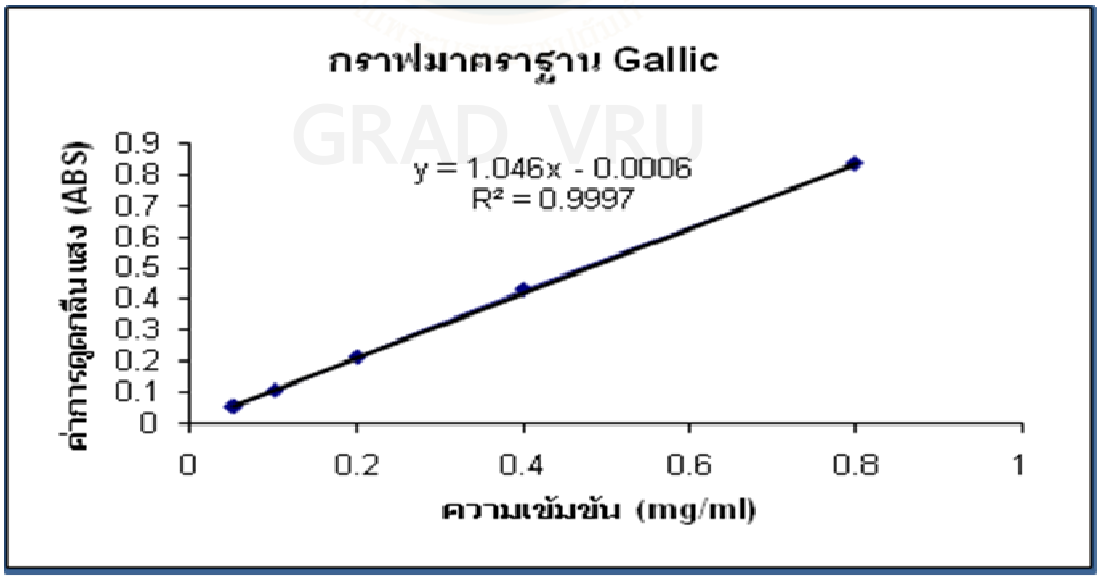
4.3.1 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

โดยนำค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่ได้ ไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าดูดกลืนแสง แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ตัวอย่าง	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg of Gallic Acid / g Extract)
สารสกัดหยาบใบรางจืด	0.11
สารสกัดหยาบเกสรบัวหลวง	1.81

จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดหยาบ ใบรางจืด และเกสรบัวหลวงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพที่ 4.2) เท่ากับ 0.11 และ 1.81 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 กราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic Acid)

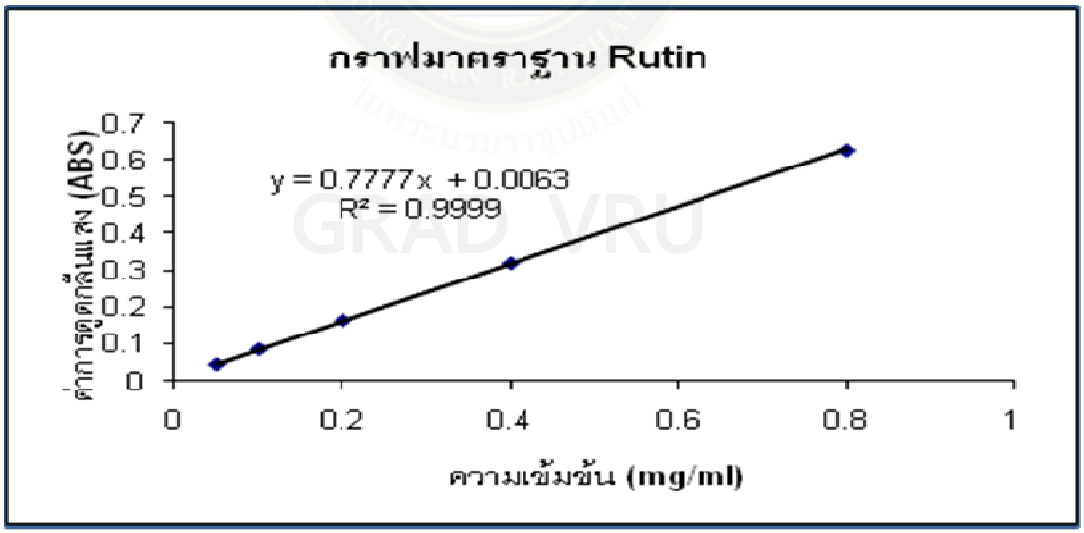
4.3.2 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด เทียบจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของรูทินและค่าดูดกลืนแสง แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานรูทิน

ตัวอย่าง	**ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg of Rutin/g Extract)**
สารสกัดหยาบใบรางจืด	0.32
สารสกัดหยาบเกสรบัวหลวง	27.71

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน (ภาพที่ 4.4) เท่ากับ 0.32 และ 27.71 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัม ของสารสกัดตามลำดับ



ภาพที่ 4.3 กราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน

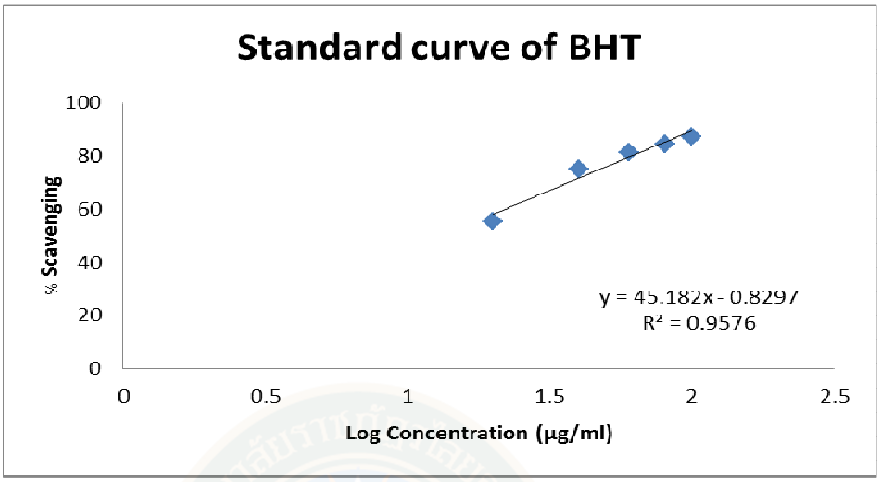
4.4 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

ผลการหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA

ชนิดของสารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (µg/mL)	% Scavenging	EC_{50} (mg/mL)
สารสกัดใบรางจืด	20	51.86	3.04
	40	66.02	
	60	79.16	
	80	90.95	
	100	103.62	
สารสกัดเกสรบัวหลวง	20	38.83	7.45
	40	64.78	
	60	85.44	
	80	94.15	
	100	97.13	
BHT	20	55.45	4.63
	40	75.06	
	60	81.42	
	80	84.45	
	100	87.33	

จากตารางที่ 4.4 พบว่า สารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHT (ภาพที่ 4.4) เท่ากับ 3.04 และ 7.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารมาตรฐาน BHT มีค่าเท่ากับ 4.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.4 กราฟสารละลายมาตรฐานของสารมาตรฐาน BHT

4.5 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ ใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง ได้ผลตามตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงในอัตราส่วนที่ 1 และอัตราส่วนที่ 2 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT

ชนิดของสารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (µg/mL)	% Scavenging	EC_{50} (mg/mL)
อัตราส่วนที่ 1	20	78.17	0.04
	40	101.02	
	60	121.30	
	80	125.60	
	100	124.67	
อัตราส่วนที่ 2	20	85.99	0.06
	40	113.11	
	60	131.50	
	80	133.13	
	100	132.48	

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ชนิดของสารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (µg/mL)	% Scavenging	EC_{50} (mg/mL)
BHT	20	87.41	1.12
	40	88.64	
	60	89.89	
	80	90.83	
	100	90.67	

จากตารางที่ 4.5 พบว่า สารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระในอัตราส่วนที่ต่างกัน เปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHT (ภาพที่ 4.5) อัตราส่วนสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวงอัตราส่วนที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.04 และ 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA มีค่าเท่ากับ 1.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.6 ผลการพัฒนาและศึกษาคุณสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นำสารสกัดหยาบใบรางจืด และเกสรบัวหลวง มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่ม แล้วทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีบางประการ

4.6.1 ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพของเซรั่มจากสารสกัดหยาบผสมใบรางจืด และเกสรบัวหลวงพบว่า ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบผสมของใบรางจืด และเกสรบัวหลวงที่ได้ มีสีน้ำตาลอ่อน ใส ไม่มีกลิ่น ไม่แยกชั้น ลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน

4.6.2 ผลการทดสอบสมบัติทางเคมีบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบผสมใบรางจืด และเกสรบัวหลวงพบว่า มีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 7

4.6.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง โดยทำการทดสอบที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ

4.7 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลการวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้

ผู้วิจัยได้นำผลการวิจัยไปสร้างชุดกิจกรรมการเรียนรู้ประกอบกิจกรรมชมรมวิทยาศาสตร์ สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ซึ่งในชุดกิจกรรมจำนวน 3 ชุดกิจกรรมประกอบด้วย ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่อง สมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสาระสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หาค่าดัชนีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์โดยให้ผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน ประเมินค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหาของ

เอกสารประกอบการเรียนการสอน ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับการทดลอง และความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับแบบทดสอบความรู้ผู้เรียนหลังใช้ชุดกิจกรรมพบว่า

ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง มีค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00

ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00

ชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00

ดังนั้น ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ทั้ง 3 เรื่องนี้ มีค่าดัชนีความสอดคล้องเฉลี่ยเท่ากับ 1.00 แสดงว่าเป็นชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่มีความตรงเชิงเนื้อหา สามารถจะนำไปจัดการเรียนการสอนได้

GRAD VRU

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยและพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สรุปสาระสำคัญได้ดังนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงโดยวิธีการแช่ยุ่ย ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 22.10 และ 14.70 ตามลำดับ ในสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.11 และ 1.81 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 0.32 และ 27.71 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัม ของสารสกัด ตามลำดับ

5.1.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและตรวจเอกลักษณ์ของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ผลการวิเคราะห์ชนิดของกลุ่มสารสำคัญโดยการทำ TLC Fingerprints ผลการวิเคราะห์หาชนิดกลุ่มสารสำคัญ พบว่าในใบรางจืดและเกสรบัวหลวง มีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

5.1.3 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่า EC_{50} 3.04 และ 7.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดใบรางจืดผสมสารสกัดเกสร บัวหลวงอัตราส่วนที่ 1 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

5.1.4 การพัฒนาเซรั่มที่มีส่วนผสมของใบรางจืดและเกสรบัวหลวงและทดสอบสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์ ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่ม และนำผลิตภัณฑ์เซรั่มไปทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating Cooling Cycle พบว่าผ่านการทดสอบเพราะผลิตภัณฑ์ ไม่ตกตะกอน ไม่เปลี่ยนสี ไม่แยกชั้น มี pH เท่ากับ 7 และเมื่อนำสารสกัดไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์พบว่าสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

5.1.5 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้ทั้ง 3 ชุดกิจกรรมได้แก่ ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง มีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 1.00 และชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00 และ ชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00 ทั้ง 3 ชุดกิจกรรมมีค่าดัชนีความสอดคล้องเฉลี่ยเท่ากับ 1.00

5.2 อภิปรายผล

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานรูทิน พบว่าสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.32 และ 27.71 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสาร ตามลำดับ และการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่สกัดด้วยทำละลายเอทานอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.11 และ 1.81 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของสาร ตามลำดับ สอดคล้องการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกกับความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ Jacobo- Velazquez และคนอื่นๆ (2009) ซึ่งพบว่าค่าการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กัน และสอดคล้องกับการศึกษาปริมาณสารโพลีฟีนอล ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณของฟลาโวนอยด์ของพืชสมุนไพรไทยบางชนิดของจรัสรัตน์ และคนอื่นๆ (2555) ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขึ้นกับปริมาณพอลีฟีนอล ในสารสกัดนั้นๆ และยังพบรายงานของรวิวรรณ แก้มอรตวงศ์ (2549) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติโดยพิจารณาจากค่า Correlation Coefficient R = 0.6 ($P<0.05$) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดชั้นเอทานอลส่วนใหญ่จะแปรผันตรงกับปริมาณสารฟีนอลรวม เช่น สารสกัดจากเปลือกต้นมะพอก ใบเอนอ้า ใบกระบก รากเอนอ้า ลำต้นเอนอ้า เป็นต้น สารกลุ่มฟีนอลจึงเป็นสารออกฤทธิ์กลุ่มหนึ่งของพืชเหล่านี้ และรายงานของศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ (2556) พบว่า ในการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเอทิลแอซีเตตมีค่าเท่ากับ 258.84±3.84 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ในขณะที่สารสกัดเอทานอลมีค่าเท่ากับ 289.49±1.32 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด และพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยมีค่าสัมประสิทธสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.8191 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (Pourmorad & et al., 2006) ที่พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงด้วย นอกจากนี้ยังพบอีกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และตัวทำละลาย

การพัฒนาเซรั่มจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้นำเอาสารสกัดจากใบรางจืดและสารสกัดจากเกสรบัวหลวง ในผลิตภัณฑ์เซรั่ม และเลือกสูตรที่ดีที่สุด 1 สูตร มาทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ พบว่า สูตรที่ 1 คือสูตรที่ผ่านการทดสอบ พบว่า กลิ่น สี ความข้นเหลว ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไม่มีการตกตะกอน ไม่แยกชั้น ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ ดังนั้นเซรั่มจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงจึงมีศักยภาพทีจะนำงานวิจัยไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

จากการถ่ายทอดความรู้จากผลงานการวิจัยผ่านชุดกิจกรรมการเรียนรู้ทั้ง 3 ชุดกิจกรรม ได้แก่ ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญ

จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงและชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งชุดกิจกรรมการเรียนรู้เป็นนวัตกรรมทางการศึกษารูปแบบหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์เพื่อฝึกให้ผู้เรียนมีการคิดอย่างมีวิจารณญาณ เพราะเป็นการจัดกิจกรรมให้ผู้เรียนได้ศึกษาค้นคว้าด้วยตนเองตามความสามารถและความสนใจ มีอิสระในการคิด ทุกคนมีโอกาสใช้ความคิดอย่างเต็มที่ โดยคำนึงถึงความแตกต่างระหว่างบุคคล ซึ่งผู้เรียนจะดำเนินการเรียนจากคำแนะนำที่ปรากฏอยู่ในชุดกิจกรรมการเรียนรู้ไปตามลำดับขั้นด้วยตนเอง ซึ่งสอดคล้องกับธรรมชาติของนักเรียนระดับมัธยมศึกษาที่อยากรู้อยากเห็น อยากคิดค้นในสิ่งต่างๆ ตรงกับแนวคิด การจัดการเรียนการสอนของบลูม (Bloom, 1976) ที่กล่าวว่า การจัดกิจกรรมให้นักเรียนได้ปฏิบัติตาม ที่ตนต้องการย่อมกระทำกิจกรรมนั้นด้วยความกระตือรือร้น ทำให้เกิดความมั่นใจ เกิดการเรียนรู้ได้เร็ว และประสบความสำเร็จสูง ทำให้เกิดความพึงพอใจในตนเองได้ในที่สุด ซึ่งในการพิจารณาชุดกิจกรรมการเรียนรู้จากค่าดัชนีความสอดคล้องโดยผู้เชี่ยวชาญทั้ง 3 ท่านตรวจสอบและประเมิน พบว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่สร้างคุณภาพ ทั้งนี้เนื่องมาจากชุดกิจกรรมที่ผู้วิจัยได้สร้างนั้นมีการศึกษาเนื้อหา การกำหนดจุดประสงค์การเรียนรู้ การวัดและประเมินผล จากนั้นก็ได้นำข้อมูลมาออกแบบและพัฒนาชุดกิจกรรมเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์การเรียนรู้ที่กำหนดไว้ ซึ่งเป็นไปตามแนวคิดและหลักการในการนำชุดกิจกรรมการเรียนรู้มาใช้ในการศึกษาของดำรงศักดิ์ มีวรรณ์ (2552) กล่าวว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้เป็นการจัดประสบการณ์เรียนรู้ให้กับผู้เรียน ให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้แก้ปัญหาด้วยตนเอง มีอิสระในการเรียนรู้ โดยใช้แหล่งการเรียนรู้ที่หลากหลาย โดยครูต้องเป็นผู้วางแผนกำหนดเป้าหมายวัตถุประสงค์การเรียนรู้ สิ่งที่ต้องการผู้เรียนเกิดการเรียนรู้และในการจัดกิจกรรมการเรียนรู้โดยครูมีหน้าที่ให้คำปรึกษา ซึ่งสอดคล้องกับการให้ความหมายของนักการศึกษาซึ่งให้คำจำกัดความว่า ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ หมายถึง การใช้สื่อประสมโดยการกำหนดเนื้อหาและกิจกรรมต่างๆ ซึ่งนำมาจัดการเรียนการสอน นักเรียนเกิดความรู้ในเรื่องที่สอน และทำให้การจัดการเรียนการสอนมีประสิทธิภาพ ในด้านการหาคุณภาพของชุดกิจกรรมการเรียนรู้นั้น เมื่อผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบความเหมาะสมของชุดกิจกรรมการเรียนรู้โดยพิจารณาจากค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเอกสารประกอบการเรียนการสอน ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับกิจกรรมการเรียนรู้และความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับแบบทดสอบความรู้ของผู้เรียนหลังใช้ชุดกิจกรรม พบว่ามีเฉลี่ยเท่ากับ 1.00 โดยเกณฑ์ที่ใช้กำหนดการพิจารณาระดับค่าดัชนีความสอดคล้องตั้งแต่ 0.5 ขึ้นไปจะถือว่ามีคุณภาพ มีความตรงเชิงเนื้อหา ดังนั้นชุดกิจกรรมทั้ง 3 ชุดนี้มีคุณภาพ มีความเหมาะสมในการนำไปจัดกระบวนการเรียนการสอนให้กับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ได้ต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 การศึกษาองค์ประกอบในใบรางจืดและเกสรบัวหลวง พบว่ามีกลุ่มสารออกฤทธิ์อยู่หลายกลุ่มที่น่าจะมีคุณสมบัติที่จะนำไปใช้ประโยชน์อื่นๆ ได้อีกหลายด้าน อาจมีการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่นๆ ของใบรางจืดและเกสรบัวหลวงได้

5.3.2 ข้อมูลของงานวิจัยนี้มีสารสำคัญกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ซึ่งมีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ในการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่น ๆ เช่น ครีม โลชั่น เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทย

GRAD VRU

บรรณานุกรม

GRAD VRU

บรรณานุกรม

ขวัญสิริ ไกรรัตน์เจริญ, นารีนารถ ศรีชัยตัน และปรียานุช รอดทอง. (2542). **การศึกษาองค์ประกอบสำคัญในใบรางจืด**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จรัสรัตน์ ปานโคก อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. (2555). **ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด**. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร, วาธินี ดอกสาคู, พิมพาพร ธนจิรัชยา และพรรณี รัตนชัยสิทธิ์. (2553). **การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมลอิสระและคุณสมบัติการต้านอนุมลอิสระของเปลือกข้าวในระหว่างการเก็บ**. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ชลดา จัดประกอบ, พรพรรณ เหลาวชิระสุวรรณ, เมธิน ผดุงกิจ. (2555). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้า**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ, สุมนา ปานสมุทร, ดำรงค์ คงสวัสดิ์ และอำนวย เพชรประไพ. (2552). **การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากบัวหลวง** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ผการัตน์ ตั้งเขื่อนขันธ์, ละออง พรหมเอาะ. (2540). **การตั้งตำรับครีมสมุนไพรของสารสกัดจากใบรางจืดเพื่อใช้ต้านการอักเสบ**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พงศธร ล้อสุวรรณ, จิตศิริ ราชตนพันธุ์, และศศิธร จันทนวรางกูร. (2555). **สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกผลไม้**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทราพร ผูกคล้าย. (2551). **องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดสมุนไพรฮว่านง็อก**. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2549). **คุณสมบัติเชิงหน้าที่และโภชนเภสัชของสารสกัดรางจืด**. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2554). **รายงานการวิจัยชีวภาพพร้อมใช้และการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารสกัดรางจืด**. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2554). **รายงานการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด**. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2555). **รายงานการวิจัยการทดสอบความเป็นพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืด**. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

รัชนี เพ็ชร์ช้าง. (2556). **การส่งเสริมสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปลายยอดผักหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการฉายรังสียูวีซี**. สาขาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ลักษณา เจริญชัย, สุกัญญา เศรษฐรักษา, ธนาภัทร สูงศักดิ์, นิจศิริ รวนกรางศรี และกฤษณา กระสินธุ. (2555). **การประเมินการต้านอนุมูลอิสระของผักหวานป่า**. คณะเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยรังสิต.

วันดี กฤษณพันธ์. (2536). **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเล่ม 1**. กรงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมอุรา ทองรุ่งโรจน์. (2550). **องค์ประกอบทางเคมีของสารหอมระเหยเกสรบัวหลวง.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และ สิริมาส นิยมไทย. (2556). **การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ**. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

ศิริพล เตชะโสภณ, นายสันติ นิ่มน้อย. (2546). **ฤทธิ์ต้านออกซิเคชั่นของชาสมุนไพร**. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุกัญญา เขียวสะอาด. (2555). **กะเพรากับการต้านอนุมลอิสระ**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ.

สุรัตน์วดี วงค์คลัง เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ และ อรุณพร อิฐรัตน์. (2557). **การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของบัวหลวง**. สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

อ้อมใจ แต้เจริญวิริยกุล, เมธี บัวสาย, อิทธิชัย รัตนาตรานุรักษ์, เพียงหทัย ศรียอด และสุภารัตน์ จันทร์เหลือง. (2554). **ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสของพืชสมุนไพร**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

Chan EWC, Lim YY. (2006). Antioxidant activity of Thunbergia laurifolia tea. **J Trope For Sci.** 18,130e136.

Chan EWC, Lim YY, Omar M. (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. **Food Chem.** 104,1586e1593.

Chan EWC, Lim YY, Wong LF & et al. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition Properties of leaves and rhizomes of ginger species. **Food Chem.** 109, 477e483.

Chan, E. W. C. , Lim, Y. Y., Chong, K. L., Tan, J. B. L. & Wong, S. K. (2010). Antioxidant Properties of tropical and temperate herbal teas. **Journal of Food Composition and Analysis**. 23,185–189

Chan EWC, Lim YY, Chong KL, Tan JBL, Wong SK. (2010). Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. **J Food Compos Anal.** 23,185e189.

Chan EWC, Eng SY, Tan YP, Wong ZC. (2011). **Phytochemistry and pharmacological properties of Thunbergia laurifolia: a review**. Pharmacogenomics J..

Chan EWC, Lim YY, Wong SK, & et al. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. **Food Chem.** 113,166e172.

Chan EWC, Lim YY, Tan SP. (2011). Standardised herbal extract of chlorogenic acid from leaves of Etlingera elatior (Zingiberaceae). **Pharm Res.** 3, 177e183.

Chan EWC, Eng SY, Tan YP, Wong ZC, Lye PY, Tan LN. (2012). Antioxidant and sensoryproperties of Thai herbal teas with emphasis on Thunbergia laurifolia Lindl. **Chiang Mai J Sci.** 39,599e609.

D.-H. Sohn & et al., (2003). **Hepatoprotective and free radical scavenging effects of *Nelumbo nucifera***. Phytomedicine. 10, 165.

Hyun Ah Jung & et al., (2003). Antioxidant Principles of Nelumbo nucifera Stamens. **Arch Pham Res** . 26(4), 279.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology.** 5(11), 1142-1145.

Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote,S., Wongkrajung, Y., & Gritsanapan. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. Ind Crop Prod., 44, 566-571. **Food Chem.** 45,304-309.

GRAD VRU

ภาคผนวก

GRAD VRU

ภาคผนวก ก

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ

GRAD VRU

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ

1. ชื่อ	รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ แสง-ชูโต
สถานที่ทำงาน	ภาควิชามัธยมศึกษา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
วุฒิการศึกษา	การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. ชื่อ	รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาศ พุ่มพิมล
สถานที่ทำงาน	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง ถนนลำปาง-แม่ทะ ตำบลชมพู อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง
วุฒิการศึกษา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (อินทรีย์เคมี) มหาวิทยาลัยมหิดล
3. ชื่อ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด
สถานที่ทำงาน	-
วุฒิการศึกษา	การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

GRAD VRU

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้องชุดกิจกรรมการเรียนรู้

GRAD VRU

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ของชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

รายการขอความคิดเห็น	ความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ			ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)	ผลการประเมิน
	ท่านที่ 1	ท่านที่ 2	ท่านที่ 3		
1. ชื่อเรื่องสอดคล้องกับเนื้อหากิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
2. ผลการเรียนรู้ที่คาดหวังสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
3. สาระการเรียนรู้ สอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
4. จุดประสงค์การเรียนรู้สอดคล้องกับทักษะกระบวนการ	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
5. เวลาที่ใช้ในการปฏิบัติกิจกรรมสอดคล้องกับสาระการเรียนรู้	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
6. กระบวนการเรียนรู้ มีความสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
7. วิธีการทดลองสอดคล้องกับการส่งเสริมให้นักเรียนมีทักษะปฏิบัติการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
8. รายงานผลการทดลองสอดคล้องกับวิธีการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
9. คำถามท้ายการทดลองสอดคล้องกับทักษะการคิดวิเคราะห์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
10. การสรุปผลการทดลองสอดคล้องกับวัตถุประสงค์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้

GRAD VRU

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ของชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

รายการขอความคิดเห็น	ความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ			ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)	ผลการประเมิน
	ท่านที่ 1	ท่านที่ 2	ท่านที่ 3		
1. ชื่อเรื่องสอดคล้องกับเนื้อหากิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
2. ผลการเรียนรู้ที่คาดหวังสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
3. สาระการเรียนรู้ สอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
4. จุดประสงค์การเรียนรู้สอดคล้องกับทักษะกระบวนการ	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
5. เวลาที่ใช้ในการปฏิบัติกิจกรรมสอดคล้องกับสาระการเรียนรู้	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
6. กระบวนการเรียนรู้ มีความสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
7. วิธีการทดลองสอดคล้องกับการส่งเสริมให้นักเรียนมีทักษะปฏิบัติการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
8. รายงานผลการทดลองสอดคล้องกับวิธีการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
9. คำถามท้ายการทดลองสอดคล้องกับทักษะการคิดวิเคราะห์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
10. การสรุปผลการทดลองสอดคล้องกับวัตถุประสงค์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้

GRAD VRU

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ของชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

รายการขอความคิดเห็น	ความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ			ค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC)	ผลการประเมิน
	ท่านที่ 1	ท่านที่ 2	ท่านที่ 3		
1. ชื่อเรื่องสอดคล้องกับเนื้อหากิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
2. ผลการเรียนรู้ที่คาดหวังสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
3. สาระการเรียนรู้ สอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
4. จุดประสงค์การเรียนรู้สอดคล้องกับทักษะกระบวนการ	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
5. เวลาที่ใช้ในการปฏิบัติกิจกรรมสอดคล้องกับสาระการเรียนรู้	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
6. กระบวนการเรียนรู้ มีความสอดคล้องกับกิจกรรม	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
7. วิธีการทดลองสอดคล้องกับการส่งเสริมให้นักเรียนมีทักษะปฏิบัติการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
8. รายงานผลการทดลองสอดคล้องกับวิธีการทดลอง	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
9. คำถามท้ายการทดลองสอดคล้องกับทักษะการคิดวิเคราะห์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้
10. การสรุปผลการทดลองสอดคล้องกับวัตถุประสงค์	+1	+1	+1	1.00	นำไปใช้ได้

GRAD VRU

ภาคผนวก ค

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

GRAD VRU

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ที่ 3 เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จัดทำโดย

นางธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย

GRAD VRU

สำหรับกิจกรรมพัฒนาผู้เรียน : ชมรมวิทยาศาสตร์

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4

โรงเรียนแสงอรุณ

คำนำ

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้เพื่อส่งเสริมทักษะและกระบวนการเรียนรู้ทางวิทยาศาสตร์เป็นสื่อการเรียนรู้ที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดกิจกรรมชมรมพัฒนาผู้เรียนโดยยึดหลักการออกแบบการจัดการเรียนรู้ที่เน้นผู้เรียนเป็นศูนย์กลาง (Child Centered) ตามหลักการยึดผู้เรียนเป็นสำคัญ ส่งเสริมให้นักเรียนมีส่วนร่วมในกิจกรรมและกระบวนการเรียนรู้ สามารถสร้างองค์ความรู้ได้ด้วยตนเอง ทั้งเป็นรายบุคคลและรายกลุ่ม โดยครูมีบทบาทหน้าที่เอื้ออำนวยความสะดวกให้นักเรียนประสบผลสำเร็จ สนับสนุนให้นักเรียนมีโอกาสฝึกปฏิบัติงานทั้งในห้องเรียนและนอกห้องเรียน เน้นกระบวนการคิดสร้างสรรค์และการทำงานร่วมกันของกลุ่ม และสามารถสร้างองค์ความรู้ได้ด้วยตนเอง ทำให้นักเรียนได้รับการพัฒนาสมรรถนะสำคัญและคุณลักษณะอันพึงประสงค์ตามที่หลักสูตรกำหนด ซึ่งชุดกิจกรรมวิทยาศาสตร์ นำเสนอเนื้อหาแบ่งเป็น 3 ชุดกิจกรรม คือ ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย : ใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ชุดกิจกรรมที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และชุดกิจกรรมที่ 3 การทำเซรั่มจากสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้หวังเป็นอย่างยิ่งว่าชุดกิจกรรมนี่จะสามารถพัฒนาการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ได้

GRAD VRU

คำชี้แจงชุดกิจกรรมการเรียนรู้

เพื่อพัฒนากระบวนการคิดและผลสัมฤทธิ์ทางการเรียน
ชมรมวิทยาศาสตร์ สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้ของชมรมวิทยาศาสตร์ กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ประกอบด้วยชุดกิจกรรมทั้งหมด 3 ชุดกิจกรรม คือชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง ชุดกิจกรรมที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสร บัวหลวง และชุดกิจกรรมที่ 3 การทำเซรั่มจากสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ชุดกิจกรรมทั้ง 3 ชุด เป็นชุดกิจกรรมที่เน้นให้ผู้เรียนได้ลงมือปฏิบัติจริงในการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งเรียนรู้ที่หลากหลายทั้งสถานที่จริง เอกสาร วารสาร และอินเทอร์เน็ต ได้ฝึกกระบวนการคิดจากสถานการณ์จริงที่เกิดขึ้นใกล้ตัวและไกลตัว และสถานการณ์จำลองที่ผู้สอนจัดให้ มีความยากง่ายเหมาะสมกับวัยและความสามารถของผู้เรียน เหมาะสมกับเนื้อหาและจุดประสงค์การเรียนรู้และสามารถนำความรู้ไปปรับใช้ในชีวิตประจำวันได้

ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง จำนวน 2 ชั่วโมง ชุดกิจกรรมที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง จำนวน 2 ชั่วโมง และชุดกิจกรรมที่ 3 การทำเซรั่มจากสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวน 3 ชั่วโมง รวมทั้งหมด 3 ชุดกิจกรรม 7 ชั่วโมง

GRAD VRU

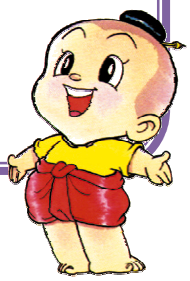
คำชี้แจง

ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

กิจกรรมพัฒนาผู้เรียน: ชมรมวิทยาศาสตร์

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4



1. บทบาทครูผู้สอน

1.1 ครูผู้สอนศึกษาคู่มือครูอย่างละเอียด เกี่ยวกับการใช้ชุดกิจกรรมการเรียนรู้

1.2 การจัดกิจกรรมการเรียนรู้ ครูต้องจัดให้ครบตามที่ระบุไว้ในแผนการจัดการเรียนรู้ เพื่อให้กิจกรรมเป็นอย่างต่อเนื่องและบรรลุตามจุดประสงค์ ในชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืด และบัวหลวง จำนวน 2 ชั่วโมง ชุดกิจกรรมที่ 2 การสกัดสาระสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง จำนวน 2 ชั่วโมง และชุดกิจกรรมที่ 3 การทำเซรั่มจากสาระสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 3 ชั่วโมงรวมเวลาที่ใช้ทั้งหมด 7 ชั่วโมง

1.3 ก่อนลงมือทำกิจกรรมทุกครั้ง ครูต้องอธิบาย ชี้แจงและให้นักเรียนอ่านคำแนะนำการทำกิจกรรมให้เข้าใจชัดเจนแล้วลงมือทำกิจกรรมตามขั้นตอนอย่างเคร่งครัด จึงจะทำให้การจัดกิจกรรมการเรียนรู้บรรลุเป้าหมายและมีประสิทธิภาพ

1.4 ครูควรกระตุ้นให้นักเรียนทุกคนมีส่วนร่วมในการทำกิจกรรมเพื่อเป็นการฝึกให้นักเรียนมีความรับผิดชอบต่อหน้าที่ รู้จักการทำงานร่วมกับผู้อื่น กล้าแสดงออก มีน้ำใจช่วยเหลือซึ่งกันและกัน และคอยสังเกตการทำกิจกรรมของนักเรียนและคอยช่วยเหลือเมื่อเกิดปัญหา

1.5 เมื่อการทำกิจกรรมสิ้นสุดลง ครูและเพื่อนนักเรียนช่วยกันประเมินผลการเรียนรู้ของนักเรียน

2. สิ่งที่ครูต้องเตรียม

ครูต้องเตรียมสื่อประกอบการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ให้ครบตามที่ระบุไว้ในชุดกิจกรรม ดังนี้

2.1 บัตรภาระงาน

2.2 บัตรความรู้

2.3 บัตรกิจกรรม

2.4 บัตรคำถาม

2.5 แบบบันทึกกิจกรรม

2.6 แบบบันทึกคำตอบ

2.7 บัตรเฉลยกิจกรรม

2.8 บัตรเฉลยคำถาม

2.9 แบบวัดการคิดวิเคราะห์นักเรียน

2.10 แบบทดสอบก่อน-หลังเรียน

2.11 วัสดุอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการทดลองจัดเตรียมให้ครบทุกกลุ่ม

3. การประเมินผลการเรียนรู้

3.1 ประเมินผลจากการปฏิบัติงานกลุ่ม

3.2 ประเมินผลด้านความรู้ ทักษะกระบวนการคิด จากแบบทดสอบและผลงานของนักเรียน

3.2.1 ตรวจแบบทดสอบหลังเรียน

3.2.2 ตรวจคำตอบจากแบบบันทึกกิจกรรม

3.2.3 ตรวจคำตอบจากแบบบันทึกคำตอบ

GRAD VRU

แบบทดสอบก่อนเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
เรื่อง สมุนไพรไทย: ใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย X ลงในกระดาษคำตอบ
จุดประสงค์ : อธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ

1. สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติหมายความถึงข้อใด
   - ก. ยาที่ได้จากผัก
   - ข. ยาที่ได้จากเนื้อสัตว์
   - ค. ยาที่ได้จากรากต้นไม้
   - ง. ยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่
2. ข้อใด**ไม่ใช่**ชื่อชื่อท้องถิ่นของรางจืด
   - ก. ย้ำแย้
   - ข. ดุเหว่า
   - ค. ยาเขียว
   - ง. ออดแอด
3. ข้อใดเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ของรางจืดถูกต้อง
   - ก. Psidium guajava Linn.
   - ข. Carthamus tinctorius Linn.
   - ค. *Thunbergia laurifolia* Linn.
   - ง. *Nelumbo nucifera* Gaerth.
4. ข้อใดเป็นสรรพคุณทางยาของรางจืด
   - ก. ถอนพิษ
   - ข. ยาแก้จุกเสียด
   - ค. แก้ลมวิงเวียน
   - ง. โรคหนองใน และปัสสาวะเป็นหนอง
5. สาระสำคัญที่สามารถพบได้ในใบรางจืด คือ ข้อใด
   - ก. Amino acid
   - ข. Flavonoid
   - ค. Carotenoid
   - ง. ถูกทุกข้อ

GRAD VRU

6. ข้อใดเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ของบัวหลวงถูกต้อง

ก. Psidium guajava Linn.

ข. Carthamus tinctorius Linn.

ค. *Thunbergia laurifolia* Linn.

ง. *Nelumbo nucifera* Gaertn.

7. ส่วนใดของบัวหลวงที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

ก. ใบ

ข. เกสร

ค. กลีบดอก

ง. กลีบเลี้ยง

8. ข้อใดเป็นสรรพคุณทางยาของบัวหลวง

ก. บำรุงหัวใจ

ข. แก้ลมวิงเวียน

ค. แก้อาการท้องเดิน

ง. โรคหนองใน และปัสสาวะเป็นหนอง

9. สาระสำคัญที่สามารถพบได้ในบัวหลวง คือ ข้อใด

ก. แทนนิน ข. อัลคาลอยด์

ค. ฟลาโวนอยด์ ง. ถูกทุกข้อ

10. พืชชนิดหนึ่งมีลักษณะมีเหง้าและไหลอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวรูปโล่ ดอกเดี่ยว มีสีขาว สีชมพู เกสรตัวผู้มีจำนวนมากสีเหลือง ผลเป็นรูปกลมรีสีเขียวนวล คือข้อใด

ก. มะระ ข. บัวหลวง

ค. รางจืด ง. สารภี

GRAD VRU

ชุดกิจกรรมที่ 1 เรื่อง สมุนไพรไทยน่ารู้ ใช้เวลาทำกิจกรรม 2 ชั่วโมง

ผลการเรียนรู้

1. สืบค้นข้อมูลและอธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ
2. สำรวจตรวจสอบสมุนไพรในท้องถิ่นที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อความงามและสุขภาพ

สาระการเรียนรู้

1. รางจืด
2. เกสรบัวหลวง

จุดประสงค์การเรียนรู้

1. ด้านความรู้
   1.1 อธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ

GRAD VRU

ขั้นเร้าความสนใจ (Engagement)

คำชี้แจง นักเรียนดูภาพแล้วตอบคำถาม

คำถาม : นักเรียนรู้จักสมุนไพรในภาพหรือไม่ มีชื่อว่าอะไรบ้าง

ขั้นสำรวจและค้นหา (Exploration)

คำชี้แจง นักเรียนศึกษาบัตรเนื้อหาที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย : รางจืดและบัวหลวง

บัตรเนื้อหา ชุดที่ 1 เรื่องสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

สมุนไพร (Herbs) หมายถึงพืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา มนุษย์ได้ใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อการส่งเสริมดูแลสุขภาพและการรักษาโรค ใช้เป็นอาหาร เครื่องดื่ม อาหารเสริม เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง ใช้แต่งกลิ่น แต่งสีอาหารและยา ตลอดจนใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช นอกจากสมุนไพรจากพืช ยังมีสมุนไพรที่มาจากสัตว์ เช่น เขา หนัง กระดูกของสัตว์บางชนิด หรือสัตว์ทั้งตัว และสมุนไพรที่เป็นแร่ธาตุ เช่น เกลือแกง

ประโยชน์ของสมุนไพร เมื่อพิจารณาประโยชน์ของสมุนไพรในประเทศที่พัฒนาแล้วจะเห็นว่า สมุนไพรมีประโยชน์คือ

1. เป็นวัตถุดิบในการผลิตตัวยาสำคัญ เช่น ชิงโคนาใช้ผลิตควินิน ดูบอยเซีย (Duboisia) ใช้ผลิตอะโทรปีน (Atropine) เป็นต้น

2. เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยา เช่น พืชสกุลกลอย เป็นวัตถุดิบในการผลิตไดออสเจนิน (Diosgenin) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาประเภทสเตียรอยด์ (Steroid) หรือน้ำมันพืชเป็นวัตถุดิบในการผลิตบีตาซิโตสเตียรอล (Beta Sitosterol) ซึ่งใช้ผลิตยาสเตียรอยด์ เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่มีเกสรผึ้งเป็นส่วนผสม (เกสรผึ้งคือเกสรดอกไม้ที่ติดมากับขาผึ้ง)

3. เป็นแบบอย่างในการสังเคราะห์ยา ยาส่วนใหญ่ที่ใช้ในปัจจุบันมีต้นกำเนิดจากธรรมชาติแทบทั้งสิ้น เมื่อค้นพบตัวยาสำคัญจากธรรมชาติแล้ว จึงมีการสังเคราะห์เลียนแบบขึ้น การศึกษาหายาใหม่ๆ จากพืชจึงยังคงดำเนินอยู่ต่อไป น้ำมันพืช ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาสเตียรอยด์ น้ำมันพืช ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารตั้งต้น ในการสังเคราะห์ยาสเตียรอยด์

4. เป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อบำรุงสุขภาพ ในช่วงเวลา 4-5 ปีที่ผ่านมานี้ ชาวตะวันตกได้หันมานิยมใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากยิ่งขึ้น เนื่องจากกลัวความเป็นพิษรุนแรงจากยาสังเคราะห์และสารตกค้างจากกระบวนการสังเคราะห์ นอกจากนี้ยังเนื่องมาจากความเชื่อที่ว่า ในพืชและสัตว์มีระบบการป้องกันตัวเองที่คล้ายคลึงกัน เช่น ระบบเอนไซม์ เป็นต้น จึงเชื่อว่าผลิตภัณฑ์จากพืชและสัตว์น่าจะปลอดภัยกับคนด้วย ตัวอย่าง เช่น โสม นมผึ้ง และเกสรผึ้ง เป็นต้น ซิงโคนา ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาควินิน จะเห็นว่าแม้แต่ประเทศที่พัฒนาแล้ว ก็ยังตระหนักถึงคุณค่า และความสำคัญของสมุนไพร สำหรับประเทศไทยนั้น เรื่องการแพทย์แผนไทย และสมุนไพรได้ถูกละเลย

กันไประยะหนึ่ง การที่จะพัฒนานำมาใช้ใหม่อีกครั้ง จึงจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่างๆ สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติ จึงได้ตั้งคณะทำงาน เพื่อหาแนวทางในการพัฒนาสมุนไพรในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจ และสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 5 (พ.ศ. 2525-2529)

ความรู้เกี่ยวกับใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

1. ความรู้เกี่ยวกับรางจืด

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia laurifolia* Linn.

ชื่อวงศ์ : Acanthaceae

ชื่อท้องถิ่น : รางจืด, กำลังช้างเผือก ยาเขียว เครือเถาเขียว ขอบชะนาง ดุเหว่า คาย ปังกะล่ะ เครือเขาเขียว หนามแน่ ย้ำแย้ รางเย็น แอดแอ

ภาพที่ 1.1 แสดงใบรางจืด

ที่มา: http://www.thaihof.org/knowledge/article/detail/1655

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ใบเป็นใบเดี่ยวรูปขอบขนานหรือรูปไข่กว้าง 4-7 เซนติเมตร ยาว 8-14 เซนติเมตร ขอบใบเว้าเล็กน้อย

ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีม่วงแกมน้ำเงิน ใบประดับสีเขียวประสีน้ำตาลแดง

สารสำคัญพบสารกลุ่ม Amino acid, Flavonoid และ Carotenoid

2. ความรู้เรื่องบัวหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Nelumbo nucifera* Gaertn.

ชื่อสามัญ : Lotus

วงศ์ : Nelumbonaceae

ชื่อท้องถิ่น : บัวหลวง

ภาพที่ 1.2 แสดงเกสรบัวหลวง

ที่มา: http://www.lotus.rmutt.ac.th/wp-content/uploads/2011/08/mix_14.jpg

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าและไหลอยู่ใต้ดิน เหง้า จะมีลักษณะเป็นท่อนยาว มีปล้องสีเหลืองอ่อนจนถึงเหลือง แข็งเล็กน้อย ถ้าตัดตามขวางจะเป็นรูกลมๆ หลายรู ไหลจะเป็น ส่วนที่เจริญไปเป็นต้นใหม่

ใบ ใบเดี่ยวรูปโล่ ออกสลับ แผ่นใบจะชูเหนือน้ำ รูปใบเกือบกลม ขนาดใหญ่ ขอบเรียบและเป็นคลื่น ผิวใบมีนวล ก้านใบแข็งเป็นหนาม ถ้าตัดตามขวางจะเห็นเป็นรูภายในก้านใบมีน้ำยางขาว เมื่อหักจะมีสายใยสีขาว ใบอ่อนสีเทานวล ปลายม้วนงอขึ้นทั้งสองด้าน ก้านใบจะติดตรงกลางแผ่นใบ

ดอกเดี่ยว มีสีขาว สีชมพู กลิ่นหอม บัวหลวงจะเริ่มบานตั้งแต่ตอนเช้า ก้านดอกยาวมีหนามเหมือนก้านใบ ชูดอกเหนือน้ำ และชูสูงกว่าใบเล็กน้อย กลีบเลี้ยง 4- 5 กลีบ ขนาดเล็ก สีขาวอมเขียว หรือสีเทาอมชมพู ร่วงง่าย กลีบดอกมีจำนวนมากเรียงซ้อนหลายชั้น

เกสรตัวผู้มีจำนวนมากสีเหลือง ปลายอับเรณูมีรยางค์คล้ายกระบองเล็กๆ สีขาว เกสรตัวเมียจะฝังอยู่ในฐานรองดอกรูปกรวยสีเหลืองนวล

ผล รูปกลมรีสีเขียวนวล มีจำนวนมาก ฝังอยู่ในส่วนที่เป็นรูปกรวย เมื่ออ่อนมีสีเหลือง รูปกรวยนี้เมื่อเป็นผลแก่จะขยายใหญ่ขึ้นมีสีเทาอมเขียว ที่เรียกว่า "ฝักบัว" มีผลสีเขียวอ่อนฝังอยู่เป็นจำนวนมาก

สารสำคัญ: คือดอกใบก้านใบฝักบัวเมล็ดและโดยเฉพาะดีบัว มีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อการขยายเส้นเลือดที่เลี้ยงหัวใจ เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรากบัว เหง้าบัวและเปลือกผล พบสารพวกแทนนิน (Tannin) เป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งอาการท้องเดิน และรากบัวมีสารพวกแคลเซียม (Calcium) ช่วยบำรุงร่างกายเมล็ดบัว มีสารไขมัน (Lipid) ช่วยเพิ่มพลังงาน บำรุงไขข้อและเอ็น

GRAD VRU

กิจกรรมสำรวจสมุนไพรไทยในท้องถิ่น

เรื่อง สมุนไพรที่ฉันรู้จัก **เวลาที่ใช้ 2 คาบ**

จุดประสงค์

1. ยกตัวอย่างสมุนไพรในท้องถิ่น
2. ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพบางประการของสมุนไพรในท้องถิ่น
3. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์สมุนไพรในท้องถิ่น
4. รวบรวมข้อมูล จัดกระทำข้อมูล และนำเสนอข้อมูลในรูปแบบที่เหมาะสม

รายการวัสดุอุปกรณ์

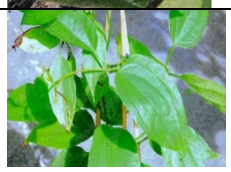
รายการ	จำนวนต่อกลุ่ม
1. ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เช่น เทียนกิ่ง ขมิ้น บัวบก ว่านหางจระเข้ เตย กุหลาบ ขิง ตะไคร้หอม รางจืด บัวหลวง	แต่ละชนิด จำนวนพอประมาณ
2. วัสดุอุปกรณ์สำหรับตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของสมุนไพรตามที่กลุ่มจะเลือกใช้ เช่น มีด โกร่งบดสาร แท่งแก้วคนสาร กระดาษกรอง แว่นขยาย	ชนิดละ 1 อัน
3. กระดาษโปสเตอร์สีต่างๆ	2-3 แผ่น
4. เทปกาว	1 ม้วน
5. กรรไกร	1 เล่ม
6. คอมพิวเตอร์ที่เชื่อมต่อเครือข่ายอินเทอร์เน็ต	2 เครื่อง/ห้อง

วิธีทำกิจกรรม

1. ระดมความคิดกันในกลุ่ม เกี่ยวกับสมุนไพรตามประสบการณ์เดิมของแต่ละคน เช่น ที่มาของสมุนไพร สมุนไพรที่นักเรียนรู้จักหรือที่มีอยู่ในบ้านของนักเรียน เช่น เทียนกิ่ง ขมิ้น บัวบก ขิง ตะไคร้
2. อภิปรายเกี่ยวกับลักษณะตัวอย่างสมุนไพรที่มีใช้ในบ้านของนักเรียน เป็นพืชที่ปลูกอยู่ในบ้าน หรือเก็บมาจากที่อื่น ในรูปของพืชสดหรือแปรรูปแล้ว การใช้ประโยชน์จากสมุนไพร
3. ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดในท้องถิ่น ที่หามาเป็นตัวอย่างในชั้นเรียน เช่น ลักษณะทั่วไป กลิ่น สี รสชาติ บันทึกลักษณะและสมบัติของพืชดังกล่าว
4. สืบค้นข้อมูลเพิ่มเติม เกี่ยวกับการปลูกพืชสมุนไพรเหล่านั้นและการใช้ประโยชน์

5. รวบรวมและจัดกระทำการใช้สมุนไพร เป็นข้อมูลของกลุ่ม นำเสนอในรูปแบบที่เหมาะสม เช่น จัดทำเป็นแผนภาพ โปสเตอร์ให้กลุ่มอื่นๆ มาเยี่ยมชมแลกเปลี่ยนความรู้

ตัวอย่างผลการทำกิจกรรม

สมุนไพร	ภาพ	ลักษณะ	แหล่งที่พบ	การใช้ประโยชน์
ขิง		เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองอ่อนมีกลิ่นหอมเฉพาะ	พบทั่วไป	ใช้เหง้าเป็นส่วนประกอบของอาหาร ใช้เป็นยาขับลม
เตย		ใบยาวเรียวคล้ายใบหอก ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นมัน เส้นกลางใบเว้าลึกเป็นแอ่ง ใบมีกลิ่นหอม	พบทั่วไป เจริญได้ดีในดินชื้น	แต่งกลิ่น แต่งสี ขนม
บัวบก		ใบเดี่ยว เรียงสลับ ก้านใบยาว ขอบใบหยัก	ตามพื้นดิน ที่ชื้น	ทั้งต้น แก้ช้ำใน
ว่านหางจระเข้		ใบเดี่ยว อวบน้ำมาก สีเขียวอ่อน หรือเขียวเข้ม ภายในมีวุ้นใส	พบในที่แล้ง	วุ้นในใบใช้รักษาแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก
รางจืด		ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปขอบขนานหรือรูปไข่ ปลายใบเรียวแหลม โคนใบมนเว้า มีเส้น 3	พบทั่วไป	ใบใช้เป็นยาถอนพิษ
บัวหลวง		ใบ ใบเดี่ยวรูปโล่ ออกสลับ แผ่นใบจะชูเหนือน้ำ รูปใบเกือบกลม ขนาดใหญ่ ขอบเรียบและเป็นคลื่น ผิวใบมีนวล	พบทั่วไป	บำรุงหัวใจ เกสรปรุงเป็นยาหอม ชูกำลัง ทำให้ชื่นใจ ยาสงประสาท ขับเสมหะ

ภาพประกอบกิจกรรม สมุนไพรไทยน่ารู้

ขั้นอธิบายลงข้อสรุป (Explanation)

คำชี้แจง ให้นักเรียนสืบค้นข้อมูลและอธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวงลงในกรอบข้อความด้านล่างตามความเข้าใจ

GRAD VRU

ขั้นขยายความรู้ (Elaboration)

คำชี้แจง ให้นักเรียนวาดภาพสมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง พร้อมลักษณะและแหล่งที่พบพร้อมทั้งการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ที่นักเรียนได้เห็นตามประสบการณ์ของตนเอง

GRAD VRU

ขั้นประเมิน (Evaluation)

คำชี้แจง นักเรียนตอบคำถามบัตรฝึกเสริมทักษะ

บัตรฝึกเสริมทักษะที่ 1 เรื่อง สมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

1. สมุนไพร จำพวกรางจืด มีสรรพคุณเด่นในเรื่องใด

2. บัวหลวง มีสรรพคุณด้านใดบ้าง

3. ใบรางจืดถูกนิยมใช้ในการถอนพิษ แก้อาการอักเสบ และด้านใดอีกบ้าง

GRAD VRU

4. เกสรบัวหลวงมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องใดบ้าง

5. สมุนไพรกลุ่มใดนิยมนำมาใช้ในการต้านริ้วรอย และอนุมูลอิสระ

6. การเก็บสมุนไพรเพื่อให้ได้สารสำคัญควรมีข้อคำนึงในเรื่องใดบ้าง

ข้อสอบหลังเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4

เรื่อง สมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย X ลงในกระดาษคำตอบ

จุดประสงค์ : อธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับ ความงามและสุขภาพ

1. สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติหมายความถึง ข้อใด
   - ก. ยาที่ได้จากผัก
   - ข. ยาที่ได้จากเนื้อสัตว์
   - ค. ยาที่ได้จากรากต้นไม้
   - ง. ยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่
2. ข้อใด**ไม่ใช่**ชื่อชื่อท้องถิ่นของรางจืด
   - ก. ย้ำแย้
   - ข. ดุเหว่า
   - ค. ยาเขียว
   - ง. ออดแอด
3. ข้อใดเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ของรางจืดถูกต้อง
   - ก. Psidium guajava Linn.
   - ข. Carthamus tinctorius Linn.
   - ค. *Thunbergia laurifolia* Linn.
   - ง. *Nelumbo nucifera* Gaerth.
4. ข้อใดเป็นสรรพคุณทางยาของรางจืด
   - ก. ถอนพิษ
   - ข. ยาแก้จุกเสียด
   - ค. แก้ลมวิงเวียน
   - ง. โรคหนองใน และปัสสาวะเป็นหนอง
5. สารสำคัญที่สามารถพบได้ในใบรางจืดคือข้อใด
   - ก. Amino acid
   - ข. Flavonoid
   - ค. Carotenoid
   - ง. ถูกทุกข้อ

GRAD VRU

6. ข้อใดเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ของบัวหลวงถูกต้อง

ก. Psidium guajava Linn.

ข. Carthamus tinctorius Linn.

ค. *Thunbergia laurifolia* Linn.

ง. *Nelumbo nucifera* Gaerth

7. ส่วนใดของบัวหลวงที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

ก. ใบ ข. เกสร

ค. กลีบดอก ง. กลีบเลี้ยง

8. ข้อใดเป็นสรรพคุณทางยาของบัวหลวง

ก. บำรุงหัวใจ

ข. แก้ลมวิงเวียน

ค. แก้อาการท้องเดิน

ง. โรคหนองใน และปัสสาวะเป็นหนอง

9. สาระสำคัญที่สามารถพบได้ในบัวหลวง คือ ข้อใด

ก. แทนนิน ข. อัลคาลอยด์

ค. ฟลาโวนอยด์ ง. ถูกทุกข้อ

10. พืชชนิดหนึ่งมีลักษณะมีเหง้าและไหลอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวรูปโล่ ดอกเดี่ยว มีสีขาว สีชมพู เกสรตัวผู้มีจำนวนมากสีเหลือง ผลเป็นรูปกลมรีสีเขียวนวล คือข้อใด

ก. มะระ

ข. บัวหลวง

ค. รางจืด

ง. สารภี

GRAD VRU

เฉลยแบบทดสอบหลังเรียน
เรื่อง สมุนไพรไทย: รางจืดและบัวหลวง

1. ง. ยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่
2. ง. ออดแอด
3. ค. *Thunbergia laurifolia* Linn.
4. ก. ถอนพิษ
5. ง. ถูกทุกข้อ
6. ง. *Nelumbo nucifera* Gaerth
7. ข. เกสร
8. ก. บำรุงหัวใจ
9. ง. ถูกทุกข้อ
10. ข. บัวหลวง

GRAD VRU

แบบทดสอบก่อนเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย X ลงในกระดาษคำตอบ

จุดประสงค์ : 1. ออกแบบและลงมือปฏิบัติเพื่อสกัดสารที่ต้องการจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง
2. รวบรวมข้อมูล จัดกระทำข้อมูลและนำเสนอข้อมูลในรูปแบบที่เหมาะสม

1. ตัวทำละลายชนิดใดที่ใช้สกัดแยกสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงได้ดีที่สุด
   ก. น้ำ (Water)
   ข. เอทานอล (Ethanol)
   ค. เมทานอล (Methanol)
   ง. แอลกอฮอล์ (Alcohol)
2. ฟลาโวนอยด์เป็นสารเคมีที่มีอยู่ในพืชมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องใด
   ก. การต้านอนุมูลอิสระ
   ข. การสังเคราะห์เมลานิน
   ค. การสังเคราะห์เอนไซน์ไทโรซิเนส
   ง. การยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซน์ไทโรซิเนส
3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจาก สารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงศึกษาจากปริมาณทั้งหมดของสารกลุ่มใด
   ก. ปริมาณรูทินทั้งหมด
   ข. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
   ค. ปริมาณกรดแกลลิคทั้งหมด
   ง. ปริมาณกรดแทนนิคทั้งหมด
4. สารมาตรฐานที่นิยมใช้เป็นสารเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคือสารใด
   ก. กรดแกลลิค ข. กรดแทนนิก
   ค. กระอะซีติก ง. กรดกลูตามิก
5. ข้อใด<u>ไม่ใช่</u>ประโยชน์ของโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
   ก. ใช้หาระบบของตัวทำละลาย
   ข. ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร
   ค. ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีได้แก่ pH
   ง. ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดที่ได้มีสารกี่ชนิด ประเภทใด

GRAD VRU

6. ข้อใดเป็นวิธีการที่สามารถทำให้มองเห็นสารที่แยกได้จากแผ่น TLC

ก. การสเปรย์ด้วยไอโอดีน

ข. การสเปรย์ด้วยกรดซัลฟุริค

ค. การมองภายใต้แสง UV

ง. ถูกทุกข้อ

7. เทคนิคอย่างง่ายที่ใช้แยกสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงให้บริสุทธิ์คือข้อใด

ก. โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ข. โครมาโทกราฟีแบบคอมลัมน์

ค. โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

ง. ถูกทั้งข้อ ก. และ ข.

8. การสกัดด้วยตัวทำละลายช่วยในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ ตัวทำละลาย ในข้อใดไม่นิยมใช้เพราะอาจก่อให้เกิดอันตราย

ก. เอทานอล ข. เมทานอล

ค. อะซิติก ง. คลอโรฟอร์ม

9. สารสกัดหยาบของพืชชนิดหนึ่งมีลักษณะข้นหนืดสีเขียวเข้ม เป็นลักษณะของพืชชนิดใด

ก. สารภี ข. คำฝอย

ค. รางจืด ง. บัวหลวง

10. สารสกัดหยาบของพืชชนิดหนึ่งมีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองใส เป็นลักษณะของพืชชนิดใด

ก. สารภี ข. คำฝอย

ค. รางจืด ง. บัวหลวง

GRAD VRU

ชุดกิจกรรมที่ 2 เรื่อง การสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

ผลการเรียนรู้

1. สืบค้นข้อมูลและอธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ

2. สำรวจตรวจสอบสมุนไพรในท้องถิ่นที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อความงามและสุขภาพ

3. เสนอแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อความงามและสุขภาพที่มีส่วนผสมของสมุนไพรในท้องถิ่น

4. วิเคราะห์ข้อมูล และนำความรู้ไปใช้ในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เพื่อความงามและสุขภาพอย่างถูกต้องและเหมาะสม

5. สื่อสารสิ่งที่เรียนรู้ และสร้างสรรค์ผลงานเกี่ยวกับความงามและสุขภาพอย่างมีคุณธรรมและจริยธรรม

สาระการเรียนรู้

การใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร สามารถนำมาส่วนของพืชใช้ประโยชน์โดยตรง หรืออาจแยกเฉพาะสารที่มีสมบัติที่ต้องการออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืชด้วยวิธีการต่างๆ เช่น สกัดด้วยตัวทำละลาย กลั่นด้วยไอน้ำ สารที่แยกออกมาได้มีลักษณะเป็นสารเนื้อเดียว ถ้าต้องการทราบว่ามีองค์ประกอบเพียงชนิดเดียวหรือไม่ ต้องนำไปแยกต่อด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น โครมาโทกราฟี การใช้สมุนไพรให้ได้ประโยชน์สูงสุดขึ้นอยู่กับ อายุของสมุนไพร ฤดูกาลที่เก็บ ช่วงเวลาที่เก็บสมุนไพร แหล่งที่เก็บสมุนไพร และวิธีเก็บรักษาสมุนไพรอย่างถูกต้อง

จุดประสงค์การเรียนรู้

1. ด้านความรู้

   1.1 ออกแบบและลงมือปฏิบัติเพื่อสกัดสารที่ต้องการจากส่วนต่างๆ ของพืช

   1.2 รวบรวมข้อมูล จัดกระทำข้อมูล และนำเสนอข้อมูลในรูปแบบที่เหมาะสม

ขั้นเร้าความสนใจ (Engagement)

เรื่อง การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

ดอกกระดังงา

ผลมังคุด

ในการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรอาจแยกเฉพาะสารที่มีสมบัติที่ต้องการออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ราก ใบ ดอก ผล เปลือก และต้น ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น ต้มหรือสกัดด้วยน้ำร้อน นำไปละลายในตัวทำละลาย ตัวอย่างของพืชที่สามารถนำมาแยกสารที่ต้องการด้วยวิธีนี้ เช่น เตย มะตูม ในบางท้องถิ่นมีการใช้ประโยชน์จากน้ำมันที่มีกลิ่นหอมออกจากผิวส้ม ต้มใบเตยแล้วกรองส่วนที่เป็นของเหลวมีกลิ่นหอมมาใช้ หรือนำรากกระชายดำมาแช่ในแอลกอฮอล์ วิธีการเหล่านี้ก็เป็นภูมิปัญญาของคนไทยในการใช้ประโยชน์จากพืชพรรณในท้องถิ่น สารที่แยกออกมาได้นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย

สารที่แทรกอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืชบางชนิดเป็นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นสารเนื้อเดียว ระเหยง่าย ไม่ละลายน้ำ และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำ สามารถแยกออกมาได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพของสารนั้น เมื่อทำให้สารมีอุณหภูมิสูงขึ้น สารจะเปลี่ยนสถานะเป็นแก๊ส แยกออกมา ซึ่งสามารถทำให้เปลี่ยนสถานะกลับเป็นของเหลวได้อีกครั้งโดยการลดอุณหภูมิ ตัวอย่างพืชที่นิยมนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย เช่น ตะไคร้หอม นอกจากน้ำมันหอมระเหยแล้ว ยังมีสารเนื้อเดียวชนิดอื่นๆ ในพืช เช่น สี ที่สามารถแยกออกมาได้โดยอาศัยสมบัติเกี่ยวกับความสามารถในการละลาย ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะตัวของสาร ถ้าเราใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม จะแยกสารนั้นออกมาได้

การสกัดสารด้วย การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation) ในกิจกรรมเสนอแนะ ทำได้โดยผ่านความร้อนจากไอน้ำเดือดมายังส่วนของพืชที่ต้องการแยกน้ำมันหอมระเหย เช่น ใบตะไคร้หอม ผิวมะกรูด ความร้อนจากไอน้ำจะช่วยให้น้ำมันหอมระเหยในพืชระเหยออกมาอย่างรวดเร็วและได้น้ำมันหอมระเหยปริมาณมาก

ขั้นสำรวจและค้นหา (Exploration)

ใบกิจกรรมที่ 2 เรื่องการสกัดสารจากส่วนต่างของพืช เวลา 2 คาบ

จุดประสงค์

1. ออกแบบและลงมือปฏิบัติเพื่อสกัดสารที่ต้องการจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง
2. รวบรวมข้อมูล จัดกระทำข้อมูล และนำเสนอข้อมูลในรูปแบบที่เหมาะสม

รายการวัสดุอุปกรณ์

รายการ	จำนวนต่อกลุ่ม
1. พืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เช่น ใบรางจืด เกสรบัวหลวง	ชนิดละ 10 g
3. เอทิลแอลกอฮอล์	
4. น้ำกลั่น	20 cm^3
5. น้ำแข็ง	50 cm^3
6. ขวดรูปกรวย ขนาด 100 cm^3	20 g
7. หลอดแก้วหรือพลาสติก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 cm	2 ใบ
ยาวประมาณ 15 cm ปลายเปิด 2 ด้าน	1 หลอด
8. หลอดทดลองขนาดกลาง	
9. จุกยางขนาดที่ปิดหลอดแก้วพลาสติก เส้นผ่านศูนย์กลาง	1 หลอด
ประมาณ 2.5 cm ได้พอดี เจาะ 1 รู	1 อัน
10. หลอดนำแก๊สรูปตัว V	
11. สายพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ยาว 50 cm	1 อัน
12. บีกเกอร์ขนาด 250 cm^3	1 เส้น
13. บีกเกอร์ขนาด 100 cm^3	1 ใบ
14. กรวยแก้วหรือกรวยพลาสติก	2 ใบ
15. กระบอกตวงขนาด 10 cm^3	1 อัน
16. โกร่งบดสาร	1 ใบ
17. ถ้วยระเหย	1 ชุด
18. ตะเกียงแอลกอฮอล์พร้อมที่กั้นลมและตะแกรงลวด	1 ใบ
19. ขาตั้งและที่จับหลอดทดลอง	1 ชุด
20. ที่วางหลอดทดลอง	1 อัน

GRAD VRU

รายการ	จำนวนต่อกลุ่ม
21. กระดาษกรอง	1 อัน
22. แท่งแก้วคนสาร	2 แผ่น
23. มีดขนาดเล็กสำหรับหั่น	1 อัน
24. ผ้าขาวบาง ขนาด 15 x 15 cm	1 เล่ม
25. ผ้าสำหรับพันสายพลาสติก	1 ผืน
	1 ผืน

วิธีทำกิจกรรม

ตอนที่ 1

1. เลือกพืชที่กลุ่มสนใจจะศึกษามาหนึ่งชนิด เช่น ดอกไม้ ใบไม้ ผลไม้ รากพืชที่มีสีสวย หรือกลิ่นหอม สังเกตและบันทึกลักษณะภายนอกของส่วนต่างๆ ของพืชนั้น

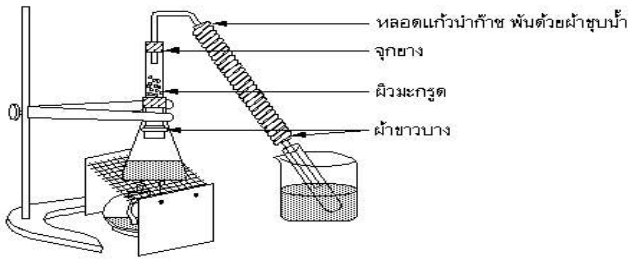
2. ฉีกหรือหั่นส่วนของพืชเป็นชิ้นเล็กๆ สังเกตและบันทึกว่ามีสารที่มีสีแยกออกมาบ้างหรือไม่ หรือได้กลิ่นหอมมากขึ้นหรือไม่

3. อภิปราย ระดมความคิดกันในกลุ่ม เพื่อออกแบบวิธีการสกัดสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชนั้น โดยอาจใช้คำถามต่อไปนี้ประกอบการอภิปราย

- จะใช้ส่วนต่างๆ ของพืชในปริมาณเท่าไร
- จะใช้สารใดละลายสารในพืชออกมา
- ใช้อุปกรณ์อะไรบ้าง

4. นำเสนอแนวคิดให้กลุ่มอื่นๆ เสนอความคิดเห็นเพื่อปรับปรุงวิธีการ บันทึกผล

5. ทำการทดลองตามวิธีการที่ออกแบบ สังเกต บันทึก และนำเสนอผลการทดลอง



ภาพที่ 1.3 แสดงการสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

ตอนที่ 2

1. นำส่วนของพืชที่สนใจจะศึกษา 5 กรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในขวดรูปกรวย เติมน้ำกลั่น 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดด้วยจุกยางแล้วเขย่าแรงๆ นาน 5 นาที แยกส่วนที่เป็นของเหลวออกมาสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี และกลิ่น

2. ทำซ้ำแต่เปลี่ยนจากน้ำเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ เปรียบเทียบผลที่ได้ทั้งสองครั้ง

3. จัดชุดการสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำดังรูป บรรจุส่วนของพืชที่หั่นแล้ว 5 กรัม ลงในหลอดแก้วขนาดใหญ่ปลายเปิดทั้งสองด้าน ปิดปลายหลอดด้านล่างด้วยผ้าขาวบางให้โปร่งพอที่ไอน้ำจะผ่านได้ แล้วให้ความร้อนแก่น้ำในขวดรูปกรวยจนเดือด สังเกตการเปลี่ยนแปลงและตรวจสอบสมบัติของสารที่ได้ในหลอดทดลองขนาดกลางในบีกเกอร์บรรจุน้ำเย็น

GRAD VRU

ขั้นอธิบายลงข้อสรุป (Explanation)

จากการสำรวจสมุนไพรในท้องถิ่นที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อความงามและสุขภาพให้นักเรียนเลือกมาสมุนไพรมา 1 ชนิด ออกแบบวิธีการเพื่อสกัดสารที่ต้องการจากส่วนต่างๆ ของพืชที่นักเรียนเลือกมา และนำเสนอข้อมูลในรูปแบบที่เหมาะสม

GRAD VRU

ขั้นขยายความรู้ (Elaboration)

ในขั้นนี้ครูให้นักเรียนวาดภาพการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่นักเรียนได้เห็นตามประสบการณ์ของตนเอง

GRAD VRU

ขั้นประเมิน (Evaluation)

นักเรียนตอบคำถาม

บัตรฝึกเสริมทักษะที่ 2 เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และทำแบบทดสอบหลังเรียน

1. จงยกตัวอย่างสมุนไพรที่นิยมใช้แต่งสี

2. อัญชัน กรรณิการ์ ขมิ้น เตย คราม ครั่ง เป็นพืชที่นิยมใช้แต่งสีซึ่งให้สีใดตามลำดับ

3. จงยกตัวอย่างสมุนไพรที่นิยมนำมาใช้ในรูปของน้ำมันหอมระเหย

4. การสกัดส่วนต่างๆ ของพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ นิยมใช้ส่วนใดบ้างและจากพืชชนิดใด

5. จงยกตัววิธีการแยกสารที่ต้องการจากพืชสมุนไพรที่นักเรียนรู้จัก และสามารถนำสารที่แยกออกมาใช้ประโยชน์ในด้านใดบ้าง

6. จงยกตัวอย่างสมุนไพรที่สามารถนำมาสกัดด้วยน้ำร้อน

7. วิธีการใดเหมาะสมกับพืชที่จะนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยที่มีลักษณะบาง อ่อนนุ่ม เช่น กลีบ ดอกไม้

แบบทดสอบหลังเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย X ลงในกระดาษคำตอบ

1. ตัวทำละลายชนิดใดที่ใช้สกัดแยกสารออกฤทธิ์จากใบรางจืดและเกสรบัวหลวงได้ดีที่สุด
   ก. น้ำ
   ข. เอทานอล
   ค. เมทานอล
   ง. แอลกอฮอล์
2. ฟลาโวนอยด์เป็นสารเคมีที่มีอยู่ในพืชมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องใด
   ก. การต้านอนุมูลอิสระ
   ข. การสังเคราะห์เมลานิน
   ค. การสังเคราะห์เอนไซน์ไทโรซิเนส
   ง. การยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซน์ไทโรซิเนส
3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงศึกษาจากปริมาณทั้งหมดของสารกลุ่มใด
   ก. ปริมาณรูทินทั้งหมด
   ข. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
   ค. ปริมาณกรดแกลลิคทั้งหมด
   ง. ปริมาณกรดแทนนิคทั้งหมด
4. สารมาตรฐานที่นิยมใช้เป็นสารเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคือสารใด
   ก. กรดแกลลิค ข. กรดแทนนิก
   ค. กระอะซีติก ง. กรดกลูตามิก
5. ข้อใด<u>ไม่ใช่</u>ประโยชน์ของโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
   ก. ใช้หาระบบของตัวทำละลาย
   ข. ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร
   ค. ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีได้แก่ pH
   ง. ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดที่ได้มีสารกี่ชนิด ประเภทใด

GRAD VRU

6. ข้อใดเป็นวิธีการที่สามารถทำให้มองเห็นสารที่แยกได้จากแผ่น TLC

ก. การสเปรย์ด้วยไอโอดีน

ข. การสเปรย์ด้วยกรดซัลฟุริค

ค. การมองภายใต้แสง UV

ง. ถูกทุกข้อ

7. เทคนิคอย่างง่าย ที่ใช้แยกสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงให้บริสุทธิ์คือข้อใด

ก. โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ข. โครมาโทกราฟีแบบคอมลัมน์

ค. โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

ง. ถูกทั้งข้อ ก. และ ข.

8. การสกัดด้วยตัวทำละลายช่วยในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ ตัวทำละลาย ในข้อใดไม่นิยมใช้เพราะอาจก่อให้เกิดอันตราย

ก. เอทานอล ข. เมทานอล

ค. อะซิติก ง. คลอโรฟอร์ม

9. สารสกัดหยาบของพืชชนิดหนึ่งมีลักษณะข้นหนืดสีเขียวเข้ม เป็นลักษณะของพืชชนิดใด

ก. สารภี ข. คำฝอย

ค. รางจืด ง. บัวหลวง

10. สารสกัดหยาบของพืชชนิดหนึ่งมีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองใส เป็นลักษณะของพืชชนิดใด

ก. สารภี ข. คำฝอย

ค. รางจืด ง. บัวหลวง

GRAD VRU

เฉลยแบบทดสอบหลังเรียน

เรื่องการสกัดสารสำคัญจากใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

1. ค. เมทานอล
2. ก. การต้านอนุมูลอิสระ
3. ข. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
4. ก. กรดแกลลิค
5. ง. ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดที่ได้มีสารกี่ชนิด ประเภทใด
6. ค. การมองภายใต้แสง UV
7. ก. โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
8. ง. คลอโรฟอร์ม
9. ค. รางจืด
10. ง. บัวหลวง

GRAD VRU

แบบทดสอบก่อนเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
เรื่อง การทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย x ลงในกระดาษคำตอบ

จุดประสงค์ 1. สืบค้นข้อมูล อภิปราย และเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ ที่มีสมุนไพรเป็นส่วนประกอบ โดยใช้ข้อมูลที่เหมาะสมประกอบการตัดสินใจ

2. พัฒนาแนวคิดในการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพอย่างสร้างสรรค์

1. ข้อใดคือสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดปัญหาความบกพร่องของผิวพรรณ เช่น ฝ้า กระ รอยด่างดำรอยหมองคล้ำ

ก. การกินยาคุมกำเนิด

ข. การใช้ผลิตภัณฑ์ผสมสารลอกผิวบ่อยๆ

ค. ความรุนแรงของแสงแดดและความร้อน

ง. การเผชิญกับมลพิษ ควันพิษและฝุ่นละอองในอากาศ

2. ปัญหาริ้วรอยบนใบหน้า กระ ฝ้า เกิดจากกระบวนการในข้อใด

ก. การสังเคราะห์เมลานิน

ข. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

ค. การสังเคราะห์เอนไซน์ไทโรซิเนส

ง. การยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซน์ไทโรซิเนส

3. พืชสมุนไพรข้อใดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ ช่วยลดการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นบนผิวหนังได้

ก. ใบรางจืด เกสรบัวหลวง

ข. ขมิ้นชันสด ปอสาอบแห้ง

ค. บัวบกสด โลดทะนงอบแห้ง

ง. ถูกทุกข้อ

4. หากต้องการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์โดยคัดเลือกสมุนไพรและคุณสมบัติของสมุนไพรข้อใดไม่สัมพันธ์กัน

ก. ขมิ้น : บำรุงผิว ลดการระคายเคือง

ข. ว่านนางคำ : บำรุงผิวพรรณให้เปล่งปลั่ง

ค. พญายา : ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส

ง. ไพล : ยับยั้งการไหลเวียนของเลือด

GRAD VRU

5. สารชนิดใดในผลิตภัณฑ์เซรั่มที่ทำหน้าที่ในการปรับสมดุลค่าความเป็นกรด-ด่าง

ก. TEA ข. Glycerine

ค. Microcare PM5 ง. Dissodium EDTA

6. สารเคมีชนิดใด ที่ใช้เป็นส่วนผสมในเซรั่ม ที่ช่วยทำให้ผิวพรรณมีความชุ่มชื้น

ก. TEA ข. Glycerine

ค. Microcare PM5 ง. Dissodium EDTA

7. ข้อใดคือประโยชน์ของการทำผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดกับเกสรบัวหลวง

ก. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของพืชสมุนไพรแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

ข. เพื่อส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยในท้องถิ่น

ค. เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ สามารถใช้ในชีวิตปัจจุบันได้อย่างปลอดภัย

ง. ถูกทุกข้อ

8. คุณสมบัติของเซรั่มตรงกับข้อใดมากที่สุด

ก. เป็นของเหลวที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหนืด

ข. เป็นของเหลวข้นคล้ายน้ำมัน มีความหนืด ไม่มีรสหวาน

ค. สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์แต่ไม่ละลายในน้ำ

ง. สามารถละลายได้ดีในไขมัน แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

9. เครื่องสำอาง คือ สาร หรือเครื่องประทินใดๆ ที่ใช้เพื่อทำให้เกิดความสวยงาม เสริมบุคลิกภาพ และอาจรวมไปถึงการส่งเสริมสุขภาพ และอนามัย อย่างไรก็ตาม เครื่องสำอางบางประเภทอาจมีผลต่อสุขภาพ หรือก่อให้เกิดโทษแก่ผู้ใช้ได้ ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์กันแดด บำรุงผิว หรือปรับสภาพผิว อาจมีส่วนผสมที่ทำให้เกิดผื่นคัน หรือแพ้แสงแดด ดังนั้น นอกจากคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแล้ว ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางออกจำหน่ายในท้องตลาด จำเป็นต้องทดสอบความปลอดภัยด้านใดบ้าง

ก. การทดสอบทางเคมีและกายภาพ (Physicochemical test)

ข. การทดสอบประสิทธิภาพ (Efficacy test)

ค. การทดสอบความเป็นพิษ (Toxicological test)

ง. ถูกทุกข้อ

10. ในฐานะผู้บริโภค ท่านคิดว่าจะเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดประเภทผลิตภัณฑ์บำรุงผิวชนิดต่างๆ ควรคำนึงถึง ข้อใดมากที่สุด

ก. ต้องเหมาะสมกับสภาพผิวหนังชั้นนอก

ข. ต้องมีความคงตัวที่ดีทั้งทางกายภาพและเคมี

ค. ต้องสามารถขจัดสิ่งสกปรกให้ออกได้จากผิวได้อย่างหมดจด

ง. ถูกทุกข้อ

ชุดกิจกรรมที่ 3 เรื่อง การทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการเรียนรู้

1. สืบค้นข้อมูลและอธิบายเกี่ยวกับสมุนไพรและภูมิปัญญาไทยที่เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ

2. สำรวจตรวจสอบสมุนไพรในท้องถิ่นที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อความงามและสุขภาพเสนอแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อความงามและสุขภาพที่มีส่วนผสมของสมุนไพรในท้องถิ่น

3. วิเคราะห์ข้อมูล และนำความรู้ไปใช้ในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เพื่อความงามและสุขภาพอย่างถูกต้องและเหมาะสม

4. สื่อสารสิ่งที่เรียนรู้ และสร้างสรรค์ผลงานเกี่ยวกับความงามและสุขภาพอย่างมีคุณธรรมและจริยธรรม

สาระการเรียนรู้

การใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการพัฒนารูปแบบการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพ ผนวกกับการใช้ความคิดสร้างสรรค์ การออกแบบผลิตภัณฑ์ เป็นแนวทางหนึ่งในการฟื้นฟูและพัฒนาภูมิปัญญาไทยและเทคโนโลยีในท้องถิ่นให้มีการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

จุดประสงค์การเรียนรู้

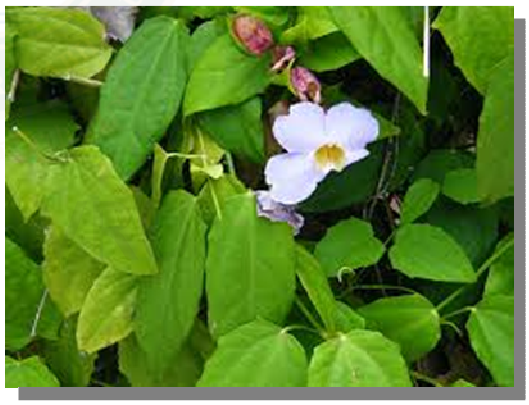
1. ด้านความรู้

1.1 สืบค้นข้อมูล อภิปราย และเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับความงามและสุขภาพที่มีสมุนไพรเป็นส่วนประกอบ โดยใช้ข้อมูลที่เหมาะสมประกอบการตัดสินใจ

1.2 พัฒนาแนวคิดในการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพอย่างสร้างสรรค์

ขั้นเร้าความสนใจ (Engagement)

ครูนำเข้าสู่บทเรียนโดยให้นักเรียนศึกษาภาพแล้วถามคำถามเพื่อให้นักเรียนตอบคำถาม



ขั้นสำรวจและค้นหา (Exploration)

ใบกิจกรรมที่ 3 เรื่อง การทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เวลาที่ใช้ 3 คาบ

จุดประสงค์

1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์สมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพ
2. อภิปรายกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับความงามและสุขภาพ
3. เสนอแนะการเลือกใช้สมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพโดยใช้ข้อมูลที่เหมาะสมประกอบการตัดสิน

สาระการเรียนรู้

1. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว หมายถึงผลิตภัณฑ์สำหรับการปกป้องดูแลผิว แบ่งออกตามเนื้อผลิตภัณฑ์ได้ 5 ชนิดดังนี้

1) เนื้อครีม ประกอบด้วยน้ำมันและน้ำ อาจมีซิลิโคนผสมด้วย เนื้อครีมจะเข้มข้น และหนักกว่าแบบโลชั่นเหมาะสำหรับคนที่มีผิวแห้ง หรือผิวที่ต้องการความชุ่มชื้นเป็นพิเศษ เนื้อครีมจะซึมผ่านลงสู่ชั้นผิวหนังได้นานกว่าแบบโลชั่นหรือเจล เพราะมีส่วนประกอบของน้ำมันมากกว่า

2) เนื้อโลชั่น ประกอบด้วยน้ำมันและน้ำ ส่วนผสมส่วนใหญ่จะเป็นน้ำ เนื้อโลชั่นจะบางเบาซึมได้เร็วกว่าเนื้อครีม เหมาะสำหรับผิวผสมหรือผิวมัน

3) เนื้ออิมัลชัน มักอยู่ในรูปของเหลวมีเนื้อหนักกว่าโลชั่นมีลักษณะคล้ายน้ำนม เนื้อเบาบางกว่าเนื้อครีมเหมาะสำหรับคนผิวธรรมดาและผิวแห้ง

4) เนื้อเจล ประกอบด้วยน้ำเป็นหลักและมีน้ำมันปริมาณน้อย จึงทำให้ซึมลงสู่ผิวได้ง่ายและรวดเร็วกว่าเนื้อครีมหรือโลชั่น เหมาะสำหรับผิวผสม

5) เนื้อเซรั่ม ประกอบด้วยซิลิโคน น้ำ และสารประสานซิลิโคนกับน้ำ ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์จะคล้ายกับเจลที่สามารถระเหยไว การซึมลงสู่ผิวหนังใกล้เคียงกับเจล เหมาะสำหรับคนผิวแห้ง ผิวธรรมดา และผิวมัน

ผลิตภัณฑ์เซรั่ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่เข้มข้น เนื้อจะเป็นเจลหรือจะเป็นอิมัลชั่นก็ได้ เนื้อสัมผัสแต่ละตัวก็จะต่างกันไป แล้วแต่สารออกฤทธิ์ สามารถซึมผ่านผิวหนังชั้นนอกลงไปสู่ผิวหนังชั้นในโดยทำปฏิกิริยากับเซลผิวชั้นหนังแท้

ทำให้นุ่มชุ่มชื่น ใสตึงกระชับ ไม่มันโดยไม่มีผลข้างเคียงใดๆ ซึ่งบางตำราอาจจัดอยู่ในเวชสำอาง ข้อเปรียบเทียบระหว่างครีมบำรุงผิวกับเซรั่ม

1) ความเข้มข้นของ Active Ingredients เซรั่มใส่ส่วนผสมที่ออกฤทธิ์เข้มข้นกว่าครีม ทำให้เห็นผลได้เร็วกว่าครีม

2) ความชุ่มชื้นผิว ครีมมีส่วนผสมน้ำมันทำให้สามารถให้ความชุ่มชื้นผิวได้มากกว่าเซรั่ม

3) การซึมซับเข้าสู่ผิว เซรั่มซึมลึกเข้าสู่ผิวชั้นในเพื่อแก้ไขปัญญาผิวจากด้านใน ในขณะที่ครีมให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวได้แค่ผิวชั้นนอก

4) ความรู้สึกเหนียวเหนอะแหนะ เนื้อเซรั่มซึมเข้าสู่ผิวได้เร็วและลึกกว่าเนื้อครีม ทำให้เซรั่มรู้สึกเหนียวเหนอะแหนะน้อยกว่าครีม

5) ราคา ครีมมีราคาถูกกว่าเซรั่ม

2. สมุนไพร

2.1 รางจืด

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของรางจืด

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thunbergia laurifolia* Linn.

ชื่อวงศ์ : Acanthaceae

ชื่อท้องถิ่น : รางจืด, กำลังช้างเผือก, ยาเขียว, เครือเถาเขียว, ขอบชะนาง, ดุเหว่า, คาย, ปังกะล่ะ, เครือเขาเขียว, หนามแน่, ย้ำแย้, รางเย็น, แอดแอ

รูปที่ 1.4 แสดงใบรางจืด

ที่มา: http://www.thaihof.org/knowledge/article/detail/1655

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ใบเป็นใบเดี่ยวรูปขอบขนานหรือรูปไข่กว้าง 4-7 เซนติเมตร ยาว 8-14 เซนติเมตร ขอบใบเว้าเล็กน้อย

ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีม่วงแกมน้ำเงิน ใบประดับสีเขียวประสีน้ำตาลแดง

สารสำคัญพบสารกลุ่ม Amino acid, Flavonoid และ Carotenoid

2.2 บัวหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : Nelumbo nucifera Gaertn.

ชื่อสามัญ : Lotus

วงศ์ : Nelumbonaceae

ชื่อท้องถิ่น : บัวหลวง

รูปที่ 1.5 แสดงเกสรบัวหลวง

ที่มา: http://www.lotus.rmutt.ac.th/wp-content/uploads/2011/08/mix_14.jpg

2.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าและไหลอยู่ใต้ดิน เหง้าจะมีลักษณะเป็นท่อนยาว มีปล้องสีเหลืองอ่อนจนถึงเหลือง แข็งเล็กน้อย ถ้าตัดตามขวางจะเป็นรูกลมๆ หลายรู ไหลจะเป็นส่วนที่เจริญไปเป็นต้นใหม่

ใบ ใบเดี่ยวรูปโล่ ออกสลับ แผ่นใบจะชูเหนือน้ำ รูปใบเกือบกลม ขนาดใหญ่ ขอบเรียบและเป็นคลื่น ผิวใบมีนวล ก้านใบแข็งเป็นหนาม ถ้าตัดตามขวางจะเห็นเป็นรูภายในก้านใบมีน้ำยางขาว เมื่อหักจะมีสายใยสีขาว ใบอ่อนสีเทานวล ปลายม้วนงอขึ้นทั้งสองด้าน ก้านใบจะติดตรงกลางแผ่นใบ

ดอกเดี่ยว มีสีขาว สีชมพู กลิ่นหอม บัวหลวงจะเริ่มบานตั้งแต่ตอนเช้า ก้านดอกยาวมีหนามเหมือนก้านใบ ชูดอกเหนือน้ำ และชูสูงกว่าใบเล็กน้อย กลีบเลี้ยง 4- 5 กลีบ ขนาดเล็ก สีขาวอมเขียว หรือสีเทาอมชมพู ร่วงง่าย กลีบดอกมีจำนวนมากเรียงซ้อนหลายชั้น

เกสรตัวผู้มีจำนวนมากสีเหลือง ปลายอับเรณูมีรยางค์คล้ายกระบองเล็กๆ สีขาว เกสรตัวเมียจะฝังอยู่ในฐานรองดอกรูปกรวยสีเหลืองนวล

ผล รูปกลมรีสีเขียวนวล มีจำนวนมาก ฝังอยู่ในส่วนที่เป็นรูปกรวย เมื่ออ่อนมีสีเหลือง รูปกรวยนี้เมื่อเป็นผลแก่จะขยายใหญ่ขึ้นมีสีเทาอมเขียว ที่เรียกว่า “ฝักบัว” มีผลสีเขียวอ่อนฝังอยู่เป็นจำนวนมาก

สารสำคัญ: Nucifera Gaertn.) คือ ดอก ใบ ก้านใบ ฝักบัว เมล็ด และโดยเฉพาะดีบัว มีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อการขยายเส้นเลือดที่เลี้ยงหัวใจ เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรากบัว เหง้าบัว และเปลือกผล พบสารพวกแทนนิน (Tannin) เป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งอาการท้องเดิน และรากบัวมีสารพวกแคลเซียม (Calcium) ช่วยบำรุงร่างกายเมล็ดบัว มีสารไขมัน (Lipid) ช่วยเพิ่มพลังงาน บำรุงไขข้อและเอ็น

3. การทำผลิตภัณฑ์เซรั่มสมุนไพรจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

3.1 สูตรเซรั่มพื้นที่เตรียมไว้

ส่วนประกอบ	เปอร์เซ็นต์ที่ใช้	คุณสมบัติของสาร
DI water qs.	100	Diluent
Carbopol Ultrez 10	0.30	Jelling Agent
Dissodium EDTA	0.10	Chelating Agent
Glycerine	1.00	Humectant
Microcare PM5	0.50	Preservative
สารสกัดใบรางจืด		Antioxidant
สารสกัดเกสรบัวหลวง		Antioxidant

3.2 วิธีการเตรียมเซรั่ม

1) เติม EDTA ลงน้ำ คนให้ละลาย จากนั้นเติม Carbopol Ultrez 10 ลงในน้ำทิ้งไว้ 10 นาที ให้กระจายตัวในน้ำอย่างทั่วถึง

2) เติม Glycerine กับ Propylene Glycol ลงในสารข้อที่ 1

3) เติมสารสกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2

4) ปรับ pH ด้วย TEA

3.3 การทดสอบสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบผสมใบรางจืด และเกสรบัวหลวง

GRAD VRU

หลังจากได้เซรั่มที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงเรียบร้อยแล้วนำมาทดสอบเสถียรภาพในสภาวะต่างๆ ดังนี้

1) การวัดค่าความเป็นกรดเบส

ขั้นอธิบายลงข้อสรุป (Explanation)

พืชสมุนไพรที่นักเรียนสนใจและเลือกมาใช้ประโยชน์สมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพ มีกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับความงามและสุขภาพอย่างไร พร้อมทั้งเสนอแนะการเลือกใช้สมุนไพรเพื่อความงามและสุขภาพโดยใช้ข้อมูลที่เหมาะสมประกอบการตัดสินใจ

GRAD VRU

ขั้นขยายความรู้ (Elaboration)

ในขั้นนี้ครูให้นักเรียนวาดผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับความงามและสุขภาพที่นักเรียนได้พบเห็นตามประสบการณ์ของตนเอง

GRAD VRU

ขั้นประเมิน (Evaluation)

ครูจัดกิจกรรมตามแผนการเรียนรู้ในขั้นประเมิน นักเรียนตอบคำถาม
บัตรฝึกเสริมทักษะที่ 3 การสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวง และทำแบบทดสอบหลังเรียน

1. ใบรางจืดและเกสรบัวหลวงพบสารกลุ่มสำคัญที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือสารกลุ่มใด

2. ผลิตภัณฑ์จากเซรั่มประกอบด้วยสารชนิดใดบ้าง

3. จงเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวชนิดเนื้อเซรั่มกับชนิดเนื้อครีม

4. ผลิตภัณฑ์เซรั่มสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบใบรางจืดกับเกสรบัวหลวงที่ได้จากการทดลองมีลักษณะ อย่างไร และมีคุณสมบัติใด

5. การเลือกใช้ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่เหมาะสมกับการใช้งานควรมีการเลือกใช้อย่างไร

GRAD VRU

แบบทดสอบหลังเรียน

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ชมรมวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4
เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
เวลา 10 นาที จำนวน 10 ข้อ

คำชี้แจง ให้นักเรียนเลือกคำตอบที่ถูกต้องและทำเครื่องหมาย x ลงในกระดาษคำตอบ

1. ข้อใดคือสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดปัญหาความบกพร่องของผิวพรรณ เช่น ฝ้า กระ รอยด่างดำ รอยหมองคล้ำ

ก. การกินยาคุมกำเนิด

ข. การใช้ผลิตภัณฑ์ผสมสารลอกผิวบ่อยๆ

ค. ความรุนแรงของแสงแดดและความร้อน

ง. การเผชิญกับมลพิษ ควันพิษและฝุ่นละอองในอากาศ

2. ปัญหาริ้วรอยบนใบหน้า กระ ฝ้า เกิดจากกระบวนการในข้อใด

ก. การสังเคราะห์เมลานิน

ข. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

ค. การสังเคราะห์เอนไซน์ไทโรซิเนส

ง. การยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซน์ไทโรซิเนส

3. พืชสมุนไพรข้อใดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระ ช่วยลดการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นบนผิวหนังได้

ก. ใบรางจืด เกสรบัวหลวง

ข. ขมิ้นชันสด ปอสาอบแห้ง

ค. บัวบกสด โลดทะนงอบแห้ง

ง. ถูกทุกข้อ

4. หากต้องการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์โดยคัดเลือกสมุนไพรและคุณสมบัติของสมุนไพรข้อใดไม่สัมพันธ์กัน

ก. ขมิ้น : บำรุงผิว ลดการระคายเคือง

ข. ว่านนางคำ : บำรุงผิวพรรณให้เปล่งปลั่ง

ค. พญายา : ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส

ง. ไพล : ยับยั้งการไหลเวียนของเลือด

GRAD VRU

5. สารชนิดใดในผลิตภัณฑ์เซรั่มที่ทำหน้าที่ในการปรับสมดุลค่าความเป็นกรด-ด่าง

ก. TEA

ข. Glycerine

ค. Microcare PM5

ง. Dissodium EDTA

6. สารเคมีชนิดใด ที่ใช้เป็นส่วนผสมในเซรั่ม ที่ช่วยทำให้ผิวพรรณมีความชุ่มชื้น

ก. TEA

ข. Glycerine

ค. Microcare PM5

ง. Dissodium EDTA

7. ข้อใดคือประโยชน์ของการทำผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดกับเกสรบัวหลวง

ก. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของพืชสมุนไพรแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

ข. เพื่อส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยในท้องถิ่น

ค. เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ สามารถใช้ในชีวิตปัจจุบันได้อย่างปลอดภัย

ง. ถูกทุกข้อ

8. คุณสมบัติของเซรั่มตรงกับข้อใดมากที่สุด

ก. เป็นของเหลวที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหนืด

ข. เป็นของเหลวข้นคล้ายน้ำมัน มีความหนืด ไม่มีรสหวาน

ค. สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์แต่ไม่ละลายในน้ำ

ง. สามารถละลายได้ดีในไขมัน แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

9. เครื่องสำอาง คือ สาร หรือเครื่องประทินใดๆที่ใช้เพื่อทำให้เกิดความสวยงาม เสริมบุคลิกภาพ และอาจรวมไปถึงการส่งเสริมสุขภาพ และอนามัย อย่างไรก็ตาม เครื่องสำอางบางประเภทอาจมีผลต่อสุขภาพ หรือก่อให้เกิดโทษแก่ผู้ใช้ได้ ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์กันแดด บำรุงผิว หรือปรับสภาพผิว อาจมีส่วนผสมที่ทำให้เกิดผื่นคัน หรือแพ้แสงแดด ดังนั้น นอกจากคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแล้ว ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางออกจำหน่ายในท้องตลาด จำเป็นต้องทดสอบความปลอดภัยด้านใดบ้าง

ก. การทดสอบทางเคมีและกายภาพ (Physicochemical test)

ข. การทดสอบประสิทธิภาพ (Efficacy test)

ค. การทดสอบความเป็นพิษ (Toxicological test)

ง. ถูกทุกข้อ

10. ในฐานะผู้บริโภค ท่านคิดว่าจะเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดประเภทผลิตภัณฑ์บำรุงผิวชนิดต่างๆ ควรคำนึงถึง ข้อใดมากที่สุด

ก. ต้องเหมาะสมกับสภาพผิวหนังชั้นนอก

ข. ต้องมีความคงตัวที่ดีทั้งทางกายภาพและเคมี

ค. ต้องสามารถขจัดสิ่งสกปรกให้ออกได้จากผิวได้อย่างหมดจด

ง. ถูกทุกข้อ

GRAD VRU

เฉลยแบบทดสอบหลังเรียน
เรื่องการทำเซรั่มจากสารสกัดหยาบใบรางจืดและเกสรบัวหลวงที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. ค. ความรุนแรงของแสงแดดและความร้อน
2. ข. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น
3. ก. ใบรางจืด เกสรบัวหลวง
4. ง. ไพล: ยับยั้งการไหลเวียนของเลือด
5. ก. TEA
6. ข. Glycerin
7. ง. ถูกทุกข้อ
8. ก. เป็นของเหลวที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหนืด
9. ง. ถูกทุกข้อ
10. ข. ต้องมีความคงตัวที่ดีทั้งทางกายภาพและเคมี

GRAD VRU

ภาคผนวก ง

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดใบรางจืด
และเกสรบัวหลวง

GRAD VRU

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์จากสารสกัดใบรางจืดและเกสรบัวหลวง

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ

Screening code	Sample code	Final concentration (µg/ml)	Fluorescence unit		% Survival	Activity	IC50 (µg/ml)
			Average	S.D.			
Negative	Cell+DMSO	1% DMSO	4359	491	100.00	-	-
Positive	Ellipticine	10.00	234	89	5.37	cytotoxic	2.75
		5.00	1339	52	30.72		
		2.50	2180	242	50.02		
		1.25	3430	434	78.69		
		0.625	3629	256	83.25		
		0.313	4548	272	104.35		
V9360	ใบรางจืดผสมเกสรบัวหลวง	100.00	3435	166	78.80	non-cytotoxic	-
		50.00	3383	167	77.62		
		25.00	3620	97	83.04		
		12.25	3812	434	87.47		
		6.25	4061	394	93.17		
		3.13	3546	263	81.35		

GRAD VRU

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ –นามสกุล	ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	8 ตุลาคม 2525
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	40/3326 หมู่บ้านพฤกษา B ตำบลคลองสาม อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ. 2548	โรงเรียนแสงอรุณ
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ครู
ที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนแสงอรุณ 177 เทศบาลสาย 1 วัดกัลยาณ์ ธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10600
รางวัลหรือทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

GRAD VRU