

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	ก
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ข
Abstract	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ญ
บทที่ 1	1
1.1 ภูมิหลังและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
บทที่ 2	5
2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	5
2.2 เม้าหลวง	9
2.3 เทคนิคการแยก	12
2.4 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง(High Performance Liquid Chromatography ; HPLC)	20
2.5 แมสสเปกโตรเมตรี (Mass Spectrometry)	22
2.6 เอนไซม์โทโรซิเนส	27
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	31
บทที่ 3	38
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	38
3.2 วิธีการวิจัย	40

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4	49
4.1 การเปรียบเทียบการสกัดสารอาร์บูตินจากส่วนต่างๆของเม่า	49
4.2 ผลการวิเคราะห์สารอาร์บูตินจากใบเม่าแก่	58
บทที่ 5	68
5.1 สรุปผลการวิจัย	68
5.2 อภิปรายผลวิจัย	69
5.3 ข้อเสนอแนะ	70
บรรณานุกรม	71
ภาคผนวก	74
ภาคผนวก ก การคำนวณปริมาณสารอาร์บูตินในส่วนต่างๆของเม่า	75
ภาคผนวก ข การคำนวณหาปริมาณสารอาร์บูตินในใบเม่าแก่	81
ภาคผนวก ค การคำนวณการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	82
ภาคผนวก ง ภาพการดำเนินงานวิจัย	85
ประวัติผู้วิจัย	88

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างอาร์บูติน	5
2.2 แสดงกระบวนการไฮโดรไลซิสของสารอาร์บูติน	6
2.3 แสดงกลไกการยับยั้งการเกิดเม็ดสีของอาร์บูติน	8
2.4 แสดงลักษณะของใบเม่าหลวง	9
2.5 แสดงแผ่น PTLC ที่มีการทดสอบตัวอย่างลงบนเส้นเริ่มต้น	17
2.6 แสดงลำดับการแยกในเฟสของแข็ง	19
2.7 แสดงชนิดเฟสของแข็งมีทั้งชนิดของเข็มฉีดยาและเป็นแผ่น	20
2.8 แสดงภาพตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารผสม 2 ชนิด	21
2.9 แสดงการแตกตัวของไอออนด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี	22
2.10 แสดงลักษณะของแมสสเปกตรัม	23
2.11 แผนภูมิแสดงองค์ประกอบของแมสสเปกโตรเมตรี	23
2.12 แสดงตัวอย่างการเกิดเป็นไอออนด้วยวิธี MALDI	24
2.13 แสดงองค์ประกอบของระบบการแตกตัวเป็นไอออนแบบอิเล็กโตรสเปย์ (Electrospray Ionisation (ESI))	25
2.14 แสดงแผนภาพการทำงานของดีเทคเตอร์ไอออนชนิดไทม์-ออฟ-ไฟลท์ (Time-of-Flight (TOF)) ทั้งแบบ (a) เส้นตรง (linear TOF) และ (b) แบบสะท้อนกลับ (reflection TOF)	27
2.15 แสดงการยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition)	28
2.16 แสดงการยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (Noncompetitive inhibition)	29
2.17 แสดงการยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Uncompetitive inhibition)	29
2.18 แสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน	30
2.19 แสดงตัวอย่างสารกลุ่มยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	30
2.20 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome method	31
4.1 แสดงโครมาโทแกรมของใบเม่าแก่จากเทคนิคThin Layer Chromatography	49
4.2 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดจากใบเม่าแก่ด้วยวิธี TLC	51
4.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอาร์บูตินที่ค่ารีเทนชันไทม์ 2.784 นาที	51

สารบัญรูป(ต่อ)

	หน้า
4.4 แสดงโครมาโทแกรมของสารตัวอย่างสกัดด้วย TLC จากใบเม่าแก่หลังจากการเพิ่มสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน 100 ppm (Spike)	52
4.5 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากใบเม่าอ่อน ข) สารสกัดจากใบเม่าอ่อนที่เติม 100 ppm และสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	53
4.6 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลเม่าเขียว ข) สารสกัดจากผลเม่าเขียวที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	54
4.7 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลเม่าแดง ข) สารสกัดจากผลเม่าแดงที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	55
4.8 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลเม่าดำ ข) สารสกัดจากผลเม่าดำที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	56
4.9 กราฟมาตรฐานของสารประกอบอาร์บูตินที่ความเข้มข้นต่างๆและพื้นที่ใต้พีคด้วยวิธีสกัด TLC	57
4.10 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบเม่าแก่ สารสกัดใบเม่าแก่จากเทคนิคเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี(SPE + PTLC) และสารมาตรฐานอาร์บูติน	60
4.11 แสดงค่าเปรียบเทียบค่า IC ₅₀ ของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดหยาบใบเม่าแก่ สารสกัดใบเม่าแก่จากเทคนิคเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี(SPE + PTLC) และสารมาตรฐานอาร์บูติน	60
4.12 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอาร์บูติน	61
4.13 แสดงโครมาโทแกรมสารสกัดใบเม่าแก่	62
4.14 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปสารละลายตัวอย่างใบเม่าแก่	62
4.15 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม่าแก่	63
4.16 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม่าแก่	63
4.17 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 700 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม่าแก่	64

สารบัญรูป(ต่อ)

	หน้า
4.18 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตรลงไปในการละลายตัวอย่างใบเม่าแก่	64
4.19 แสดงกราฟเส้นตรงของใบเม่าแก่ที่ได้จากวิธีพีอาร์ทีพีโครมาโทกราฟีที่ใช้คำนวณหาปริมาณสารอาร์บูตินโดยวิธี Standard addition	65
4.20 แสดงแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานอาร์บูติน	66
4.21 แสดงแมสสเปกตรัมของสารสกัดจากใบเม่าแก่	67
ง1 ผลเม่าเขียว	85
ง2 ผลเม่าแดง	85
ง3 ผลเม่าดำ	85
ง4 ใบเม่าอ่อน	86
ง5 ใบเม่าแก่	86
ง6 สารสกัดหยาบใบเม่าแก่	87
ง7 การทำเพลดพีอาร์ทีพีฟิโนเลเยอร์โครมาโทกราฟี	87
ง8 การทำเพลดพีอาร์ทีพีฟิโนเลเยอร์โครมาโทกราฟี	87
ง9 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	87
ง10 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสหลังการบ่ม 2 นาที	87

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าทางอาหารของเม่าเปรียบเทียบกับองุ่นและแอปเปิ้ล	10
2.2 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆที่พบในเม่า	11
2.3 แสดงลำดับความมีขั้วของสาร	13
3.1 แสดงการเติมสารต่างๆในการเตรียมสารละลายตัวอย่าง	45
4.1 แสดงผลของน้ำหนักสารตัวอย่างจากการสกัดหยาบ	48
4.2 แสดงค่า Rf ของสารสกัดหยาบตัวอย่างเม่าบนแผ่น TLC โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คืออะซิโตนไตรล์	50
4.3 แสดงปริมาณของพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างเม่าจากการสกัดด้วย TLC	57
4.4 แสดงปริมาณของสารอาร์บูตินในสารสกัดจากส่วนต่างๆของพืชเม่าด้วยวิธีการสกัดด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	58
4.5 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบเม่าแก่	59
4.6 แสดงค่าความเข้มข้นกับค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดใบเม่าแก่	65
5.1 แสดงผลการหาปริมาณสารอาร์บูตินในส่วนต่างๆของพืชเม่า	68
5.2 แสดงค่า IC50 ของฤทธิ์ต่อต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส	69
ค1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐานอาร์บูติน	82
ค2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบเม่าแก่	83
ค3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดด้วยเทคนิคเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีของใบเม่าแก่	84