

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	ก
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ณ
สารบัญตาราง	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ภูมิหลังและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 เอนไซม์ไทโรซิเนส	5
2.2 สารออกฤทธิ์ต่อต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส	7
2.2.1 อาร์บูติน (Arbutin)	7
2.2.2 กลาบรีดิน (Glabridin)	9
2.2.3 วิตามินซี (Vitamin C) หรือกรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid)	11
2.2.4 กรดโคจิก (Kojic acid)	12
2.3 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC)	13
2.3.1 ทฤษฎีโครมาโทกราฟี	13
2.4 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	24
3.1 อุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือ	24
3.1.1 อุปกรณ์	24
3.1.2 สารเคมี	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.3 เครื่องมือ	25
3.2 วิธีการทดลอง	25
3.2.1 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี	25
3.2.2 การวิเคราะห์สารมาตรฐานอาร์บูติน	26
3.2.3 การวิเคราะห์สารมาตรฐานวิตามินซี	26
3.2.4 การวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดโคจิก	27
3.2.5 การวิเคราะห์สารผสมวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก	27
3.2.6 การประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นกับสารตัวอย่างผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	29
4.1 ผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานอาร์บูติน	29
4.2 ผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานวิตามินซี	30
4.3 ผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดโคจิก	31
4.4 ผลการวิเคราะห์สารผสม	31
4.4.1 อัตราส่วนของอะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ ; 30 : 70 ร้อยละโดยปริมาตร	31
4.4.2 อัตราส่วนของอะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ ; 40 : 60 ร้อยละโดยปริมาตร	33
4.4.3 อัตราส่วนของอะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ ; 50 : 50 ร้อยละโดยปริมาตร	35
4.4.4 อัตราส่วนของอะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ ; 60 : 40 ร้อยละโดยปริมาตร	36
4.4.5 อัตราส่วนของอะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ ; 70 : 30 ร้อยละโดยปริมาตร	38
4.5 ผลของความเป็นเส้นตรง (Linearity)	40
4.6 ผลของการหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจสอบ ลิมิตออฟดีเทคชัน (Limit of detection ; LOD) และลิมิตออฟควอนติเตชัน (Limit of quantitation ; LOQ)	47
4.7 ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่อะซีโตนไนโตรล์ต่อน้ำ	48
4.8 ผลการทดสอบวิธีการวิเคราะห์กับสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	54
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	59

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	61
ภาคผนวก	64
ประวัติผู้วิจัย	70

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเอนไซม์ไทโรซิเนส	5
2.2 แสดงกลไกการยับยั้งการเกิดเม็ดสี	6
2.3 แสดงโครงสร้างอาร์บูติน	8
2.4 แสดงกระบวนการไฮโดรไลซิสของสารอาร์บูติน	9
2.5 แสดงโครงสร้างของกลาบริดิน	9
2.6 แสดงการยับยั้งการสังเคราะห์ไฮโคลออกซีจีเนสของสารสกัดลิโคไลซ์	10
2.7 แสดงโครงสร้างของวิตามินซี	11
2.8 แสดงโครงสร้างของกรดโคจิก	12
2.9 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารผสม 2 ชนิด	14
2.10 แสดงการเปรียบเทียบค่า R_s ที่แตกต่างกัน	16
2.11 แสดงโครงสร้างภายในของคอลัมน์ C18	17
2.12 แสดงความสัมพันธ์ของค่า k' , α และค่า N กับการแยกในโครมาโทแกรม	19
4.1 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราส่วนระหว่างเฟสเคลื่อนที่ของอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 30 : 70 ร้อยละโดยปริมาตร	32
4.2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราส่วนระหว่างเฟสเคลื่อนที่ของอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 40 : 60 ร้อยละโดยปริมาตร	34
4.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราส่วนระหว่างเฟสเคลื่อนที่ของอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 50 : 50 ร้อยละโดยปริมาตร	36
4.4 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราส่วนระหว่างเฟสเคลื่อนที่ของอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 60 : 40 ร้อยละโดยปริมาตร	37
4.5 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราส่วนระหว่างเฟสเคลื่อนที่ของอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 70 : 30 ร้อยละโดยปริมาตร	39
4.6 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	42

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี	44
4.8 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	47
4.9 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำกับค่า t_r ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก	49
4.10 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำกับค่า k' ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก	50
4.11 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำกับค่า α ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก	51
4.12 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำกับค่า R_s ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก	52
4.13 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำกับค่า N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูติน และกรดโคจิก	53
4.14 โครมาโทแกรมของสารผสมอาร์บูติน กรดโคจิกและวิตามินซี ที่อัตราส่วนอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำคือ 40 : 60 (v/v) คอลัมน์ Inertsil® ODS-3; 4.6x 250 mm ,5 μ m อุณหภูมิคอลัมน์ 35 °C	54
4.15 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเกสรอินทผลัม ที่อัตราส่วนอะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำคือ 40 : 60 (v/v) คอลัมน์ Inertsil® ODS-3; 4.6x 250 mm ,5 μ m อุณหภูมิคอลัมน์ 35 °C	55
4.16 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเกสรอินทผลัมที่เติมสารมาตรฐานอาร์บูติน	56
4.17 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเกสรอินทผลัมที่เติมสารมาตรฐานกรดโคจิก	56
4.18 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเกสรอินทผลัมที่เติมสารมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก	57
ค1 แสดงเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)	68
ค2 เครื่องกำจัดแก๊ส (Degasser)	68
ค3 แสดงชุดกรองเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)	69
ค4 แสดงเข็มสำหรับกรองสารตัวอย่างสำหรับฉีด (ด้านบน) และเข็มสำหรับฉีดในเครื่อง HPLC (ด้านล่าง)	69

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ร้อยละโดยปริมาตร	25
4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ร้อยละโดยปริมาตร (v/v) กับค่ารีเทนชันไทม์ (tr) ของสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	30
4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ร้อยละโดยปริมาตร (v/v) กับค่ารีเทนชันไทม์ (tr) ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี	30
4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ร้อยละโดยปริมาตร (v/v) กับค่ารีเทนชันไทม์ (tr) ของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	31
4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก ที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 30 : 70 ร้อยละโดยปริมาตร	32
4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก ที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 40 : 60 ร้อยละโดยปริมาตร	33
4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก ที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 50 : 50 ร้อยละโดยปริมาตร	35
4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก ที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 60 : 40 ร้อยละโดยปริมาตร	37
4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก ที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 70 : 30 ร้อยละโดยปริมาตร	39
4.9 แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	41
4.10 แสดงค่าพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน	41
4.11 แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี	43

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
4.12	แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี	44
4.13	แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	45
4.14	แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	46
4.15	แสดงค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก	48
4.16	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ารีเทนชันไทม์กับค่า k' , α , R_s และ N ของสารตัวอย่างสกัดหยาบอินทผลัมที่เติมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิกที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ ; 40 : 60 (v/v) ด้วยคอลัมน์ Inertsil® ODS-3; 4.6x 250 mm ,5 μ m อุณหภูมิคอลัมน์ 35 °C	58
ข1	แสดงค่าสัญญาณที่วัดได้จากพีคของสารละลายมาตรฐานผสมวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก	66