

บทคัดย่อ

หัวข้อโครงการวิจัย	การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในฮวานง็อกอย่างสมบูรณ์
ผู้วิจัย	ดร.อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล อ.อริสรา เอี่ยมสืบทับ
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
พ.ศ.	2554

จุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบฮวานง็อก *Pseuderanthemum palatiferum* (P.palatiferum) จากการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ของใบฮวานง็อก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* (ATCC 10876) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) *Escherichia coli* (ATCC 25922) และ *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบฮวานง็อกสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) โดยมีค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 1.117 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในการวิเคราะห์หาฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบใบฮวานง็อกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีน พบสารคาร์ทีซินส์เข้มข้น 1.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน 30 : 70 v/v

Abstract

Research Title	Complete analysis of flavonoids in <i>Pseuderanthemum palatiferum</i>		
The Researcher	Dr.Oraphan	Anurukvorakul	
	Miss Arisara	Aiumsubtub	
Institution	Faculty of sciente and technology Phanakorn Rajabhat University		
Year	2554		

The ultimate goal of this research was to study antibacterial and antioxidant activities and flavonoids from *Pseuderanthemum palatiferum* (*P.palatiferum*) leaves. The results of this work indicated that crude extract using 95% ethanol as the extraction solvent was capable of antibacterial activity for *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) at 50 mg/mL. For antioxidant activity study, the results showed that crude extract could inhibit the oxidation of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The effective concentration for being antioxidant of the extraction was 1.117 mg/mL. Additionally, results from the analysis of flavonoid by high performance chromatography and catechin and rutin as standards proved that catechin at the concentration of 1.28 µg/mL was found from the extract by the extract by ethyl acetate 30 mL : hexane 70 mL

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	I
สารบัญ.....	III
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญรูปภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับฮวานง็อก.....	4
2.1.1 การขยายพันธุ์.....	5
2.1.2 สรรพคุณพื้นบ้าน.....	5
2.1.3 องค์ประกอบทางเคมี.....	5
2.1.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา.....	5
2.2 กลุ่มสารสำคัญในพืช.....	6
2.2.1 ฟลาโวนอยด์.....	7
2.3 การสกัด.....	10
2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย.....	10
2.3.2 เทคนิคการสกัด.....	11
2.3.3 ข้อควรระวัง.....	13
2.4 โครมาโทกราฟี.....	14
2.4.1 โครมาโทกราฟีแบบทินเลเยอร์.....	14
2.4.2 คอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	16
2.4.3 โครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง.....	18
2.5 สูตร Spraying reagent.....	29
2.5.1 10% Sulfuric acid.....	29
2.5.2 Anisaldehyde - sulfuric acid reagent.....	29
2.5.3 ferric chloride reagent.....	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.4 Bartons reagent.....	30
2.5.5 Natural product reagent.....	30
2.5.6 DPPH reagent.....	30
2.5.7 Dragendorff reagent.....	30
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	30
2.7 เชื้อแบคทีเรีย.....	32
2.7.1 Staphylococcus aureus.....	32
2.7.2 Escherichia coli.....	33
2.7.3 Bacillus cereus.....	35
2.7.4 Enterobacter aerogenes.....	41
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	41
บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย.....	43
3.1 เครื่องมือ.....	43
3.2 อุปกรณ์.....	43
3.3 สารเคมี.....	43
3.4 การเตรียมสารสกัด.....	44
3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในสารสกัดจากใบฮวานง็อก.....	44
3.5.1 วิธีการทดลอง.....	44
3.5.2 การปฏิบัติการทดสอบ.....	45
3.5.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	45
3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากใบฮวานง็อก.....	45
3.6.1 วิธีการทดลอง.....	45
3.6.2 การปฏิบัติการทดสอบ.....	46
3.6.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	46
3.7 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์.....	47
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	48
4.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	48
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ.....	50
4.3 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์.....	52

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	56
5.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	56
5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ.....	56
5.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์.....	56
5.4 ข้อเสนอแนะ.....	57
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	59
ภาคผนวก ก สรุปผลการทดลอง.....	60
ภาคผนวก ข รูปภาพมาตรฐาน.....	65
ภาคผนวก ค โครมาโทแกรมเครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง.....	68

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	49
ตารางที่ 4.2 แสดงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ.....	50
ตารางที่ 4.3 แสดงค่า % RC.....	51
ตารางที่ 4.4 แสดงค่า area ของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์.....	55

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 ลักษณะใบฮวานร็อก.....	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้าง flavonoid skeleton.....	7
รูปที่ 2.3 โครงสร้าง flavonoid.....	7
รูปที่ 2.4 โครงสร้างพื้นฐานของ flavones.....	8
รูปที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานของ isoflavones.....	8
รูปที่ 2.6 โครงสร้างพื้นฐานของ flavonols.....	9
รูปที่ 2.7 โครงสร้างพื้นฐานของ catechins.....	9
รูปที่ 2.8 การแยกของเหลวที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้กรวยแยก.....	12
รูปที่ 2.9 แสดงการใช้กรวยอย่างถูกวิธี.....	12
รูปที่ 2.10 การจุดสารบนแผ่น TLC.....	14
รูปที่ 2.11 แท่งที่ใช้ในการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีแบบทีนเลเยอร์.....	15
รูปที่ 2.12 ภาพจำลองการเตรียมคอลัมน์.....	16
รูปที่ 2.13 การแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	17
รูปที่ 2.14 ปฏิกิริยาการเกิด bonded stationary phase โดยสารประกอบ organochlorosilane ทำปฏิกิริยากับ OH group บน silica gel.....	18
รูปที่ 2.15 แสดงค่าสัญญาณที่ได้กับเวลาคือ โครมาโทแกรม.....	19
รูปที่ 2.16 ตัวอย่างโครมาโทแกรมโดยใช้ Diode array detector เป็นตัวตรวจวัด.....	21
รูปที่ 2.17 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคของวัสดุภาคหนึ่ง.....	22
รูปที่ 2.18 แสดง resins ที่มีขายในท้องตลาด.....	23
รูปที่ 2.19 แสดงการแยกยา idomethacin โดยคอลัมน์ C18.....	26
รูปที่ 2.20 การวิเคราะห์ peak ด้วยเทคนิค spiking.....	28
รูปที่ 2.21 แสดงการวัดความสูงของพีค.....	28
รูปที่ 4.9 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	53
รูปที่ 4.10 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	53
รูปที่ 4.11 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานรูทีนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	54
รูปที่ 4.12 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน 30 : 70 v/v ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	54

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปผนวกที่ ก-1	แสดงรัศมี clear zone ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถต้านเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> เมื่อบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง.....	61
รูปผนวกที่ ก-2	แสดงรัศมี clear zone ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถต้านเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> เมื่อบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง.....	61
รูปผนวกที่ ก-3	แสดงรัศมี clear zone ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถต้านเชื้อ <i>Escherichia coli</i> เมื่อบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง.....	62
รูปผนวกที่ ก-4	แสดงรัศมี clear zone ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถต้านเชื้อ <i>Enterobacter aerogenes</i> เมื่อบ่มเชื้อครบ 24 ชั่วโมง.....	62
รูปผนวกที่ ก-5	แสดงจุดสารของสารสกัดใบฮวานจ็อกที่มีความสามารถในการละลายและความมีขั้วของตัวทำละลายเดียวกันเมื่อทดสอบโดยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี.....	63
รูปผนวกที่ ก-6	แสดงการทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีและการจุดสารของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีนเทียบกับสารสกัดใบฮวานจ็อกแต่ละกลุ่ม.....	63
รูปผนวกที่ ก-7	แสดงจุดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระหลังจากการสเปรย์ DPPH.....	64
รูปผนวกที่ ข-1	แสดงประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบฮวานจ็อกที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร.....	66
รูปผนวกที่ ข-2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Area เฉลี่ยและค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์.....	68
รูปผนวกที่ ค-1	โครมาโทแกรมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน 20 : 80 v/v ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	69
รูปผนวกที่ ค-2	โครมาโทแกรมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน 5 : 95 v/v ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	70