

จากตารางที่ 4.1 และรูปภาพผนวกที่ ก-1 ถึง รูปภาพผนวกที่ ก-4 แสดงถึงประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียตัวอย่าง 4 ชนิด ของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านเชื้อ *Bacillus cereus* (ATCC 10876) ได้ดี และสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านเชื้อ *Escherichia coli* (ATCC 25922) ได้ดี

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระศึกษาโดยการนำสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 600, และ 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลาย DPPH ผสมกับสารละลายเอทานอล ทดสอบโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-vis) ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบฮวานจ็อก

สารละลาย	ความเข้มในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1 (นาโนเมตร)	ครั้งที่ 2 (นาโนเมตร)	ครั้งที่ 3 (นาโนเมตร)	เฉลี่ย (นาโนเมตร)
สารละลาย DPPH ผสมเอทานอล	0.253	0.255	0.256	0.255
สารสกัดใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.143	0.138	0.144	0.142
สารสกัดใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.162	0.163	0.160	0.162
สารสกัดใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.190	0.191	0.190	0.19
สารสกัดใบฮวานจ็อกความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.200	0.201	0.202	0.200

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) แสดงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อก

สารละลาย	ความเข้มข้นในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1 (นาโนเมตร)	ครั้งที่ 2 (นาโนเมตร)	ครั้งที่ 3 (นาโนเมตร)	เฉลี่ย (นาโนเมตร)
สารสกัดใบฮวานร็อกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.216	0.215	0.215	0.215
สารสกัดใบฮวานร็อกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	0.232	0.236	0.235	0.234

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกเพิ่มขึ้น ทำให้มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้เขียนกราฟมาตรฐานการต้านอนุมูลอิสระ (รูปภาคผนวกที่ ข-1) และคำนวณค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (EC_{50}) รวมถึงคำนวณค่า (%RC) ดังแสดงค่า %RC ของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกในตารางที่ 4.3 จากผลการต้านอนุมูลอิสระที่ได้ (ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 4.3 แสดงการคำนวณค่า % RC ของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 600 และ 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดหยาบใบฮวานร็อก	ค่า % RC ของสารสกัดที่คำนวณได้
ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	7.84
ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	15.69
ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	23.53
ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	29.41
ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	36.47
ความเข้มข้น 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	44.31

จากการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น พบว่าสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จึงนำสารสกัดหยาบใบฮวานร็อกแยกตามความสามารถในการละลายและความ มีชีวิตของตัวทำละลาย ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ทำให้ได้สารสกัดใบฮวานร็อกในอัตราส่วนตัวทำละลายต่าง ๆ จากนั้นนำกลุ่มสารสกัดใบฮวานร็อกแต่ละกลุ่มรวมกลุ่มตาม

ความสามารถในการละลายและความมีขั้วด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (รูปภาคผนวกที่ ก-5) นำกลุ่มสารสกัดใบฮวานจ็อกทุกกลุ่มทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยการสเปรย์ DPPH ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี ซึ่งทดสอบเทียบกับการจุดสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีนลงบนแผ่น TLC ในแต่ละแผ่นของการทดสอบ (รูปภาคผนวกที่ ก-6) หลังจากนั้นนำแผ่น TLC ทุกแผ่นมาทำการสเปรย์ DPPH เพื่อทดสอบการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีน (รูปภาคผนวกที่ ก-7)

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มสารสกัดใบฮวานจ็อกด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พบว่า กลุ่มสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ สารสกัดตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต : เฮกเซน อัตราส่วน 30:70 และเป็นกลุ่มสารที่ให้ความสนใจในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์

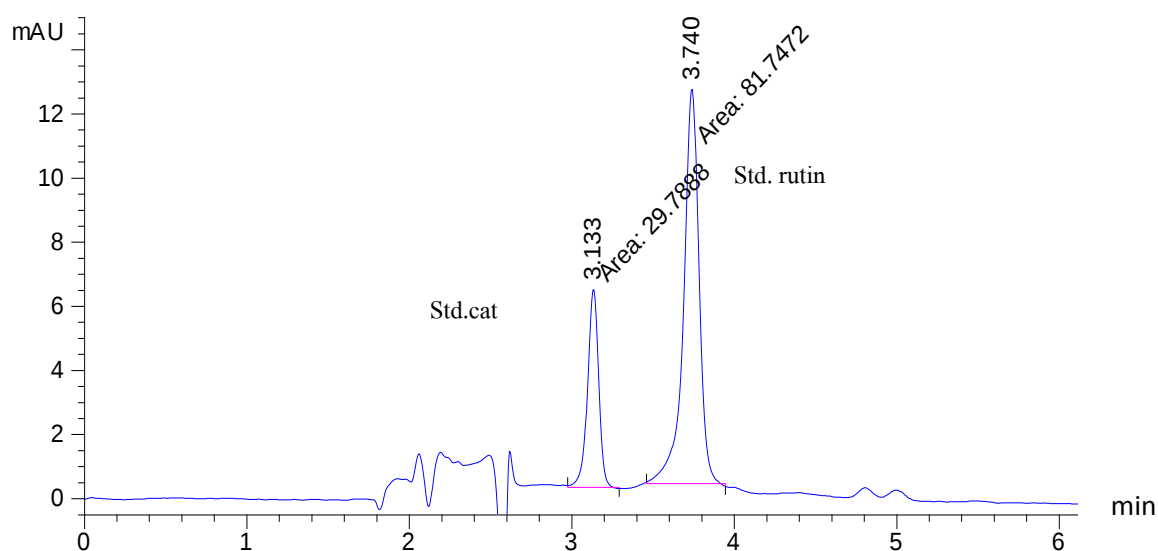
4.3 การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์

การทดสอบโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวมีสถานะสูงสภาวะเหมาะสมที่สามารถใช้แยกสารผสมของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีน คือ

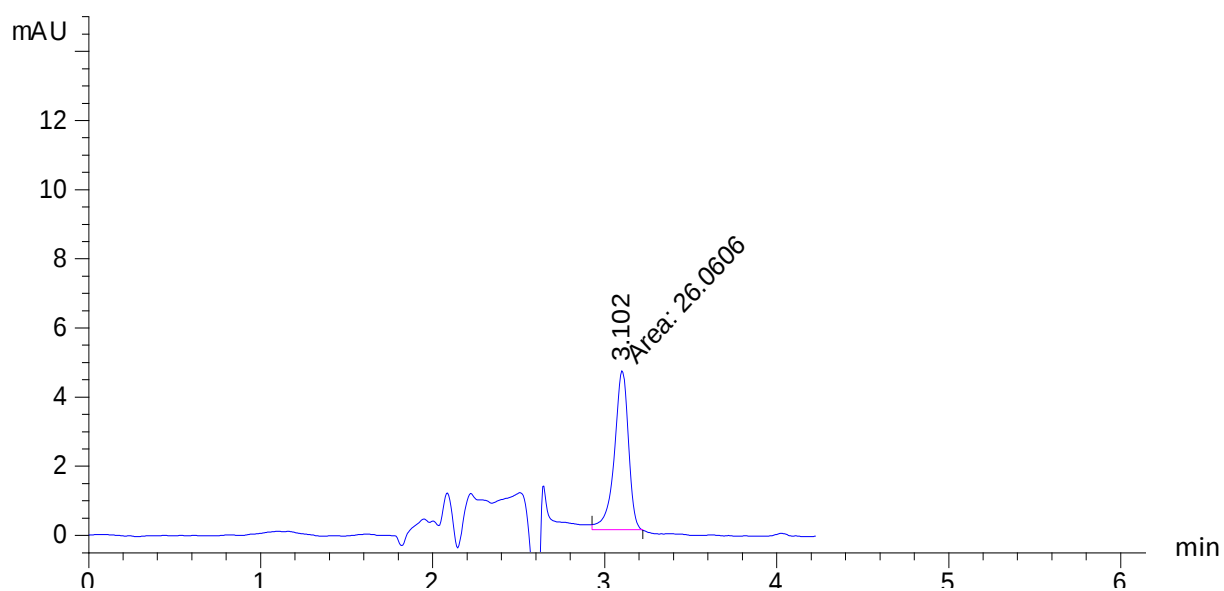
-คอลัมน์	: C-18 (25cm*4.6 mm)
-เฟสเคลื่อนที่	: (A) อะซิโตนไนไตรล์ และ (B) 0.01 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะซิติก
-อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่	: A : B เท่ากับ 20 : 80
-อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	: 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
-วัดที่ความยาวคลื่น	: 270 นาโนเมตร

เมื่อได้สภาวะที่สามารถแยกสารผสมของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีน ขึ้นตอนต่อไป คือ นำสภาวะดังกล่าวทดสอบสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานรูทีนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดใบฮวานจ็อกในกลุ่มสารที่สนใจความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูป 4.9-4.12 ซึ่งแสดงโครมาโทแกรมของสารต่างๆที่ใช้ในการทดสอบ

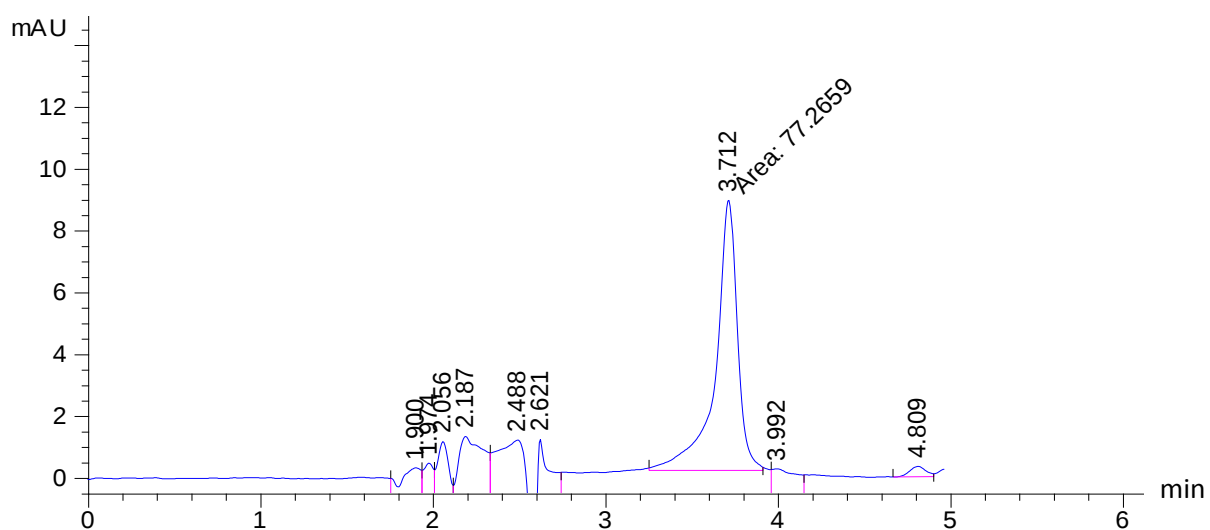
โครมาโทแกรมของสารต่างๆเมื่อใช้สภาวะในการแยกสารผสมของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์ และรูทีนในการทดสอบ



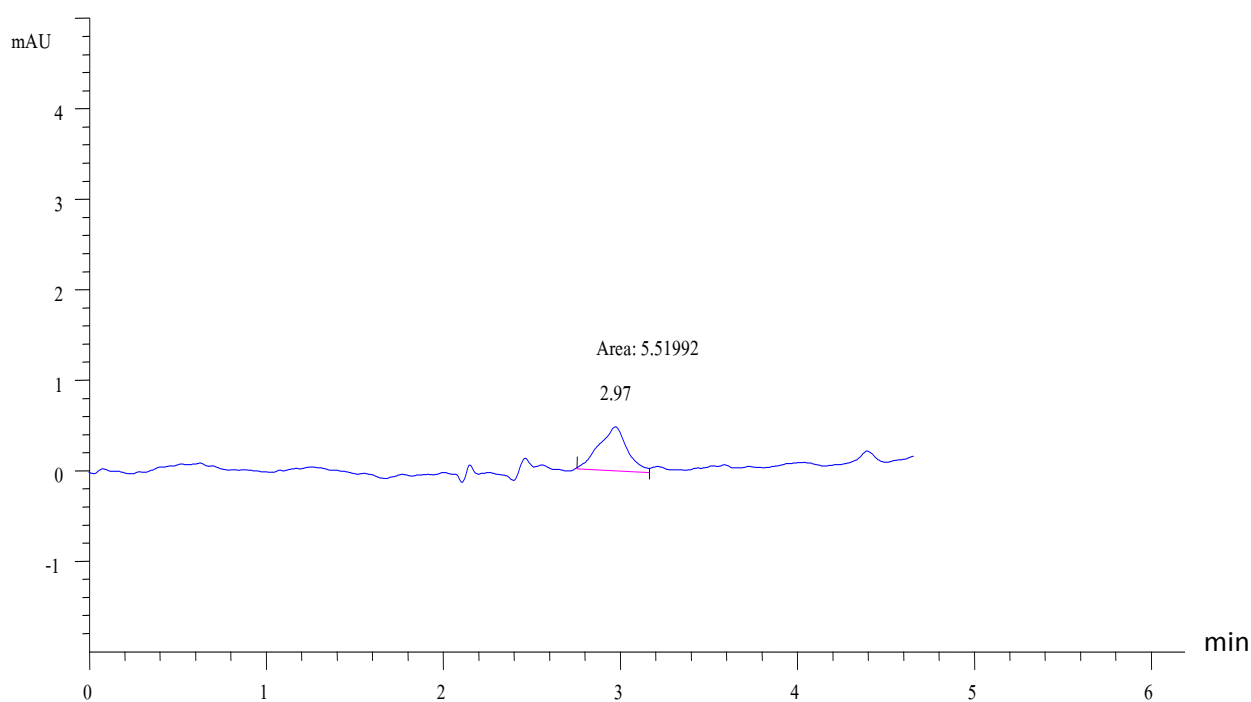
รูปที่ 4.9 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์และรูทีนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.10 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.11 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานรูทีนความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.12 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซน 30 : 70 v/v
ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดสอบด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า สารสกัดตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต : เฮกเซน อัตราส่วน 30 : 70 เป็นกลุ่มที่มีคาร์ทีซินส์ ขึ้นต่อไปคือการวิเคราะห์ปริมาณคาร์ทีซินส์ในสารสกัดใบฮวานร็อกโดยการเตรียมสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์ ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการคำนวณปริมาณคาร์ทีซินส์ที่อยู่ในสารสกัดจากกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข-2)

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า area ต่อความเข้มข้นของสารมาตรฐานคาร์ทีซินส์

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน คาร์ทีซินส์	ค่า Area			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.72	0.95	0.89	0.85
1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.8	2.3	2.26	2.45
2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.30	6.08	6.08	6.15
4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	13.84	13.05	14.05	13.65
6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	22.72	19.05	19.01	20.26