

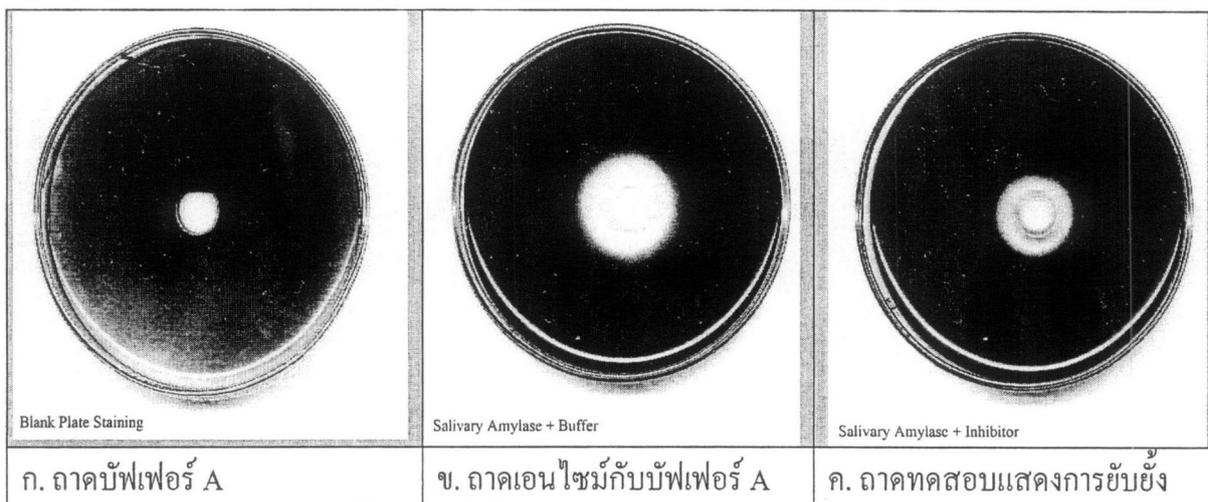
บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผล



4.1 การตรวจฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนเชิงคุณภาพด้วยปฏิกิริยาเกิดสีระหว่างแป้งกับไอโอดีน

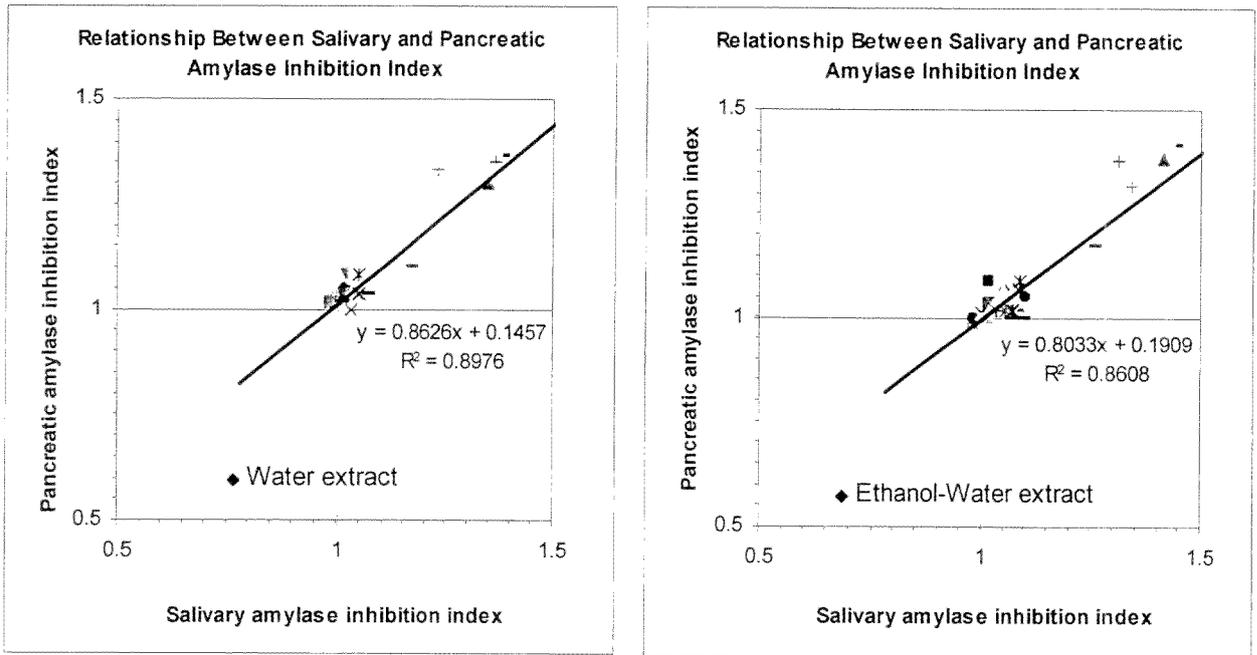
การตรวจฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนเชิงคุณภาพด้วยปฏิกิริยาเกิดสีระหว่างแป้งกับไอโอดีน อาศัยหลักการที่แป้งเป็นสาร โมเลกุลขนาดใหญ่เมื่อทดสอบการเกิดสีกับ ไอโอดีน (I_2) จะให้สีน้ำเงินเข้ม โมเลกุลของแป้งประกอบด้วย กลูโคสต่อกันด้วยพันธะแบบ α (1, 4)-glycosidic linkage เป็นสายยาว เอนไซม์อะไมเลสย่อย (hydrolyse) โมเลกุลของแป้งที่พันธะ α -1, 4-glycosidic ได้สายโมเลกุลโพลิเมอร์น้ำตาล กลูโคสขนาดสั้นลง น้ำตาลเชิงค้ำ มอลโตส และน้ำตาลเชิงเดี่ยวกลูโคส โดยเวลาการย่อยที่นาน สายของโพลิเมอร์น้ำตาลกลูโคสยังมีขนาดสั้นลง หรือหมดไป เมื่อทดสอบกับ ไอโอดีน (I_2) จะให้สีใส ดังนั้นสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการทำงานของอะไมเลสจึงแสดงผลทดสอบเป็นสีใสเมื่อเชื่อมกับ ไอโอดีน ส่วนสารสกัดพืชที่ไม่ยับยั้งการทำงานของอะไมเลสของ อะไมเลสผลทดสอบจึงเป็นสีน้ำเงินเข้มเมื่อเชื่อมกับ ไอโอดีน ในการทดลองอะไมเลสกับ บัฟเฟอร์ A ถูกใส่อยู่ในหลุมกลางถาดวุ้น ผสมแป้งเมื่อทิ้งไว้ที่ 37°C 16 ชม. จึงเกิดการย่อยแป้งเป็นวงใสเมื่อเชื่อมกับ ไอโอดีน ดังภาพ 1-ข ระยะทางจากจุดศูนย์กลางขอบใสในหน่วยเซนติเมตรที่วัดได้จึงใช้บอกความสามารถของในการทำงานย่อยแป้งของเอนไซม์ ภาพ 1-ค ระยะทางจากจุดศูนย์กลางขอบใสมีค่าลดลงเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดพืชที่ใส่ร่วมกันในหลุมกลาง ภาพ 1-ก เป็นภาพของถาดวุ้นผสมแป้งที่บรรจุบัฟเฟอร์ A อย่างเดียวเมื่อเชื่อม ไอโอดีนจึงไม่มีวงใสโดยรอบระยะทางที่วัดได้ดังกล่าวนำมาคำนวณหาค่าดัชนีการยับยั้ง (AI index) (ตามสมการข้างต้น) เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพฤทธิ์ทางชีวภาพเชิงคุณภาพต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสของพืชแต่ละชนิด โดย $\text{AI index} \geq 1$ แสดงว่าพืชนั้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ ส่วน $\text{AI index} < 1$ แสดงว่าพืชนั้นไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์



รูปที่ 1 การตรวจเชิงคุณภาพต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสด้วยปฏิกิริยาเกิดสีระหว่างแป้งกับไอโอดีน

ผลการศึกษาเชิงคุณภาพของสารสกัดตัวอย่างพืชที่มีต่อเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และจากคั้บอ่อนแสดงในรูปที่ 2 เมื่อหาค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 แหล่งเก็บแล้วจัดเรียงลำดับชนิดของพืชตามค่าดัชนีการยับยั้ง (Amylase inhibition index, AI Index) จากมากไปน้อย พบว่า สารสกัดน้ำของพืช (W) แสดงค่าเฉลี่ย AI index ≥ 1 ในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย จำนวน 43 ชนิด และที่มีค่า AI index สูงใน 10 อันดับแรกคือ ไมยราบ (1.38) กระจับ (1.37) อินทนิลน้ำ (1.37) สะเดา (1.35) ถั่วเหลือง (1.30) ฝรั่ง (1.28) คุน (1.23) หูกวาง (1.23) บัว (1.22) และต้นลูกใต้ใบ (1.17) และการยับยั้งอะไมเลสจากคั้บอ่อนแสดงค่าเฉลี่ย AI index ≥ 1 จำนวน 44 ชนิด โดยพืชที่มีค่า AI index สูงใน 10 อันดับแรกคือ ไมยราบ (1.37) กระจับ (1.35) หูกวาง (1.33) อินทนิลน้ำ (1.33) สะเดา (1.30) ฝรั่ง (1.27) ถั่วเหลือง (1.25) คุน (1.15) บัว (1.13) และ ต้นลูกใต้ใบ (1.10) ส่วนสารสกัด Et W ของพืช แสดงค่าเฉลี่ย AI index ≥ 1 ในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย จำนวน 40 ชนิด และที่มีค่า AI index สูงใน 10 อันดับแรกคือ ไมยราบ (1.44) สะเดา (1.41) อินทนิลน้ำ (1.38) บัว (1.37) หูกวาง (1.34) กระจับ (1.31) ฝรั่ง (1.28) คุน (1.27) ต้นลูกใต้ใบ (1.26) และ จีเหล็ก (1.10) ส่วนการยับยั้งอะไมเลสจากคั้บอ่อนแสดงค่าเฉลี่ย AI index ≥ 1 จำนวน 39 ชนิด โดยพืชที่มีค่า AI index สูงใน 10 อันดับแรกคือ ไมยราบ (1.42) สะเดา (1.38) กระจับ (1.38) หูกวาง (1.32) อินทนิลน้ำ (1.23) ฝรั่ง (1.20) คุน (1.20) บัว (1.18) ต้นลูกใต้ใบ (1.17) และ กุยช่าย (1.09)

รูปที่ 3 เป็นกราฟการกระจาย ระหว่างค่า AI index ของสารสกัดตัวอย่างพืชที่มีต่ออะไมเลส จากน้ำลาย และจากคั้บอ่อน พบว่าทั้งสารสกัดน้ำ (W) และ สารสกัด Et W ของ พืช มีความสัมพันธ์เชิงเส้นด้วยสมการ $y = 0.8626x + 0.1457$; $R^2 0.8976$ และ $y = 0.8033x + 0.1909$; $R^2 0.8608$ ตามลำดับ นั่นคือ ตัวอย่างที่ยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย สามารถยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส จากคั้บอ่อนในศักยภาพพๆ กัน ที่ร้อยละ 89.76 (45 ชนิด) เมื่อสกัดน้ำ (W) และ 86.08 (43 ชนิด) เมื่อเตรียมสารสกัดแบบ Et W



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ของค่า AI เฉลี่ยของสารสกัดตัวอย่างต่อการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย และ ตับอ่อน

4.2 การตรวจฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนเชิงปริมาณ ด้วยปฏิกิริยาเกิดสี กับ น้ำตาลรีดิวซ์ซิ่ง

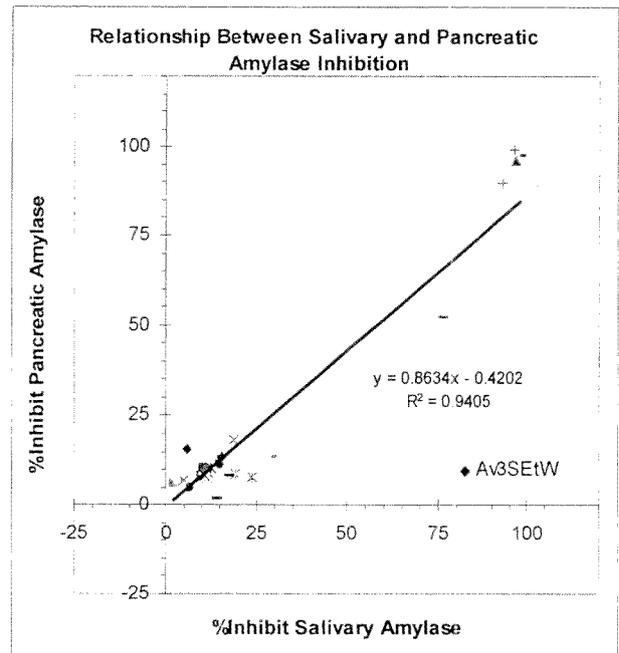
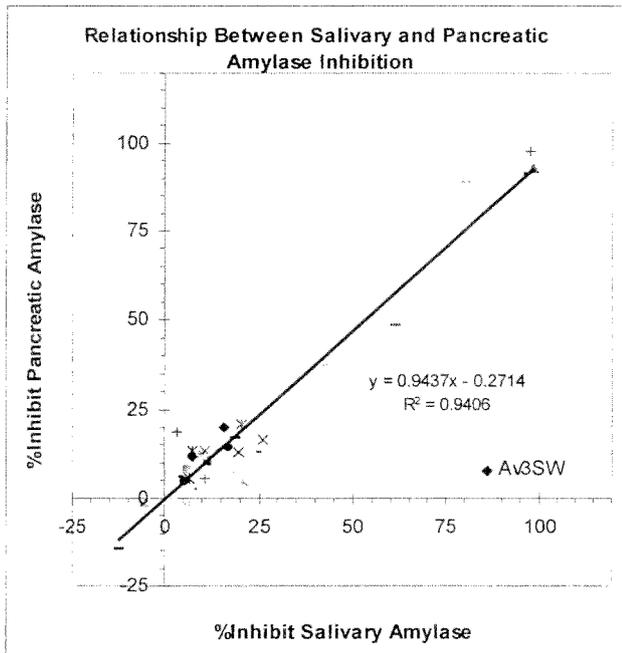
ผลการศึกษาเชิงปริมาณ ของสารสกัดตัวอย่างพืช ทั้ง 50 ชนิด ที่มีต่อเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และ จากตับอ่อน เมื่อหาค่าเฉลี่ย ผลการศึกษาเชิงปริมาณของทั้ง 3 แหล่งเก็บ (รูปที่ 4) แล้วจัดเรียงลำดับ ชนิดของพืช ตามค่าร้อยละ การยับยั้ง (% Amylase inhibition) จากมากไปน้อย พบว่า สารสกัดน้ำ (W) ของพืช แสดง ค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย มากกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 10 ชนิด คือ สะเดา (98.4) กระเจี๊ยบ (97.5) อินทนิลน้ำ (96.3) ไผ่ขจร (95.8) ฝรั่ง (82.3) ถั่วเหลือง (81.6) หูกวาง (80.5) ทุเรียน (74.9) บัว (73.9) และ ต้นลูกใต้ใบ (61.4) ค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากตับอ่อนมากกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 9 ชนิด คือ กระเจี๊ยบ (97.6) สะเดา (92.9) ไผ่ขจร (91.3) หูกวาง (89.0) อินทนิลน้ำ (88.1) ฝรั่ง (84.9) ทุเรียน (78.1) ถั่วเหลือง (73.2) และ บัว (62.3) โดย ต้นลูกใต้ใบ (48.3) อยู่อันดับที่ 10 แต่ค่าร้อยละการยับยั้งไม่ถึง 50

ส่วนสารสกัด Et W ของพืช แสดงค่าการยับยั้งเฉลี่ย ในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย มากกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 9 ชนิด คือ ไผ่ขจร (98.2) สะเดา (97.1) อินทนิลน้ำ (97.0) กระเจี๊ยบ (96.6) บัว (93.3) หูกวาง (93.2) ทุเรียน (84.3) ฝรั่ง (79.6) และ ต้นลูกใต้ใบ (76.1) ผักชี อันดับที่ 10 ค่าการยับยั้งร้อยละ 29.3 ไม่ถึง 50 ค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากตับอ่อนมากกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 9 ชนิด คือ กระเจี๊ยบ (99.3) ไผ่ขจร (97.4) สะเดา (96.4) หูกวาง (89.7) ทุเรียน (72.9) อินทนิลน้ำ (69.9) บัว (65.6) ฝรั่ง (62.4) และ ต้นลูกใต้ใบ (52.2) หอมใหญ่อันดับที่ 10 ค่าการยับยั้งร้อยละ 18.4 ไม่ถึง 50

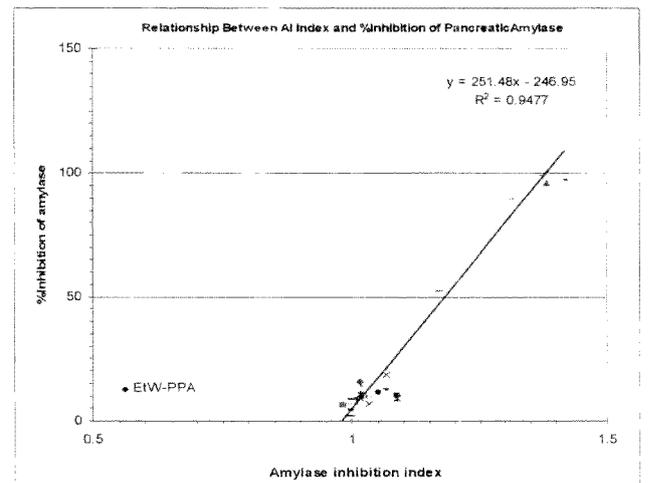
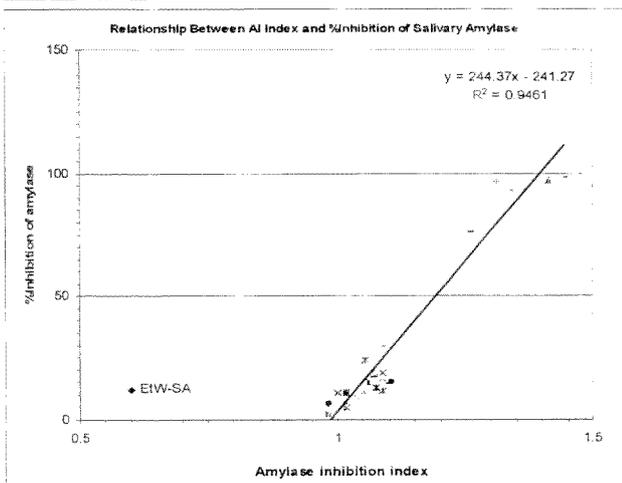
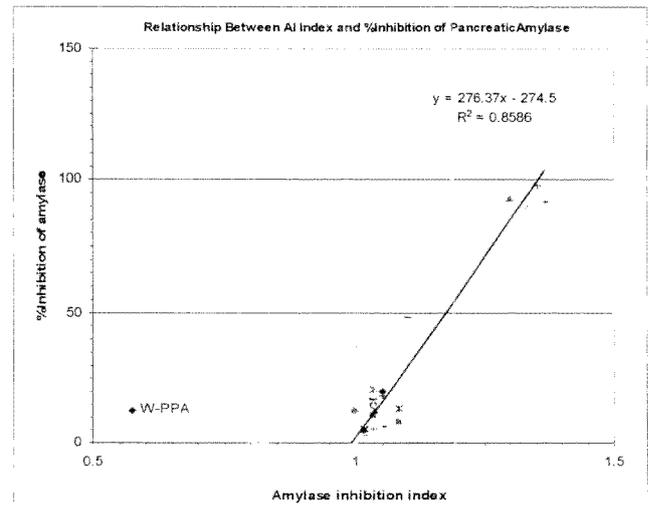
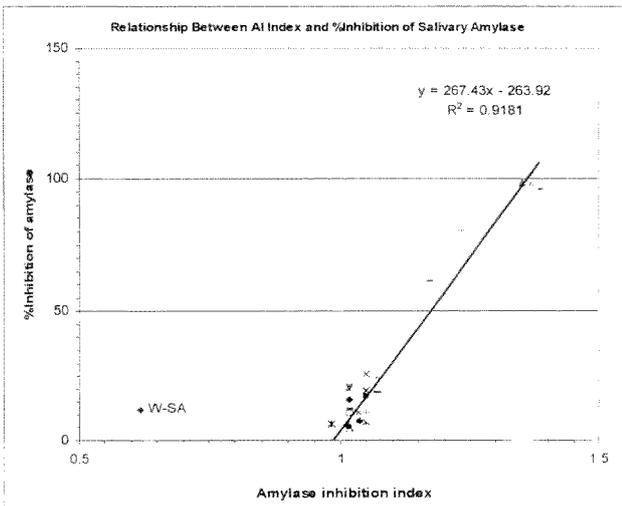
รูปที่ 5 เป็น กราฟการกระจาย ระหว่างร้อยละการยับยั้งของสารสกัดพืชที่มีต่อเอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย และจากตับอ่อน พบว่าทั้งสารสกัดน้ำ (W) และสารสกัด Et W ของพืช มีความสัมพันธ์เชิงเส้น ด้วยสมการ $y = 0.9437x - 0.2714$; $R^2 0.9406$ และ $y = 0.8634x - 0.4202$; $R^2 0.9405$ นั่นคือ ตัวอย่างที่ยับยั้ง

เอนไซม์อะไมเลส จากน้ำลาย สามารถยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส จากตับอ่อน ในศักยภาพพอๆ กัน ที่ร้อยละ 94.06 (47 ชนิด) เมื่อสกัดน้ำ (W) และ 94.05 (47 ชนิด) เมื่อเตรียมสารสกัดแบบ Et W

รูปที่ 6 แสดง ความสัมพันธ์ของค่า AI index จากการศึกษาแบบเชิงคุณภาพกับเชิงปริมาณด้วยค่าร้อยละการยับยั้งของสารสกัดที่มีต่อเอนไซม์อะไมเลส ในแต่ละแหล่งเก็บ พบว่า (1). ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณมีความสัมพันธ์เชิงเส้น (2). พีชที่มีค่า AI index มากกว่า 1.2-1.5 จะมีค่าร้อยละการยับยั้งอะไมเลสสูงกว่า 50 ส่วนที่มีค่า AI index น้อยกว่า 1.2 -1 จะมีค่าการยับยั้งอะไมเลสต่ำกว่าร้อยละ 50



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ของร้อยละการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายและตับอ่อนของสารสกัดตัวอย่าง (ค่าเฉลี่ยการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส 2 ซ้ำของแต่ละตัวอย่าง จาก 3 แหล่งเก็บ)

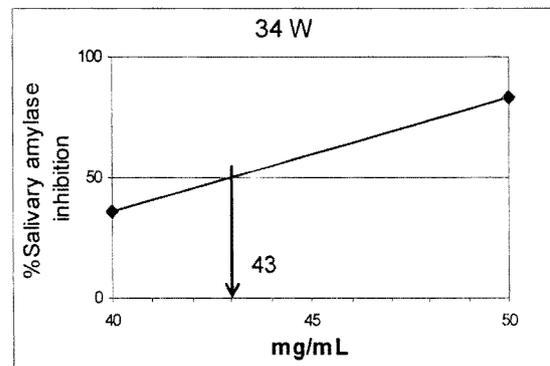
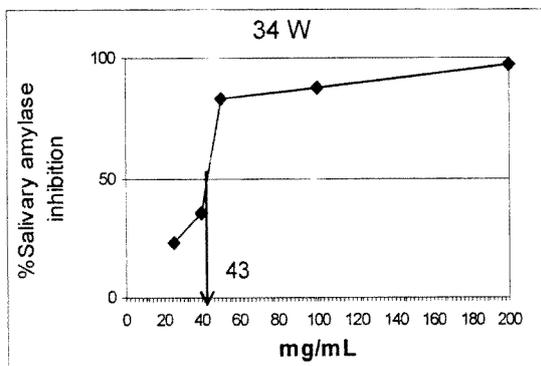


รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ของ AI index กับร้อยละการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายและตับอ่อนของสารสกัดตัวอย่าง (ค่าเฉลี่ยการวิเคราะห์ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส 2 ซ้ำของแต่ละตัวอย่าง จาก 3 แหล่งเก็บ)

4.3 การตรวจศึกษาภาพเชิงปริมาณในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนด้วยค่า IC_{50}

การประมวลผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการเฉลี่ยค่าร้อยละการยับยั้งของทั้ง 3 แหล่งเก็บ สารสกัดน้ำ (W) ของพืช 10 ชนิด มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลายสูงกว่า 50 คือ สะเดา (98.4) กระเจี๊ยบ (97.5) อินทนิลน้ำ (96.3) ไมยราบ (95.8) ฝรั่ง (82.3) ถั่วเหลือง (81.6) หูกวาง (80.5) คุน (74.9) บัว (73.9) และต้นลูกใต้ใบ (61.4) ส่วนการยับยั้งอะไมเลสจากตับอ่อน พบสารสกัดน้ำ (W) ของพืช 8 ชนิด มีค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งมากกว่า 50 คือ กระเจี๊ยบ (97.6) สะเดา (92.9) ไมยราบ (91.3) หูกวาง (89.0) อินทนิลน้ำ (88.1) ฝรั่ง (84.9) ถั่วเหลือง (73.2) และ บัว (62.3) โดยต้นลูกใต้ใบ (48.3) และคุน (44.7) อยู่อันดับที่ 9 และ 10 แต่ค่าร้อยละการยับยั้งไม่ถึง 50 สารสกัด Et W ของพืชแสดงค่าร้อยละการยับยั้งเฉลี่ย ในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายมากกว่า 50 มีจำนวน 9 ชนิด คือ ไมยราบ (98.2) สะเดา (97.1) อินทนิลน้ำ (97.0) กระเจี๊ยบ (96.6) บัว (93.3) หูกวาง (93.2) คุน (84.3) ฝรั่ง (79.6) และ ต้นลูกใต้ใบ (76.1) ผักชีอันดับที่ 10 มีค่าร้อยละการยับยั้งร้อยละ 29.3 ไม่ถึงร้อยละ 50 การยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากตับอ่อนมีจำนวน 9 ชนิด ที่แสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งมากกว่า 50 คือ กระเจี๊ยบ (99.3) ไมยราบ (97.4) สะเดา (96.4) หูกวาง (89.7) คุน (72.9) อินทนิลน้ำ (69.9) บัว (65.6) ฝรั่ง (62.4) และ ต้นลูกใต้ใบ (52.2) หอมใหญ่อันดับที่ 10 ค่าร้อยละการยับยั้งร้อยละ 18.4 ไม่ถึงร้อยละ 50

ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการตรวจศึกษาภาพเชิงปริมาณในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลาย และจากตับอ่อนของสารสกัดพืชทั้งหมดที่สกัดด้วยน้ำ (W) และแอลกอฮอล์แล้วละลายคืนด้วยน้ำ (Et W) ที่ให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส สูงกว่าร้อยละ 50 (IC_{50}) โดย ผสมสารสกัดพืชตัวอย่าง และที่ถูกเจือจางในลำดับต่างๆ กับเอนไซม์อะไมเลสที่ทราบกิจกรรมในหลอดทดลอง ในปริมาตรที่เท่ากัน บ่มที่ 37° ซ 30 นาที เมื่อครบเวลา นำสารละลายจากการบ่มไปตรวจหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่เหลือ โดยปฏิบัติการย่นน้ำแบ่งเป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยวประเภทน้ำตาลรีคิวซิ่ง เช่นที่กล่าวข้างต้น แล้วคำนวณค่าการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส ของสารสกัดตัวอย่างของแต่ละความเข้มข้น เขียนกราฟเส้นระหว่าง กิจกรรมการยับยั้งอะไมเลสกับความเข้มข้นของตัวอย่างแต่ละลำดับการเจือจาง แล้วหาค่าปริมาณของตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 (IC_{50}) ดังกราฟข้างล่าง สารสกัดน้ำของดอกกระเจี๊ยบที่ความเข้มข้น 43 มิลลิกรัมของตัวอย่างในสารสกัด 1 มิลลิลิตร สามารถทำให้เอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลายทำงานลดลงไปครึ่งหนึ่ง หรือคิดเป็นร้อยละ 50 จากค่าความสามารถเริ่มต้น 100



ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งอะไมเลสร้อยละ 50 (IC_{50}) ในหน่วยมิลลิกรัมของตัวอย่างในสารสกัด 1 มิลลิตรของตัวอย่างที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ ≥ 50 ปริมาณของตัวอย่างที่คำนวณได้จากกราฟคือ ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ปริมาณตัวอย่างที่น้อย แสดงว่า ตัวอย่างนั้น มีศักยภาพใน การยับยั้งกิจกรรมของ อะไมเลสดีกว่า ตัวอย่างที่มีปริมาณสูงกว่า เช่น สารสกัดน้ำของอินทนิลน้ำมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.97 mg/mL แสดงว่าในการยับยั้งอะไมเลส จากน้ำลายให้ เหลือกิจกรรมการทำงาน ครั้งหนึ่งของค่าเริ่มต้น ใช้ปริมาณ อินทนิลน้ำ เพียง 0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ของน้ำที่ใช้สกัด จึงมีศักยภาพในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ดีกว่า กระเจี๊ยบซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 43 mg/mL แสดงว่า ต้องใช้ กระเจี๊ยบ 43 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิตร ของน้ำที่ใช้สกัด ในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย ให้เหลือกิจกรรมการทำงานครั้งหนึ่ง ของ ค่าเริ่มต้น

ตารางที่ 2 ปริมาณของตัวอย่าง (มิลลิกรัม/มิลลิตร) ที่ให้ค่าการยับยั้งร้อยละ 50 (IC_{50})

#พืช	ชื่อสามัญไทย	สารสกัด W		สารสกัด Et W	
		Saliva	Pancreatic	Saliva	Pancreatic
		mg/mL*	mg/mL *	mg/mL *	mg/mL *
1	ถั่วเหลือง	96	39	X	X
2	บัว	40	23.2	22.3	18
3	ฝรั่ง	90	68	78	110
4	สะเดา	1.7	2.9	1.7	2.1
5	กระเจี๊ยบ	43	74.5	43	71
6	คูน	115	116	110	116
7	หูกวาง	39	34	1.4	1.82
8	ไมยราบ	13	14.3	12.5	12.8
9	ลูกใต้ใบ	160	X	77.5	X
10	อินทนิลน้ำ	0.97	0.55	2.4	1.10

X : ไม่สามารถหาค่าได้เนื่องจากมีค่าร้อยละการยับยั้งน้อยกว่า 50 ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 200 mg/mL

มะระจีน (9.5) กะหล่ำปลี (7.2) เตยหอม (3.1) และ แดงกวา (-4.1) ส่วนสารสกัด Et W ของพืช พบว่ามีจำนวน 33 ชนิด ที่มีค่าเฉลี่ยของการต้านออกซิเดชันสูงกว่าร้อยละ 50 ดังนี้ กระเจี๊ยบ (96.2) ฝรั่ง (89.6) จี๋เหล็ก (86.2) พญาสัตบรรณ (86.1) ลูกใต้ใบ (85.4) ไมยราบ (84.8) หูกวาง (84.8) อินทนิลน้ำ (84.6) ดอกคำฝอย (84.2) ยอ (82.7) คุน (80.8) แดงโม (80.3) สะเดา (79.6) มะแว้งเครือ (79.2) ตะไคร้ (78.9) มะระจีน (78.8) สัก (77.8) ชะพลู (76.5) เหงือกปลาหมอ (73.2) พริกขี้หนู (72.4) กระชายดำ (72.4) มะละกอ (70.7) ทองพันชั่ง (70.5) มะเขือพวง (68.8) กระเพรา (65.5) แมงลัก (64.7) โหระพา (64.1) หนุ่ยหนวดแมว (60.8) ฝอยข้าวโพด (60.2) บัวบก (59.4) กุยช่าย (59.2) กะหล่ำปลี (58.7) และ มะระจีน (57.4) ซึ่งมากกว่า พืชที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 13 ชนิด ส่วนกลุ่มที่มีค่าการต้านออกซิเดชัน ช่วงต่ำกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 17 ชนิด คือ บัว (49.2) ผักหวาน (47.9) ผักบุ้ง (47.7) กัลย (47.1) ตำลึง (45.7) โทงเทง (44.4) ผักชี (43.3) กระเทียม (42.4) ยอดมะระจีน (41.9) หอมใหญ่ (40.1) ฟ้ายะลวยโจร (38.6) ว่านหางจระเข้ (23.5) เดือย (22.6) ถั่วเหลือง (20.4) เตยหอม (16.8) แดงกวา (15.1) และ ฟักทอง (13.5)

เมื่อเปรียบเทียบ การต้านออกซิเดชัน ระหว่างสารสกัดน้ำ และสารสกัด Et W พบว่า สารสกัด Et W ให้ค่าการต้านออกซิเดชัน ดีกว่าที่สกัดด้วยน้ำ เป็นส่วนใหญ่ โดยพืชที่มีค่าการต้านออกซิเดชันมากกว่า 50 ได้แก่ กระเจี๊ยบ ฝรั่ง จี๋เหล็ก พญาสัตบรรณ ลูกใต้ใบ ไมยราบ หูกวาง อินทนิลน้ำ ดอกคำฝอย ยอ คุน แดงโม สะเดา มะแว้งเครือ ตะไคร้ มะระจีน สัก ชะพลู เหงือกปลาหมอ พริกขี้หนู กระชายดำ มะละกอ ทองพันชั่ง มะเขือพวง กระเพรา แมงลัก โหระพา หนุ่ยหนวดแมว ฝอยข้าวโพด บัวบก กุยช่าย กะหล่ำปลี และ มะระจีน เมื่อเทียบค่าร้อยละ การต้านออกซิเดชัน ระหว่างการสกัดทั้ง 2 แบบ พบว่า พืชที่ให้ค่าพอๆ กัน สำหรับสารสกัดน้ำ และสารสกัด Et W ดังนี้ กระเจี๊ยบ (98.3 และ 96.2) ฝรั่ง (88.4 และ 89.6) จี๋เหล็ก (86.9 และ 86.2) ดอกคำฝอย (87.7 และ 84.2) พญาสัตบรรณ (84.4 และ 86.1) หูกวาง (83.3 และ 84.8) อินทนิลน้ำ (82.5 และ 84.6) เป็นต้น เมื่อนำสารสกัดพืชทั้ง 2 แบบ ที่มีค่า เกินกว่าร้อยละ 50 มาเจือจาง ในลำดับความเข้มข้นต่างๆ และทำการตรวจวัด ร้อยการต้านออกซิเดชัน DPPH เพื่อหา ปริมาณ ตัวอย่างที่ให้ค่าร้อยละ 50 scavenging ได้ผลเรียงลำดับ ตามความเข้มข้นของตัวอย่างในสารสกัด (มก/มล.) จากน้อยไปมาก ดังนี้ สารสกัดน้ำ ได้แก่ หูกวาง (0.4) ลูกใต้ใบ (0.4) อินทนิลน้ำ (0.7) จี๋เหล็ก (1.2) กระเจี๊ยบ (2.7) ดอกคำฝอย (6.3) ฝรั่ง (12.5) กระชายดำ (15) มะละกอ (31) ยอ (43.5) ไมยราบ (45) เหงือกปลาหมอ (52) โหระพา (74) พญาสัตบรรณ (87.0) หนุ่ยหนวดแมว (120) คุน (120) มะแว้งเครือ (145) ถั่วเหลือง (147) สะเดา (176) และ กระเพรา (200) สารสกัด Et W ได้แก่ ไมยราบ (0.2) ลูกใต้ใบ (0.2) อินทนิลน้ำ (0.7) หูกวาง (1.2) จี๋เหล็ก (1.5) กระเจี๊ยบ (2.1) ชะพลู (2.8) ฝรั่ง (10) สะเดา (10) ทองพันชั่ง (14) ฝอยข้าวโพด (15) สัก (18.5) โหระพา (20) เหงือกปลาหมอ (20) ดอกคำฝอย (30.5) กระเพรา (32) มะแว้งเครือ (33.5) มะระจีน (35) กระชายดำ (36) มะละกอ (37) ยอ (37) คุน (40) พญาสัตบรรณ (40) ตะไคร้ (56.5) กุยช่าย (60) บัวบก (79) พริกขี้หนู (85) หนุ่ยหนวดแมว (90) มะเขือพวง (112.5) แดงโม (122.5) แมงลัก (135) มะระจีน (180) และ กะหล่ำปลี (185) พืชที่ใช้ ปริมาณความเข้มข้นน้อยเป็นพืชที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีกว่าพืชที่ต้องใช้ปริมาณสูงกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เมื่อสกัดพืชด้วยน้ำ หูกวาง และลูกใต้ใบมีศักยภาพดีกว่า สะเดา และกระเพรา เป็นต้น

เมื่อพิจารณาเทียบผลระหว่างการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส กับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามแสดงในตารางรวมผลข้างล่าง (ตารางที่ 3) พบว่าสารสกัดน้ำจากพืชจำนวน 4 ชนิด มีค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย อะไมเลสจากตับอ่อน และค่าการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยสูงกว่าร้อยละ 80 คือ กระเจี๊ยบ (97.50, 97.59 และ 98.33) อินทนิลน้ำ (96.26, 88.08 และ 82.48) ฝรั่ง (82.33, 84.98 และ 88.40) และ หูกวาง (80.51, 89.00 และ 83.32) สารสกัด W ของพืชที่มีค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย อะไมเลสจากตับอ่อนสูงกว่าร้อยละ 80 แต่ค่าการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยไม่ถึงร้อยละ 80 คือ สะเดา (98.42, 92.89 และ 63.74) และ ไมยราบ (95.77, 91.32 และ 76.11) ถั่วเหลืองมีค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายสูงกว่าร้อยละ 80 (81.59) แต่อะไมเลสจากตับอ่อนร้อยละ 73.21 ไม่ถึง 80 และ DPPH Scavenging ร้อยละ 54.04 ไม่ถึง 80 คุน และบัว มีค่าเฉลี่ยการยับยั้ง อะไมเลสทั้ง 2 ชนิดสูงกว่าร้อยละ 50 แต่การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 62.32 และ 43.02 ตามลำดับ ต้นลูกใต้ใบยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายร้อยละ 61.41 และ จากตับอ่อนร้อยละ 48.25 แต่การต้านอนุมูลอิสระสูงร้อยละ 80.05

สารสกัด Et W ของพืช จำนวน 4 ชนิด มีค่าเฉลี่ยการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย ตับอ่อนสูงกว่า ร้อยละ 50 และ การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าร้อยละ 80 คือ สะเดา (97.05, 96.39 และ 79.56) กระเจี๊ยบ (96.59, 99.28 และ 96.17) ไมยราบ (98.18, 97.39 และ 84.79) และ หูกวาง (93.18, 89.70 และ 84.79) อินทนิลน้ำ และ คุนมีค่าการยับยั้งเฉลี่ยต่อ อะไมเลสจากน้ำลาย (97.04 และ 84.26) และ DPPH Scavenging สูงกว่าร้อยละ 80 (84.60 และ 80.75) แต่การยับยั้งอะไมเลสจากตับอ่อนมีค่า ร้อยละ 69.88 และ 72.95 ไม่ถึง 80 ฝรั่ง และ ต้นลูกใต้ใบ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าร้อยละ 80 (89.64 และ 85.36) ส่วนการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย และตับอ่อนมากกว่า ร้อยละ 50 แต่ไม่ถึงร้อยละ 80 (79.61 และ 62.44 สำหรับฝรั่ง 76.11 และ 52.18 สำหรับต้นลูกใต้ใบ) บัวมีร้อยละการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลาย 93.26 แต่มี ร้อยละการยับยั้งอะไมเลส จากตับอ่อน 65.59 ส่วน DPPH Scavenging เท่ากับร้อยละ 49.24 ถั่วเหลืองมี ค่าร้อยละการยับยั้งอะไมเลสทั้ง 2 ชนิด และ DPPH Scavenging ต่ำกว่า การสกัดด้วยน้ำ (9.09, 9.91 และ 20.41)

ตารางที่ 3 เทียบผลการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำตาลและคัรบอ้อน กับการต้านอนุมูลอิสระ

	ชื่อสามัญไทย	สารสกัด W			สารสกัด Et W		
		% Inhibit Amylase		% DPPH	% Inhibit Amylase		% DPPH
		Salivary	Pancreatic	Scavenging	Salivary	Pancreatic	Scavenging
1.	สะเดา	98.42 +3.04	92.89 +11.50	63.74 +10.87	97.05 +1.00	96.39 +3.82	79.56 +4.95
2.	กระเจี๊ยบ	97.50 +3.71	97.59 +4.18	98.33 +6.44	96.59 +1.58	99.28 +2.47	96.17 +6.47
3.	อินทนิลน้ำ	96.26 +2.91	88.08 +8.67	82.48 +5.33	97.04 +3.05	69.88 +7.50	84.60 +5.55
4.	ไมยราบ	95.77 +14.25	91.32 +11.21	76.11 +14.34	98.18 +4.35	97.39 +5.50	84.79 +2.51
5.	ฝรั่ง	82.33 +1.66	84.98 +2.74	88.40 +1.82	79.61 +13.96	62.44 +10.29	89.64 +1.36
6.	ถั่วเหลือง	81.59 +21.90	73.21 +12.54	54.04 +9.75	9.09 +2.44	9.91 +3.02	20.41 +1.19
7.	หูกวาง	80.51 +14.97	89.00 +15.04	83.32 +8.67	93.18 +8.65	89.70 +6.91	84.79 +5.07
8.	ถุน	74.86 +30.97	78.07 +4.78	62.32 +5.12	84.26 +19.27	72.95 +1.73	80.75 +6.46
9.	บัว	73.87 +10.58	62.26 +18.32	43.07 +6.11	93.26 +7.18	65.59 +3.54	49.24 +4.54
10.	ลูกใต้ใบ	61.41 +13.29	48.25 +8.07	80.05 +6.53	76.11 +14.81	52.18 +5.04	85.36 +1.21

สรุป กระเจี๊ยบ อินทนิลน้ำ ฝรั่ง หูกวาง สะเดา ไมยราบ มีร้อยละการยับยั้งอะไมเลส และ DPPH Scavenging สูงกว่า 80 จึงเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงต่อการลดการดูดซึมน้ำตาลสู่เลือดจากกลไกการยับยั้งอะไมเลส และมีฤทธิ์เสริมด้านการต้านอนุมูลอิสระช่วยลดอาการแทรกซ้อนจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงของโรคเบาหวาน เนื่องจากภาวะ oxidative stress (Endoa และคณะ 2006, Ahmad and Ahmad 2006) ดังนั้นการรับประทานพืช ที่มีคุณสมบัติ เช่น จึงเป็นผลดีต่อร่างกายในผู้ป่วยเบาหวาน ส่วนพืชที่มีค่าการยับยั้งอะไมเลสสูงกว่าร้อยละ 50 และที่มีค่าการยับยั้งต่ำกว่าร้อยละ 50 ซึ่งมีค่า DPPH Scavenging ก็เป็นพืชที่มีประโยชน์ในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ร่วมกับการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อลดอาการแทรกซ้อนจากการมีน้ำตาลในร่างกายมากได้เช่นกัน แม้มีศักยภาพน้อยกว่าพืชทั้ง 6 ชนิดข้างต้น โดยพิจารณาข้อมูลของการศึกษาวิจัยนี้แต่ละชนิดของพืชที่จำเพาะลงไปในการนำไปใช้ประโยชน์

4.5 จำแนกชนิดสารยับยั้งอะไมเลสว่าเป็น ชนิดที่เป็นโปรตีน หรือ ชนิดที่ไม่เป็นโปรตีน

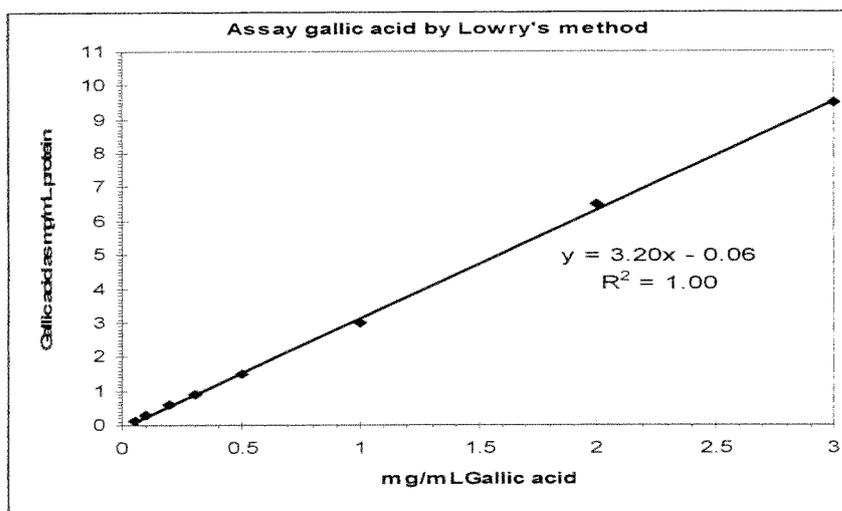
การศึกษานี้เป็นการจำแนกชนิดเบื้องต้น ของสารยับยั้งอะไมเลสที่มีในสารสกัดพืชน้ำ (W) และ Et W ของพืช ว่าเป็นโปรตีนหรือไม่ใช่โปรตีน โดยทำการตรวจโปรตีน ด้วย (1). วิธี Biuret (Clark และ Zwitter 1997) (2). วิธี Lowry (3). วิธี Bradford (1976) และ (4). วิธี Davis (1964) และ Giri และ Kachole (1996) และตรวจสารที่ไม่เป็นโปรตีนด้วย (1). วิธีตรวจหมู่พินอลิก (Slinkard และ Singleton 1997) และ (2). วิธีตรวจสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตขนาดโมเลกุลช่วงกลูโคส(G1)-maltoheptaose (G7)

ตารางที่ 4 สรุปกลุ่มพืชที่มีปริมาณ โปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) สูงเมื่อวิเคราะห์โดยวิธี Lowry เปรียบเทียบกับปริมาณ โปรตีน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี Biuret และ Bradford			
ชื่อพืช วิธีวิเคราะห์	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)		
	Lowry	Biuret	Bradford
ขี้เหล็ก	12.88	0.17	0.10
हुกวาง	11.31	0.69	0.54
ดอกคำฝอย	10.72	0.62	0.61
อินทนิลน้ำ	9.48	0.53	0.54
ถั่วเหลือง	6.75	1.45	1.75
กระชายดำ	6.12	1.01	0.96
ลูกใต้ใบ	4.72	0.10	0.16
สะเดา	4.31	0.16	0.18
มะละกอ	4.17	0.32	0.32
ผักหวาน	3.88	1.26	1.39
กระเทียม	3.87	0.70	0.90
ฟ้าทะลายโจร	3.57	0.15	0.14
มะเขือพวง	3.14	1.03	0.98
ไมยราบ	3.12	0.15	0.15

เหตุใดผลการตรวจสอบสารสกัดด้วยวิธี Lowry จึงมีค่าสูงกว่าวิธี Bradford และ Biuret ทั้งที่เป็น ตัวอย่างเดียวกัน ไม่เป็นไปตามหลักการวิเคราะห์ที่ว่าควรเท่ากัน วิธี Biuret ใช้หลักการวิเคราะห์เดียวกับวิธี Lowry ค่าโปรตีนไม่ควรเบี่ยงเบนจากกันมาก เนื่องจากถูกรบกวนจากสารอื่น ๆ น้อย ทำปฏิกิริยากับ ฟันระเปปไทด์เป็นหลัก มีข้อเสียเพียง วิธี Biuret มีความไวในการตรวจน้อย (less sensitive) เมื่อเทียบกับวิธี Lowry และ Bradford จึงต้องใช้สารปริมาณมาก ทั้งสารละลายที่ทำปฏิกิริยา และตัวอย่างเพื่อให้มีปริมาณ โปรตีนสูงระดับมิลลิกรัม ส่วนวิธี Bradford เป็นวิธีที่เร็วและสามารถตรวจปริมาณ โปรตีนในระดับ เดียวกับวิธี Lowry สี่ในสารละลายวิธี Bradford ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน arginine ในสายโปรตีนเป็น หลัก ส่วน histidine, lysine, tyrosine, tryptophan, and phenylalanine ทำปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึง ให้ผลแม่นยำน้อยสำหรับ โปรตีนที่เป็นเบส (basic proteins) หรือกรด (acidic proteins) โดยค่าโปรตีนที่ได้ จะมีค่าเฉลี่ยเป็นครึ่งหนึ่งของ โปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (Stoscheck, CM. Quantitation of Protein. *Methods in Enzymology* 182: 50-69 (1990))

เมื่อทดลองนำสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ทราบปริมาณตรวจสอบด้วยวิธี Lowry พบว่า แกลลิกเมื่อ ทำปฏิกิริยากับสารทดสอบอ่านเป็นค่ามิลลิกรัม โปรตีนต่อมิลลิลิตรได้ 33 เท่าของปริมาณกรดแกลลิก

ดั่งรูปที่ 9 ผลการทดลองนี้สนับสนุนว่าค่าโปรตีนของสารสกัดพืชตัวอย่างที่สูงในวิธี Lowry ไม่ใช่ค่าโปรตีนจริงแต่เป็นสารกลุ่มฟีนอลิกมากกว่า ซึ่งค่าโปรตีนที่ตรวจได้ตามวิธี Biuret และ Bradford และผลจากการทำเจลอเล็กโทรโฟรีซิสแบบธรรมชาติผสมน้ำแข็งสนับสนุนข้อสังเกตนี้ เนื่องจากวิธี Lowry ใช้ปฏิกิริยาระหว่าง Folin Reagent กับหมู่ฟีนอลของกรดอะมิโนเพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ของการตรวจวัดจากปฏิกิริยาของคอปเปอร์ในค่าซึ่งกระทำกับพันธะเปปไทด์ของโปรตีนเช่นเดียวกับที่ใช้ในวิธี Biuret ส่วนวิธีตรวจปริมาณของฟีนอลิกไม่มีปฏิกิริยาของคอปเปอร์ในค่าซึ่งกระทำกับพันธะเปปไทด์ แต่มีการใช้ Folin Reagent เพื่อทำกับหมู่ฟีนอลของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ดังนั้นจุดนี้จึงก่อผลลวงบวก(false positive) ได้กรณีสารตัวอย่างมีสารกลุ่มฟีนอลิกอยู่ได้



รูปที่ 9 การทดสอบกรดแกลลิกที่ทราบปริมาณ ด้วยวิธี Lowry และใช้โปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin

การตรวจปริมาณฟีนอลิก

รูปที่ 10 แสดงผลการตรวจปริมาณฟีนอลิกของตัวอย่างทั้ง 50 ชนิดจาก 3 แหล่ง พบว่าสารสกัดน้ำของพืชตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลิก มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สูงสุด 0.73 ในสารสกัดใบหูกวาง และต่ำสุด 0.01 ในสารสกัดว่านหางจระเข้ โดยสารสกัดน้ำจากพืช 50 ชนิด ลำดับจากมากไปน้อยมีหูกวาง 0.73 อินทนิลน้ำ 0.72 ดอกคำฝอย และ ชี้เหล็ก 0.65 ทองพันชั่ง 0.63 สะเดา 0.60 ทุเรียน และ ถั่วเหลือง 0.35 กระชายดำ 0.33 ฟักทะลายโจร 0.29 สัก 0.27 มะเขือพวง 0.26 พริกขี้หนู 0.22 มะละกอ 0.20 เหงือกปลาหมอ 0.19 กระเพรา กระเทียม ผักหวาน และ ฝรั่ง 0.17 ผักบุ้ง และ ผักชี 0.16 ต้นลูกใต้ใบ ขอบ หนุ่ย หนวดแมว ฝอยข้าวโพด และ โหระพา 0.15 กระเจี๊ยบ และ มะระจีนก (ยอด) 0.13 ไมยราบ 0.12 แมงลัก 0.10 มะระจีนก และ บัวบก 0.09 มะแว้งเครือ 0.08 ฟักทอง 0.07 ชะพลู เดื่อย และ ตะไคร้ 0.06 เตยหอม กุข่าย ตำลึง พญาสัตบรรณ และ กะหล่ำปลี 0.05 กัญชง และ บัว 0.04 หอมใหญ่ แดงกวา แดงโม และ โทงเทง 0.03 มะระจีน 0.02 และ หางจระเข้ 0.01

ส่วนสารสกัดพืชแบบ Et W พบว่ามีค่าเฉลี่ยของสารประกอบฟีนอลิก มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สูงสุด 0.77 ในสารสกัดใบอินทนิลน้ำ และต่ำสุด 0.01 ในสารสกัดว่านหางจระเข้ โดยสารสกัดจากพืช 50 ชนิด เรียงจากค่ามากไปค่าน้อยมี อินทนิลน้ำ 0.77 หูกวาง 0.76 ชี้เหล็ก 0.65 สะเดา 0.49 ทองพันชั่ง 0.34

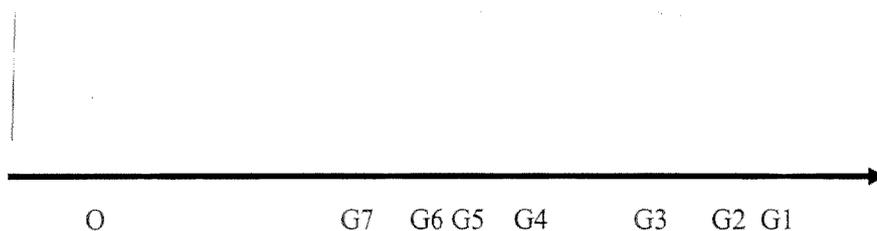
Lane 1 2 3 Lane 1 2 3

รูปที่ 11 การแยกโปรตีนบนแผ่นเจลด้วยกระแสไฟฟ้าข้อมโปรตีนด้วย Coomassie Brilliant Blue G-250 (ซ้าย) และการตรวจฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสข้อมด้วยไอโอดีน (ขวา) (แถว 1 สารละลายโปรตีนมาตรฐานชนิด LMW 14-669 KDa; แถว 2 สารละลาย BSA มีโปรตีน 50 μg , แถว 3 สารยับยั้งอะไมเลสที่มีโปรตีน 20 μg)

การตรวจสอบสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตขนาดโมเลกุลช่วงกลูโคส (G1) – maltoheptaose (G7)

นำสารสกัดพืช 10 ชนิดที่ยับยั้งอะไมเลสสูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 10 ตรวจสอบคาร์โบไฮเดรตขนาดโมเลกุลช่วงกลูโคส (G1) -maltoheptaose(G7) ของสารสกัดพืชตัวอย่างที่มีคุณสมบัติยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส 10 พืช ซึ่งมีค่าร้อยละการยับยั้งเกินกว่าร้อยละ 50 และหาค่า IC₅₀ ได้ คือ ถั่วเหลือง บัว ฝรั่ง สะเดา กระเจี๊ยบ ถุน หูกวาง ไมยราบ ลูกใต้ใบ อินทนิลน้ำ พบว่าสารยับยั้งอะไมเลสในสารสกัดจากพืชทั้ง 10 ชนิดนี้ไม่ใช่สารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตขนาดโมเลกุลช่วงกลูโคส (G1) –maltoheptaose (G7) เนื่องจากไม่ให้สีชมพูกับสารฉีดพ่น 0.3% N-(1-naphthyl ethylenediamine)-5% sulfuric acid ในเมทานอล อบที่ 110 °ซ 10 นาที

รูปที่ 12 แสดงรูปแบบการจำแนกกลูโคส (G1) –maltoheptaose (G7) และการติดสี บนแผ่น TLC ด้วยตัวทำละลายเคลื่อนที่ ที่ประกอบด้วย ethyl acetate : isopropyl alcohol : water (1:3:1 โดยปริมาตร) ที่ฉีดพ่น 0.3% N-(1-naphthyl ethylenediamine)-5% sulfuric acid ในเมทานอล อบที่ 110 °ซ 10 นาที

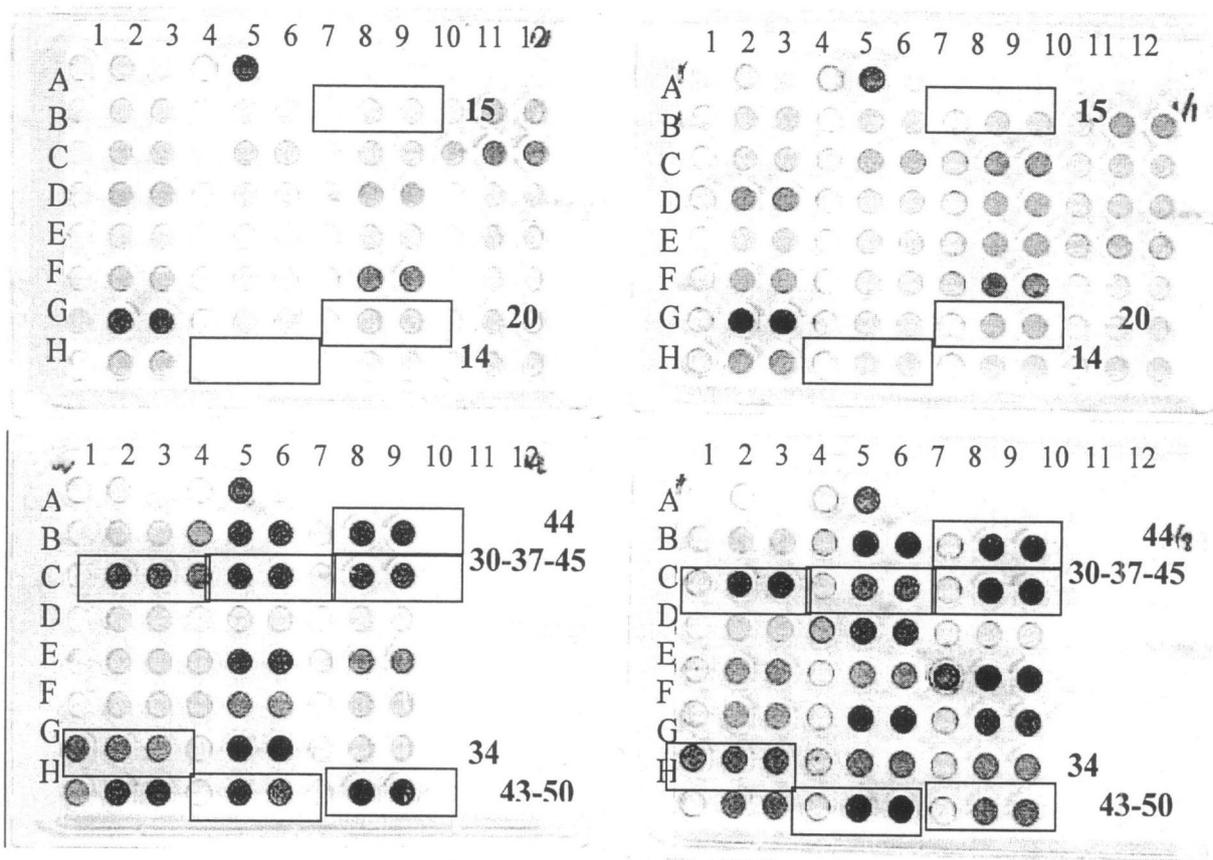


รูปที่ 12 แบบแผนการจำแนกกลูโคส(G1) -maltoheptaose(G7) และการติดสีบนแผ่น TLC

สรุปผลการตรวจสอบสารสกัดพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งอะไมเลสว่าเป็น โปรตีนหรือเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตหรือกลุ่มฟีนอลิก

การประมวลผลการวิเคราะห์ข้างต้นสรุปได้ว่าสารสกัดพืชตัวอย่างที่แสดงการยับยั้งอะไมเลสทั้ง 10 ชนิด (ถั่วเหลือง บัว ฝรั่ง สะเดา กระเจี๊ยบ ถุน หูกวาง ไม้ยราบ ต้นลูกใต้ใบ อินทนิลน้ำ) ทั้งที่สกัดด้วยน้ำ (W) และแอลกอฮอล์แล้วละลายคืนด้วยน้ำ (Et W)

- (1). ไม่เป็นสารในกลุ่มโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 14-669 กิโลดาลตัน ของโปรตีนมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาจำแนกโปรตีนด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟลิซิส ที่ย้อมโปรตีนด้วยสี Coomassie Brilliant Blue G-250 และการตรวจฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสด้วยไอโอดีน (รูปที่ 11) แต่อาจเป็นเปปไทด์ที่มีขนาดมวลโมเลกุลเล็ก หรือกรดอะมิโน หรือสารที่มีคุณสมบัติในการเกิดสีสามารถอ่านค่ามิลลิกรัม/มิลลิลิตรได้ในการตรวจโปรตีนด้วยวิธี Bradford และ Biuret ตามคำอธิบายแล้วข้างต้น
- (2). ไม่เป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตขนาดเล็กในช่วงขนาด G1-G7 เนื่องจากไม่ติดสีชมพูของวิธีทดสอบในช่วงของน้ำตาลมาตรฐานทั้ง 7 และในบริเวณ Rf อื่นๆ
- (3). มีโอกาสเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลอยู่ เนื่องจากมีปริมาณฟีนอลิกสูง และให้สีบวก (positive test) กับ 2% FeCl₃ ในเมธานอล ดังรูปที่ 13 ในรูปที่ 13 ถาดในคอลัมน์แรกบนและล่างเป็นสารสกัด Et W ของพืช ส่วนถาดในคอลัมน์สองบนและล่าง เป็นสารสกัด W ของพืชทั้ง 10 ชนิดที่มีศักยภาพยับยั้งอะไมเลสสูง โดยในหลุมแรกของแต่ละตัวอย่างเป็นตัวอย่าง ผสมกับ เมธานอล ส่วนหลุมถัดไปอีก 2 หลุม (ทำ 2 ซ้ำ n1 และ n2) ตัวอย่างผสมกับ FeCl₃ ผลการทดสอบที่เป็นผลลบ คือไม่ใช่ phenol จะแสดงสีเหลืองของสารทดสอบ FeCl₃ ส่วนตัวอย่างที่ให้สี ม่วง ถึง น้ำตาลแดง แสดงว่ามีสาร phenol อยู่ ผลการทดสอบนี้ช่วยยืนยันผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณฟีนอลิกข้างต้น (รูปที่ 10) ของสารสกัดน้ำและที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์-ระเหยแห้งแล้วละลายคืนด้วยน้ำของ ถั่วเหลือง (#14) บัว (#15) ฝรั่ง (#20) สะเดา (#30) กระเจี๊ยบ (#34) ถุน (#37) หูกวาง (#43) ไม้ยราบ (#44) ต้นลูกใต้ใบ (#45) และ อินทนิลน้ำ (#50)



Ethanol-Dry-Water Redissolved (EtW)

Water Extract (W)

รูปที่ 13 การทดสอบสารประกอบฟีนอลิก ด้วย $FeCl_3$

ภาค 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	19	11	12
A	MeOH	$FeCl_3$		Gal	$+FeCl_3$							
		(n1)	(n2)									
B	Plant 1	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 8	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 15	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 22	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
H	Plant 7	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 14	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 21	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 28	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$
ภาค 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	19	11	12
A	MeOH	$FeCl_3$		Gal	$+FeCl_3$							
		(n1)	(n2)		(n1)	(n2)						
B	Plant 29	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 36	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 44					
---	---	---	---	---	---	---	---					
H	Plant 35	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 43	$+FeCl_3$	$+FeCl_3$	Plant 50					

การศึกษาในหัวข้อนี้ เป็นการศึกษเบื้องต้นเพียงเพื่อจำแนกชนิดสารในพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์อะไมเลส ว่าเป็นสารประเภทที่เป็นโปรตีน หรือที่ไม่เป็นโปรตีน และระบุชนิดของสารกลุ่มที่ไม่เป็นโปรตีนว่าเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตหรือ กลุ่มฟีนอลิก ทั้งนี้เนื่องจากสารยับยั้งอะไมเลสในพืชที่มีรายงานไว้มี 2 ชนิด คือ (1). ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโปรตีน มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบ 47-426 ตัว เช่น ที่พบในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด (2). ที่ไม่เป็นโปรตีน เช่น (a). Oligosaccharide ที่มีโครงสร้างหลักของ acarviosine เช่น อะคาร์โบส (acarbose); (b). Phenolic compounds สารกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่มาก มีความซับซ้อนด้านโครงสร้างมาก และมีรายงานว่า พืชจำนวน 800 ชนิดมี

ศักยภาพลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยยับยั้งการทำงานของอะไมเลส นอกจากนี้สารกลุ่มนี้ยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วย ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) มีการศึกษาวิจัยพบว่า จำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ของวงแหวน B ของฟลาโวนอยด์ สัมพันธ์กับฤทธิ์ของสารในการยับยั้งกิจกรรมอะไมเลส แทนนิน (tannins) เป็น สารในกลุ่ม heterogenous polyphenol ที่พบทั่วไปในพืช มีขนาดโมเลกุลใหญ่ แบ่งได้ 2 กลุ่มคือ hydrolysable tannins (เช่น gallotannins ซึ่งมีโครงสร้างของ gallic acid กับน้ำตาล) และ condensed tannins ซึ่งมีขนาดใหญ่เป็น โพลิเมอร์ (polymer) สาร catechins และ flavonoids เป็นหน่วยย่อยในโมเลกุลแทนนินในไวน์แดงมีผลลดระดับน้ำตาลในคนไข้เบาหวานแบบไม่พึ่งอินซูลินได้ (Sales และคณะ 2012)

ถั่วเหลือง “ราชาแห่งถั่ว” มีบันทึกว่าช่วยรักษาโรคเบาหวาน งานของ Zang และคณะ (2011) รายงานว่าแฟรคชันที่ได้จากการสกัดถั่วเหลืองด้วย 70% สามารถลดระดับ HbA1c ของหนู mice ที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ และ แฟรคชันนี้มีสาร kaempferol glycoside ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นองค์ประกอบหลัก สารในรากบัวที่มีผลลดระดับน้ำตาล ในหนู rat ที่เป็นเบาหวานด้วย streptozotzin (Mukherjee และคณะ 1995) Huang และคณะ (2011) พบสาร catechin ในใบบัวมีผลเพิ่มการหลั่งอินซูลินในหนู mice ที่เป็นเบาหวาน ผลฝรั่งได้รับการค้นพบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เช่นกัน (Rai และคณะ 2009) แต่ในการศึกษานี้ไม่ได้ระบุกลุ่มสารออกฤทธิ์ต่อกลไกการลดระดับน้ำตาล การทบทวนเอกสารของ Gutierrez และคณะ (2008) กล่าวว่าสารออกฤทธิ์ช่วยในการรักษาเบาหวาน ของผลฝรั่งเป็นสารในกลุ่ม ursolic acid, oleanolic acid, arjunolic acid และ glucuronic acid ส่วนการต้านอนุมูลอิสระเป็นสารในกลุ่ม phenolic เช่น protocatechuic acid, ferrulic acid, quercetin และ guavin B; quercetin, ascorbic acid, gallic acid และ caffeic acid เป็นต้น