การสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากพรมมิด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

EXTRACTION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS FROM BRAHMI BY LIQUEFIED DIMETHYL ETHER

นางสาวพัชราภรณ์ ศรีพวงมาลัย รหัส 57365744
นางสาวจุฬาลักษณ์ คำฟู รหัส 57365539

ปริญญานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีการศึกษา 2560

ใบรับรองปริญญานิพนธ์

ชื่อหัวข้อโครงงาน การสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากพรมมิด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

ผู้ดำเนินโครงงาน นางสาวพัชราภรณ์ ศรีพวงมาลัย รหัส 57365744
นางสาวจุฬาลักษณ์ คำฟู รหัส 57365539

ที่ปรึกษาโครงงาน ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ภาควิชา วิศวกรรมอุตสาหการ

ปีการศึกษา 2560

.....

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อนุมัติให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

ปณัฐพงศ์ บุญนวล
.....ที่ปรึกษาโครงงาน
(ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล)

.....กรรมการ
(ผศ.ดร.อิศราวุธ ประเสริฐสังข์)

Suttipong Songprawat
.....กรรมการ
(ดร.สุทธิพงษ์ ทรงประวัติ)

ชื่อหัวข้อโครงงาน	การสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากพรมมิด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว		
ผู้ดำเนินโครงงาน	นางสาวพัชราภรณ์	ศรีพวงมาลัย	รหัส 57365744
	นางสาวจุฬาลักษณ์	คำฟู	รหัส 57365539
ที่ปรึกษาโครงงาน	ดร.ปณัฐพงศ์	บุญนวล	
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี		
ภาควิชา	วิศวกรรมอุตสาหการ		
ปีการศึกษา	2560		

.....

บทคัดย่อ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ได้ทำการศึกษาการสกัดพรมมิโดยการใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นตัวทำละลาย เพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมในสารสกัด โดยศึกษาตัวแปรที่ส่งผลต่อการสกัดได้แก่ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมเทียบกับปริมาณพรมมิ อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อพรมมิ (กรัมต่อกรัม) อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ เวลา (นาที) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมจากร้อยละ 15 เป็น ร้อยละ 20 ส่งผลให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ถ้าเพิ่มปริมาณน้ำที่มากเกินกว่าร้อยละ 20 ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคลดลง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อพรมมิ โดยอัตราส่วนจาก 4 ต่อ 1 ถึง 7 ต่อ 1 กรัมต่อกรัม ส่งผลให้สกัดสารประกอบฟีนอลิคได้ปริมาณลดลง เมื่ออุณหภูมิการสกัดที่เพิ่มขึ้นจาก 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มขึ้น เวลาในการสกัดที่เพิ่มมากขึ้นจาก 15 ถึง 60 นาที ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคมีแนวโน้มลดลง จากผลการทดลองผู้ดำเนินโครงงานได้พิจารณาและพบสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด ดังนี้ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมคือ ร้อยละ 20 สัดส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพรมมิ 4 ต่อ 1 สกัดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยสภาวะที่กล่าวมาข้างต้นจะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 47.79 ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิกรัมสารสกัด และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ค่าความเข้มข้นที่ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50) 0.1258 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อได้ปัจจัยในการสกัดที่เหมาะสม จากนั้นนำไปเปรียบเทียบผลจากการสกัดด้วย น้ำ และ เอทานอล โดยใช้สภาวะเดียวกัน พบว่า ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 11.243 และ 22.431 ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิกรัมสารสกัดตามลำดับ และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 1.4043 และ 0.3662 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวบ่งบอกว่าการสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลวโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วมให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือของหลายๆฝ่าย โดยเฉพาะ ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน รวมถึงอาจารย์ ผศ.ดร.อิศราวุธ ประเสริฐสังข์ และ ดร.สุทธิพงษ์ ทรงประวัติ อาจารย์กรรมการโครงงาน ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และวิธีแก้ปัญหา รวมถึงข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนความดูและเอาใจใส่ ติดตามการดำเนินโครงงานมาโดยตลอด และขอขอบคุณอาจารย์ประจำสาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่าน ที่ได้ให้วิชาความรู้ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

นอกจากนี้ขอขอบคุณ รศ.ดร.กรกนก อิงคนินันท์ และนางสาวณัฐพร อมรนพรัตนกุล ที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทดสอบสารที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อใช้ในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้ดำเนินโครงงานใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การดูแล อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา ตลอดการดำเนินโครงงานจนสำเร็จการศึกษา

ผู้ดำเนินโครงงาน
พัชราภรณ์ ศรีพวงมาลัย
จุฬาลักษณ์ คำฟู

พฤษภาคม 2561

สารบัญ

หน้า
ใบรับรองปริญญานิพนธ์.....ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....ฉ
สารบัญรูป.....ช

บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....1
1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....2
1.4 ตัวแปรตาม.....3
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีเบื้องต้น.....4
2.1 พรมมิ.....4
2.2 สารสกัดพรมมิ.....4
2.3 สารสำคัญในพรมมิ.....5
2.4 อนุมูลอิสระ.....5
2.5 สารต่อต้านอนุมูลอิสระ.....6
2.6 สารประกอบฟีนอลิค.....6
2.7 ไดเมทิลอีเทอร์.....7
2.8 วิธีการสกัด.....8
2.8.1การสกัดด้วยตัวทำละลาย.....8
2.8.2 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว.....8
2.8.3 การสกัดด้วยซอกเลต.....9
2.8.4 การสกัดด้วยของเหลววิกฤตยิ่งยวด.....9
2.8.5 การกลั่นด้วยไอน้ำ.....9
2.8.6 การสกัดสารสำคัญจากพรมมิ.....10
2.9 วิธีการวิเคราะห์สาร.....13
2.9.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด.....13
2.9.2 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH.....13
2.9.3 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ Phen.....13

หน้า

2.9.4 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ Reducing Power Assay.....13
2.9.5 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ ABTS.....13

บทที่ 3 การทดลอง.....14
3.1 วัตถุดิบและสารที่เกี่ยวข้อง.....14
3.2 แผนผังการดำเนินการ.....14
3.3 การสกัดโดยใช้ไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย.....15
3.4 การสกัดด้วยน้ำและเอทานอล.....15
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....16
3.5.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคด้วยวิธีการ Folin Ciocacal.....16
3.5.2 ความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH.....16

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....18
4.1 อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม.....18
4.2 อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพืช.....19
4.3 อุณหภูมิในการสกัด.....20
4.4 เวลาที่ใช้ในการสกัด.....22
4.5 เปรียบเทียบการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีพิษ.....23

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....25
5.1 สรุปผลการทดลอง.....25
5.2 ข้อเสนอแนะ.....25

บรรณานุกรม.....26
ภาคผนวก.....28

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 กลุ่มสารสำคัญที่พบในพรมมิ.....5
ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไดเมทิลอีเทอร์.....8
ตารางที่ 2.3 ตารางการสกัดสารสำคัญจากพรมมิ.....10
ตารางที่ 3.1 แสดงปัจจัยในการทดลอง.....16

มหาวิทยาลัยนเรศวร

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 พรมมิ....4
รูปที่ 2.2 กลไกการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิค....6
รูปที่ 2.3 โครงสร้างขอสารประกอบฟีนอลิคโดยทั่วไป....7
รูปที่ 2.4 เครื่องสกัดซอกเลต....9
รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงการดำเนินการ....14
รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงการดำเนินการ (ต่อ)....15
รูปที่ 4.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิคที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม....19
รูปที่ 4.2 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม....19
รูปที่ 4.3 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิคที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์เหลว....20
รูปที่ 4.4การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์เหลว....20
รูปที่ 4.5 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิคที่อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส....21
รูปที่ 4.6 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส....22
รูปที่ 4.7 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิคที่ใช้เวลาในการสกัด 15 ถึง 60 นาที....22
รูปที่ 4.8 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เวลาในการสกัด 15 ถึง 60 นาที....23
รูปที่ 4.9 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิค....24
รูปที่ 4.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ....24

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

การศึกษาวิจัยหาสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมมีบทบาทเพิ่มมากขึ้น เช่น สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารประกอบที่จำเป็นต่อร่างกาย เพราะมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกัน และชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชันภายในร่างกาย ทำให้การเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆลดลง [1] สารต่อต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวสามารถพบได้ในอาหารที่บริโภค เช่น ผัก ผลไม้ แต่จำนวนการบริโภคในแต่ละวันอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จึงเป็นที่มาของการได้รับความสนใจที่มากขึ้นในอาหารเสริมที่มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระเป็นส่วนประกอบ สารต่อต้านอนุมูลอิสระสามารถสกัดมาได้จากวัตถุดิบทางธรรมชาติหรือสังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการทางเคมี อย่างไรก็ตามสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากวัตถุดิบทางธรรมชาตินั้นมีประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อร่างกายมากกว่าสารที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี โดยสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในธรรมชาติคือ สารประกอบฟีนอลิค (Phenolic Compound)

พรมมิเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณมาก เช่น ทางด้านการบำรุงสมอง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์สื่อประสาท พรมมิสามารถเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณพื้นที่ชื้นชุ่มน้ำ พบได้ในบริเวณเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย อเมริกา พรมมิมีองค์ประกอบของสารสำคัญหลายชนิดที่ส่งผลดีต่อร่างกาย เช่น สารประกอบฟีนอลิค ฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ กลุ่มซาโปนินเป็นสารสำคัญที่ช่วยเพิ่มความจำ [2] ไตรเทอร์ปีนลดไขมันอุดตันในเส้นเลือด ทำให้เกิดความสนใจในการสกัดสารสำคัญดังกล่าวจากพรมมิมีเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยังมีค่อนข้างน้อย ดังนั้น การทดสอบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ดังกล่าวจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเสริมเกี่ยวกับประโยชน์ของสารสกัดพรมมิได้

เมื่อกล่าวถึงวิธีการสกัดสารออกจากวัตถุดิบธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอลิค โดยปกติจะใช้หลักการสกัดที่เรียกว่า การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-liquid Extraction) โดยสามารถแบ่งแยกตามเทคนิคที่นำมาใช้ร่วมได้ เช่น การสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) การสกัดด้วยคลื่นความเร็วสูง (Sonication) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Stream Distillation) [3] โดยการสกัดสารประกอบฟีนอลิคที่เป็นสารประกอบมีโครงสร้างทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว [4] จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วที่เหมาะสมเพื่อสกัดสารดังกล่าวออกมาให้ได้ปริมาณมาก ตัวทำละลายที่ปลอดภัย มีความเป็นพิษน้อย และนิยมใช้มากในปัจจุบัน ได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของตัวทำละลายดังกล่าวค่อนข้างต่ำ อาจเป็นเพราะสภาพความมีขั้วที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้การแยกตัวทำละลายต้องทำโดยการระเหยออกจากสารผลิตภัณฑ์ด้วยอุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายดังกล่าว ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิคเสื่อมสภาพจากความร้อนและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดลง [5] จึงเป็นข้อจำกัดของตัวทำละลายข้างต้น นอกจากนี้กระบวนการทางเลือก เช่น การสกัดด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด

(Supercritical Fluids Extraction) ที่นิยมใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นกระบวนการที่สามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดได้ง่ายโดยการลดความดันสู่ความดันบรรยากาศ อย่างไรก็ตาม การสกัดด้วยกระบวนการนี้มีข้อจำกัด เนื่องจากอาจสกัดสารฟีนอลิคได้ในปริมาณน้อย เพราะคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว อีกทั้งยังต้องใช้ความดันในการสกัดสูง (มากกว่า 100 บาร์) ทำให้ต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนความดันสูงได้ ส่งผลต่อค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้นอีกหนึ่งทางเลือกในการสกัดคือการใช้ไดเมทิลอีเทอร์โดยไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย ที่มีความปลอดภัย มีความเป็นพิษต่ำ ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม มีคุณสมบัติสามารถสกัดสารได้ทั้งสารที่มีขั้วและมีขั้วน้อยและมีสถานะเป็นแก๊สที่อุณหภูมิห้อง ทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้สกัดสารฟีนอลิคได้ ไดเมทิลอีเทอร์มีจุดเดือดต่ำ หมายความว่าเมื่ออยู่ในอุณหภูมิห้องทำให้ระเหยออกได้ง่ายและเร็ว ส่งผลให้ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในสารประกอบฟีนอลิคไม่ลดลง โดยที่ไม่เหลือสารตกค้างอยู่ในสารสกัด ซึ่งสามารถลดขั้นตอนกระบวนการการกำจัดตัวทำละลาย นอกจากนี้ไดเมทิลอีเทอร์ยังนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น ใช้ในการแปรรูปอาหาร และยาสลบ เมื่อเปรียบเทียบกับคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤติยิ่งยวด การใช้ไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลายในการสกัดยังใช้ความดันที่ต่ำกว่ามาก (7บาร์) ส่งผลให้ค่าใช้จ่ายถูกกว่ามาก จึงทำให้การสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากพรมมิด้วยไดเมทิลอีเทอร์เป็นหัวข้อที่น่าสนใจและยังไม่มีงานวิจัยมาก่อน

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการสกัดพรมมิ เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดังกล่าว โดยการใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลว (DME) เป็นตัวทำละลาย โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลในการสกัด ได้แก่ ร้อยละตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณผงพรมมิ อัตราส่วนตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลา นอกจากนี้ยังได้ทำการเปรียบเทียบกับการสกัดโดยใช้น้ำ และ เอทานอล เป็นตัวทำละลาย ที่สภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่หาได้จากการศึกษาข้างต้น

1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา

เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพรมมิ ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว อุณหภูมิ ตัวทำละลายร่วม เวลา

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ในงานวิจัยนี้ศึกษาผลของตัวแปรในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.3.1 ช่วงของตัวทำละลายร่วม (ร้อยละโดยปริมาตรต่อมวล) คือ 15 20 25 และ 30

1.3.2 ช่วงของอัตราส่วนโดยมวลระหว่างไดเมทิลอีเทอร์ต่อปริมาณของผงพรมมิคือ 4 ต่อ 1 ถึง 7 ต่อ 1 กรัมต่อกรัม

1.3.3 ช่วงของเวลาในการสกัด คือ 15 30 45 และ 60 นาที

1.3.4 ช่วงของอุณหภูมิในการสกัด คือ 30 35 40 และ 45 องศาเซลเซียส

1.4 ตัวแปรตาม

1.4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิค

1.4.2 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ผลที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย คือ ทราบถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดสารสำคัญในพรมมิด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมในระดับที่ใหญ่ขึ้น เช่นนำไปพัฒนาใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีเบื้องต้น

2.1 พรมมิ (Brahmi)

พรมมิ (Brahmi) มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีดอกสีขาวหรือสีม่วงอ่อน ลำต้นอวบน้ำ มีข้อปล้องที่เห็นได้ชัดเจนเป็นพืชที่เลื้อยไปตามพื้นแต่ถ้าเกิดใต้น้ำจะมีลำต้นที่ตั้งตรงดังแสดงใน รูปที่ 2.1 พรมมิมักเกิดในพื้นที่ชื้นเป็นพืชที่มักจะพบในเขตร้อนมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ Bocopa Monnieri เป็นสมุนไพรโบราณที่บันทึกไว้ในคัมภีร์อายุรเวทของอินเดีย โดยกล่าวไว้ว่าพรมมิมีสรรพคุณเด่นในด้านการบำรุงสมอง และเพิ่มเพิ่มความจำและบำรุงสมอง นอกจากนี้ยังมีการใช้เป็นยาสมุนไพรในประเทศจีนอีกด้วย ส่วนพรมมิในประเทศไทยพบมากทางภาคเหนือ และตะวันออกเฉียงเหนือ พรมมิมีฤทธิ์ในการยับยั้ง อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetyl Cholinesterase) ซึ่งเป็นสารที่ไปทำลายสารสื่อประสาท ทำให้เซลล์ประสาทไม่สามารถติดต่อกันได้ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการความจำเสื่อม สารชนิดนี้พบมากในผู้ป่วยอัลไซเมอร์ คนชรา ดังนั้น พรมมิจึงช่วยปกป้องเซลล์ประสาท เพราะมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และสารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพรมมิ
ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/พรมมิ [6]

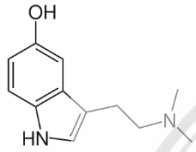
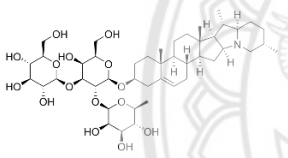
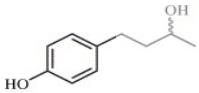
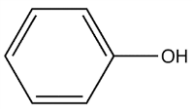
2.2 สารสกัดพรมมิ

พรมมิพบในประเทศไทยในทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งชาวบ้านนิยมนำมารับประทานเป็นอาหาร โดยใช้เป็นผักลวกจิ้มน้ำพริกและนำมาประกอบอาหารได้และที่สำคัญได้มีการทดสอบความปลอดภัยของพรมมิโดยนักวิจัย ได้ทำการศึกษาสารสกัดพรมมิในสัตว์ทดลอง โดยการให้สารสกัดพรมมิขนาด 20 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของหนูแต่ละตัวโดยใช้เวลาในการทดลอง 14 วัน [7] จากวิธีการศึกษากลไกของพรมมิต่อการเรียนรู้และความจำข้างต้น ทำให้สรุปได้ว่าสารสกัดพรมมิมีกลไกในการต้านออกซิเดชัน ปกป้องเซลล์ประสาท และเพิ่มการทำงานของสารสื่อประสาท

สำหรับการทดสอบพิษไม่ พบว่า สารสกัดพรมมิมีพิษต่อสัตว์ทดลองหลังจากนั้นคณะผู้วิจัยได้พัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดพรมมิในรูปแบบยาเม็ดและศึกษาผลของยาในอาสาสมัครซึ่งอยู่ในช่วงอายุวัยกลางคนและผู้สูงอายุ พบว่า ช่วยเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้และความจำ และไม่พบสารพิษและสภาวะข้างเคียงเกิดขึ้น

2.3 สารสำคัญที่พบในพรมมิ

ตาราง 2.1 กลุ่มสารสำคัญที่พบได้ในพรมมิ

กลุ่มสารสำคัญ		สรรพคุณ
แอลคาลอยด์ (Alkaloids) 	บรามิน (Brahmine) ไนโคติน (Nicotin) เฮิปเพสติน (Herpestine) เฮอซาโปนิน (Hersaponine)	มีฤทธิ์ในการลดความดัน และยังใช้เป็นยาระงับประสาทได้อีกด้วย
ซาโปนิน (Saponins) 	บาโคไซด์ (Bacoside A,B) บาโคซาโปนิน (Bacopasaponin A,B,C,D,G) บาโคพาไซด์ (Bacopasides)	ป้องกันสารสื่อประสาท และเป็นสารสำคัญที่ช่วยเพิ่มความจำมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ
ฟีนิลทาบิวทานอยด์ (Phenylbuthanoids) 	ไกลโคไซด์ (Glycosides) แพลนเทนโนไซด์ (Plantainoside B)	มีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้เป็นยารักษาโรคหัวใจ ยาถูนวดแก้ปวดเมื่อย
ฟีนอล (Phenol) 	ฟีนอลิค (Phenolic) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งสารก่อมะเร็ง

ที่มา : Comparison of Various Extraction Methods of Bacopa monnieri [8]

2.4 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radical) สามารถเกิดขึ้นเองได้ในร่างกายจากกระบวนการเผาผลาญในร่างกายโดยใช้ออกซิเจนเข้าไปช่วยทำให้ประจุของออกซิเจนติดลบ อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลในสารประกอบโควาเลนต์ที่เกิดอิเล็กตรอนที่ไม่เท่ากันขึ้น ซึ่งหมายถึงเกิดอิเล็กตรอนที่อยู่ในระดับพลังงานย่อย (Orbital) ที่มีอิเล็กตรอนอยู่เพียงตัวเดียวหรือยังมีที่ว่างเหลืออยู่ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่ไม่เสถียรจึงไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นเพื่อทำให้ตัวมันเองเสถียร สารอนุมูลอิสระนี้จะ

ไม่รวมตัวกับไขมันแต่จะไปรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายทำให้เกิดสารพิษที่สามารถทำลายเนื้อเยื่อได้ การเกิดอนุมูลอิสระเกิดได้ทั้ง 2 ทางคือ

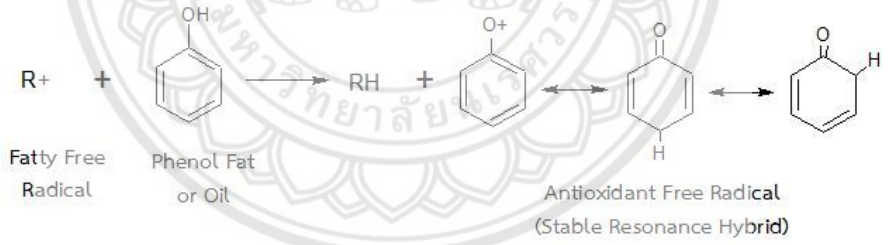
2.4.1 เกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย เนื่องจากกระบวนการเผาผลาญสารอาหารในร่างกาย กระบวนการเมตาบอลึซึมในไมโตรคอนเดรีย

2.4.2 เกิดอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย เช่น จากสารเคมี ควันบุหรี่ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา เป็นต้น [9]

ในร่างกายคนเราจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นได้เองอยู่แล้ว แต่ถ้าอนุมูลอิสระในร่างกายมากเกินไปจะเกิดภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ (Oxidative Stress) และหากเกิดภาวะดังกล่าวนานจนเกินไปจะส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อรวมไปถึงดีเอ็นเอ [10-11]

2.5 สารต่อต้านอนุมูลอิสระ

สารต่อต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่สามารถป้องกันชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชันในรูปแบบต่างๆทั้งภายในร่างกายและภายนอกร่างกายดังแสดงในรูปที่ 2.2 การเกิดอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุในการทำลายเนื้อเยื่อซึ่งเป็นต้นเหตุให้เกิดโรคต่างๆมากมาย จากงานวิจัย พบว่าพรมมิมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพ เนื่องจากสารต่อต้านอนุมูลอิสระของพรมมิจะไปช่วยกระตุ้นการทำงานของสารต่อต้านอนุมูลอิสระจำพวกเอนไซต์ เช่น ซูปเปอร์ออกไซด์ดิมูเทส และกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิไดซ์ ที่อยู่ในร่างกายให้มีประสิทธิภาพและมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น [12]



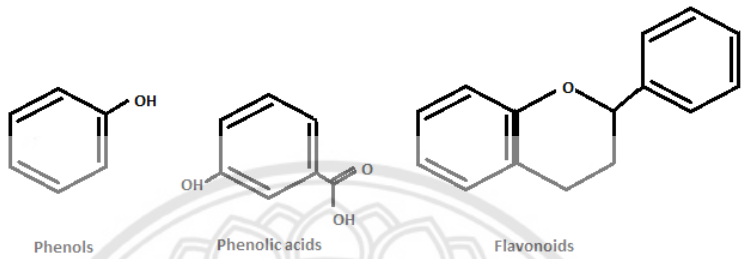
รูปที่ 2.2 กลไกการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิค
ที่มา : Antioxidant [13]

ดังนั้น จึงจำเป็นที่ร่างกายคนเราจะต้องหาทางป้องกันการทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านี้ โดยสร้างระบบต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เพื่อชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะพบในสารสำคัญของพรมมิ คือสารประกอบฟีนอลิคที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป เช่น สารประกอบฟีนอลิค สารประกอบฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

2.6 สารประกอบฟีนอลิค

สารฟีนอลิคเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่พบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิคประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมี

หมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งมีลักษณะสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกันออกไปตั้งแต่กลุ่มโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิค ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ไปจนถึงกลุ่มโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น เม-ลานิน ลิกนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมกันอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิคในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันออกไปแต่โดยเฉลี่ยแล้วปริมาณที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัมถึง 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน [14]



รูปที่ 2.3 โครงสร้างขอสารประกอบฟีนอลิคโดยทั่วไป
ที่มา : สารประกอบฟีนอลิค [15]

2.7 ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether)

ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether) มีชื่อย่อคือ DME อยู่ในรูปของก๊าซที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส ไร้สีและมีกลิ่นอ่อนๆ สามารถละลายน้ำได้และถือว่าเป็นสารประกอบอีเทอร์ที่มีโมเลกุลเล็กที่สุดถูกนำมาใช้แทนสารกลุ่มซีเอฟซี (Chlorofluorocarbons) เนื่องจากมีความเป็นพิษน้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและชั้นบรรยากาศของโลก ปัจจุบันมีการนำเอาไดเมทิลอีเทอร์ไปใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหารเนื่องจากภายในโมเลกุลของไดเมทิลอีเทอร์เป็นกลุ่มเมทิลซึ่งมีความสามารถในการสกัดเช่นเดียวกับบิวเทน แต่แตกต่างกันที่จะเกิดอะตอมของออกซิเจนตรงกลางโมเลกุลซึ่งส่งผลให้ไดเมทิลอีเทอร์มีความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นๆจึงช่วยเพิ่มความสามารถในการสกัด ทำให้ไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่ดีและเนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม และเมื่อเปรียบเทียบกับสารพวกบิวเทนแล้ว จุดเดือดของไดเมทิลอีเทอร์ต่ำมากจึงทำให้ระเหยออกได้ง่ายและรวดเร็ว ง่ายต่อการกำจัด

ในอุตสาหกรรมอาหารกรณีที่มีกระบวนการแปรรูปอาหารอย่างรวดเร็วจะทำให้มีไดเมทิลอีเทอร์ตกค้างอยู่ในอาหาร เพื่อเป็นการป้องกันปัญหานี้จึงมีการกำหนดค่าสูงสุดในการใช้ไดเมทิลอีเทอร์ (Maximum Permitted Level) เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเทียบเท่ากับค่าสูงสุดของตัวทำละลาย 2 ชนิดที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารคือไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl Ether) และไดบิวทิลอีเทอร์ (Dibuthyl Ether) ค่าสูงสุดที่กำหนดนี้ได้รับพิจารณาแล้วว่าเทคนิคการใช้ไดเมทิลอีเทอร์ในอุตสาหกรรมอาหารมีความปลอดภัย สมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับไดเมทิลอีเทอร์แสดงในตารางที่ 2.2 ดังนี้ [16-17]

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไดเมทิลอีเทอร์

คุณสมบัติ	ไดเมทิลอีเทอร์
สูตรเคมี	CH_3OCH_3
น้ำหนักโมเลกุล [กรัม/โมล]	46.67
จุดเดือด [องศาเซลเซียส]	-24.9
จุดเยือกแข็ง [องศาเซลเซียส]	-141.5
จุดวาบไฟ [องศาเซลเซียส]	-41
ความหนาแน่นของของเหลว [กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร]	0.665
ความหนาแน่นของก๊าซ [กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร]	1.92
ร้อยละการละลายน้ำ	ร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก
ความดันไอ [มิลลิเมตรปรอท]	4450

ที่มา : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dimethyl_ether [18]

2.8 วิธีการสกัด

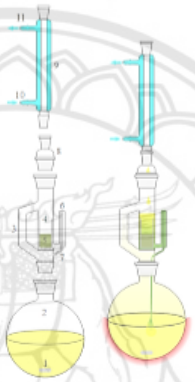
การสกัดสารสำคัญของพืชสามารถสกัดได้หลายวิธี ทั้งนี้สิ่งที่แตกต่างกันออกไปคือ ชนิดของการสกัด สิ่งที่ควรคำนึกถึงอันดับแรกเป็นคือวิธีการสกัดนั้นใช้อุณหภูมิเท่าใด เพราะที่อุณหภูมิสูงฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระจะลดลง

2.8.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นการแยกสารโดยอาศัยสมบัติการละลายของสารในตัวทำละลาย ของเหลว 2 ชนิดที่ไม่สามารถผสมกันและแยกออกเป็นชั้นอย่างชัดเจน ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด และไม่เป็นพิษ ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดได้แก่ ชนิดของของเหลวที่ใช้เป็นตัวทำละลาย อุณหภูมิที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลต่อการสกัดที่ดีขึ้น และการสัมผัสกันของพื้นผิวที่มากจะให้การถ่ายโอนของสารมากขึ้น ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ อีเทอร์ โทลูอีน และเฮกเซน หลังจากนั้นนำตัวทำละลายออกจากสารละลายที่ทำการสกัดด้วยการกลั่นแยก

2.8.2 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid Liquid Extraction) คือวิธีการสกัดที่สารที่เป็นตัวถูกละลายอยู่ในสถานะของแข็ง และตัวทำละลายอยู่ในสถานะของเหลว ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดขึ้นอยู่กับความสามารถในการแทรกซึมตัวทำละลายเข้าไปในของแข็งที่ต้องการสกัด ความสมารถละลายได้ของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสกัด และการกวนผสมสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการสกัดสารทางชีววิทยา สารอินทรีย์ ตลอดจนเกลือของสารอนินทรีย์ได้ ตัวอย่างเช่น การสกัดแยกแคลเซียมออกจากสทรอนเซียม ถ้าแคลเซียมอยู่ในรูปของเกลือไนเตรทจะสกัดแยกออกจากสารตัวอย่างได้ โดยใช้แอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์ผสมกับเอทิลอีเทอร์ โดยข้อเสียของวิธีการนี้ถ้าสารที่ต้องการ

สกัดอยู่ข้างในของแข็งจะทำให้ตัวทำละลายซึมเข้าไปได้ยากและใช้เวลานาน จึงควรบดของแข็งให้ละเอียด

2.8.3 การสกัดด้วยซอกเลต (Soxhlet Extraction) ส่วนใหญ่เป็นวิธีการสกัดสารอินทรีย์ที่ปนอยู่ในสารตัวอย่าง ตัวอย่างเช่น วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน ในตัวอย่างอาหาร หรือปริมาณน้ำมันหอมระเหยในสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ โดยวิธีการสกัดจะให้ความร้อนจนตัวทำละลายระเหยขึ้นไปแล้วทำการควบแน่นกลับลง เมื่อสารที่สกัดได้สูงถึงระดับกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงมาในขวดวัดปริมาตร เป็นการสกัดซ้ำกันหลายๆครั้งอย่างต่อเนื่องจะได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์มากโดยที่ไม่ต้องเติมตัวทำละลายเพิ่มดังแสดงในรูปที่ 2.4 เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนจึงอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวได้



รูปที่ 2.4 เครื่องสกัดซอกเลต
ที่มา : Animation of Soxhlet Extractor Working [19]

2.8.4 การสกัดด้วยของเหลววิกฤตยิ่งยวด (Pressurized Liquid Extraction) เป็นการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเป็นของเหลวโดยอัดความดันสูงถึง 100 บาร์ เพื่อทำให้ตัวทำละลายที่อยู่ในสภาวะแก๊สกลายเป็นของเหลว ซึ่งเป็นปัจจัยที่ช่วยเพิ่มการละลายของสารที่การสกัดและคุณสมบัติการถ่ายเทมวล การสกัดแบบนี้ยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพราะใช้ตัวทำละลายในปริมาตรที่น้อยกว่าและยังใช้เวลาน้อยกว่าอีกด้วย แต่เนื่องจากใช้อุณหภูมิที่สูงจึงทำให้สาระสำคัญที่ต้องการสกัดสลายตัว [20]

2.8.5 การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation) คือการสกัดโดยอาศัยไอน้ำเป็นตัวทำละลายแยกสารที่ต้องการสกัดระเหยออกมาพร้อมกับไอน้ำ จุดเดือดของสารที่ต้องการสกัดต่ำจะสกัดได้ง่ายกว่าจุดเดือดสูงเมื่อผ่านเครื่องควบแน่นจะกลั่นตัวกลายเป็นของเหลวแยกชั้นโดยน้ำจะอยู่ข้างล่าง สารที่ต้องการสกัดต้องไม่ละลายน้ำ ระเหยง่ายจึงจะใช้ไอน้ำพาออกมาได้ นิยมใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช ข้อเสียคือการใช้อุณหภูมิที่สูงถึง 100 องศาเซลเซียสเพื่อให้น้ำกลายเป็นไอ จึงไม่เหมาะสำหรับสารบางตัวที่จะสลายในอุณหภูมิที่สูง

2.8.6 การสกัดสาระสำคัญจากพรมมิ

ตารางที่ 2.3 ตารางการสกัดสาระสำคัญจากพรมมิ

ผู้เขียน	หัวข้อ	สารที่ใช้ในการสกัด	วิธีการสกัด	ปัจจัยในการสกัด	สรุปผล
Abhishek Mathur, Satish K. Verma, Reena Purohit, Santosh K. Singh, Deepika Mathur, GBKS Prasad and V.K. Dua (2010)	การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของพรมมิโดยการตรวจสอบทางเภสัชวิทยา (Pharmacological investigation of Bacopa monnieri on the basis of antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties)	น้ำ เฮกเซน เมทานอล บิโตรเลียม-อีเทอร์	นำวัตถุดิบไปแช่ในตัวทำละลาย	ใช้ผง 20 กรัม ละลายในตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แช่ไว้ 72 ชั่วโมงแล้วผสมกันทุก ๆ 24 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส	พบว่า พรมมิที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ช่วยลดอาการอักเสบได้ดีที่สุดถึงร้อยละ 92 ในฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระ สารที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีถึงร้อยละ 65.68 และ 62.34 ตามลำดับ

ที่มา : Pharmacological investigation of Bacopa monnieri on the basis of antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties [25]

ตารางที่ 2.3 ตารางการสกัดสารสำคัญจากพรมมิ (ต่อ)

ผู้เขียน	หัวข้อ	สารที่ใช้ในการสกัด	วิธีการสกัด	ปัจจัยในการสกัด	สรุปผล
Watoo Phrompittayarat, Waraporn Putalun, Hiroyuki Tanaka, Kanchalee Jetiyanon, Sakchai Wittaya-areekul and Kornkanok Ingkaninan (2007)	การเปรียบเทียบวิธีการสกัดต่างๆของพรมมิ	เอทานอล เมทานอล	การสกัดของแข็งด้วยของเหลว	ใช้ผงพรมมิ 30 กรัม เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร	การสกัดโดยการแช่ผงพรมมิในน้ำ 300 มิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และใช้ เอทานอลร้อยละ 95 เป็นวิธีการที่ได้สารซาโปนินมากที่สุด

ที่มา : Comparison of Various Extraction Methods of Bacopa monnieri [8]

ตารางที่ 2.3 ตารางการสกัดสารสำคัญจากพรมมิ (ต่อ)

ผู้เขียน	หัวข้อ	สารที่ใช้ในการสกัด	วิธีการสกัด	ปัจจัยในการสกัด	สรุปผล
นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ อัจฉรี เรืองเดชและสมชาย หวังวิบูลย์กิจ (2560)	ผลของ Kinetin และ IAA ต่อการเจริญเติบโตและการต้านอนุมูลอิสระจากพรรณไม้น้ำพรมมิ	เอทานอล	สกัดของแข็งด้วยของเหลว	เอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้ตัวอย่างแห้งต่อตัวทำละลายในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ใช้เวลา 3 วันในการสกัด	เมื่อตรวจสอบความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระจากสารสกัดพรมมิ 3 วิธี ได้แก่ Total Phenolic Compounds (TPC), DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีจากต้นพรมมิที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของ IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา : ผลของ Kinetin และ IAA ต่อการเจริญเติบโตและการต้านอนุมูลอิสระจากพรรณไม้น้ำพรมมิ [21]

2.9 วิธีการวิเคราะห์สาร

2.9.1 การวิเคราะห์สารฟีนอลิคทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocacal โดยนำสารละลายตัวอย่างมาเติมสารละลาย Folin-Ciocacal Reagent อาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของโมลิบโดทังสเตตไอออน (Molybdotungstate ion) รีเอเจนท์ประกอบ คือ โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) เมื่อได้รับอิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระ ไอออนที่อยู่ในรูป Mo (VI) สีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน Mo (V) ดังสมการ 2.1 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยใช้กรดแกลลิคเป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์ รายงานค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อมิลลิกรัมสารสกัด [1]

$$\underset{\text{สีเหลือง}}{\text{Mo (VI)}} + e^- \rightarrow \underset{\text{สีน้ำเงิน}}{\text{Mo (V)}} \qquad \textbf{(2.1)}$$

ต้านอนุมูลอิสระ

2.9.2 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) [5] เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายดีพีพีเอชมาเติมสารตัวอย่าง ใช้ดีพีพีเอชซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสายละลายเป็นสีม่วง เกิดกลไกการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของสารฟีนอลิค เกิดการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (DPPH) ดังสมการ 2.2 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณร้อยละการยับยั้งดีพีพีเอชที่ความเข้มข้นต่างๆ [1]

$$\underset{\text{สีม่วง}}{\text{DPPH}^*} + \underset{\text{สารตัวอย่าง}}{\text{RH}} \rightarrow \underset{\text{สีเหลือง}}{\text{DPPH}} + \text{R}^* \qquad \textbf{(2.2)}$$

2.9.3 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,10 - Phenanthroline (Phen) โดยนำสารตัวอย่างมาเติมเฟอร์ริกคลอไรด์ที่สัดส่วนความเข้มข้น (มวลต่อปริมาตร) ที่แตกต่างกัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำไปคำนวณโดยใช้ช่วงเฟอร์รัสซัลเฟตเป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์

2.9.4 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Reducing Power Assay เป็นการเติมสารละลาย Reducing reagent สามารถทำให้อะตอมหรือโมเลกุลกลุ่มโลหะแตกตัวเป็นไอออนได้ (Fe^{3+}) มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระได้ดี นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

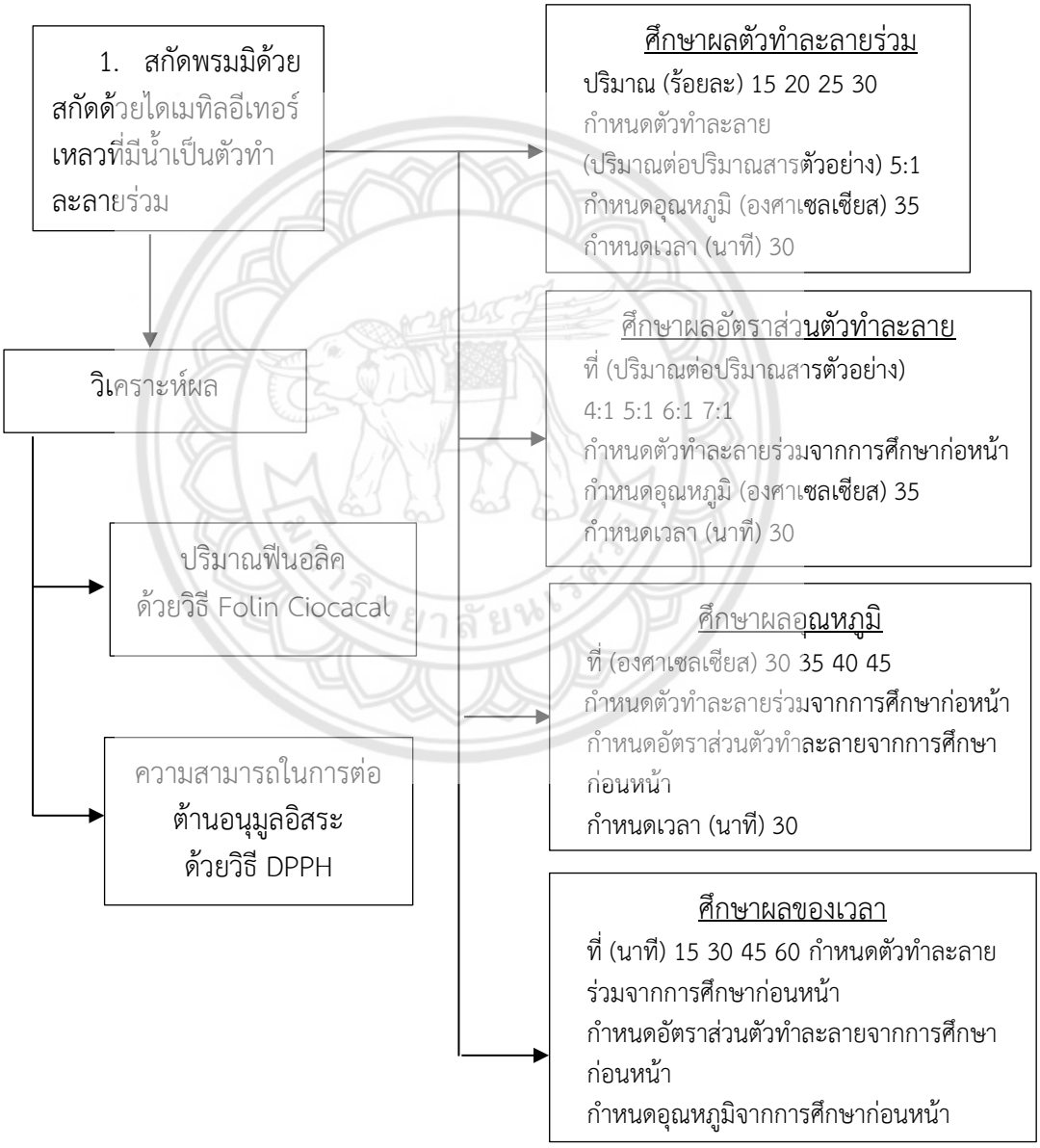
2.9.5 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Radical Cation Decolorization Assay เป็นการเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ลงในสารละลายตัวเอง วัดค่าความสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาว 734 นาโนเมตร โดยใช้โทรล็อกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์

บทที่ 3
การทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารที่เกี่ยวข้อง

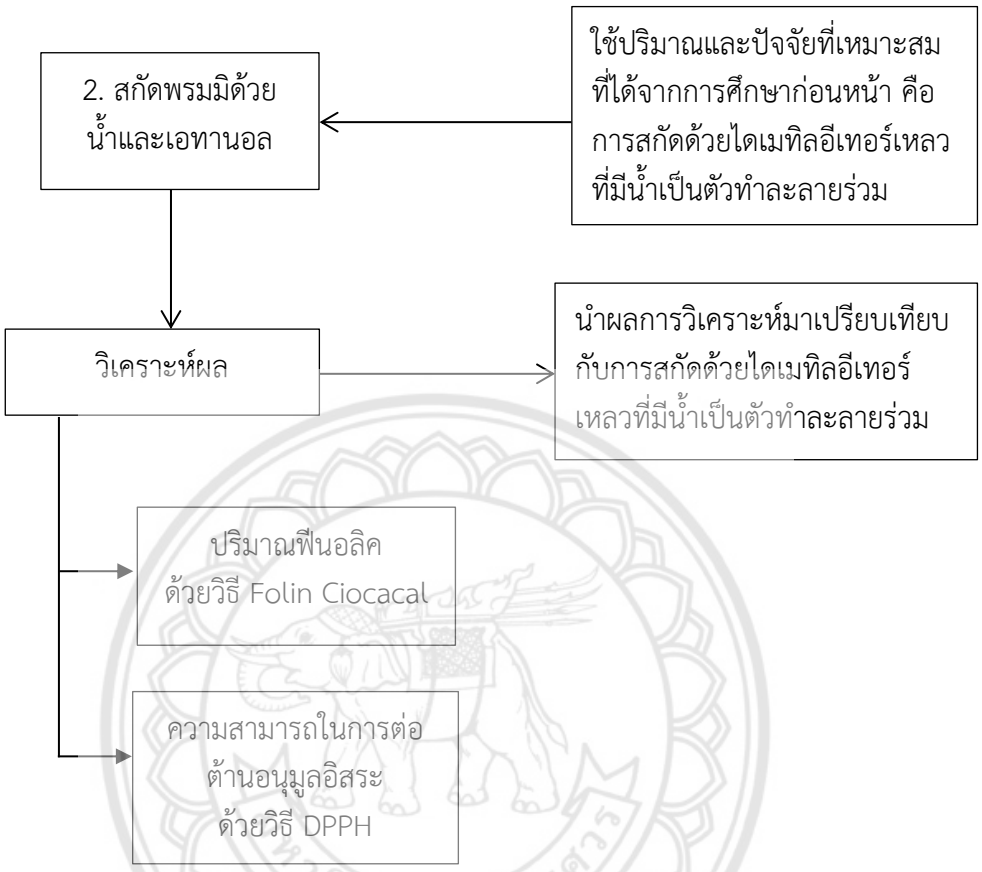
ผงพรมมิที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์มาจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (DME) จากบริษัททามิย่า ประเทศญี่ปุ่น

3.2 แผนผังการดำเนินการ



รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงการดำเนินการ

3.2 แผนผังการดำเนินการ (ต่อ)



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงการดำเนินการ (ต่อ)

3.3 การสกัดโดยใช้ไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย

เริ่มการทดลองด้วยการชั่งผงพรมมิประมาณ 8 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร นำน้ำซึ่งเป็นตัวช่วยในการทำละลายมาผสมด้วยสัดส่วนที่กำหนด บรรจุลงในกระดาษกรอง (เซลลูโลสขนาด 30 x 100 มิลลิเมตร) แล้วนำไปใส่ในเครื่องสกัด บรรจุตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นปริมาณในเครื่องสกัดด้วยอัตราส่วนน้ำหนักเป็นกรัมและใช้ความดันการสกัดอยู่ระหว่างช่วง 6 ถึง 7 บาร์ นำเครื่องสกัดวางลงบนเครื่องหมุนและทำงานด้วยอัตรา 500 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิตามที่กำหนดและทำการสกัดที่เวลาต่างๆที่กำหนด หลังจากที่ทำการสกัดแล้วนำสารมาวิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ เมื่อได้ปัจจัยที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีพิษเช่นเดียวกับไดเมทิลอีเทอร์เหลวคือ น้ำ และเอทานอลในสภาวะเดียวกัน

3.4 การสกัดด้วยน้ำและเอทานอล

เมื่อได้ปัจจัยที่เหมาะสมจากการศึกษาการสกัดโดยใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการสกัดโดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย เริ่มการทดลองด้วยการชั่งผงพรมมิประมาณ 8 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย จากนั้นนำไปสกัดโดยวิธีการสกัดด้วยคลื่นความเร็วสูง เมื่อได้สารสกัดนำไปกำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (Evaporator) หลังจากที่ทำการสกัดแล้วนำสารมาวิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ

ตาราง 3.1 แสดงปัจจัยในการทดลอง

จำนวนครั้ง	ตัวทำละลายร่วมต่อผงพรมมิ (ร้อยละ)	สัดส่วนโดยมวล DME (ปริมาณ/ปริมาณ)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1	15	5	35	30
2	20	5	35	30
3	25	5	35	30
4	30	5	35	30
5	เลือกค่าที่ดีที่สุด	4	35	30
6	เลือกค่าที่ดีที่สุด	5	35	30
7	เลือกค่าที่ดีที่สุด	6	35	30
8	เลือกค่าที่ดีที่สุด	7	35	30
9	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	30	30
10	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	35	30
11	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	40	30
12	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	45	30
13	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	15
14	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	30
15	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	45
16	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	เลือกค่าที่ดีที่สุด	60

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.5.1 ปริมาณของฟีนอลิคด้วยวิธี Folin Ciocacal นำสารละลายตัวอย่างเติมโฟลิน (Folin) ทิ้งไว้ 5 นาทีหลังจากนั้นเติมสารลาย Na_2CO_3 ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง อ่านค่าจากการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทลีดเดอร์ (Microplate leader) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์ และรายงานผลเป็นน้ำหนักเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรด โดยการรายงานผลของปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด เป็นไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อมิลลิกรัมของสารสกัดพรมมิ (ug/mg) [21] โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำ 3 ครั้ง และนำค่าทั้งหมดไปคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.5.2 ความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละสาร DPPH ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองเนื่องจากได้รับอิเล็กตรอนจากสารต่อต้านอนุมูลอิสระ มาเติมในสารตัวอย่างตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละความสามารถในต่อต้านอนุมูลอิสระ (%Inhibition) แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความสามารถในต่อต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้น ดังสมการ 3.1 เพื่อใช้หาค่าความเข้มข้นที่ต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) [21-22] โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำ 3 ครั้ง และนำค่าทั้งหมดไปคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\%\text{Inhibition} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad \textbf{(3.1)}$$

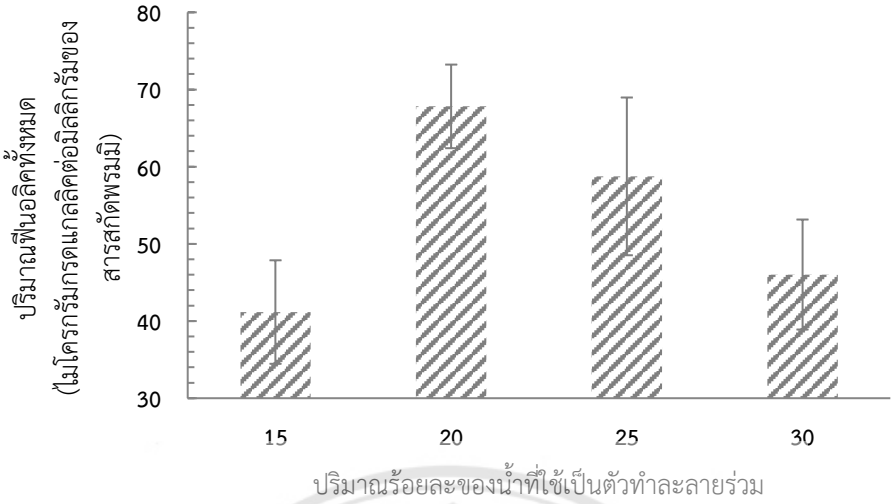
เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (นาโนเมตร)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในบทนี้ได้มีการนำเสนอผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองของการสกัดสาร ประกอบฟีนอลิคจากพรมมิ และฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดังกล่าวในกระบวนการสกัดด้วยการใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลว โดยได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณพรมมิ (กรัมต่อกรัม) อัตราส่วนของน้ำ (ตัวทำละลายร่วม) ต่อปริมาณพรมมิ (มิลลิลิตรต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (นาที) โดยเมื่อได้สภาวะในการสกัดที่เหมาะสมจากการสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลวแล้ว ได้นำไปเปรียบเทียบผลจากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษเช่นเดียวกัน

4.1 อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม (ร้อยละของน้ำในผงพืช)

สำหรับการศึกษาผลกระทบที่ได้จากอัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมเป็นตัวแปรแรกที่ทำการศึกษาเนื่องจากต้องการทราบว่าระดับความชื้นในพืชส่งผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญ โดยควบคุมอุณหภูมิการสกัดไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพรมมิ 5 ต่อ 1 ซึ่งจากผลการทดลองดังรูปที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มอัตราส่วนของน้ำในผงพืชจากร้อยละ 15 จนถึง ร้อยละ 20 แต่ลดลงเมื่อมีการเพิ่มอัตราส่วนของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วมไปที่ร้อยละ 25 จนถึง ร้อยละ 30 ผลดังกล่าวสามารถอธิบายได้ด้วยความเหมาะสมของสภาพความมีขั้วของตัวทำละลาย ซึ่งที่อัตราส่วนร้อยละ 15 ถึง ร้อยละ 20 ทำให้ตัวทำละลายมีขั้วเพิ่มขึ้นและเหมาะสมต่อการสกัดสารสำคัญ โดยมีงานวิจัยกล่าวไว้ว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น ทำให้สามารถสกัดสารสำคัญจำพวกสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ได้มากขึ้น [4] อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำมากเกินไปทำให้เกิดสภาวะขั้วไม่เหมาะสมต่อการสกัดสารสำคัญจำพวกสารประกอบฟีนอลิค นอกจากนี้ ผลฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพรมมิแสดงดัง รูปที่ 4.2 มีผลที่สอดคล้องเช่นเดียวกันเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น ดังแสดงในค่า IC50 หรือ ค่าความเข้มข้นที่ต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 มีค่าต่ำที่สุดคือให้ฤทธิ์ดีที่สุด



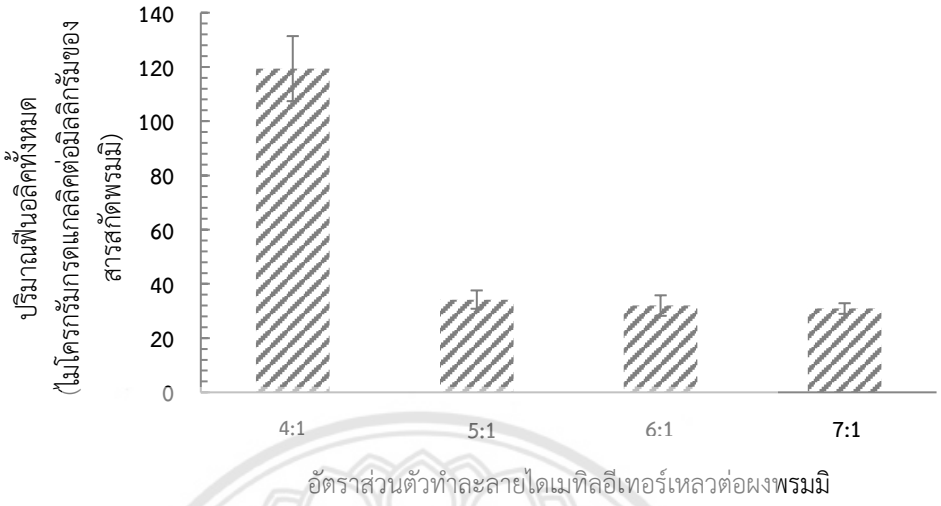
รูปที่ 4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม

รูปที่ 4.2 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม

4.2 อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพืช

สำหรับการศึกษาผลกระทบที่ได้จากอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว เป็นตัวแปรที่สองที่ทำการศึกษา โดยควบคุมอุณหภูมิการสกัดไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20 ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงใน รูปที่ 4.3 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพืช ทำให้สารประกอบฟีนอลิคลดลงจนเข้าสู่ปริมาณคงที่ ซึ่งได้ค่าปริมาณฟีนอลิคมากสุดที่อัตราส่วน 4 ต่อ 1 การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนไดเมทิลอีเทอร์เหลวในวิธีการแบบ Subcritical ไม่เหมาะสมต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิคจากพรมมิ เนื่องจากการเพิ่มไดเมทิลอีเทอร์เหลวมากไปทำให้เพิ่มความไม่มีขั้วส่งผลให้สภาวะขั้วไม่เหมาะสมต่อการสกัด

สารประกอบฟีนอลิค จากรูปที่ 4.4 มีมีผลที่สอดคล้องกันเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น ดังแสดงในค่า IC50 หรือ ค่าความเข้มข้นที่ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 มีค่าต่ำที่สุดคือให้ฤทธิ์ดีที่สุด



รูปที่ 4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์เหลว

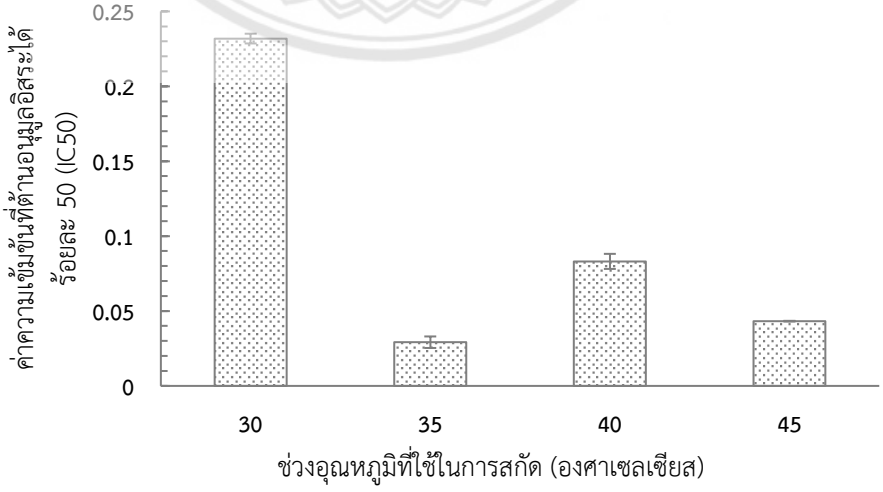
รูปที่ 4.4 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์เหลว

4.3 อุณหภูมิในการสกัด

สำหรับการศึกษาผลกระทบจากอุณหภูมิในการสกัดเพื่อต้องการหาช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัด โดยเริ่มตั้งแต่อุณหภูมิห้องคือ 30 องศาเซลเซียสไปจนถึง 45 องศาเซลเซียส และควบคุมอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์ 4 ต่อ 1 เป็นเวลา 30 นาทีที่อัตราส่วนของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20 ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.5 การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มขึ้น แต่จากรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าในช่วงแรกการเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นค่า IC50 ต่ำลงคือทำให้ได้ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น ซึ่งผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียส ทำให้ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันมากนักซึ่งไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบ

ฟีนอลิคที่เพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด จากผลการทดลองดังกล่าวอาจสามารถอธิบายได้จากกลไกการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิค โดยการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิคด้วยวิธีการโฟลินมีข้อจำกัด เนื่องจากการตรวจวัดด้วยวิธีการนี้นั้น สารโฟลินจะเข้าทำปฏิกิริยากับอิเล็กตรอนที่แตกตัวออกมาจากตัวรีดิวซ์ ซึ่งอาจตรวจวัดสารที่เป็นตัวรีดิวซ์อื่นที่ไม่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระด้วย เช่น หมู่อัลดิไฮด์ในน้ำตาลอัลโตส หมู่ไกลโคไซด์ เป็นต้น [23] ทั้งนี้ที่อุณหภูมิเพิ่ม 45 องศาเซลเซียสอาจเกิดสกัดตัวรีดิวซ์อื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิคออกมามาก ผลดังกล่าวเป็นเช่นเดียวกับงานวิจัยของ D.A. Rickert , M.A. Meyer [24] ทำให้ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระไม่สอดคล้องกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด เมื่อพิจารณาถึงฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด (ยกเว้นอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากอาจตรวจวัดสารที่เป็นตัวรีดิวซ์อื่นที่ไม่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ) ที่อุณหภูมิ35 องศาเซลเซียสจึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัด

รูปที่ 4.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส

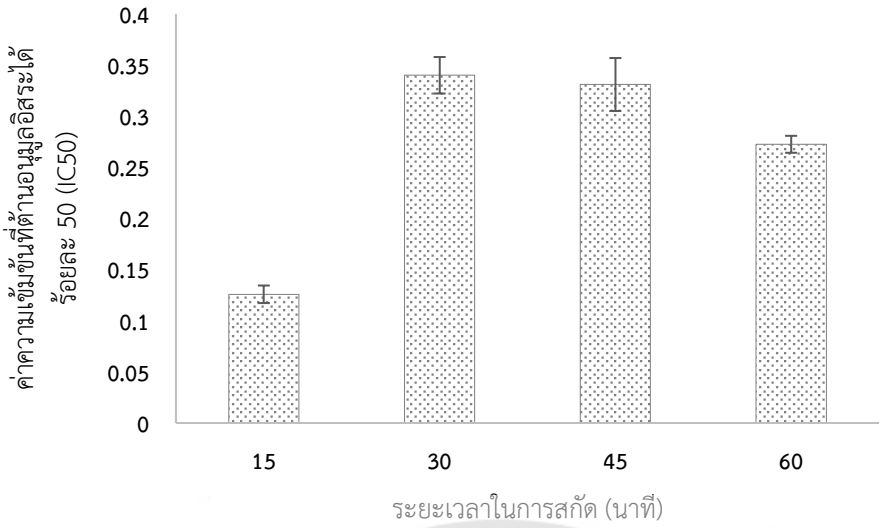


รูปที่ 4.6 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส

4.4 เวลาที่ใช้ในการสกัด

สำหรับผลกระทบจากระยะเวลาในการสกัดเป็นตัวแปรสุดท้ายที่ทำการศึกษา เนื่องจากต้องการหาระยะเวลาที่เหมาะสมที่สามารถสกัดสารสำคัญออกมาได้ดีที่สุด โดยควบคุมอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็น 4 ต่อ 1 สกัดด้วยอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20 โดยปกติแล้วการเพิ่มระยะเวลาในการทำการสกัดควรทำให้สกัดได้สารสำคัญออกมามากขึ้น อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.7 เวลาที่เพิ่มขึ้นจาก 15-30 นาที ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคลดลง และเมื่อเพิ่มเวลาจาก 30 ถึง 60 นาทีทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้ตามทฤษฎีของการสกัดปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสมดุลปริมาณสารจะคงที่ อย่างไรก็ตามผลในการศึกษาครั้งนี้ไม่เป็นไปตามทฤษฎี ดังกล่าวจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อทำความเข้าใจกลไกของปัจจัยต่างๆของเวลาที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคดังกล่าว ซึ่งได้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคมากที่สุดที่เวลา 15 นาที ส่วนฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดังแสดงในรูปที่ 4.8 มีผลที่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิค ดังแสดงในค่า IC50 ที่มีค่าต่ำที่สุดคือให้ฤทธิ์ดีที่สุด

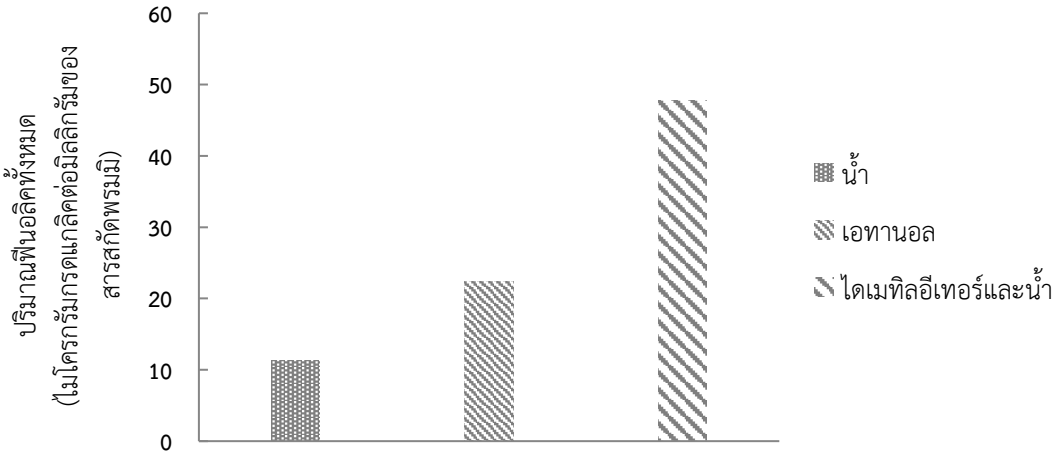
รูปที่ 4.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่ใช้เวลาในการสกัด 15 ถึง 60 นาที



รูปที่ 4.8 การวิเคราะห์สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เวลาในการสกัด 15 ถึง 60 นาที

4.5 เปรียบเทียบการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สำหรับการศึกษานี้ เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษทั้ง 2 ชนิด คือน้ำ และเอทานอล เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีพิษเช่นกัน โดยใช้สภาวะเดียวกันกับไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม คือนำไปสกัดด้วยอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดังแสดงในรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าการสกัดด้วยตัวทำลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วมให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคมากกว่าถึง 47.79 ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิกรัมสารสกัด และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ค่าความเข้มข้นที่ต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50) 0.1258 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นน้ำและเอทานอลเพียงอย่างเดียวให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดเพียง 11.243 และ 22.431 ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิกรัมสารสกัดตามลำดับ และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 1.4043 และ 0.3662 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิคมีทั้งความเป็นขั้วและไม่เป็นขั้ว การใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายซึ่งค่อนข้างมีขั้วมาก ส่งผลให้สภาวะไม่เหมาะต่อการสกัด ส่วนไดเมทิลอีเทอร์เหลวมีความเป็นขั้วที่น้อยกว่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมจึงช่วยเพิ่มสภาวะความเป็นขั้วให้เหมาะสมต่อการสกัด [4] ขณะที่การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 4.10 มีแนวโน้มสอดคล้องกันคือการสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลวออกฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด



รูปที่ 4.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิค

รูปที่ 4.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญออกจากพรมมิ โดยศึกษาตัวแปรต่างๆ ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว อุณหภูมิ อัตราส่วนของน้ำที่ตัวทำละลายร่วม และเวลา เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลในสภาวะเดียวกัน โดยการนำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ Folin Ciocalteu Colorimatric assay และวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) ตามลำดับ สามารถสรุปได้ดังนี้

5.1.1 สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารสำคัญออกจากพรมมิคือ อัตราส่วนตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20 อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อผงพืชเท่ากับ 4 ต่อ 1 สกัดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

5.1.2 การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระลดลง

5.1.3 การเพิ่มอุณหภูมิที่สูงเกิน 35 องศาเซลเซียสทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง

5.1.4 การใช้ตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม ทำให้ปริมาณสารสำคัญได้มากที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายที่เป็นน้ำกับเอทานอลเพียงอย่างเดียว

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการวางแผนการเตรียมวัตถุดิบก่อนที่จะทำการทดลอง เนื่องจากการการใช้วัตถุดิบจากแหล่งและอายุพืชที่ต่างกันจะทำให้ผลการทดลองเกิดการคลาดเคลื่อนได้

5.2.2 สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ได้มีแค่สารประกอบฟีนอลิค ดังนั้น ควรทำการศึกษาหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากตัวอื่นๆ

5.2.3 ควรทำการวิเคราะห์ในเชิงลึกในส่วนของเวลาการสกัดเพื่อหาสาเหตุที่ทำให้สารสำคัญลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดนาน

บรรณานุกรม

[1] รวินิภา ศรีมูล และศิริจันทร์ ตาใจ. (2557). **ปริมาณฟีนอลิครวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในจังหวัดจันทบุรี**. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. 24-30.

[2] ชาญชัย สาดแสงจันทร์. (2556). **พรมมิ สมุนไพรเพื่อสุขภาพสมอง**. ธรรมศาสตร์เวชสาร. 554-560.

[3] Mustafa A, Turner C. (2011). **Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review.** Analytica Chimica Acta, 8-18.

[4] อรชร ไอสันเทียะ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2557-2558) **การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิค สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรือง**. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรรวค์, 29-40.

[5] ปราลี พรายชื่น, ปวีณวรรณ พรายชื่น และสิริพร พงศ์ทองผาสุก. (2556). **ผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฟักข้าว.** วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 90-96.

[6] Wikipedia. (14 มิถุนายน 2558). **พรมมิ**. สืบค้นเมื่อ 6 ธันวาคม 2560, จาก https://th.wikipedia.org/wiki/พรมมิ

[7] รองศาสตราจารย์ ดร. กรกนก อิงคนินันท์ และคณะ. (2553). **การศึกษาพัฒนาพรมมิเพื่อใช้เป็นสมุนไพรบำรุงความจำระยะที่ 4 ระหว่างปี พ.ศ.2552-2553.** วิทยานิพนธ์ ศศ.ม., มหาวิทยาลัยนเรศวร.

[8] Watoo Phrompittayarat, Waraporn Putalun, Hiroyuki Tanaka,Kanchalee Jetiyanon, Sakchai Wittaya-areekul and Kornkanok Ingkaninan. (2007). **Comparison of Various Extraction Methods of Bacopa monnieri.** Master thesis, Naresuan University.

[9] Gutteridge JM, Halliwell B. (1992). **Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine.** Free Radical Biology and Medicine. 93–94.

[10] Nimse SB and Pal D. (2015). **Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms.** RSC Advances. 27986-28006.

[11] Surveswan S. and Cai Y. (2006 August 15). **Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants.** Food Chemistry, 938-953.

[12] Stough, C., L. A. Downey, J. Lloyd, B. Silber, S. Redman, C. Hutchison, K. Wesnes and P. J. Nathan. (2008). **Examining the nootropic effects of a special extract of Bacopamonnieraon human cognitive functioning: 90 day double-blind placebocontrolled randomize d trial.** Phytotherapy Research Swinburne University.

[13] Rajalakshmi and Narrasimhan. (27 มีนาคม 2557). **Antioxidant.** สืบค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2560, จาก http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning50/FT320/0311.htm.

[14] เนตรนภา เมยกลาง และดร.เฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2557). **การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้.** การศึกษาค้นคว้าด้วยตัวเอง บศ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[15] ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ และดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. (19 มีนาคม 2557). **สารประกอบฟีนอลิค**. สืบค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2560, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds

[16] Holldorff H and Knapp . (1988). **Fluid Phase Equilibria**. Technical University Berlin F.R.G.

[17] Fletcher A, Fletcher K and Catchpole O. (2547). **Extraction of compounds from dairy products**. สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2560, จาก https://www.foodstandards.gov.au.

[18] National Institutes of Health. **Dimethyl Ether.** สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2560, จาก https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/dimethyl_ether

[19] Dolinowski T. (2011). **Animation of Soxhlet extractor working**. สืบค้นเมื่อ 15 ธันวาคม 2560, จาก Wikimedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extracto.

[20] เภสัชกรหญิง รองศาสตราจารย ดร.ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์. (2555). **การสกัดพืชสมุนไพรโดยการสกัดด้วยของไหลความดันสูง.** วารสารไทยไภษัชยนิพนธ, 1-19.

[21] นงนุช เลาหะวิสุทธิ์, อัจฉรี เรืองเดช และสมชาย หวังวิบูลย์กิจ. (2560). **ผลของ Kinetin และ IAA ต่อการเจริญเติบโตและการต้านอนุมูลอิสระจากพรรณไม้น้ำพรมมิ.** วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 76–83.

[22] Abhishek Mathur, Satish Verma, Reena Purohit and Santosh K and Singh Deepika. (2010). **Pharmacological investigation of Bacopa monnieri on the basis of antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties**. Master thesis, M.S., National Institute of MalariaResearch, Hardwar (U.K), India Sai Institute of Paramedical & Allied Sciences, India Jiwaji University, Gwalior (M.P)

[23] Jace D. Everette, Quinton M. Bryant, Ashlee M. Green and Yvonne A. (2559). **A thorough study of reactivity of various compound classes towards the folin-ciocalteu reagent**. HHS Public Access. 8139-8144.

[24] D.A. Ricker, M.A. Meyer, J. Hu and P.A. Murphy. (2004). **Effect of Extraction pH and Temperature on Isoflavone and Saponin Partitioning and Profile During Soy Protein Isolate Production**. Food Science. 623-631.

[25] Abhishek Mathur, Satish K. Verma, Reena Purohit, Santosh K. Singh, Deepika Mathur, GBKS Prasad and V.K. Dua. (2010). **Pharmacological investigation of Bacopa monnieri on the basis of antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties**. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 191-198.

ภาคผนวก

1. การคำนวณปริมาณกรดฟีนอลิค

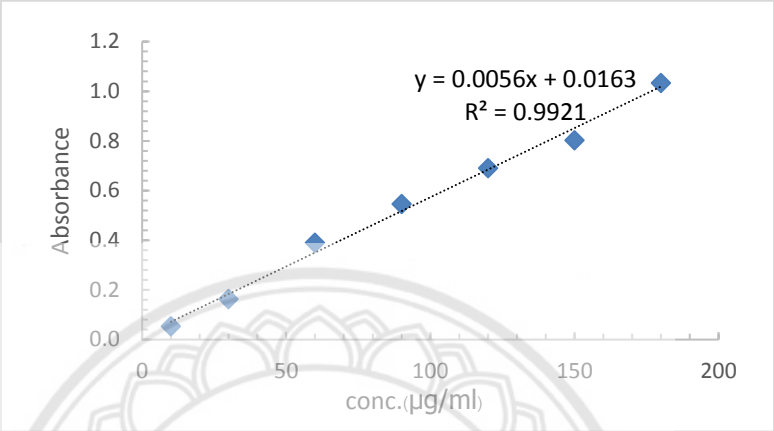
แสดงปริมาณฟีนอลิคที่สภาวะต่างๆ

ครั้งที่	ตัวทำละลายร่วมต่อผงพรมมิ (ร้อยละ)	สัดส่วนโดยมวลไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ปริมาณ/ปริมาณ)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณฟีนอลิคต่อผงพืช (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)
1	15	5	35	30	41.16
2	20	5	35	30	67.81
3	25	5	35	30	58.74
4	30	5	35	30	46.03
5	20	4	35	30	119.38
6	20	5	35	30	34.20
7	20	6	35	30	32.00
8	20	7	35	30	30.90
9	20	4	30	30	37.20
10	20	4	35	30	50.43
11	20	4	40	30	58.09
12	20	4	45	30	207.36
13	20	4	35	15	47.79
14	20	4	35	30	31.66
15	20	4	35	45	34.33
16	20	4	35	60	37.82

$$\text{Absorbance} = \text{Standard} - \text{Blank}$$

$$= 0.2767 - 0.09$$

$$= 0.1867$$



$$\text{Conc.} = \frac{\text{Absorbance} + C}{m}$$

$$= \frac{0.1867 - 0.0163}{0.0056}$$

$$= 30.25$$

2. การคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 โดยวิธี DPPH

ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 หรือ IC50 ที่สภาวะต่างๆ

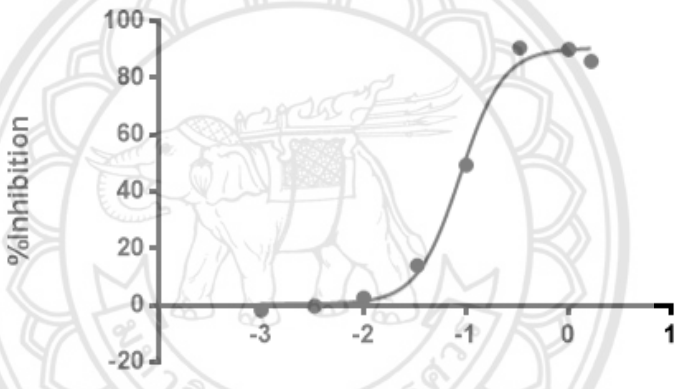
ครั้งที่	ตัวทำละลายร่วมต่อผงพรมมิ (ร้อยละ)	สัดส่วนโดยมวลไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ปริมาณ/ปริมาณ)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1	15	5	35	30	0.166
2	20	5	35	30	0.135
3	25	5	35	30	0.212
4	30	5	35	30	0.201
5	20	4	35	30	0.062
6	20	5	35	30	0.431
7	20	6	35	30	0.380
8	20	7	35	30	0.396
9	20	4	30	30	0.232
10	20	4	35	30	0.029
11	20	4	40	30	0.083
12	20	4	45	30	0.043
13	20	4	35	15	0.126
14	20	4	35	30	0.340
15	20	4	35	45	0.331
16	20	4	35	60	0.273

$$\%\text{Inhibition} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

$$= \frac{(\text{Control} - \text{Blank}_c) - (\text{Sample} - \text{Blank}_s)}{(\text{Control} - \text{Blank}_c)} \times 100$$

$$= \frac{(0.794 - 0.043) - (0.496 - 0.448)}{(0.794 - 0.043)} \times 100$$

$$= 93.608$$



3. ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิค

ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละต่างๆ

อัตราส่วนของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม	ร้อยละ 15	ร้อยละ20	ร้อยละ 25	ร้อยละ 30
ครั้งที่ 1	0.276	0.462	0.366	0.344
	0.271	0.503	0.475	0.375
	0.283	0.52	0.433	0.333
Blank	0.09	0.101	0.115	0.118
ครั้งที่ 2	0.273	0.439	0.473	0.398
	0.296	0.44	0.479	0.414
	0.295	0.457	0.474	0.442
Blank	0.089	0.112	0.104	0.133
ครั้งที่ 3	0.333	0.412	0.333	0.281
	0.368	0.467	0.368	0.36
	0.367	0.441	0.367	0.333
Blank	0.099	0.077	0.099	0.118

ตารางที่ 3.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

อัตราส่วนของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม	4 ต่อ 1	5 ต่อ 1	6 ต่อ 1	7 ต่อ 1
ครั้งที่ 1	0.678	0.229	0.211	0.242
	0.689	0.31	0.248	0.31
	0.698	0.27	0.264	0.272
Blank	0.07	0.084	0.086	0.118
ครั้งที่ 2	0.695	0.247	0.215	0.248
	0.719	0.272	0.324	0.318
	0.715	0.288	0.296	0.321
Blank	0.068	0.106	0.083	0.136
ครั้งที่ 3	0.874	0.327	0.244	0.258
	0.813	0.301	0.259	0.266
	0.796	0.321	0.271	0.257
Blank	0.081	0.115	0.096	0.083

ตารางที่ 3.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	30	35	40	45
ครั้งที่ 1	0.29	0.367	0.485	1.359
	0.309	0.376	0.447	1.483
	0.312	0.395	0.464	1.526
Blank	0.058	0.073	0.086	0.056
ครั้งที่ 2	0.288	0.35	0.475	1.412
	0.357	0.366	0.455	1.356
	0.353	0.393	0.478	1.468
Blank	0.063	0.067	0.076	0.052
ครั้งที่ 3	0.293	0.348	0.46	1.454
	0.325	0.356	0.462	1.415
	0.326	0.378	0.486	1.434
Blank	0.062	0.082	0.098	0.05

ตารางที่ 3.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	15	30	45	60
ครั้งที่ 1	0.331	0.21	0.232	0.241
	0.325	0.222	0.245	0.277
	0.334	0.23	0.231	0.286
Blank	0.058	0.059	0.061	0.067
ครั้งที่ 2	0.342	0.207	0.241	0.254
	0.382	0.235	0.251	0.295
	0.401	0.234	0.257	0.29
Blank	0.059	0.062	0.061	0.065
ครั้งที่ 3	0.283	0.22	0.244	0.258
	0.303	0.242	0.246	0.28
	0.332	0.235	0.253	0.287
Blank	0.053	0.06	0.057	0.062

4. ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 15	0.479	0.289	0.612	0.699	0.727	0.738	0.739	0.74	0.789
	0.523	0.367	0.669	0.772	0.789	0.806	0.808	0.799	0.798
	0.486	0.327	0.668	0.773	0.786	0.81	0.819	0.817	0.795
Blank	0.448	0.164	0.077	0.052	0.044	0.043	0.042	0.05	0.043
ครั้งที่ 2 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 15	0.829	0.424	0.674	0.775	0.781	0.816	0.793	0.793	0.816
	0.538	0.317	0.659	0.759	0.799	0.793	0.801	0.797	0.811
	0.552	0.329	0.668	0.761	0.805	0.811	0.811	0.815	0.813
Blank	0.509	0.163	0.079	0.054	0.045	0.043	0.042	0.044	0.043
ครั้งที่ 3 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 15	0.484	0.347	0.648	0.726	0.758	0.762	0.757	0.761	0.787
	0.498	0.343	0.667	0.763	0.791	0.8	0.802	0.798	0.797
	0.499	0.325	0.656	0.746	0.79	0.791	0.803	0.804	0.789
Blank	0.445	0.166	0.08	0.052	0.045	0.043	0.04	0.041	0.041

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20	0.521	0.284	0.622	0.742	0.787	0.804	0.813	0.809	0.777
	0.553	0.282	0.623	0.736	0.792	0.806	0.809	0.81	0.77
	0.558	0.342	0.619	0.745	0.797	0.808	0.814	0.816	0.787
Blank	0.482	0.186	0.082	0.054	0.045	0.042	0.04	0.043	0.04
ครั้งที่ 2 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20	0.539	0.293	0.632	0.759	0.787	0.802	0.804	0.798	0.739
	0.547	0.317	0.603	0.738	0.782	0.784	0.796	0.806	0.758
	0.535	0.293	0.616	0.741	0.786	0.799	0.787	0.805	0.761
Blank	0.468	0.181	0.08	0.054	0.045	0.042	0.04	0.042	0.041
ครั้งที่ 3 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 20	0.484	0.347	0.648	0.726	0.758	0.762	0.757	0.761	0.809
	0.498	0.343	0.667	0.763	0.791	0.8	0.802	0.798	0.757
	0.499	0.325	0.656	0.746	0.79	0.791	0.803	0.804	0.792
Blank	0.445	0.166	0.08	0.052	0.045	0.043	0.04	0.041	0.04

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 25	0.824	0.574	0.286	0.643	0.834	0.875	0.896	0.903	0.931	0.953
	0.845	0.569	0.303	0.68	0.884	0.938	0.956	0.955	0.945	0.95
	0.85	0.576	0.374	0.859	1.004	1.051	1.073	1.066	0.948	0.947
Blank	0.766	0.511	0.186	0.096	0.055	0.047	0.043	0.043	0.041	0.041
ครั้งที่ 2 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 25	0.857	0.548	0.28	0.692	0.867	0.919	0.944	0.948	0.961	0.966
	0.87	0.544	0.28	0.683	0.859	0.923	0.939	0.942	0.959	0.95
	0.865	0.565	0.281	0.706	0.884	0.918	0.938	0.949	0.947	0.951
Blank	0.803	0.495	0.186	0.085	0.056	0.046	0.043	0.043	0.042	0.042
ครั้งที่ 3 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 25	0.895	0.58	0.294	0.696	0.862	0.915	0.935	0.946	0.958	1.029
	0.914	0.582	0.301	0.695	0.874	0.932	0.945	0.956	0.96	1.038
	0.9	0.588	0.299	0.691	0.883	0.94	0.961	0.977	0.954	1.028
Blank	0.842	0.533	0.21	0.095	0.059	0.048	0.045	0.044	0.042	0.045

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมร้อยละต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 30	0.373	0.356	0.682	0.729	0.793	0.763	0.766	0.776	0.748
	0.379	0.339	0.654	0.709	0.775	0.777	0.775	0.783	0.757
	0.367	0.316	0.635	0.693	0.759	0.787	0.783	0.78	0.678
Blank	0.329	0.128	0.067	0.049	0.042	0.041	0.04	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 30	0.373	0.335	0.649	0.719	0.777	0.782	0.783	0.79	0.769
	0.384	0.319	0.644	0.708	0.773	0.786	0.779	0.777	0.74
	0.381	0.326	0.649	0.719	0.779	0.825	0.81	0.83	0.777
Blank	0.338	0.138	0.068	0.05	0.044	0.043	0.04	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 น้ำตัวทำละลายร่วมร้อยละ 30	0.593	0.32	0.777	0.967	1.039	1.038	1.058	1.044	1.075
	0.61	0.317	0.783	0.985	1.047	1.051	1.07	1.069	1.069
	0.599	0.315	0.774	0.965	1.038	1.042	1.056	1.066	1.066
Blank	0.537	0.216	0.09	0.058	0.046	0.043	0.041	0.044	0.04

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 4 ต่อ 1	0.631	0.312	0.592	1.071	1.251	1.289	1.333	1.341
	0.639	0.313	0.472	1.012	1.194	1.239	1.29	1.284
	0.646	0.318	0.576	1.017	1.243	1.286	1.321	1.328
Blank	0.553	0.203	0.094	0.057	0.046	0.043	0.041	0.042
ครั้งที่ 2 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 4 ต่อ 1	0.609	0.301	0.424	1.062	1.213	1.262	1.285	1.316
	0.637	0.334	0.429	1.058	1.228	1.28	1.332	1.357
	0.618	0.319	0.401	1.013	1.184	1.232	1.289	1.294
Blank	0.495	0.213	0.098	0.058	0.047	0.042	0.041	0.042
ครั้งที่ 3 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 4 ต่อ 1	0.609	0.311	0.514	1.041	1.236	1.295	1.314	1.322
	0.637	0.318	0.521	1.05	1.265	1.329	1.343	1.354
	0.571	0.314	0.545	1.063	1.282	1.338	1.36	1.369
Blank	0.514	0.197	0.09	0.058	0.045	0.042	0.041	0.041

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ควบคุม
ครั้งที่ 1 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 5 ต่อ 1	0.895	0.614	0.99	1.215	1.314	1.31	1.308	1.302	1.27
	0.89	0.579	0.896	1.149	1.228	1.244	1.229	1.218	1.306
	0.795	0.598	0.92	1.178	1.261	1.284	1.251	1.268	1.268
Blank	0.854	0.486	0.18	0.087	0.054	0.044	0.041	0.041	0.041
ครั้งที่ 2 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 5 ต่อ 1	0.884	0.587	0.973	1.214	1.275	1.297	1.269	1.243	1.287
	0.864	0.591	0.904	1.179	1.268	1.26	1.269	1.259	1.289
	0.842	0.578	0.895	1.181	1.231	1.262	1.246	1.26	1.265
Blank	0.759	0.49	0.181	0.083	0.054	0.046	0.041	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 5 ต่อ 1	0.875	0.582	1.023	1.25	1.321	1.317	1.331	1.319	1.281
	0.884	0.598	1.044	1.271	1.334	1.344	1.356	1.353	1.29
	0.883	0.578	1.008	1.246	1.316	1.348	1.376	1.369	1.257
Blank	0.847	0.492	0.184	0.08	0.052	0.044	0.041	0.041	0.04

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 6 ต่อ 1	0.912	0.588	0.941	1.183	1.271	1.267	1.272	1.239	1.295
	0.986	0.639	0.955	1.19	1.257	1.248	1.256	1.234	1.277
	0.972	0.626	0.964	1.203	1.281	1.29	1.277	1.254	1.24
Blank	0.924	0.518	0.211	0.088	0.055	0.045	0.041	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 6 ต่อ 1	1.056	0.671	0.93	1.267	1.333	1.349	1.362	1.347	1.314
	1.1	0.7	0.92	1.267	1.357	1.378	1.373	1.37	1.301
	1.139	0.683	0.84	1.183	1.256	1.283	1.278	1.288	1.31
Blank	1.03	0.612	0.22	0.091	0.059	0.047	0.042	0.042	0.04
ครั้งที่ 3 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 6 ต่อ 1	1.109	0.653	0.834	1.157	1.242	1.242	1.25	1.273	1.261
	1.047	0.893	0.935	1.214	1.277	1.234	1.28	1.289	1.256
	1.113	0.746	0.877	1.189	1.258	1.283	1.292	1.274	1.256
Blank	1.023	0.562	0.249	0.1	0.062	0.047	0.041	0.041	0.04

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 7 ต่อ 1	0.938	0.678	0.878	1.057	1.174	1.187	1.192	1.202	1.251
	0.994	0.632	0.9	1.111	1.228	1.242	1.248	1.244	1.277
	0.952	0.618	0.88	1.123	1.242	1.256	1.254	1.259	1.27
Blank	0.898	0.543	0.209	0.089	0.056	0.047	0.042	0.042	0.04
ครั้งที่ 2 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 7 ต่อ 1	0.955	0.614	0.886	1.128	1.225	1.237	1.243	1.241	1.307
	0.984	0.663	0.911	1.128	1.247	1.254	1.245	1.255	1.297
	0.987	0.651	0.902	1.121	1.255	1.256	1.261	1.267	1.284
Blank	0.91	0.542	0.205	0.087	0.057	0.051	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 อัตราส่วนตัวทะลายต่อผงพรมมิ 7 ต่อ 1	0.886	0.578	0.874	1.169	1.248	1.263	1.27	1.272	1.277
	0.975	0.61	0.879	1.188	1.262	1.253	1.248	1.284	1.278
	0.961	0.719	0.897	1.203	1.3	1.305	1.307	1.31	1.248
Blank	0.863	0.53	0.196	0.093	0.061	0.047	0.042	0.041	0.04

ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	0.913	0.578	0.486	0.784	0.858	0.871	0.884	0.899	0.925
	0.948	0.601	0.5	0.815	0.899	0.897	0.92	0.935	0.951
	0.924	0.606	0.5	0.818	0.894	0.897	0.933	0.93	0.928
Blank	0.887	0.551	0.203	0.089	0.073	0.045	0.044	0.042	0.04
ครั้งที่ 2 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	0.898	0.581	0.505	0.811	0.896	0.904	0.933	0.937	0.941
	0.912	0.597	0.502	0.823	0.897	0.912	0.935	0.928	0.944
	0.921	0.592	0.496	0.821	0.899	0.906	0.917	0.939	0.941
Blank	0.869	0.549	0.203	0.087	0.056	0.046	0.042	0.041	0.041
ครั้งที่ 3 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	0.89	0.591	0.524	0.846	0.951	0.938	0.962	0.972	0.94
	0.923	0.599	0.508	0.83	0.915	0.912	0.934	0.947	0.935
	0.927	0.597	0.524	0.828	0.909	0.908	0.937	0.936	0.903
Blank	0.868	0.535	0.199	0.088	0.06	0.045	0.041	0.041	0.039

ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	0.846	0.527	0.52	0.822	0.92	0.916	0.955	0.954	0.93
	0.844	0.543	0.54	0.85	0.954	0.934	0.978	0.98	0.934
	0.848	0.546	0.485	0.788	0.892	0.894	0.922	0.946	0.932
Blank	0.84	0.508	0.186	0.083	0.056	0.044	0.044	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	0.836	0.545	0.5	0.801	0.936	0.892	0.941	0.947	1.029
	0.848	0.555	0.513	0.846	0.955	0.937	0.968	0.992	1.034
	0.867	0.555	0.486	0.814	0.908	0.906	0.94	0.956	1.001
Blank	0.821	0.503	0.204	0.084	0.055	0.045	0.041	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	0.881	0.56	0.488	0.809	0.91	0.892	0.952	0.962	1.056
	0.884	0.545	0.506	0.813	0.917	0.916	0.959	0.959	1.031
	0.87	0.562	0.539	0.845	0.964	0.968	0.994	0.987	1.042
Blank	0.824	0.511	0.199	0.086	0.056	0.045	0.041	0.041	0.04

ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	0.912	0.54	0.258	0.56	0.848	0.933	0.953	0.959	0.955
	0.903	0.54	0.258	0.546	0.84	0.942	0.964	0.978	0.951
	0.902	0.556	0.258	0.527	0.826	0.925	0.949	0.967	0.951
Blank	0.777	0.455	0.172	0.082	0.054	0.045	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	0.932	0.546	0.257	0.496	0.813	0.905	0.953	0.967	0.949
	0.866	0.552	0.253	0.481	0.817	0.911	0.955	0.966	0.952
	0.879	0.56	0.26	0.489	0.827	0.917	0.959	0.972	0.955
Blank	0.792	0.465	0.182	0.085	0.055	0.046	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	0.859	0.554	0.26	0.498	0.819	0.92	0.949	0.92	0.978
	0.871	0.574	0.264	0.501	0.825	0.932	0.965	0.888	0.972
	0.868	0.596	0.273	0.531	0.843	0.949	0.989	1.009	0.972
Blank	0.797	0.499	0.199	0.084	0.056	0.045	0.042	0.041	0.04

ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	0.675	0.505	0.294	0.285	1.217	1.558	1.745	1.786	1.825
	0.695	0.509	0.305	0.296	1.331	1.551	1.796	1.843	1.833
	0.693	0.505	0.305	0.283	1.279	1.586	1.783	1.814	1.757
Blank	0.537	0.378	0.141	0.07	0.05	0.044	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	0.688	0.51	0.3	0.306	1.34	1.609	1.824	1.859	1.855
	0.695	0.505	0.301	0.304	1.323	1.637	1.824	1.863	1.847
	0.712	0.504	0.304	0.292	1.332	1.657	1.88	1.903	1.837
Blank	0.527	0.335	0.138	0.069	0.052	0.043	0.041	0.041	0.041
ครั้งที่ 3 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	0.685	0.492	0.305	0.336	1.39	1.665	1.891	1.938	1.972
	0.7	0.516	0.319	0.348	1.407	1.933	1.97	2.199	1.973
	0.685	0.492	0.305	0.336	1.39	1.665	1.891	1.938	1.972
Blank	0.531	0.329	0.136	0.069	0.053	0.044	0.042	0.04	0.04

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เวลาต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ควบคุม
ครั้งที่ 1 เวลา 15 นาที	1.187	0.732	0.351	0.696	0.86	0.922	0.935	0.94	0.939
	1.187	0.749	0.351	0.695	0.858	0.924	0.94	0.946	0.944
	1.187	0.766	0.353	0.7	0.868	0.924	0.936	0.944	0.935
Blank	1.167	0.689	0.255	0.105	0.061	0.047	0.043	0.041	0.041
ครั้งที่ 2 เวลา 15 นาที	1.113	0.7	0.333	0.67	0.82	0.883	0.883	0.877	0.921
	1.037	0.687	0.35	0.716	0.861	0.931	0.944	0.954	0.949
	1.076	0.738	0.343	0.701	0.855	0.914	0.925	0.938	0.929
Blank	1.017	0.674	0.24	0.103	0.059	0.047	0.043	0.042	0.041
ครั้งที่ 3 เวลา 15 นาที	1.129	0.711	0.343	0.702	0.862	0.917	0.938	0.945	0.938
	1.136	0.761	0.349	0.689	0.854	0.918	0.931	0.931	0.928
	1.101	0.733	0.346	0.702	0.862	0.92	0.936	0.937	0.926
Blank	0.962	0.651	0.249	0.101	0.059	0.048	0.042	0.048	0.053

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เวลาต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 เวลา 30 นาที	0.997	0.659	0.677	0.879	0.936	0.945	0.956	0.949	0.932
	1.006	0.666	0.666	0.875	0.928	0.943	0.955	0.948	0.925
	1.042	0.681	0.681	0.889	0.943	0.952	0.971	0.969	0.935
Blank	1.027	0.62	0.235	0.097	0.061	0.047	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 เวลา 30 นาที	1.048	0.642	0.667	0.867	0.93	0.947	0.957	0.959	0.963
	1.055	0.661	0.666	0.889	0.946	0.973	0.969	0.964	0.966
	1.067	0.668	0.681	0.888	0.953	0.975	0.976	0.969	0.953
Blank	1.021	0.595	0.229	0.1	0.059	0.047	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 เวลา 30 นาที	1.075	0.665	0.659	0.877	0.938	0.95	0.969	0.964	0.965
	1.078	0.681	0.656	0.882	0.946	0.969	0.976	0.969	0.955
	1.125	0.684	0.665	0.892	0.953	0.966	0.98	0.981	0.967
Blank	1.109	0.678	0.241	0.098	0.061	0.047	0.043	0.042	0.04

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เวลาต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 เวลา 45 นาที	1.104	0.694	0.673	0.856	0.927	0.931	0.94	0.935	0.948
	1.134	0.717	0.666	0.851	0.918	0.934	0.94	0.941	0.951
	1.121	0.73	0.687	0.878	0.948	0.956	0.961	0.955	0.94
Blank	1.112	0.662	0.24	0.101	0.061	0.047	0.043	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 เวลา 45 นาที	1.131	0.716	0.675	0.831	0.929	0.94	0.959	0.963	0.953
	1.143	0.724	0.664	0.864	0.924	0.945	0.946	0.945	0.949
	1.158	0.727	0.684	0.884	0.95	0.955	0.972	0.963	0.952
Blank	1.078	0.675	0.249	0.105	0.062	0.048	0.043	0.042	0.04
ครั้งที่ 3 เวลา 45 นาที	1.149	0.71	0.669	0.866	0.934	0.947	0.956	0.952	0.942
	1.145	0.734	0.702	0.878	0.942	0.97	0.973	0.982	0.939
	1.17	0.753	0.696	0.88	0.937	0.961	0.963	0.97	0.94
Blank	1.13	0.667	0.25	0.108	0.062	0.048	0.043	0.042	0.04

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่เวลาต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	5	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	ตัวควบคุม
ครั้งที่ 1 เวลา 60 นาที	1.257	0.717	0.656	0.872	0.922	0.946	0.965	0.966	0.94
	1.26	0.726	0.644	0.876	0.935	0.958	0.97	0.973	0.926
	1.257	0.741	0.623	0.847	0.908	0.915	0.94	0.938	0.933
Blank	1.196	0.658	0.258	0.105	0.062	0.047	0.043	0.041	0.04
ครั้งที่ 2 เวลา 60 นาที	1.209	0.763	0.672	0.857	0.949	0.955	0.959	0.959	0.953
	1.212	0.772	0.655	0.881	0.964	0.983	0.981	0.975	0.951
	1.239	0.779	0.64	0.889	0.972	0.98	0.984	0.99	0.946
Blank	1.15	0.707	0.241	0.107	0.061	0.047	0.042	0.041	0.04
ครั้งที่ 3 เวลา 60 นาที	1.131	0.758	0.664	0.863	0.932	0.953	0.973	0.978	0.954
	1.165	0.806	0.675	0.869	0.946	0.97	0.981	0.983	0.972
	1.223	0.789	0.66	0.863	0.945	0.96	0.975	0.893	1.01
Blank	1.079	0.69	0.262	0.11	0.062	0.048	0.043	0.041	0.04

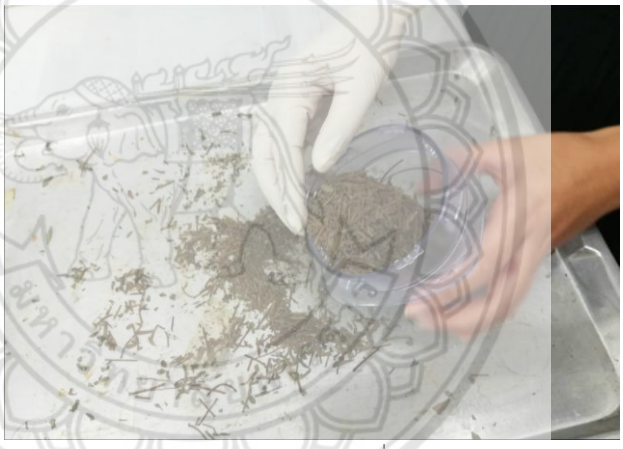
5. ร้อยละผลได้ของสารสกัด

ครั้งที่	ตัวทำละลายร่วมต่อผงพรมมิ (ร้อยละ)	สัดส่วนโดยมวลไดเมทิลอีเทอร์เหลว (ปริมาณ/ปริมาณ)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณฟีนอลิคต่อผงพืช (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)
1	15	5	35	30	0.36
2	20	5	35	30	0.13
3	25	5	35	30	0.11
4	30	5	35	30	0.25
5	20	4	35	30	0.30
6	20	5	35	30	0.65
7	20	6	35	30	0.65
8	20	7	35	30	0.95
9	20	4	30	30	0.27
10	20	4	35	30	0.13
11	20	4	40	30	0.15
12	20	4	45	30	0.11
13	20	4	35	15	0.10
14	20	4	35	30	0.49
15	20	4	35	45	0.41
16	20	4	35	60	0.29

6. รูปการทำการทดลอง

6.1 การเตรียมผงพรมมิ

การล้างทำความสะอาดต้นพรมมิก่อนนำไปอบแห้ง



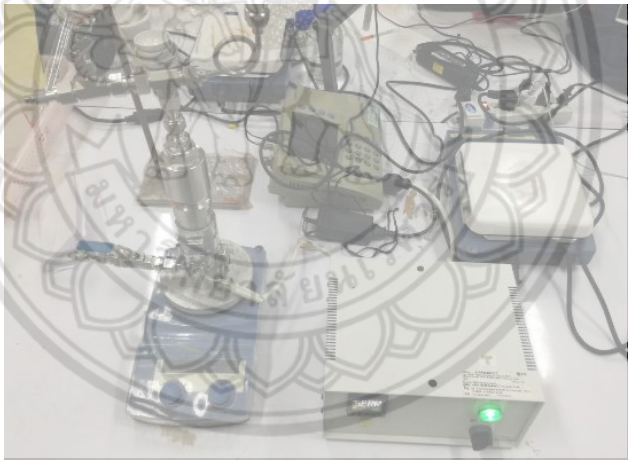
นำผงพรมมิไปปั่น

คัดแยกขนาดผงพรมมิโดยตะแกรงร่อน

6.2 การสกัดผงพรมมิ

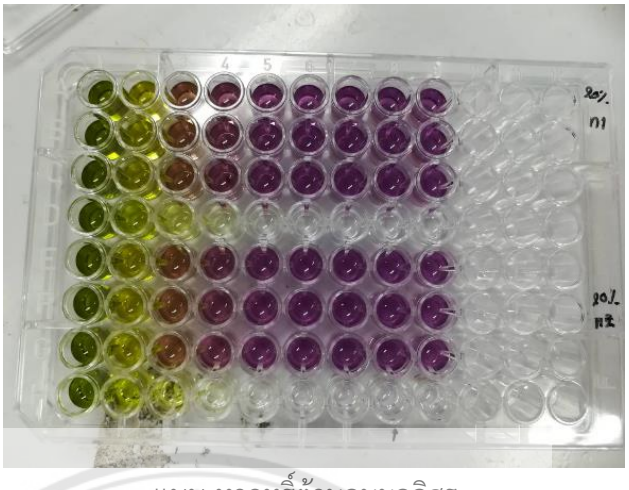
ใส่ผงพรมมิและนำลงในกระดาษกรอง

บรรจุไดเมทิลอีเทอร์



ควบคุมความเร็วรอบและอุณหภูมิ

6.3 วิเคราะห์หาสารสำคัญ



แบบ หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

แบบ หาปริมาณฟีนอลิคทั้งหมด