



การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของมะพร้าว

STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF COCONUT

แก่นั้ตร

จูละสร

ธีรนัย

เสารางทอย

นุรฟามิน

มุดอ

รสศกร

อัจฉยสวัสดี้

อิศรณัฏฐ์

เหมหาญ

ภาคินพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต

พ.ศ.2567



STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF COCONUT

GAMCHAT CHULLASARA
THEERANAI SAORANGTHOI
NURFAMIN MUDO
ROSSAKORN ATCHAYASAWAT
ITSARIYAPORN HEMHAN

A TERM PAPER SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE
OF BACHELOR OF SCIENCE IN MEDICAL TECHNOLOGY

RANGSIT UNIVERSITY

2024

ภาคินพนธ์เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบ ราก และเปลือกของต้นมะพร้าว

โดย

แกนัตร์ จุลละสร

ธีรนัย เสารางทอย

นุรฟามีน มุดอ

รสศกร อัจฉยสวัสดิ์

อิศริญากรณ์ เหมหาญ

ได้รับพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์

เมื่อวันที่ 18 ตุลาคม 2568

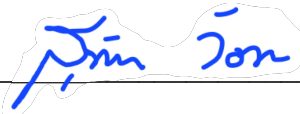


(อาจารย์ภาพรณ พงษ์พวงเพชร)



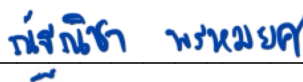
(รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา สุริยะพรหม)

กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคินพนธ์



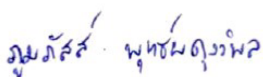
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา วัฒนสาริตอาภา)

ประธานกรรมการภาคินพนธ์



(อาจารย์ณัฐนิชา พรหมยศ)

กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคินพนธ์



(ดร.ภูมภัสส์ พุทธิผดุงวิพล)

กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคินพนธ์



(รองศาสตราจารย์เยาวลักษณ์ พิมายนอก)

หัวหน้าสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์นี้ สำเร็จลุล่วงได้ตามความคาดหวังของผู้เขียน เนื่องมาจากความเมตตา กรุณาของ อาจารย์ที่ปรึกษาที่มีพระคุณยิ่งของผู้เขียนทั้งสามท่าน ท่านแรก กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา สุริยะพรหม ที่กรุณาได้รับเป็นที่ปรึกษาและเสียสละเวลาที่มีค่าในการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับแนวคิดในการทำวิทยานิพนธ์ ตรวจสอบแก้ไขเรียบเรียง ตลอดจนคำแนะนำทางวิชาการที่ดีเสมอมา อีกท่าน ขอบพระคุณอาจารย์ ดร.สุพัตรา วัฒนสาธิตอาภา สำหรับความกรุณาเป็นกรรมการวิทยานิพนธ์ รวมทั้งได้ให้คำแนะนำและแนวทางในการเขียนวิทยานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ณภาพรรณ พงษ์พวงเพชร ที่รับกรุณาเป็นกรรมการนิพนธ์ และได้ชี้แนะแนวความคิดตลอดจนประสบการณ์อันมีค่าของท่านเพื่อนำไปปรับใช้เป็นแนวทางในการเขียนวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณพี่สุชาติ พี่นุชและคุณป้าพริ้ง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่คอยติดต่อประสานงานให้สะดวกตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านและมหาวิทยาลัยรังสิตที่ประสิทธิ์ ประสาทวิชา ความรู้ทั้งปวงให้แก่ผู้เขียนจนกระทั่งมีวันนี้

แกมฉัตร	จุลละสร
ธีรน้อย	เสารางทอย
นุรฟามีน	มุดอ
รสศกร	อัจฉลสวัสดิ์
อิศริญาภรณ์	เหมหาญ

บทคัดย่อ

6500472, 6502050, 6502056, 6502060, 6502070

: สาขาวิชา : เทคนิคการแพทย์

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

คำสำคัญ : มะพร้าว, อนุมูลอิสระ, สารต้านอนุมูลอิสระ

แถมฉัตร จุลละสร, ธีรณัย เสารงทอย ,นุรฟามีน มุดอ, รสศกร อัจฉยสวัสดิ์, อธิริญาภรณ์ เหมหาญ

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบ รากและเปลือกของต้นมะพร้าว (STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF COCONUT LEAVES, ROOTS AND STEM BARKS)

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.กาญจนา สุริยะพรหม , 73 หน้า

การศึกษานี้ได้ทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณฟีนอลิกรวมจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะพร้าว ได้แก่ ใบ ราก และเปลือกลำต้น โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในการวัดค่า และทำการสกัดสารจากทั้งสามส่วนของมะพร้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) พบว่า ส่วนรากของมะพร้าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 60,939.80 ไมโครโมลเทรอกซ์อีควิวาเลนต์ ต่อ กรัมของสารสกัด และผลการทดสอบด้วยวิธี 2,2'-azino-bis(3-ethylbenz thiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน คือ ส่วนรากของมะพร้าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 4,180.00 ไมโครโมลเทรอกซ์อีควิวาเลนต์ ต่อ ลิตร สำหรับฟีนอลิกรวมที่วัดโดยวิธี Folin-Ciocalteu และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่วัดโดยวิธี Aluminum Chloride Colorimetric Method พบว่า ส่วนรากของมะพร้าวมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (492.38 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกเทียบเท่ากับมิลลิกรัมของสารสกัด) และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (4,534.89 ไมโครกรัมของสารแคเทชินเทียบเท่ากับมิลลิกรัมของสารสกัด) เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนใบและเปลือกของต้นมะพร้าว

ดังนั้น การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่ารากมะพร้าวที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลเป็นแหล่งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุด และอาจเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ต่อไปได้

ABSTRACT

6500472, 6502050, 6502056, 6502060, 6502070

: MAJOR: MEDICAL

TECHNOLOGY

B.Sc. (MEDICAL TECHNOLOGY)

KEYWORD : *COCOS NUIFERA* (L.), FREE RADICAL, ANTIOXIDANT

GAMCHAT CHULLASARA, THEERANAI SAORANGTHOI,

NURFAMIN MUDO, ROSSAKORN ATCHAYASAWAT, ITSARIYAPORN HEMHAN

STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF COCONUT LEAVES, ROOTS AND STEM

BARKS

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROE. DR. KANJANA SURIYAPROM, 73 PAGES

This study investigated the antioxidant activity, total flavonoid content, and total phenolic content from different parts of coconut, including the leaves, roots, and stem bark of the coconut tree. The measurements were performed using a spectrophotometer, and the extraction of the three coconut parts was carried out using ethanol as the solvent. The antioxidant activity tested by the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay showed that the coconut roots exhibited the highest antioxidant activity, with the concentration of 60,939.80 $\mu\text{mole TE/g}$ of extract. The antioxidant activity tested by the 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) assay also showed that the coconut roots exhibited the highest antioxidant activity, with the concentration of 4.18 $\mu\text{mole/L TE}$. The total phenolic content, determined by the Folin–Ciocalteu Method and the total flavonoid content, determined by the Aluminum Chloride Colorimetric Method, revealed that the coconut roots contained the highest amounts of total phenolics (492.38 $\mu\text{g of GAE/ mg of extract}$) and flavonoids (4,534.59 $\mu\text{g of CE/ mg of extract}$), compared with the leaves and stem bark of the coconut. This study suggests that the coconut roots with ethanol extract are the highest source of antioxidant activity, total phenolics, and flavonoid contents, and it might be useful for other industrial applications.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 สมมติฐานงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	4
2.1 มะพร้าว	4
2.2 อนุมูลอิสระ (Free radical)	7
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	8
2.4 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)	10
2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	11
2.6 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC)	16
2.7 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content: TFC)	17
2.8 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)	18

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.9 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	21
3.1 การออกแบบการวิจัย	21
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	21
3.3 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ	23
3.4 วิธีการทดลอง	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง	29
4.1 ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรสชาติที่ได้ต่อน้ำหนักรสชาติแห้ง	29
4.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในสารสกัดจากมะพร้าว	30
4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดจากมะพร้าว	32
4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)	34
4.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS)	36
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	39
บรรณานุกรม	44
ภาคผนวก ก	48
ภาคผนวก ข	64

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ต้นมะพร้าว	4
2.2 ใบมะพร้าว	4
2.3 ดอกมะพร้าว	4
2.4 ผลมะพร้าว	4
2.5 เมล็ดมะพร้าว	5
2.6 แผนภาพการตรวจด้วยวิธี ORAC	13
2.7 กราฟการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ของตัวอย่างและสารมาตรฐาน Trolox	14
2.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิต่อความเข้มข้นของ Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ	15
2.9 หลักการของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay	16
2.10 ปฏิกริยารีดอกซ์ในการทดสอบ Folin-Cilcalteu	17
2.11 ปฏิกริยาในการทดสอบ Aluminum Chloride colorimetric assay	18
4.1 แสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆของมะพร้าวในตัวอย่างทดสอบ	31
4.2.1 กราฟแสดงมาตรฐานปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเมื่อใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน	32
4.2.2 กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว	33

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.3.1 กราฟแสดงมาตรฐานปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ใช้สาร Catechin เป็นสารมาตรฐาน	34
4.3.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว	35
4.4.1 กราฟมาตรฐานในการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) เมื่อใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน	36
4.4.2 กราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าวในตัวทำละลายเอทานอล	37
4.5.1 กราฟมาตรฐานแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ^{•+} เมื่อใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน	38
4.5.2 กราฟแสดงความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าวที่สกัดมาจากเอทานอล	39

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

มะพร้าว (Cocos nucifera L.) เป็นพืชสารพัดประโยชน์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและวัฒนธรรม โดยเฉพาะในด้านโภชนาการและสรรพคุณทางยา ทุกส่วนของมะพร้าวถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า ในชีวิตประจำวันของผู้คนในพื้นที่ดั้งเดิมที่ปลูกมะพร้าวผลิตภัณฑ์จากมะพร้าวมีหลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นน้ำมะพร้าวอ่อน, เนื้อมะพร้าวแห้ง, น้ำมันมะพร้าว, กะลามะพร้าว, ใบมะพร้าว และแก่นมะพร้าว ส่วนประกอบเหล่านี้เป็นแหล่งของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงในการนำไปพัฒนาการรักษาโรคและผลิตภัณฑ์เชิงอุตสาหกรรมส่วนที่มีสรรพคุณทางยามากที่สุดคือ ผลมะพร้าว โดยเฉพาะ น้ำมะพร้าวและเนื้อมะพร้าว ที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย เช่น มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ต้านเชื้อรา, ต้านไวรัส, ต้านปรสิต, ต้านโรคผิวหนัง และต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังช่วย ลดระดับน้ำตาลในเลือด, บำรุงตับ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันเนื่องจากน้ำมะพร้าวและเนื้อมะพร้าวอุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ มะพร้าวจึงกลายเป็นอาหารสำคัญของผู้คนทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเขตร้อน ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลายและครบถ้วนเช่นนี้ ทำให้ในคัมภีร์โบราณของอินเดียจึงยกย่องมะพร้าวว่าเป็น "กัลปพฤกษ์" หรือ "ต้นไม้แห่งการให้" (DebMandal & Mandal, 2011)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและระบุสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในน้ำและเนื้อของผลมะพร้าวจากสองพื้นที่เพาะปลูกในประเทศไทย พบว่าประกอบฟีนอลิกหลักที่พบในน้ำมะพร้าวคือ คาเทชิน และ กรดชาลิไซลิก ในขณะที่เนื้อพบ กรดแกลลิก กรดคาเฟอิก กรดชาลิไซลิก และ กรด p-coumaric (Mahayothee, & et al.2016)

อนุมูลอิสระ (Free Radical) คือ โมเลกุลหรืออะตอมที่ไม่เสถียรเนื่องจากการขาดอิเล็กตรอน ซึ่งปกติในร่างกายของเรามีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ ในกรณีถ้าร่างกายมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากการถูกอนุมูลอิสระแย่งจับจะทำให้โมเลกุลของเซลล์ร่างกายไม่เสถียร ซึ่งจะส่งผลต่อเซลล์ร่างกายทำให้เกิดความเสียหายได้ อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว ซึ่งร่างกาย

จะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ โดยอาศัยสารแอนติออกซิแดนต์ (antioxidant) ทั้งที่สร้างขึ้นในร่างกายหรือการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร เช่น วิตามินอี เบต้าแคโรทีน (β -carotene) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นภาวะที่เกิดขึ้นเมื่อร่างกายขาดความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดการอักเสบและความเสียหายของเซลล์ตามมาได้ โดยความเครียดออกซิเดชันมีบทบาทในการนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคเมเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคต่อกระดูก และโรคเบาหวาน เป็นต้น (รัชนิ คงกาญจนา และคณะ, 2552) จากที่ได้กล่าวมาในข้างต้นทำให้ปัจจุบันนี้นักวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจที่จะนำพืช ผักมาศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ตรวจวัดปริมาณสารประกอบ ฟีนอลรวมและสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์

จากการที่มีการนำส่วนต่าง ๆ ของมะพร้าวมาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรายาแผนโบราณ ในการป้องกันและรักษาโรค ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จากส่วนต่างๆของมะพร้าว ได้แก่ ใบ ราก และเปลือกของต้นมะพร้าว ซึ่งเป็นส่วนที่ยังมีการศึกษาไม่แพร่หลายนัก

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1.2.1 เพื่อตรวจหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย
- 1.2.2 เพื่อตรวจหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย
- 1.2.3 เพื่อตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

1.3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี

- 1) ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)
- 2) ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

1.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้วิธี Aluminium Chloride

Colorimetric Method

1.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม โดยวิธี Folin-Ciocalteu's Colorimetric

Method

1.4 สมมติฐานงานวิจัย

1.4.1 สารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.4.2 สารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นส่วนประกอบ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทำให้ทราบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

1.5.2 ทำให้ทราบถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในสารสกัดที่ได้จากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 มะพร้าว

มะพร้าวเป็นพืชยืนต้นชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ปาล์ม (Arecaceae) โดยทั่วไปเติบโตได้ดีในชายฝั่งเขตร้อนและยังเป็นพืชเศรษฐกิจในหลายประเทศ เนื่องจากมีการใช้ประโยชน์ได้ในหลายอย่าง เช่น น้ำ และเนื้อมะพร้าวอ่อนใช้ทำอาหารหรือรับประทาน ทำสิ่งประดิษฐ์สิ่งของต่างๆ

ลักษณะทั่วไปมะพร้าว เป็นพืชยืนต้น ใบมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก ผลประกอบด้วยผนังผลชั้นนอก (epicarp) หรือเปลือกนอก ถัดไปข้างในจะเป็นผนังผลชั้นกลาง (mesocarp) หรือโยมะพร้าว ถัดไปข้างในเป็นส่วนผนังผลชั้นใน (endocarp) หรือกะลามะพร้าว ถัดเข้าไปจะเป็นส่วนเอนโดสเปิร์ม (endosperm) หรือที่เรียกว่าเนื้อมะพร้าว ภายในมะพร้าวจะมีน้ำมะพร้าวมีทั้งของแข็งและของเหลว โดยของแข็งคือส่วนของเนื้อมะพร้าว และของเหลวคือส่วนของน้ำมะพร้าว

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์มะพร้าว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cocos nucifera* L. อยู่ในตระกูล Palmae ระบบรากเป็นรากฝอยมีขนาดเท่า ๆ กัน แผ่กระจายออกรอบต้น ลำต้น มีลำต้นเดี่ยว ไม่แตกแขนง มีรอยแผลจากการหลุดร่วงของใบตลอดลำต้น สามารถคำนวณอายุของต้นมะพร้าวได้จากรอยแผลนี้ โดยในปีหนึ่งมะพร้าวจะสร้างใบประมาณ 12- 14 ใบ

ใบ เป็นใบประกอบ ออกอยู่ตามส่วนของลำต้น ประกอบด้วยก้านทาง (rachis) มีขนาดใหญ่ยาว และมีใบย่อย (leaflet) บนก้านทางประมาณ 200 – 250 ใบ

ดอก ออกเป็นช่อมีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย อยู่ในช่อเดียวกัน ดอกมีกลีบดอก 6 กลีบ สีครีมหรือสีเหลืองนวล ไม่มีก้านดอกย่อย ดอกตัวเมียจะมีกลีบดอกหนาและแข็งกว่ากลีบดอกตัวผู้

ผลมะพร้าว เป็นชนิดไฟบรัส ดรूप (fibrous drupe) ผลสดชนิดมีเส้นใย คือ ผลไม้ประเภทหนึ่งที่มีลักษณะพิเศษคือมีชั้นของเส้นใยอยู่ระหว่างเปลือกนอกกับเปลือกในของผล เรียกว่า น้ำ

มีเปลือก 3 ชั้นคือ

1. เปลือกชั้นนอก (exocarp) เป็นเส้นใยที่เหนียวและแข็ง เมื่อแก่อาจมีสีเขียว แดง เหลืองหรือน้ำตาล
2. เปลือกชั้นกลาง (mesocarp) มีลักษณะเป็นเส้นใย มีความหนาพอประมาณ
3. เปลือกชั้นใน (endocarp) มีลักษณะแข็งหรือที่เรียกกันว่า กะลา (shell)

เมล็ด (seed of kernel) คือ เนื้อมะพร้าว ภายในเมล็ดเป็นช่อกลางขณะผลอ่อนจะมีน้ำอยู่เต็มผลแก่น้ำมะพร้าวจะแห้งไปบางส่วน (Grimwood & Ashman, 1975)



รูปที่ 2.1 ต้นมะพร้าว



รูปที่ 2.2 ใบมะพร้าว



รูปที่ 2.3 ดอกมะพร้าว



รูปที่ 2.4 ผลมะพร้าว



รูปที่ 2.5 เมล็ดมะพร้าว

2.1.1 มะพร้าวกับความเชื่อ

มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) เป็นพืชที่คนไทยคุ้นเคยมานาน ทั้งในด้านอาหาร การใช้งานในชีวิตประจำวันและอุตสาหกรรม นอกจากนี้มะพร้าวยังมีบทบาทสำคัญทางวัฒนธรรมและความเชื่อของหลายชุมชน การที่มะพร้าวถูกใช้ในพิธีกรรมและความเชื่อพื้นบ้าน ทำให้เกิดความสนใจจากนักวิจัยในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของพืชชนิดนี้ เช่น การตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระที่อาจเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ

2.1.2 ประโยชน์ของมะพร้าว

มะพร้าวได้รับการยอมรับว่ามีประโยชน์ทั้งในด้านการบริโภคและการใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน น้ำมะพร้าวจัดว่าเป็นเครื่องดื่มที่ช่วยดับกระหายและคลายความร้อน เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นผลไม้ที่มีฤทธิ์เย็น อีกทั้งยังเป็นแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุสำคัญที่ช่วยป้องกันภาวะขาดน้ำ ทำให้มะพร้าวถูกมองว่าเป็น “เกลือแร่ธรรมชาติ” ที่สามารถทดแทนการสูญเสียสารน้ำได้ นอกจากนี้ น้ำมะพร้าวยังมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ จึงมีการนำมาใช้เพื่อบรรเทาอาการของโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบในภูมิปัญญาพื้นบ้าน ในด้านสุขภาพและความงาม มะพร้าวอ่อนมีสารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งสามารถช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและอีลาสติน ส่งผลให้ผิวพรรณมีความยืดหยุ่น

กระชับและลดการเกิดริ้วรอยแห่งวัย อีกทั้งยังมีรายงานว่าน้ำมะพร้าวอาจมีส่วนช่วยเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL) ในเลือด ซึ่งมีความสำคัญต่อการลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด (กาญจนา จันทรสิงห์, 2563)

2.2 อนุมูลอิสระ (Free radical)

2.2.1 คำจำกัดความและลักษณะทางเคมีของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free Radical) คือ อะตอมโมเลกุลหรือไอออน ที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (Unpaired Electron) อย่างน้อยหนึ่งตัวอยู่ในวงโคจรนอกสุด (Halliwell & Gutteridge, 2007) ลักษณะทางเคมีที่ไม่สมบูรณ์นี้ทำให้อนุมูลอิสระมีความไม่เสถียร (Unstable) และมีความไวต่อปฏิกิริยา (Highly Reactive) สูงมาก

2.2.2 ปฏิกิริยาเพื่อความสะดวก

เพื่อที่จะกลับสู่สภาวะเสถียร อนุมูลอิสระจะพยายามดึงอิเล็กตรอนมาจากโมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงในร่างกาย (เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีนหรือ DNA) ทำให้โมเลกุลที่ถูกดึงอิเล็กตรอนไปนั้นกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ที่เรียกว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชันลูกโซ่ (Chain Reaction Oxidation) ซึ่งนำไปสู่ความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อในวงกว้าง (Valko et al., 2004)

อนุมูลอิสระสามารถทำอันตรายต่อเซลล์ โดยเข้าไปทำลาย DNA โปรตีน และเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดการอักเสบและความเสียหายของเนื้อเยื่อ หากเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในระยะยาวอาจเป็นปัจจัยที่กระตุ้นให้เกิดโรคเสื่อมเรื้อรัง เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ และโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราได้ นอกจากนี้ หากปริมาณอนุมูลอิสระมีมากกว่าความสามารถในการกำจัดของระบบป้องกันในร่างกาย จะเกิดภาวะ ที่เรียกว่า "ความเครียดออกซิเดชัน" (oxidative stress) ซึ่งเป็นภาวะสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยา oxidation ด้วยเหตุที่ ROS เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่างๆ ในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ ROS ที่เกิดขึ้นด้วย เช่น co-enzyme Q10, alpha-lipoic acid เป็นต้น โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่น ความเครียด การนอนดึกติดต่อกันนาน ๆ การรับประทานยาที่มีผลลด antioxidant enzyme หรือสภาวะโรคต่างๆ ก็อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่าง antioxidant และ อนุมูลอิสระเกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น เป็นต้นเหตุของภาวะหลอดเลือดอุดตัน มะเร็ง Parkinson รวมถึงอาการอักเสบต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมาก นอกจากการไปจับกับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ร่วมด้วย คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี

1. ป้องกันการเกิด ROS ได้
2. สามารถจับกับ ROS ที่เกิดขึ้นก่อนที่ ROS นั้นจะไปทำอันตรายเนื้อเยื่อต่างๆ
3. ต้องไม่เพิ่มความแรงของอนุมูลอิสระหรือไม่เปลี่ยน ROS ที่มีความแรงต่ำไปเป็น ROS ที่มีความแรงสูง เช่น ไม่เปลี่ยนจาก superoxide ไปเป็น hydroxyl radical เป็นต้น
4. ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ antioxidant enzyme หรือสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ
5. เพิ่มการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้าง antioxidant enzyme และช่วยในการฟื้นฟูความเสียหายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้เป็น 4 ประเภท ดังนี้

1. Intracellular antioxidants (antioxidant enzyme) ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆที่ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระเช่น catalase glutathione peroxidase superoxide dismutase
2. Extracellular antioxidants ได้แก่ Vitamin C สารที่มีกลุ่ม sulfhydryl groups
3. Membrane antioxidants ได้แก่ Carotenoids Ubiquinone Vitamin E
4. สารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Copper Manganese Selenium Zinc และสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในอาหารและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ เช่น vitamin E และ vitamin C สารในกลุ่ม flavonoids สารกลุ่ม carotenoids และสารกลุ่ม phenolics โดยลักษณะสำคัญของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ที่มีร่วมกันก็คือ การมี conjugated double bond อยู่ในโครงสร้าง เพราะเมื่อสารเหล่านี้รับหรือสูญเสีย electron ไป free radical ที่เกิดขึ้นจะ delocalized ภายในโครงสร้างได้และทำให้โมเลกุลมีความเสถียรกว่าสารที่ไม่มี conjugated double bond ดังนั้นความรุนแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมาใหม่ก็จะลดลง

2.3.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารที่มีบทบาทสำคัญทางชีวภาพ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และยับยั้งการก่อตัวของสารก่อมะเร็ง สารกลุ่มนี้สามารถจำแนกได้หลายชนิดตามโครงสร้างทางเคมี โดยพบได้อย่างแพร่หลายในพืชเกือบทุกส่วน ได้แก่

- เมล็ด เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ข้าว งา
- ผล เช่น องุ่น ส้ม พริกไทยดำ
- ใบ เช่น ชาและเครื่องดื่มต่าง ๆ
- ดอก เช่น กล้วยไม้

สารฟีนอลิกที่พบมากและมีบทบาทสำคัญ ได้แก่ กรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปในใบ ลำต้น และเปลือกของพืช อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนของพืชที่นำมาใช้ (โอภา และคณะ, 2550)

จากการศึกษาต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าเปลือกมะพร้าว(Shell)และใยมะพร้าว(Coir) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งให้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพ (Zainab., et al, 2023)

2.3.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิกที่มีโครงสร้างคาร์บอน 15 อะตอม ประกอบด้วย วงเบนซีน 2 วงเชื่อมต่อกันด้วยสายโซ่คาร์บอนสั้น โดยมีออกซิเจนเป็นตัวเชื่อม ทำให้เกิดวงแหวนตรงกลางขึ้นอีกหนึ่งวง สารนี้ละลายในน้ำได้ดีและพบแพร่หลายในพืชเกือบทุกชนิด ในพืชฟลาโวนอยด์มีบทบาทหลายด้าน เช่น

- ทำหน้าที่เป็นเม็ดสีเพื่อสร้างสีดึงดูดแมลงผสมเกสร
- ช่วยกรองรังสีอัลตราไวโอเลต (UV protection)
- มีบทบาทในกระบวนการตรึงไนโตรเจน
- ยับยั้งการแบ่งเซลล์และทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณทางเคมี

นอกจากนี้ ฟลาโวนอยด์ที่หลังจากรากพืชยังช่วยส่งเสริมความสัมพันธ์แบบพึ่งพาระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว โดยกระตุ้นการสร้าง Nod factors ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการก่อตัวของปมราก ฟลาโวนอยด์บางชนิดยังมีฤทธิ์ยับยั้งการงอกของสปอร์ จึงช่วยป้องกันโรคในพืชได้สำหรับมนุษย์ ฟลาโวนอยด์เป็นสารโพลีฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในอาหาร เช่น ในผัก ผลไม้ ชา และไวน์ ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีส่วนช่วยป้องกันโรคเรื้อรังหลายชนิด

2.4 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชันคือสภาวะในร่างกายที่เกิดขึ้นเมื่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ต่ำ ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระนี้สามารถตรวจวัดได้จากพลาสมาในเลือด เมื่อมีความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species หรือ Free Radicals) กับระบบป้องกันของสารต้านอนุมูลอิสระ ร่างกายจะเข้าสู่ภาวะเครียดออกซิเดชัน ความไม่สมดุลนี้สามารถมีบทบาทเกี่ยวข้องกับโรคหรือภาวะบางอย่าง เช่น เบาหวาน

ภาวะเครียดออกซิเดชันสามารถนำไปสู่การเสื่อมสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม ความไม่สมดุลนี้อาจมีประโยชน์ในบางกรณีเช่นกัน มีการศึกษาบางฉบับพบว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน อาจช่วยในการต่อสู้กับโรคบางชนิด เช่น มะเร็ง (Carol Dersarkissian, 2023)

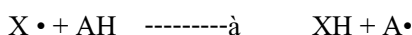
ผลกระทบของภาวะเครียดออกซิเดชันสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพในหลายด้าน เมื่อเกิดความไม่สมดุลในร่างกาย และมีอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ อาจก่อให้เกิดผลเสียในระยะยาวได้ภาวะต่อไปนี้มีความเชื่อมโยงกับภาวะเครียดออกซิเดชัน

- ความดันโลหิตสูง (Hypertension)
- โรคหลอดเลือดแข็ง (Atherosclerosis)
- ภาวะหัวใจล้มเหลว (Heart Failure)
- โรคหลอดเลือดสมองหรืออัมพาต (Stroke)
- โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular Disease - CVD)
- โรคมะเร็ง (Cancer)
- โรคทางระบบประสาท (Neurological Disease)

2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

เป็นการวิเคราะห์ในหลอดทดลองเพื่อวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดที่มีในอาหาร การทดสอบนี้มีพื้นฐานจากแนวคิดที่ว่า สารก่ออนุมูลออกซิเจน (oxygen radical generating compound) ที่เรียกว่า 2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihydrochloride จะสร้างอนุมูลออกซิเจน (ROS) ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารฟลูออเรสซิน (fluorescein) ได้ การทดสอบ ORAC เป็นไปตามหลักกลไก HAT (hydrogen atom transfer (HAT) reaction)



ฟลูออเรสซินเป็นสารที่เรืองแสงได้สูง แต่เมื่อถูกออกซิไดซ์ สารที่เกิดขึ้นจะมีความเรืองแสงต่ำ ด้วยเหตุนี้ความเรืองแสงของสารละลายจะลดลงตามเวลา เพราะ ROS ทำปฏิกิริยากับฟลูออเรสซิน หาก

เติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในการทดสอบ สารนั้นจะทำปฏิกิริยากับ ROS แทน ทำให้ชะลอการออกซิไดซ์ของฟลูออเรสซิน จนกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจะถูกใช้จนหมด ในการเปรียบเทียบนี้ มักใช้ Trolox ซึ่งเป็นอนุาลอกสังเคราะห์ของวิตามินอี ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเป็นที่รู้จักดี ใช้เป็นสารอ้างอิงในการทดสอบ โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถแสดงค่าในรูปของ “เทียบเท่า Trolox” (Trolox equivalents) เป็นหน่วยมาตรฐาน (Borlinghaus et al., 2020)

การทดสอบ ORAC มีความโดดเด่นตรงที่ AAPH (2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride) ซึ่งเป็นตัวสร้าง reactive oxygen species (ROS) จะผลิตอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (Peroxy radical: $RO\cdot_2$) เมื่อสลายตัวด้วยความร้อน อนุมูลอิสระชนิดนี้มักพบในร่างกาย ทำให้ปฏิกิริยานี้มีความสำคัญทางชีวภาพ นอกจากนี้ AAPH ยังทำปฏิกิริยากับน้ำและสารที่ละลายในไขมันได้ จึงสามารถวัดศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมได้ ดังนั้นการทดสอบ ORAC จึงเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์ในการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาหาร

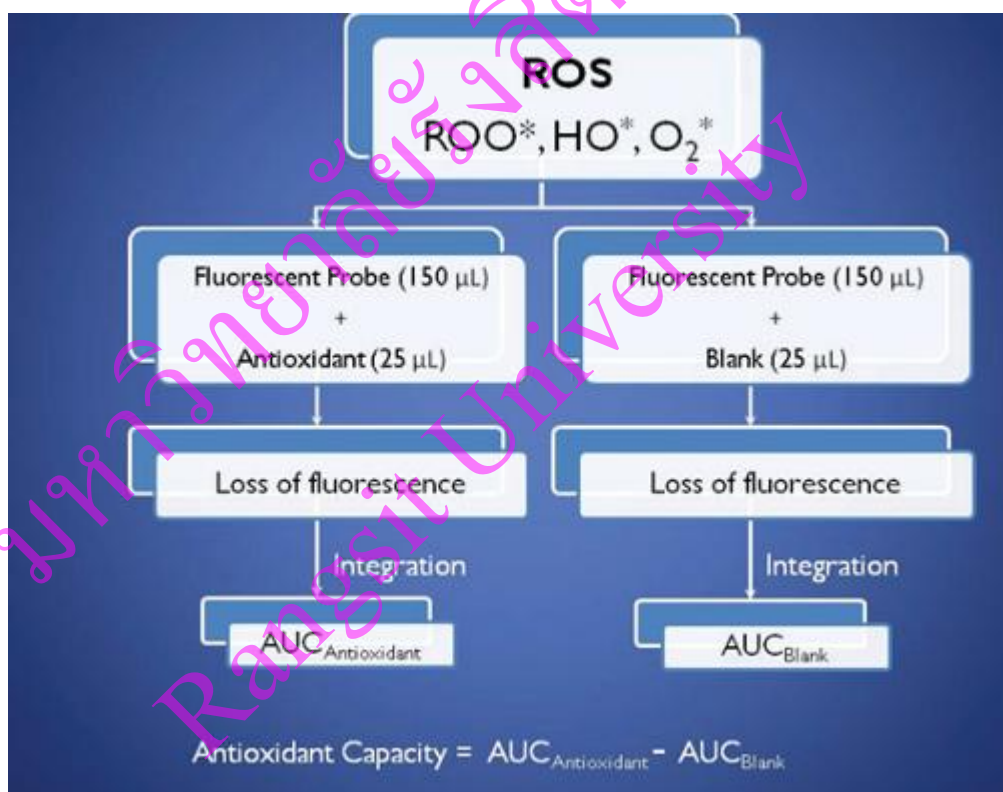
สรุปวิธี ORAC อาศัยหลักการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยเมื่อฟลูออเรสซินทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซิล แล้วความเข้มของแสงจะลดลง หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันน้อย จะทำให้ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะลดลงช้า เนื่องจากอนุมูลอิสระต้องทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันจนหมดก่อน แล้วจึงทำปฏิกิริยากับฟลูออเรสซิน ปฏิกิริยาการทดลองจะประกอบด้วยสารกลุ่มอะโซเพื่อผลิตอนุมูลอิสระ (AAPH) ส่วน probes (สารฟลูออเรสซิน) เพื่อติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น และสารต้านออกซิเดชัน โดย AAPH จะถูกให้ความร้อนเพื่อสร้างอนุมูลเปอร์ออกซิล จากนั้นเมื่อใส่ฟลูออเรสซินและสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเกิดการแย่งกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกซิล โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับอนุมูลเปอร์ออกซิลเมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาจนหมดแล้วสารฟลูออเรสซินจึงเข้าทำปฏิกิริยา ดังนั้นการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จึงค่อยๆ ลดลง กลไกการแย่งทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชันและฟลูออเรสซิน ดังสมการ



เมื่อ $\text{ROO}\cdot$ = อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (peroxyl radical)

AH = สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

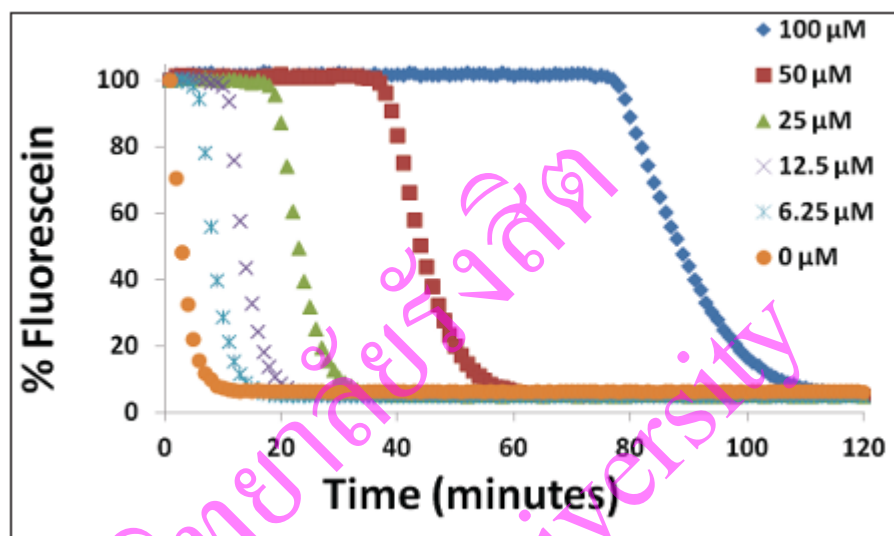
PH = สารตัวแทนสารตั้งต้น (oxidized probes)



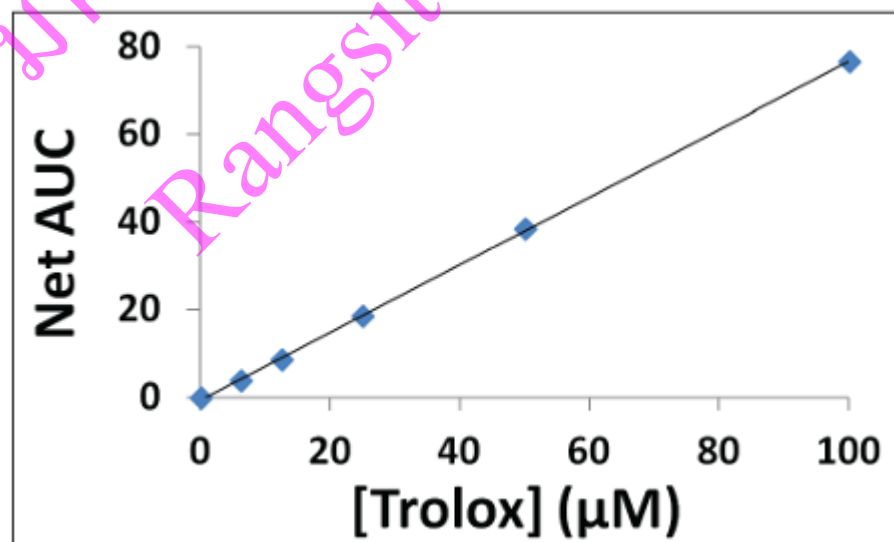
รูปที่ 2.6 แผนภาพการตรวจโดยวิธี ORAC ที่มา Brescia et al., 2012

วิธีนี้ค่อนข้างไวต่ออนุมูล จึงต้องควบคุมทั้งอนุมูลภายในเครื่อง และอนุมูลของบัฟเฟอร์ ที่นำมาใช้ให้อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาละลายสาร AAPH นอกจากนี้ในการทดลองแต่ละครั้ง ไม่ควรใช้เวลาเกิน 1 ชั่วโมง เนื่องจากสารจะหมดประสิทธิภาพ

การรายงานผลโดยการคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, AUC) แล้วคำนวณเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ (netAUC) นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ trolox (Y) (μM) กับพื้นที่ใต้กราฟ (X)



รูปที่ 2.7 กราฟการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ของตัวอย่างและสารมาตรฐาน Trolox ที่มา Brescia et al., 2012



รูปที่ 2.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ (netAUC) และความเข้มข้นของ trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ (Trolox Standard Curve) ที่มา Brescia et al., 2012

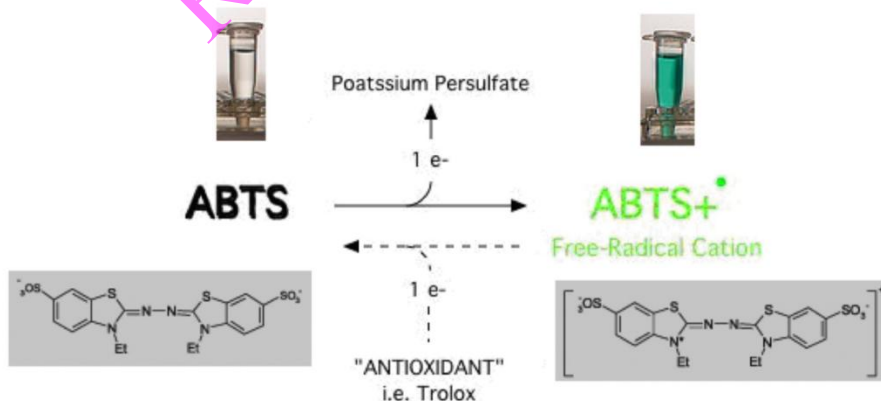
2.5.2 ABTS (radical cation decolorization assay)

การทดสอบ ABTS เป็นวิธีการทางสเปกโตรโฟโตเมตริก (spectrophotometric method) ที่ใช้อนุมูลประจุบวกของ ABTS ซึ่งถูกออกซิไดซ์แล้ว ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยลดอนุมูล ABTS ทำให้สีเปลี่ยนจากน้ำเงินจางลง (Antonio Cano et al., 2023)

กลไกหลักสองแบบที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่

1. การถ่ายโอนอะตอมของไฮโดรเจน (Hydrogen Atom Transfer: HAT) เป็นกระบวนการที่สารต้านอนุมูลอิสระ ถ่ายโอนอะตอมไฮโดรเจนไปยังอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระถูกทำให้เสถียร กลายเป็นโมเลกุลที่ไม่ทำอันตรายต่อเซลล์
2. การถ่ายโอนอิเล็กตรอน (Single Electron Transfer: SET) เป็นกระบวนการที่สารต้านอนุมูลอิสระ ถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยังสารที่เป็นอนุมูลอิสระ เพื่อทำให้ถูกรีดิวซ์และสูญเสียความเป็นอนุมูลอิสระ

การทดสอบ ABTS ส่วนใหญ่เป็นไปตามหลักกลไก SET แต่กลไกแบบ HAT ก็สามารถเกิดขึ้นได้บ้างเช่นกัน วิธีทดสอบ ABTS นิยมใช้ประเมินสารต้านอนุมูลอิสระชนิดชอบน้ำ เช่น กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน กลูตาไรโอน และฟีนอล รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ที่สามารถละลายน้ำได้ โดยวิธีทดสอบ ABTS สามารถทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระได้โดยตรงและเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปเนื่องจากมีความไว ง่าย รวดเร็วและสามารถทำซ้ำได้



รูปที่ 2.9 หลักการของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

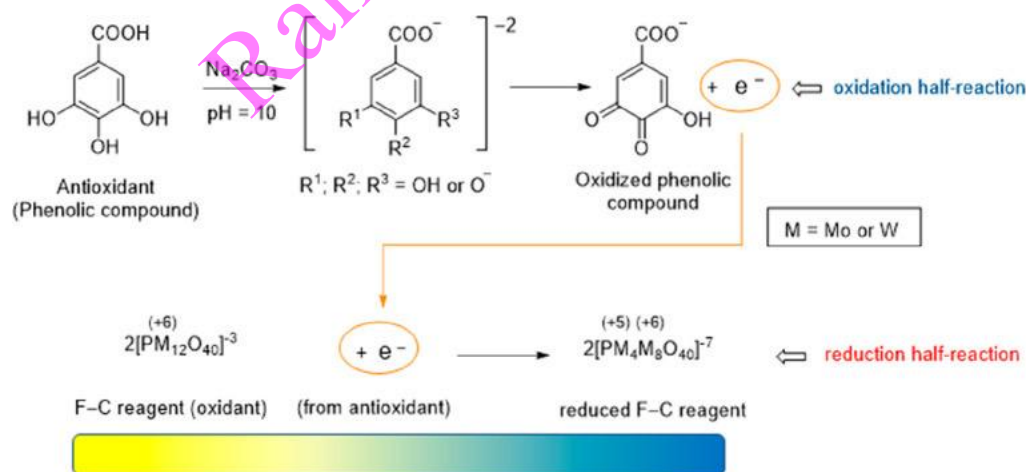
ที่มา Boligon et al., 2014

2.6 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC)

สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นวงแหวน (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เข้ามาแทนที่ซึ่งอาจเข้ามาแทนที่ 1 หมู่ หรือมากกว่า สารประกอบฟีนอลิกสามารถจำแนกเป็นกลุ่มได้จากโครงสร้างที่แตกต่างกัน ได้แก่ จำนวนคาร์บอนและหมู่ที่เข้ามาแทนที่ในตำแหน่งต่างๆ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ลิกนิน (lignin) กรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ (hydroxycinnamic acid and derivatives) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกแต่ละกลุ่มที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบแตกต่างกันจะพบได้ในพืชหรือผลไม้ต่างชนิดกัน

การวัดปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC) เป็นกระบวนการที่สำคัญในการประเมินปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างต่าง ๆ เช่น พืช อาหารหรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ วิธี Folin–Ciocalteu

หลักการของวิธี Folin–Ciocalteu อาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างสารฟีนอลิกในตัวอย่างกับรีเอเจนต์ Folin–Ciocalteu ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบของโมลิบดีนัมและทังสเตน เมื่อสารฟีนอลิกทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์จะเกิดสารประกอบสีน้ำเงินเข้ม ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นสามารถวัดได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นประมาณ 760 นาโนเมตร โดยความเข้มของสีที่วัดได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารฟีนอลิกในตัวอย่าง (Siddiqui, 2017)



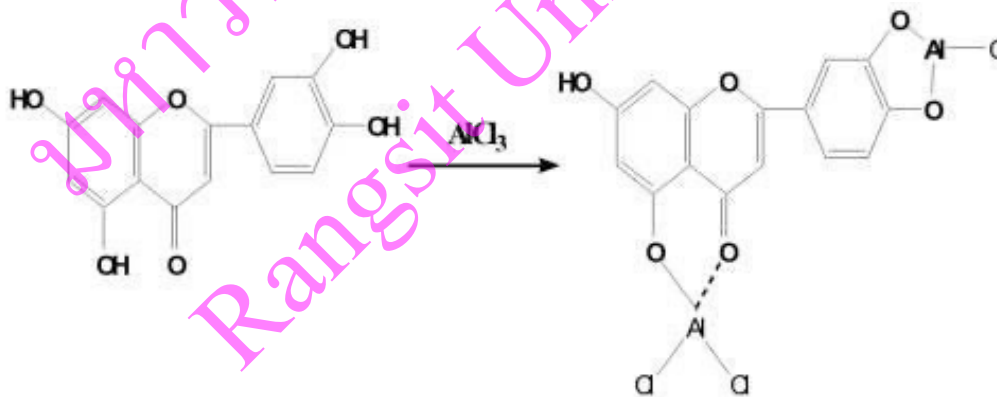
รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการทดสอบ Folin–Ciocalteu ที่มา Huang D et.,al 2005

2.7 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content: TFC)

การวัดปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content: TFC) ใช้สีมิเตอร์โดยใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum Chloride Colorimetric Assay) ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลาย ในการวิเคราะห์สารสกัดจากพืช (A.N. Panche et al., 2016)

หลักการของวิธี Aluminum Chloride Colorimetric Assay

ฟลาโวนอยด์จะทำปฏิกิริยากับอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) เพื่อสร้างสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลือง ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นประมาณ 415–440 นาโนเมตร ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณฟลาโวนอยด์ในตัวอย่าง (Frydoonfar HR et., 2003)



รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาในการทดสอบ Aluminum Chloride Colorimetric Assay

ที่มา Chang, C et., al 2002

2.8 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)

การระเหยแบบหมุน ทำงานโดยการลดความดัน ซึ่งจะลดจุดเดือดของตัวทำละลาย ทำให้ตัวทำละลายระเหยได้ในอุณหภูมิที่ต่ำลง เมื่อขวดหมุนของเหลวจะกระจายตัวเป็นฟิล์มบางๆ เพิ่มพื้นที่ผิวและเร่งการระเหย การตั้งค่านี้นี้ช่วยให้กำจัดตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพในขณะที่ปกป้องสารประกอบที่ไวต่อการทำลาย (labile compound)

อ่างน้ำอุ่นจะให้ความร้อนเพียงพอที่จะทำให้ตัวทำละลายระเหยได้ ในขณะที่คอนเดนเซอร์จะรวบรวมไอระเหยและเปลี่ยนกลับเป็นของเหลวในขวดแยก วิธีนี้ช่วยให้กู้คืนตัวทำละลายได้โดยไม่สูญเสียหรือทำให้ตัวอย่างร้อนเกินไป

การระเหยแบบหมุนเป็นการผสมผสานระหว่างความดันที่ลดลง การหมุนและการให้ความร้อนในอุณหภูมิต่ำ ทำให้การระเหยแบบหมุนเป็นวิธีการที่เชื่อถือได้และมีประสิทธิภาพในการกำจัดตัวทำละลาย ทำให้สารไม่สูญเสียประสิทธิภาพ สำหรับการใช้งานที่หลากหลาย รวมถึงการศึกษาการระเหยในของเหลวที่จำกัด (Gibouin et al., 2023)

2.9 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาของ อาภากร ทรงสุนันต์ (2018) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมะพร้าว โดยพบว่าน้ำมันมะพร้าวเป็นส่วนที่มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมีหลากหลาย โดยมีลักษณะเด่นที่มีแร่ธาตุสูง นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก วิตามิน เอ็นไซม์ ฮอร์โมนและปัจจัยส่งเสริมการเจริญเติบโต เนื้อมะพร้าวประกอบด้วยกรดไขมันขนาดกลาง เช่น กรดคาปริลิก กรดคาปริก กรดลอริกและวิตามินอี ซึ่งสารต่าง ๆ เหล่านี้ส่งผลให้น้ำมันมะพร้าวมีศักยภาพในการลดไขมันด้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้านการเกิดภูมิคุ้มกันไวเกินและด้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาของชนติชา ชะโลธาร และคณะ (2566) ประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะขามที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล โดยใช้วิธี DPPH และ FRAP พบว่า สารสกัดเอทานอล 70% มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยเอทานอล 95% การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของใบมะขามในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของพืชสมุนไพรในประเทศไทยที่มีประโยชน์ทางการแพทย์

จากการศึกษาของ ภัทรินันท์ แสงเจริญวัฒนะ (2566) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของน้ำมะพร้าวสดกับน้ำมะพร้าวพาสเจอร์ไรซ์ โดยใช้ น้ำมะพร้าวสดจากพันธุ์น้ำหอมและน้ำมะพร้าวพาสเจอร์ไรซ์ 4 ยี่ห้อในท้องตลาด ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, Ferric Thiocyanate และ Metal Chelating พบว่าน้ำมะพร้าวสดจากพันธุ์น้ำหอมแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีที่สุดในการทดสอบแบบ DPPH โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $58.21 \pm 1.51\%$ และสามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้ดีที่สุดและการทดสอบ Ferric Thiocyanate ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ $34.17 \pm 0.89\%$ ขณะที่น้ำมะพร้าวพาสเจอร์ไรซ์ยี่ห้อ Coco Max มีความสามารถในการจับกับโลหะสูงสุด ($63.35 \pm 4.09\%$) จากวิธี Metal Chelating ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าน้ำมะพร้าว ทั้งในรูปแบบสดและพาสเจอร์ไรซ์มีศักยภาพในการเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะน้ำมะพร้าวสดที่ให้ฤทธิ์สูงในบางกลไก ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อสุขภาพหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

AMBE และคณะ(2023) รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับความเข้มข้น (dose-response curve) คือความสามารถของเปลือกต้นมะพร้าวในการกำจัด DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น ผลการศึกษาด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเปลือกต้นมะพร้าวมีค่า IC₅₀ ที่ 7.65 กรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่กรดแอสคอร์บิกมีค่า IC₅₀ อยู่ที่ 3.70 กรัมต่อมิลลิลิตร สารต้านอนุมูลอิสระมีผลต่อ DPPH ได้เนื่องจากมีความสามารถในการบริจาคไฮโดรเจนแม้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นมะพร้าวจะน้อยกว่ากรดแอสคอร์บิก ประมาณ 50% แต่ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดนี้ก็ยังมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี

เพชรรัตน์ วัชรเวช(2561) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในน้ำและเนื้อมะพร้าว พบว่าสารสกัดในเนื้อมะพร้าวแก่ที่สกัดด้วยเอทานอล แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.639 ± 0.028 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP ซึ่งมีค่าเท่ากับ 18.853 ± 0.133 มิลลิกรัม

สมมูลโทรลล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัดและ 17.097 ± 0.017 มิลลิกรัมสมมูลโทรลล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด
เมื่อเทียบกับน้ำมันมะพร้าว

Lima และคณะ(2015)พบว่า ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil) มีปริมาณฟีนอล
ทั้งหมดสูงกว่าน้ำมันมะพร้าวเชิงพาณิชย์เกือบเจ็ดเท่า เนื่องจากกระบวนการเพื่อให้ได้น้ำมันที่ผ่าน
การกลั่นจะทำลายส่วนประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางส่วนได้ นอกจากนี้ในน้ำมันมะพร้าวยังอุดม
ไปด้วย แอล-อาร์จินีน (L-arginine 30 mg/dl) ซึ่งมีฤทธิ์ในการช่วยลดการสร้างอนุมูลอิสระได้อย่างดี
และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับกรดแอสคอร์บิก ซึ่งจะช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน
ในหนู

Wahab และคณะ(2023) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่า
กากมะพร้าวที่สกัดด้วย 60 % เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยให้ค่า IC_{50} 8.4 $\mu\text{g/ml}$ และพบ
สารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดที่ได้จากกากมะพร้าว

บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 การออกแบบการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยประยุกต์ในสาขาเคมีคลินิกโดยใช้ระเบียบวิธีวิจัยเชิงทดลองเพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้จากต้น ราก และใบมะพร้าวโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือ

- 1) Hot air oven
- 2) UV-VIS spectrophotometer (Evolution™) Thermofisher / USA
- 3) Microplate reader (Bio Tex Synergy H1) BioTex / USA
- 4) เครื่องชั่งสาร (GF-A series) AND / Japan
- 5) เครื่องบดสมุนไพร (DXM-700)
- 6) Microplate reader (Vortex Genie2) BMG / Germany
- 7) เครื่องปั่น centrifuge (Scan speed2236R) Gyrozen / Korea
- 8) เครื่อง shaker (KS4000 i control) IKA / Germany
- 9) Vortex mixer (Vortex Genie2) Scientificindustries / USA
- 10) Rotary evaporato

11) Incubator (Mettmert IF 160) Metmert / Germany

3.2.2 อุปกรณ์

- 1) Tube Panacea / Thailand
- 2) volumetric flask ปริมาตร 5, 10, 25, 50, 100 Teachtech / Thailand
- 3) Sterile tips Labconnection / Thailand
- 4) Rack
- 5) Seropipette ขนาด 5 ml Teachtech / Thailand
- 6) Autopipette ขนาด 10-1000 μ l Teachtech / Thailand
- 7) กระดาษกรอง Materno / Thailand
- 8) กระดาษขี้สาร Materno / Thailand
- 9) Dropper Materno / Thailand
- 10) Parafilm Bosswax / Thailand
- 11) ซ้อนดักสาร Unitech Science / Thailand
- 12) กระดาษ foil Materno / Thailand
- 13) Beaker Chemical Panacea / Thailand
- 14) flask Chemical Panacea / Thailand
- 15) Funnel E-RO Watertech / Thailand
- 16) แพงแก้ว Chemical Panacea / Thailand
- 17) cuvette
- 18) ผ้าก๊อช Macproducts / Thailand
- 19) สำลี
- 20) ขวดแอลกอฮอล์
- 21) ผ้าขาวบาง
- 22) 96-well Microtiter plate Thermo Fisher / USA

23) Micropipett (J16444B)

Eppendorf / Germany

3.3 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

3.3.1 สารเคมีในการทดสอบ

- 1) Folin-Ciocalteu reagent
- 2) 70% Ethanol Sigma-Aldrich / USA
- 3) Gallic acid
- 4) Aluminium chloride
- 5) Potassium Acetate
- 6) Sodium carbonate
- 7) Deionized water (DI)
- 8) Distilled water (DW)
- 9) Sodium nitrite
- 10) Catechin hydrate
- 11) Trolox reagent
- 12) ORAC reagent
- 13) Fluorescein probe
- 14) 2,2-Azobis-(2-amidinopropane) (AAPH)
- 15) 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS reagent)
- 16) Potassium persulphate
- 17) Phosphate buffer
- 18) 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าว

วิธีการสกัดมะพร้าวจากเปลือกของต้น ราก และใบโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยนำส่วนต่างๆของมะพร้าวไปตากแห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียดแล้วชั่งมา 150 g จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปให้ท่วมประมาณ 1 – 2 นิ้ว (450 mL) แช่ในตัวทำละลาย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันด้วยเครื่อง Incubator shaker หลังจากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge จากนั้นนำมากรองอีกรอบด้วยกระดาษกรอง นำสารสกัดที่กรองได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิคงไว้ 37-40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บที่อุณหภูมิห้องโดยหุ้มโคมแสง

3.4.2 การหา % yield

งานวิจัยนี้ใช้น้ำหนักส่วนประกอบของมะพร้าว 3 ส่วนคือ ส่วนเปลือกของต้น ราก และใบ โดยเริ่มต้นที่ 150 กรัม และเมื่อสิ้นสุดการสกัดได้ชั่งน้ำหนักส่วนต้น ราก และใบมะพร้าว เพื่อนำมาคำนวณหา % yield ซึ่งเป็นค่าร้อยละที่บอกถึงปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดเมื่อเทียบกับน้ำหนักของวัตถุดิบตั้งต้น โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักหลังจากการสกัด} \times 100}{\text{น้ำหนักสารเริ่มต้น}}$$

3.4.3 การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid compound)

ในการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้วิธี Aluminium Chloride Colorimetric Method โดยการเตรียมสาร catechin ความเข้มข้น 160 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นเจือจางสารให้มีความเข้มข้น 5, 10, 20, 40, 80, 160 µg/mL รวมทั้งเตรียมสารตัวอย่างจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าวโดยการชั่งมา 0.01 g แล้วละลายในตัวทำละลายเอทานอล 10 mL (0.001 g/mL) จากนั้นนำสารตัวอย่างจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าว

รวมทั้งสารมาตรฐาน 0.5 mL ผสมกับเอทานอล 1.5 mL เติม 10% AlCl_3 0.1 mL ผสมให้เข้ากัน จากนั้น เติม 1 M Potassium acetate 0.1 mL ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 2.8 mL จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 415 nm (ทำซ้ำ 3 รอบ) ในส่วนของสารมาตรฐานจะแทนด้วย แกน X เป็นความเข้มข้นของสาร catechin และแกน Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ เมื่อนำค่าที่ได้ไป เขียนกราฟ จากนั้นหาสมการเส้นตรงตรง $Y = aX + c$ ซึ่งแทนค่า Y เป็นค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งเมื่อแทน ค่าแล้วจะได้ค่า X ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่ออกมาในหน่วย $\mu\text{g/mL}$ จากนั้นเปลี่ยนหน่วยเป็น $\mu\text{g of CE/ mg of extract}$ ต่อไปจากสูตร

$$\text{Flavonoid } (\mu\text{g CE/ mg of extract}) = \frac{C \times V \times df \times 10^3}{W}$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นจากกราฟ ($\mu\text{g/mL}$)

V = ปริมาตรสารละลาย (mL)

df = dilution factor (รากและใบ=10, เปลือกของต้นมะพร้าว=5)

W = น้ำหนัก (g)

3.4.4 การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic compound)

การหาความเข้มข้นของฟีนอลในสารสกัดมะพร้าวจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบ โดยใช้ วิธี spectro photometric method เริ่มต้นจากการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดในตัวอย่างละลาย เอทานอลที่ความเข้มข้น 0.01 g ต่อ 10 mL (0.001 g/mL) จากนั้นในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาให้นำสาร สกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าวในตัวอย่างละลายเอทานอลปริมาตร 0.5 mL ผสมกับ 10% Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.5 mL จากนั้นใส่ 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 2.5 mL ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 นาที เมื่อครบเวลานำไป วัดเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ในส่วนของหลอด Blank ประกอบด้วย สารเมทานอลปริมาตร 0.5 mL, 10% Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.5 mL และ 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 2.5 mL ผสมให้เข้าและนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 นาทีเมื่อครบเวลา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm จากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานโดย แกน X เป็นสาร

มาตรฐาน Gallic acid ในเอทานอลให้มีความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 250 µg/mL และแกน Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm จากนั้นหาความสัมพันธ์จากสมการเส้นตรง $Y = aX + c$ ซึ่งแทนค่า Y เป็นค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งเมื่อแทนค่าแล้วจะได้ค่า X ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลรวมที่ออกมาในหน่วย µg/mL จากนั้นเปลี่ยนหน่วยเป็น µg of GAE/ mg of extract ต่อไปจากสูตร

$$\text{Phenolics (µg of GAE/ mg of extract)} = \frac{C \times V \times df \times 10^3}{W}$$

โดยที่ C = ความเข้มข้นจากกราฟ (µg/mL)

V = ปริมาตรสารละลาย (mL)

df = dilution factor (รากและใบ=10, เปลือกของต้นมะพร้าว=5)

W = น้ำหนัก (g)

3.4.5 การตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) เป็นวิธีที่ใช้ประเมินความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระประเภท Peroxyl radical โดยมี Trolox (อนุพันธ์ของวิตามินอีที่ละลายน้ำ) เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง และใช้สารเรืองแสง Fluorescein เป็นตัวบ่งชี้ของปฏิกิริยา โดยเตรียมสารละลาย Fluorescein probe และสารละลายตัวก่อก้อนอนุมูลอิสระ (AAPH) หลังจากนั้นเตรียมสารตัวอย่างจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าวที่มีความเข้มข้น 1 mg /mL ส่วนการเตรียมสารมาตรฐาน (Trolox) ให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0 µmole TE/ L จากนั้นผสมสารสกัดหรือสารมาตรฐาน (25 µL) และ Fluorescein probe (25 µL) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย AAPH 25 µL เพื่อทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดกับ Fluorescein probe และ AAPH แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่สองความยาวคลื่น 485/527 (Excitation / Emission) nm ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 120 นาที การคำนวณค่า ORAC จะทำโดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟ (Area Under the Curve, AUC) ของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน Trolox ในหน่วย (µmole TE/ L) และค่า AUC ที่ได้จากการทดสอบเครื่องจะทำการคำนวณ โดยหาจากการลดลงของสาร fluorescein ตามเวลา จากสูตรดังนี้

$$AUC = 1 + \frac{RFU^1}{RFU^0} + \frac{RFU^2}{RFU^0} + \dots + \frac{RFU_x}{RFU^0}$$

โดยที่ RFU⁰ = ค่าความเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative Fluorescence Value) ที่เวลาเริ่มต้น (t=0)

RFU_x = ค่าความเรืองแสงสัมพัทธ์ที่เวลา X

จากนั้นคำนวณค่า Net AUC โดยนำค่า AUC ของหลอดควบคุม (Blank) ไปลบออกจากค่า AUC ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง

$$Net\ AUC = AUC\ of\ standards\ and\ sample - AUC\ of\ blank$$

เมื่อได้ค่า Area under the curve (AUC) แล้ว จึงนำมาเขียนกราฟโดยใช้โปรแกรม Excel แกน Y แทนค่าด้วย Area under the curve (AUC) และแกน X เป็นค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox ที่มีความแตกต่างกันคือ 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0 μmole/L จากนั้นสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ โดยสมการที่ได้จะอยู่ในรูปแบบ Y=aX + c นำค่า Net AUC ของสารสกัดจากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว แทนค่าลงในสมการเชิงเส้นดังกล่าว ผลการคำนวณจะได้ค่าเป็นความเข้มข้น μmole/L TE จากนั้นรายงานในหน่วยต่อกรัมตัวอย่าง (μmole TE/ g of extract) โดยการทดสอบทั้งหมดจะทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

3.4.6 การตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบเพื่อวัดความสามารถสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) โดยใช้วิธี Cation Radical Scavenging Activity ซึ่งเป็นวิธีการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการลด (decolorization) อนุมูลอิสระ ABTS ที่มีสีเขียวแกมน้ำเงิน (Bluish-green) ให้จางลงกลายเป็นสารประกอบ ABTS ที่ไม่มีสี โดยการลดลงของสีจะถูกวัดเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 734 nm และรายงานผลเป็นค่าเทียบเท่า Trolox

เริ่มจากการเตรียมสารละลาย ABTS^{•+} โดยผสมสารละลาย ABTS เข้ากับสารละลาย Potassium persulphate อย่างละ 5 mL จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้งานต้อง

เจือจางสารละลาย ABTS^{•+} ในอัตราส่วน 1:17 ก่อนนำมาทดสอบ จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าวที่ความเข้มข้น 1 mg/ml) ส่วนการเตรียมสารมาตรฐาน (Trolox) โดยการเจือจางให้มีความเข้มข้น 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 0 $\mu\text{mole/L}$ การเกิดปฏิกิริยาเริ่มจากผสมสารสกัดหรือสารมาตรฐาน Trolox ปริมาตร 50 μL และสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 150 μL แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรด้วยเครื่องอ่านค่าไมโครเพลตคำนวณคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Trolox แสดงค่าในรูปของ μM สมมูลของ Trolox /g สารสกัด (mM Trolox equivalent) โดยการสร้างกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ในรูปแบบ $Y = aX + c$ นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากราก ใบและเปลือกของต้นมะพร้าว แทนค่าลงในสมการเชิงเส้นดังกล่าว ผลการคำนวณจะได้ค่าเป็นความเข้มข้น $\mu\text{mole/L TE}$ จากนั้น รายงานในหน่วยต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{mole TE/g of extract}$) โดยการทดสอบทั้งหมดจะทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการหาปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดจากมะพร้าว 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกของต้น ราก และใบของ มะพร้าวโดยการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ใช้วิธี Aluminium Chloride Colorimetric Method และการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu's Method การวิเคราะห์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS) จากส่วนประกอบของมะพร้าวทั้ง 3 ส่วนที่ สกัดด้วยเอทานอล

4.1 ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง

งานวิจัยนี้ใช้ส่วนประกอบของมะพร้าวทั้ง 3 ส่วนคือใบ ราก และเปลือกของต้น ที่ตาก แห้งปริมาณ 150 g มาสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นเอทานอล พบว่าเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการสกัด จะได้ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง พบว่าส่วนประกอบจาก เปลือกของต้น ราก และใบของมะพร้าว ให้ % yield ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 คือสกัด ด้วยตัวทำละลายที่เป็นเอทานอลพบว่าใบของมะพร้าว ให้ % yield สูงที่สุด (12.62 %) รองลงมาคือ รากของมะพร้าว (6.89%), และน้อยที่สุดคือ เปลือกของต้นมะพร้าว (4.17 %)

สารสกัด	ส่วนประกอบของมะพร้าว	% yield
เอทานอล	เปลือกของต้นมะพร้าว	4.17
	รากมะพร้าว	6.89
	ใบมะพร้าว	12.62

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรากสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอล

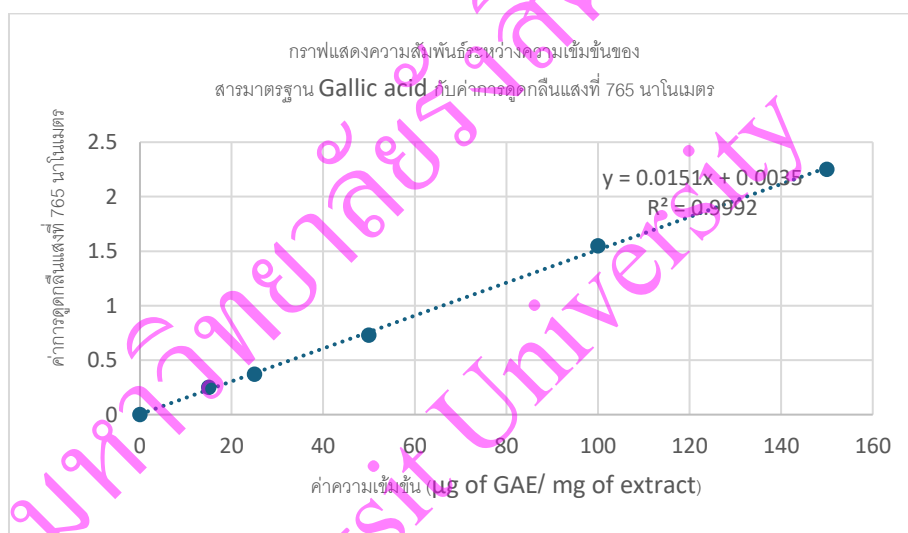
รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรากสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของมะพร้าวในตัวอย่างละลายเอทานอล



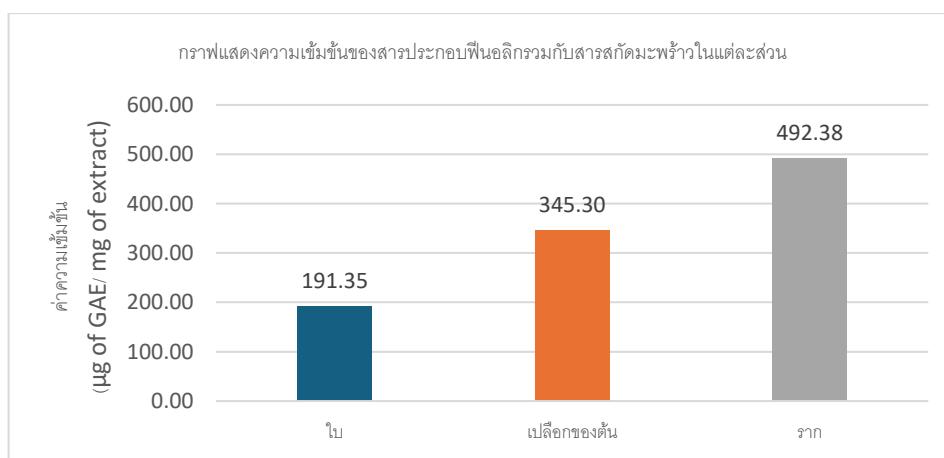
4.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในสารสกัดจากมะพร้าว

เริ่มจากการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดมะพร้าวในตัวอย่างละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml (0.01 g ต่อ 10 mL) จากนั้นนำมาทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม โดยวิธี Spectrophotometric method โดยใช้สาร Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.2.1

การศึกษาในสารสกัดที่ได้จากส่วนประกอบต่างๆของมะพร้าวได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 และในรูปที่ 4.2.2 พบว่ารากของต้นมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดเท่ากับ 492.38 μg of GAE/ mg of extract หรือ 0.492 mg of GAE/ mg of extract (GAE: the equivalent amount of gallic acid) รองลงมาคือ เปลือกของต้นมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอลเท่ากับ 345.30 μg of GAE/ mg of extract หรือ 0.345 mg of GAE/ mg of extract และน้อยที่สุดคือ ใบของต้นมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอลเท่ากับ 191.35 μg of GAE/ mg of extract หรือ 0.191 mg of GAE/ mg of extract



รูปที่ 4.2.1 กราฟมาตรฐานปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเมื่อใช้ สาร Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน



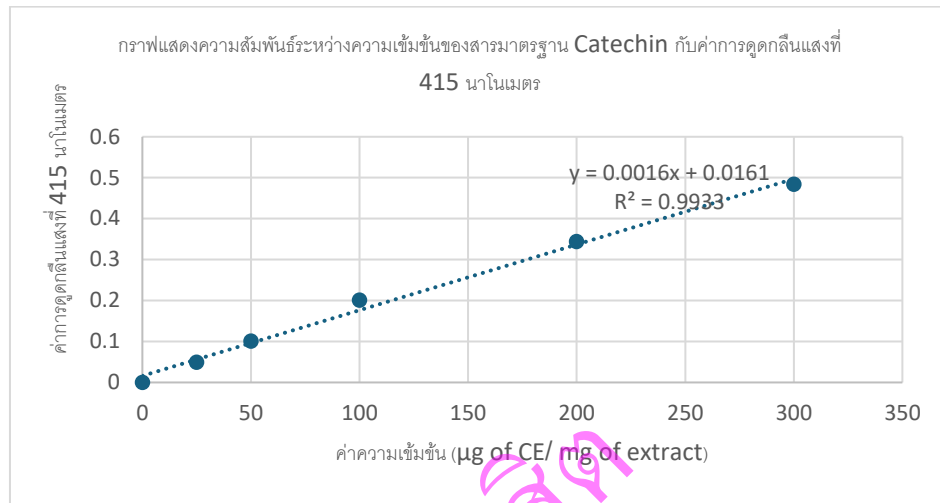
รูปที่ 4.2.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอล ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ย ของสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบ ของมะพร้าว

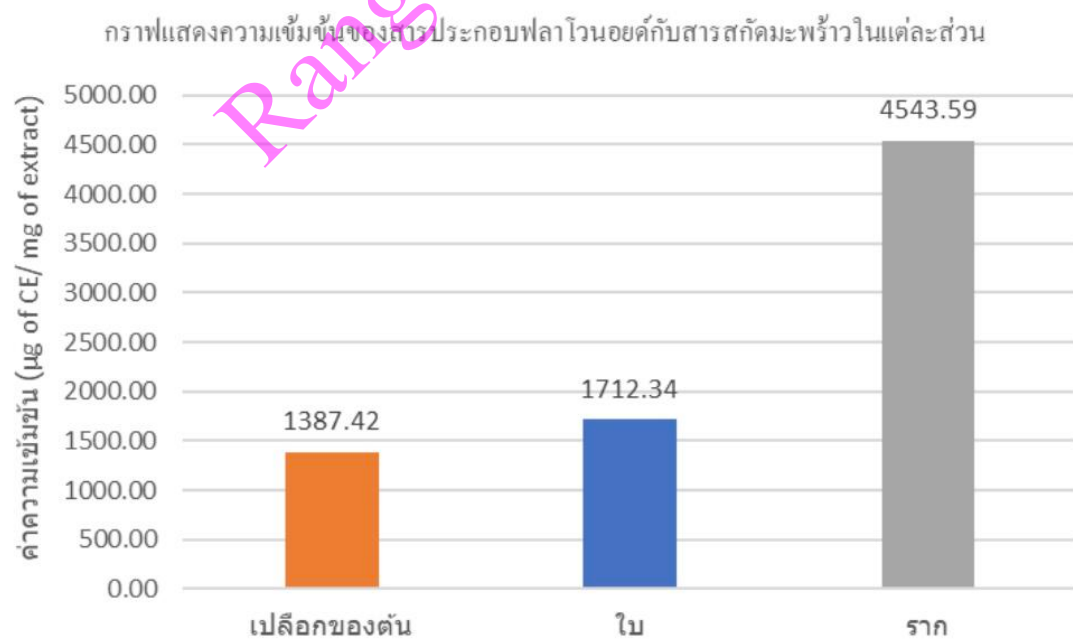
สารสกัดมะพร้าว	ปริมาณฟีนอลิก
	$\mu\text{g of GAE/ mg of extract}$
เปลือกของต้น	345.30
ราก	492.38
ใบ	191.35

4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดจากมะพร้าว

เริ่มจากการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดมะพร้าวในตัวทำละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml จากนั้นนำมาทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยวิธี Aluminum Chlorideo Colorimetric Method โดยใช้สาร Catechin เป็นสารมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.3.1 การศึกษาในสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆของมะพร้าว ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3 และในรูปที่ 4.3.2 พบว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นเอทานอล รากของต้นมะพร้าวให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 4,543.89 $\mu\text{g of CE/ mg of extract}$ หรือ 4.54 mg of CE/ mg of extract (CE: the equivalent amount of catechin) ลงมาคือใบของต้นมะพร้าว 1,712.34 $\mu\text{g of CE/ mg of extract}$ หรือ 1.71 mg of CE/ mg of extract และน้อยที่สุดคือ เปลือกของต้นมะพร้าวเท่ากับ 1,387.42 $\mu\text{g of CE/ mg of extract}$ หรือ 1.39 mg of CE/ mg of extract ดังแสดงใน รูปที่ 4.3.1 และตารางที่ 4.3.2



รูปที่ 4.3.1 กราฟมาตรฐานปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เมื่อใช้สาร Catechin เป็นสารมาตรฐาน



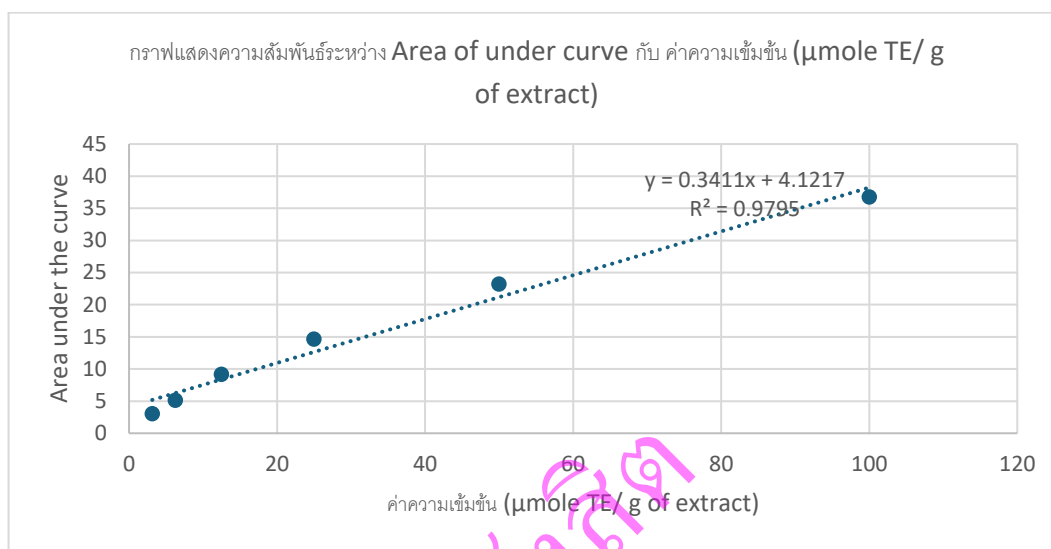
รูปที่ 4.3.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย ของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบของมะพร้าว

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	ปริมาณฟลาโวนอยด์
	$\mu\text{g of CE/mg of extract}$
เปลือกของต้น	1,387.42
ราก	4,543.59
ใบ	1,712.34

4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) โดยใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.4.1 จากการศึกษาในสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆของมะพร้าว ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4.2 พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัดจากส่วนใบ เปลือกของต้น และรากของมะพร้าวมีค่าความเข้มข้นดังนี้ ด้วยตัวทำละลายที่เป็นเอทานอล พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างจากรากมะพร้าว ให้ค่า มากที่สุดเท่ากับ $60,939.80 \mu\text{mole TE/ g of extract}$ รองลงมา ได้แก่ เปลือกของต้นมะพร้าว เท่ากับ $51,338.51 \mu\text{mole TE/ g of extract}$ และน้อยที่สุดคือใบมะพร้าวเท่ากับ $6,568.62 \mu\text{mole TE/ g of extract}$



รูปที่ 4.4.1 กราฟมาตรฐานในการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) เมื่อใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐานกราฟแสดง Standard curve เมื่อทดสอบโดย



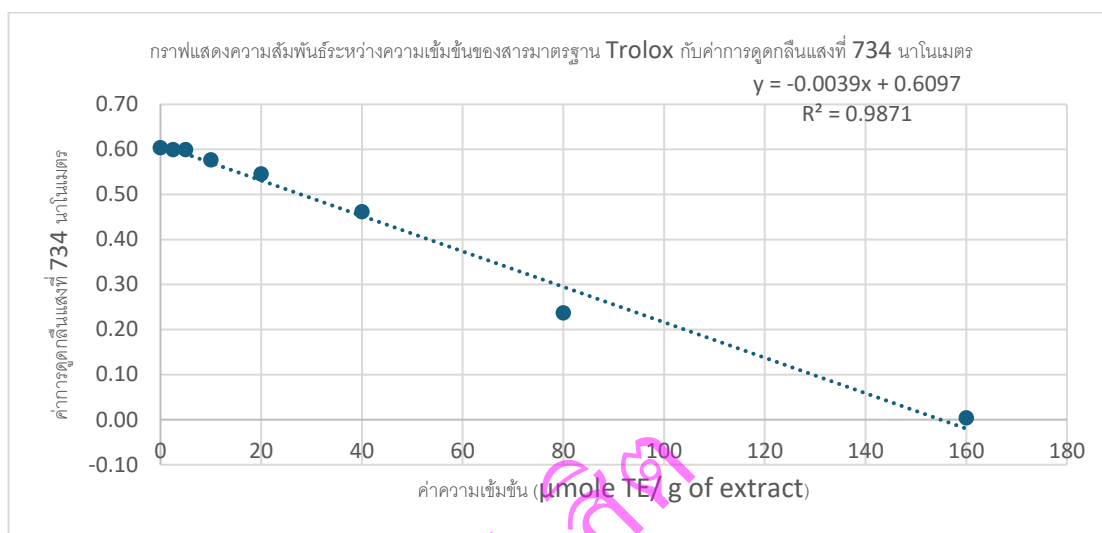
รูปที่ 4.4.2 กราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว ในตัวทำละลายเอทานอล

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ย ของ ORAC ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้น มะพร้าวในตัวอย่างที่ละลายที่เป็นเอทานอล

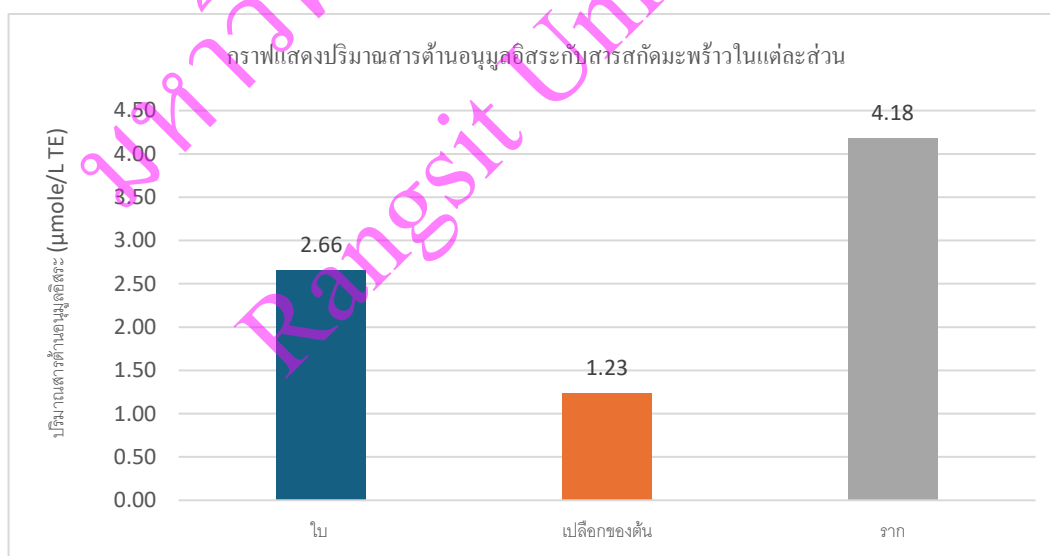
สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ
	($\mu\text{mole TE/ g of extract}$)
เปลือกของต้น	51,338.51
ราก	60,939.80
ใบ	6,568.62

4.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS)

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS โดยใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.5.1 จากการศึกษาในสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆของมะพร้าว ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5.2 พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะพร้าวมีดังนี้ รากมะพร้าว มีปริมาณสารประกอบมากที่สุดเท่ากับ $4,180.00 \mu\text{mole TE/ g of extract}$ รองลงมา ได้แก่ เปลือกของต้นมะพร้าว เท่ากับ $2,660.00 \mu\text{mole TE/ g of extract}$ และน้อยที่สุดคือ ใบมะพร้าว เท่ากับ $1,230.00 \mu\text{mole TE/ g of extract}$



รูปที่ 4.5.1 กราฟมาตรฐานแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} เมื่อใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน



รูปที่ 4.5.2 กราฟแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆมะพร้าวที่สกัดมาจากเอทานอล

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าเฉลี่ย ของความเข้มข้นในสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบมะพร้าวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูล ABTS^{•+}

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ
	($\mu\text{mole TE/ g of extract}$)
เปลือกของต้น	1,230.00
ราก	4,180.00
ใบ	2,660.00

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

อนุมูลอิสระ (Free Radical) คือโมเลกุลหรืออะตอมที่ไม่เสถียรที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมี เนื่องจากขาดอิเล็กตรอนซึ่งโดยปกติในร่างกายมีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ ในกรณีที่ร่างกายมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากการถูกอนุมูลอิสระแย่งจับ จะทำให้โมเลกุลของเซลล์ในร่างกายขาดความสมดุล เกิดการทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์ร่างกายเสียหายได้ กรณีที่อนุมูลอิสระสามารถเข้าทำลายเซลล์ได้เมื่อร่างกายไม่สามารถผลิตหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอที่จะไปยับยั้งหรือไปจับอนุมูลอิสระ ผลคือทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด การแก่ก่อนวัยอันควร โรคต่อกระดูกและโรคอื่นๆ โดยปกติร่างกายมีกลไกที่จะกำจัดสารอนุมูลอิสระคือการใช้เอนไซม์ที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อจับกับอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ catalase เอนไซม์ glutathione peroxidase และการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบตาแคโรทีน อัลคาลอยด์ สารประกอบโพลีฟีนอลต่างๆ เช่น anthocyanins, coumestanes, flavonoids, isoflavonoids และ stilbenes เป็นต้น ซึ่งในกลุ่มของสารประเภท flavonoids จะประกอบไปด้วย ฟลาโวนอล, ฟลาโวน, ฟลาวาโนน, ฟลาวานอล, ฟลาวาโนนอล, ไอโซฟลาโวน และ แอนโทไซยานิน เป็นต้น โดยในธรรมชาติสามารถพบสารต้านอนุมูลอิสระโดยส่วนใหญ่จะเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล เช่น กรดฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, แอนโทไซยานิน, ลิกนิน และ สตีลบิน เป็นต้น และสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น

เช่นโทฟีล และ แครโทีน อีกทั้งยังสามารถพบสารในกลุ่มวิตามินต่าง ๆ เช่น วิตามินซี และวิตามินอี (Dong-Ping Xu et al., 2016) จากการศึกษาได้ทำการสกัดสารจากมะพร้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอลในส่วนเปลือกของต้น ราก และใบของมะพร้าว โดยทำการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method สารประกอบฟลาโวนอยด์ จะทำปฏิกิริยาโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน มีโครงสร้าง คือ ฟลาโวน ที่มีหมู่คีโตนที่จุด C-4 หรือหมู่ไฮดรอกซิล ตรงจุด C-3, C-5 ของฟลาโวนหรือฟลาโวนอล รวมทั้ง หมู่ Orthodihydroxyl ที่จุด B-ring ทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะของ Aluminum จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบ อลูมิเนียมฟลาโวนอยด์ ซึ่งได้เป็นสารสีเหลือง จากผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สารเอทานอลเป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากรากมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาคือใบ และที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด คือเปลือกของต้นมะพร้าว

ส่วนการศึกษหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากส่วนเปลือกของต้น ราก และใบของมะพร้าวโดยใช้วิธีที่อาศัยหลักการของสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำปฏิกิริยากับ Folin–Ciocalteu reagent ซึ่งมีไอออนของโลหะทั้งสเดนและโมลิบดีนัม เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) บนวงเบนซีนของสารฟีนอลิก จะเกิดการรีดักชันให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม ผลการศึกษานี้พบว่า สารสกัดจากรากมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาคือใบ และที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดคือต้นมะพร้าว การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่ได้จากราก เปลือกของต้น และใบของมะพร้าว โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) โดยสาร AAPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ สารเหล่านี้จะให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระถูกกำจัดและลดการทำลายของสารเรืองแสงส่งผลให้สีของสารละลายจากสีเขียวเข้มค่อย ๆ จางลงตามความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่าง

ผลการศึกษาว่า รากมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาคือเปลือกของต้นมะพร้าว และที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือใบมะพร้าว เนื่องจากรากมะพร้าวมีสารพฤษเคมีหลายชนิดที่สำคัญ ได้แก่ ฟีนอลิก (Phenolics), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids), แทนนิน (Tannins), ซาโปนิน (Saponins), สเตอรอยด์ (Steroids) และไกลโคไซด์ (Glycosides) ซึ่งสารเหล่านี้มี

บทบาทในการต้านอนุมูลอิสระโดยสามารถจับกับอนุมูลอิสระยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและกระตุ้นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระจึงทำให้พบว่าในรากมะพร้าวสามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าส่วนอื่น (Ujwala PR et al., 2019) ส่วนการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่ได้จากใบ ราก และเปลือกของต้นของมะพร้าว ด้วยวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS) โดยสาร ABTS เมื่อถูกออกซิไดซ์ด้วยสารตัวทำปฏิกิริยา จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งมีสีเขียวอมฟ้า เมื่อสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์หรือฟีนอลิก ถูกเติมลงไปในการละลาย จะเกิดการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวอมฟ้าชัดเจน จากผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่า รากมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดรองลงมาคือ ต้นมะพร้าว และที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือใบมะพร้าว เนื่องจากต้นมะพร้าวมีสารประกอบอื่นที่นอกเหนือจากฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เช่น ซาโปนิน ไตรเทอร์พีน (Ambe et al., 2023) แต่ไม่ได้ระบุชัดเจนว่ามีสารใดที่มีปริมาณมากที่สุด

จากการศึกษานี้พบว่ารากเป็นส่วนที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าส่วนใบและเปลือกของต้น อาจเนื่องมาจากในผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการพบว่าส่วนรากมีสารกลุ่มฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนอื่น โดยสารกลุ่มฟีนอลิก เช่น Catechin, Gallic acid, Quercetin ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลมากและมีกลไกที่มีการให้อิเล็กตรอนหรือให้อิเล็กตรอนเพื่อทำให้อะตอมอิสระไม่เสถียรกลายเป็นโมเลกุลเสถียรและยังสามารถจับโลหะและยับยั้งเอนไซม์ที่สร้างอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Belem-Kabré และคณะ (2021) พบว่า รากมะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) มีสารพฤษเคมีหลายชนิด เช่น แทนนิน ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ โดยเฉพาะสารฟลาโวนอยด์ทำหน้าที่เป็น ตัวบริจาคอิเล็กตรอนเพื่อยับยั้งอนุมูลอิสระ และสารแทนนินซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน ทำให้สารสกัดจากรากมะพร้าวมีศักยภาพสูงในการปกป้องเซลล์จากความเครียดออกซิเดชัน สารเหล่านี้เป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Belem-Kabré et al., 2021) จากการศึกษาของ Uy และคณะ (2019) ได้สนับสนุนว่า รากมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลเป็นส่วนที่อุดมไปด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นรากมะพร้าวจึงถูกนำมาใช้ในการแพทย์แผนโบราณเพื่อรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคกระเพาะและโรคผิวหนัง เป็นต้น Uy และคณะ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่ารากมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่า $IC_{50}=24.25 \mu g/mL$ เมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิกมีค่า $IC_{50}=1.74 \mu g/mL$ และการศึกษาหาสาร ประกอบในสารสกัดรากโดยใช้ Gas Chromatography-Mass Spectrometry พบว่าสารพฤษเคมี ที่มีอยู่ในสารสกัดรากนี้จะมีสารประกอบโพลีฟีนอลิก

ซึ่งสารโพลีฟีนอลนี้สามารถทำหน้าที่ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่งเนื่องจากสามารถ ป้องกันความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและลดการอักเสบได้ ผลลัพธ์จากการศึกษา GC-MS พบว่าสารประกอบที่มีฟีนอลอยู่ในสารสกัด ของรากมะพร้าว ได้แก่ 2,4-Di-tertbutylphenol และ 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol โดยสารประกอบเหล่านี้สามารถช่วยชะลอการเกิด autoxidation โดยการยับยั้งการก่อตัวของอนุมูลอิสระ และออกซิเจนชนิดปฏิกิริยาอื่น ๆ หรือผ่านการกำจัดสารที่จะก่อให้เกิดเปอร์ออกซิเดชัน และทำลาย ปฏิกิริยาถูกโซ่ออกซิเดชัน เป็นต้น นอกจากนี้ในรากมะพร้าวยังพบสารแทนนิน, ซาโปนิน, อัลคาลอยด์, สเตียรอยด์, ไกลโคไซด์ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากรายงานของแพทย์พื้นบ้านพบว่าชนเผ่าพื้นเมืองต่างๆ ในมินดาเนา ผู้ที่อยู่อาศัยในพื้นที่ของ Surigao del Sur และ Cotabato ใช้รากมะพร้าว มาต้มในน้ำแล้วนำมารับประทานรักษาโรคข้ออักเสบ ในขณะที่ชาวมุสลิมในเมือง Iligan ดื่มสิ่งนี้เพื่อลดความดันโลหิตสูง ดังนั้นจากการศึกษา ทางวิทยาศาสตร์จึงสนับสนุนคุณสมบัติ ในเบื้องต้นของรากมะพร้าวในการใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้านใน การนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการรักษาโรคต่อไปในอนาคต เนื่องจากรากมะพร้าวมีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระได้ดี การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องและสนับสนุนผลการศึกษาที่ผ่านมาว่า รากมีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนใบและเปลือกของต้นมะพร้าว แต่ในส่วนของใบมะพร้าวก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกัน แต่มีระดับความเข้มข้นของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าราก โดยในใบพบสารต้าน อนุมูลอิสระชนิดอื่น เช่น แอลคาลอยด์ แทนนิน และซาโปนิน ซึ่งสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ในระดับหนึ่ง แต่ประสิทธิภาพการบริจาคอิเล็กตรอน (electron-donating ability) ต่ำกว่า สารกลุ่มฟีนอลิกที่พบในราก (Seneviratne & Dissanayake, 2008) สำหรับ เปลือกต้นมะพร้าว พบว่ามี สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มแอลคาลอยด์และแทนนินเช่นกัน แต่มีปริมาณรวมของสารออกฤทธิ์ต่ำที่สุดในสามส่วนของพืช ซึ่งอาจเป็นเพราะเปลือกทำหน้าที่เป็นเนื้อเยื่อป้องกันมากกว่าการสังเคราะห์สารเมตาโบไลต์ ส่งผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมต่ำกว่าส่วนราก (Odenigbo, 2012)

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในรากมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์และสารฟีนอลิกได้ในมากกว่าส่วนอื่นๆ จากเปลือกของต้นมะพร้าวต่อไปในอนาคตจึงควรศึกษาวิจัยในเชิงลึกเพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาของมะพร้าวในส่วนต่างๆ เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในส่วนรากมะพร้าวเพื่อใช้เป็นทางเลือกในการผลิตยารักษาโรคเวชสำอาง และผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพต่อไป ดังนั้นฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะขึ้นอยู่กับส่วนของมะพร้าวที่นำมาสกัดการศึกษานี้

ช่วยยืนยันว่ามะพร้าวโดยเฉพาะส่วนรากมีประสิทธิภาพในการเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

โดยสรุปการศึกษานี้ส่วนรากมะพร้าวที่สกัดด้วยเอทานอลจะเป็นส่วนที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระสารประกอบฟีนอลรวม และฟลาโวนอยด์ดีกว่าเมื่อเทียบกับส่วน เปลือกของต้น และใบของมะพร้าว จึงควรถูกเลือกนำมาศึกษาฤทธิ์ด้านอื่นต่อไปเพื่ออนาคตจะได้นำมาใช้ในเชิงอุตสาหกรรมของยาและอาหารต่อไปได้

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

บรรณานุกรม

สร้อยรัตน์ พ่วงบริสุทธิ์, นฤมล มงคลชนวัฒน์, ศิริจันทร์ ตาใจ, และวิฑิตเลศนิมิตมงคล./(2020)./ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกเงาะ 3 สายพันธุ์ในจังหวัดจันทบุรี./มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และ นิธิยารัตนาปนนท์./ (2560, 24 กันยายน)./ Butylated hydroxytoluene/BHT./ Food Network Solution.
<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1576/butylated-hydroxytoluene-bht>

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และ นิธิยารัตนาปนนท์./ (2561, 13 มกราคม(=)./ DPPH assay/การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน./ Food Network Solution.
<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay>

รัชชา เอื้อบุญานนท์, สุพรรณยา ปกป้อง, และอาภา ชัยวิชาชาญ./ (2561)./การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลไม้ต้นตาล (พิมพ์ครั้งที่ 1)./ คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพา.

อธิป สกฤตเผือก./ (2559, 27 ธันวาคม). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ./ ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์. <https://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=204>

เต็ม สมิตินันท์.(2544).ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม(พิมพ์ครั้งที่ 3).กรุงเทพมหานคร.

กาญจนา จันทร์สิงห์./ (2563)./
มะพร้าว./https://arit.kpru.ac.th/ap2/local/?code_db=610010&code_type=01&nu=pages&page_id=1733&utm_source=chatgpt.com

รศ.ดร.รัชนี คงคามุขฉาย ,รศ.ดร.วิญ เจริญศิริ, ศ.ดร.อภิชาติ วรรณวิจิตร,ดร.ศิริพัฒน์
เรืองพยัคฆ์/(มปป)/อนุมูลอิสระ./https://dna.kps.ku.ac.th/index.php/article-rice-rsc-rgdu/36-free-
radicle-antioxidant-anthrocyanidin

วลัยพร สีนสวัสดิ์,วรรณนา ศรีเพ็ชรพร,ประนอม สุขเกื้อ,ชื่นสุมน ยิ้มถิ่น,อรุณี ชันศรี,สิริยากร
คล้ายสอน.(2564).การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสา
รสกัดใบหนานเฉาเหว่ยและใบมะม่วงหาวมะนาวโห่[วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต].https://research.rmut
sb.ac.th/fullpaper/2563/research.rmutsb-2563-20210604113305353.pdf?

Lima EB, Sousa CN, Meneses LN, Ximenes NC, Santos Júnior MA, Vasconcelos GS, Lima
NB, Patrocínio MC, Macedo D, Vasconcelos SM. *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical
and pharmacological review. *Braz J Med Biol Res.* 2015 Nov;48(11):953-64.

Uy IA, Dapar MLG, Aranas AT, Mindo RR, Cabrido CK, Torres MAJ, Manting MME,
Demayo CGa. Qualitative assessment of the antimicrobial, antioxidant, phytochemical properties of
the ethanolic extracts of the roots of *Cocos nucifera* L. (2019), *Pharmacophore*, 10(2), 63–75.

Gruyal, G. A., del Roasario, R., & Palmes, N. D. (2014). Ethnomedicinal plants used by
residents in Northern Surigao del Sur, Philippines. *Natural Products Chemistry & Research.* 2(5), 83.
DOI: 10.4172/2329-6836.S1.002

Olowa, L., & Demayo, C. G. (2015). Ethnobotanical uses of medicinal plants among the
Muslim Maranaos in Iligan City, Mindanao, Philippines. *Advances in Environmental Biology*, 9(27),
204-215.

Brescia PJ. Determination of Antioxidant potential using an Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). 2012. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/determination-of-antioxidant-potential-5994-3310EN-agilent.pdf>

Belem-Kabré, W. L. M. E., Kaboré, B., Compaoré-Coulibaly, A., Traoré, T. K., Thiombiano, E. A. M., Nebié-Traoré, M., Compaoré, M., Kini, F. B., Ouédraogo, S., Kiendrebeogo, M., & Ouédraogo, N. (2021). Phytochemical and biological investigations of extracts from the roots of *Cocos nucifera* L. (Arecaceae) and *Carica papaya* L. (Caricaceae), two plants used in traditional medicine. *African Journal of Biochemistry Research*, 15(1), 28–35. <https://doi.org/10.5897/AJBR2020.1107>

Ambe, D. A., Odiete, C. E., Buba, J. D., & Odion, E. E. (2023). Antioxidant effects of *Cocos nucifera* L. (Asteraceae) stem bark extracts using diphenyl-1-picrylhydrazyl, hydrogen peroxide, and nitric oxide scavenging assays. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 27(10), 2291–2295. <https://doi.org/10.4314/jasem.v27i10.21>

Ujwala, P. R., Rajasekaran, S., & Ramasamy, S. (2019). Phytochemical screening and in-vitro evaluation of antioxidant activity of methanolic extract of coconut (*Cocos nucifera*) leaves. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 1–5. <https://doi.org/10.22270/ujpr.v4i2.253>

Uy, I. A., Santos, J. R., & Cruz, M. T. (2019). Qualitative assessment of the antimicrobial, antioxidant, phytochemical properties of the ethanolic extracts of the roots of *Cocos nucifera* L. *Pharmacophore*, 10(2), 63–75. https://www.researchgate.net/publication/339835333_Qualitative_assessment_of_the_antimicrobial_and_antioxidant_phytochemical_properties_of_the_ethanolic_extract_of_the_roots_of_Cocos_nucifera_L

Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Boligon, A. A., Athayde, M. L., & Piana, M. (2014). Technical evaluation of antioxidant activity. *Medicinal Chemistry*, 4(4), 517–522. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000517>

Borlinghaus, J., Reiter, J., Ries, M., & Gruhlke, M. (2020). Screening procedures and tests for antioxidants. In *Pathology* (pp. 389–395). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00037-8>

Naskar, S., Islam, A., Mazumder, U. K., Saha, P., Halder, P. K., & Gupta, M. (2011). In vitro and in vivo antioxidant potential of hydromethanolic extract of *Phoenix sylvestris* (Roxb.) root. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(2), 403–412.

Seneviratne, K. N., & Dissanayake, D. M. (2008). Variation of phenolic content in coconut (*Cocos nucifera* L.) and antioxidant activity of its oil. *Journal of Food Science and Technology*, 45(3), 223–230.

Odenigbo, A. M., Asumugha, V. U., & Ubbor, S. C. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of *Cocos nucifera* L. husk. *African Journal of Biotechnology*, 11(88), 15460–15465. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1983>

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอล

สารสกัด	ส่วนประกอบของมะพร้าว	% yield
เอทานอล	เปลือกของต้นมะพร้าว	4.17
	รากมะพร้าว	6.89
	ใบมะพร้าว	12.62

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ย ของสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าวในตัวทำละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	ปริมาณฟีนอลิก
	µg of GAE/ mg of extract
	เอทานอล
เปลือกของต้น	345.30
ราก	492.38
ใบ	191.35

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบ จากต้นมะพร้าวในตัวอย่างที่ละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	ปริมาณฟลาโวนอยด์
	$\mu\text{g of CE/mg of extract}$
	เอทานอล
เปลือกของต้น	1387.42
ราก	4543.59
ใบ	1712.34

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย ของ ORAC ในสารสกัด จากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าว ในตัวอย่างที่ละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล $\times$	Area under curve (AUC)
	เอทานอล
เปลือกของต้น	14.33
ราก	17.60
ใบ	19.22

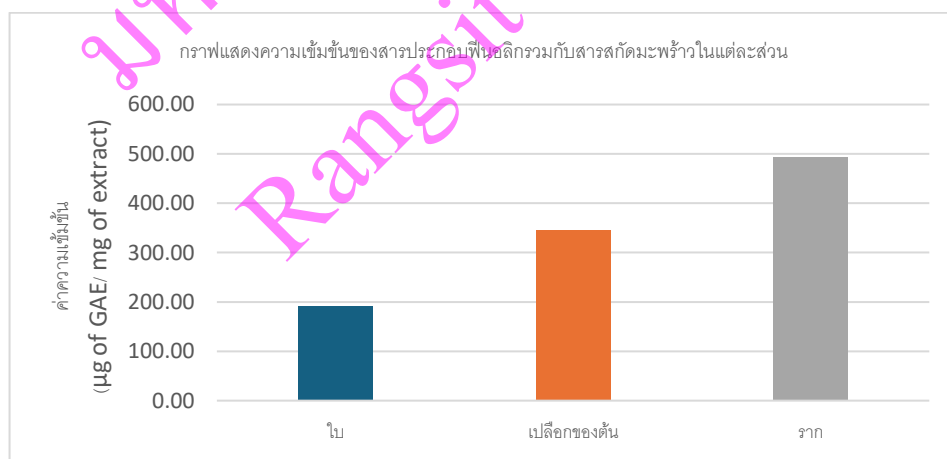
ตารางที่ 5 ผลการทดสอบ ABTS ของสารสกัดมะพร้าวแต่ละส่วน ได้แก่ เปลือกของต้น ราก และใบ ในตัวทำละลายเอทานอล ค่าที่แสดงเป็นค่า % Inhibition

สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล	50% Inhibitory concentration (IC ₅₀) (μg/mL)
	เอทานอล
เปลือกของต้น	81.25
ราก	67.18
ใบ	57.81

รูปที่ 1 แสดงปริมาณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรสสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของมะพร้าวที่สกัดจากเอทานอล



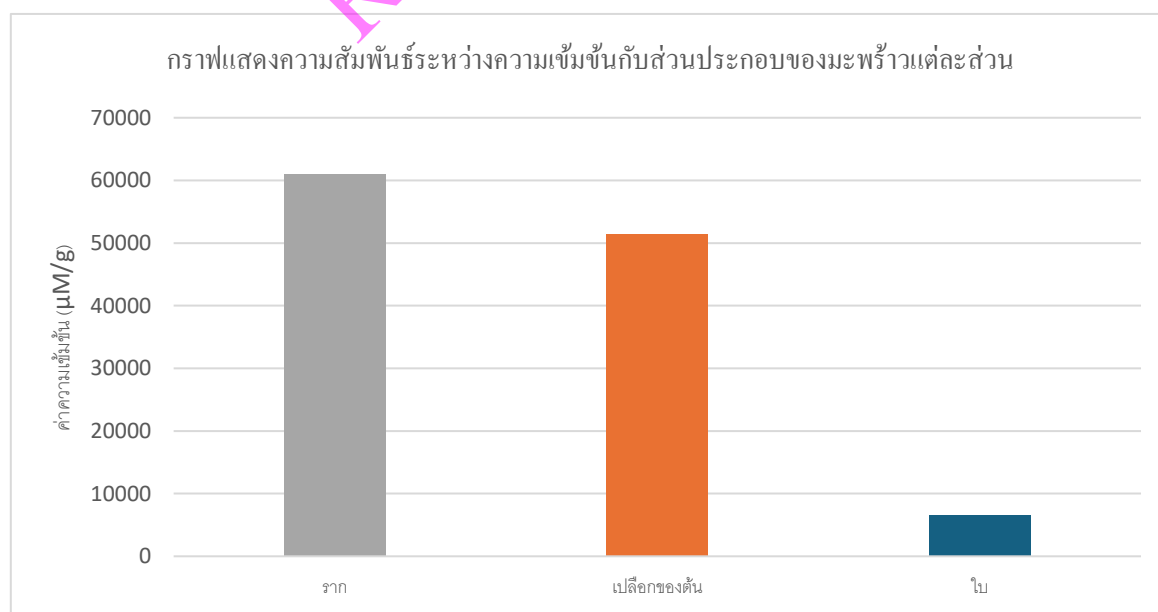
รูปที่ 2 ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอล ของสารสกัดจากมะพร้าวชนิดต่างๆในตัวทำละลายเอทานอล



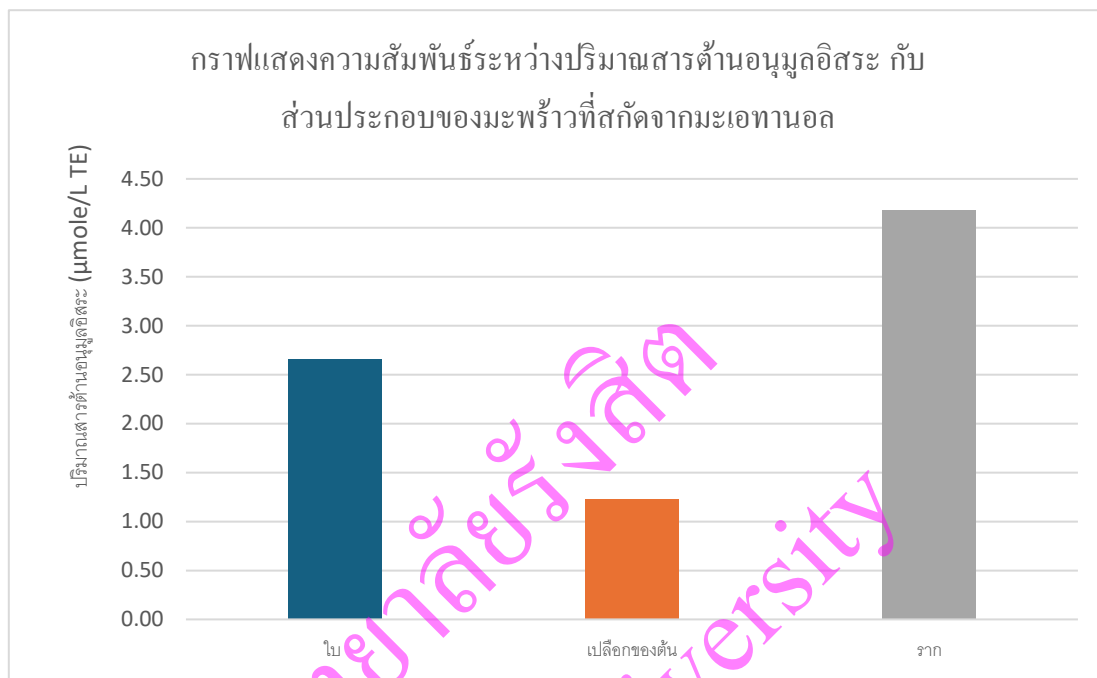
รูปที่ 3 ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าว โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล



รูปที่ 4 ผลการทดสอบ ORAC ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมะพร้าวโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล



รูปที่ 5 ผลการทดสอบ ABTS ของสารสกัดมะพร้าวส่วนต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล



ตารางที่ 6 ผลการทดสอบโดยวิธี Aluminum Chloride Colorimetric Method

สารสกัด จากมะพร้าว	ค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
เปลือกของต้นมะพร้าว	0.541	0.456	0.560	0.520
รากมะพร้าว	0.756	0.760	0.790	0.770
ใบมะพร้าว	0.663	0.689	0.680	0.680

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบโดยวิธี Spectrophotometric method

สารสกัด จากมะพร้าว	ค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
เปลือกของต้นมะพร้าว	0.449	0.450	0.500	0.490	0.466
รากมะพร้าว	0.707	0.704	0.641	0.643	0.684
ใบมะพร้าว	0.554	0.557	0.490	0.493	0.534

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบ ORAC ของสารสกัดมะพร้าวในแต่ละส่วนในตัวทำละลายเอทานอล

ค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น					
สารสกัด	Ex/Em = 485/527 นาโนเมตร				ค่าเฉลี่ย
จากมะพร้าว	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
เปลือกของต้น					
มะพร้าว	22.762	21.562	21.399	19.917	21.411
รากมะพร้าว					
	25.550	25.176	24.766	23.253	24.686
ใบมะพร้าว					
	26.428	26.082	25.569	26.740	26.305

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบโดยวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonis acid) (ABTS)

สารสกัด จากมะพร้าว	ค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
เปลือกของต้น มะพร้าว	0.031	0.142	0.157	0.164	0.150
รากมะพร้าว	0.033	0.238	0.244	0.244	0.240
ใบมะพร้าว	0.032	0.292	0.303	0.299	0.300

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าวในตัวอย่างละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัด จากมะพร้าว	ปริมาณฟลาโวนอยด์ $\mu\text{g of CE/mg of extract}$
เปลือกของต้นมะพร้าว	0.520 ± 0.367
รากมะพร้าว	0.770 ± 0.544
ใบมะพร้าว	0.680 ± 0.481

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าวในตัวอย่างละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัด จากมะพร้าว	ปริมาณฟีนอลิก $\mu\text{g of GAE/ mg of extract}$
เปลือกของต้นมะพร้าว	0.466 ± 0.268
รากมะพร้าว	0.684 ± 0.395
ใบมะพร้าว	0.534 ± 0.308

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ORAC ในสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าวในตัวอย่างละลายที่เป็น เอทานอล

สารสกัด จากมะพร้าว	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $\mu\text{mole TE/ g of extract}$
เปลือกของต้นมะพร้าว	21.411 ± 12.362
รากมะพร้าว	24.686 ± 14.252
ใบมะพร้าว	26.305 ± 15.176

ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS ในสารสกัดจากเปลือกของต้น ราก และใบจากต้นมะพร้าวในตัวอย่างละลายที่เป็นเอทานอล

สารสกัด จากมะพร้าว	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ $\mu\text{mole TE/g of extract}$
เปลือกของต้นมะพร้าว	0.150 ± 0.089
รากมะพร้าว	0.240 ± 0.138
ใบมะพร้าว	0.300 ± 0.173

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

ภาคผนวก ข

การคำนวณค่า IC₅₀ เมื่อทำการพลอตกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox กับค่า การดูดกลืน จากสมการของกราฟ

1. เปลือกของต้นมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = -0.0039x + 0.6097$$

$$y = \% \text{ Inhibition}$$

$$x = \text{ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง } (\mu\text{g/mL})$$

จากสมการ จะได้ว่า $81.25 = -0.0039x + 0.6097$

$$81.25 - 0.6097 = -0.0039x$$

$$X = 20677$$

ดังนั้น ค่า IC₅₀ ของสารมาตรฐาน คือ 20677 $\mu\text{g/mL}$

2. รากมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = -0.0039x + 0.6097$$

$$y = \% \text{ Inhibition}$$

$$x = \text{ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง } (\mu\text{g/mL})$$

จากสมการ จะได้ว่า $67.19 = -0.0039x + 0.6097$

$$67.19 - 0.6097 = -0.0039x$$

$$X = 17071.87$$

ดังนั้น ค่า IC₅₀ ของสารมาตรฐาน คือ 17071.87 $\mu\text{g/mL}$

3. ใบมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = -0.0039x + 0.6097$$

$$y = \% \text{ Inhibition}$$

$$x = \text{ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง } (\mu\text{g/mL})$$

จากสมการ จะได้ว่า $57.81 = -0.0039x + 0.6097$

$$57.81 - 0.6097 = -0.0039x$$

$$X = 14666.74$$

ดังนั้น ค่า IC₅₀ ของสารมาตรฐาน คือ 14666.74 $\mu\text{g/mL}$

การคำนวณค่าปริมาณฟลาโวนอยด์ เมื่อทำการพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานต่างๆจากสมการของกราฟ

1. เปลือกของต้นมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0016x + 0.0161$$

y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า $0.444 = 0.0016x + 0.0161$

$$0.444 - 0.0161 = 0.0016x$$

$$x = 277.48$$

คูณDilution จะได้ว่า $277.48 \times \text{Dilution}(5) = 1387.42$

ดังนั้น ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ คือ $1387.42 \mu\text{g/mL}$

2. รากมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0016x + 0.0161$$

y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า $0.274 = 0.0016x + 0.0161$

$$0.274 - 0.0161 = 0.0016x$$

$$x = 171.23$$

คูณDilution จะได้ว่า $171.23 \times \text{Dilution}(10) = 1712.34$

ดังนั้น ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ คือ $1712.34 \mu\text{g/mL}$

3. ใบมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0016x + 0.0161$$

y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า $0.727 = 0.0016x + 0.0161$

$$0.727 - 0.0161 = 0.0016x$$

$$X = 454.36$$

คูณDilution จะได้ว่า $277.48 \times \text{Dilution}(10) = 4543.59$

ดังนั้น ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ คือ $4543.59 \mu\text{g/mL}$

การคำนวณค่าปริมาณฟีนอล

เมื่อทำการพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานต่างๆจากสมการของกราฟ

1. เปลือกของต้นมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0151x + 0.0035$$

$y =$ ค่าการดูดกลืนแสง

$x =$ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า

$$0.52 = 0.0151x + 0.0035$$

$$0.52 - 0.0035 = 0.0151x$$

$$x = 34.4$$

คูณDilution จะได้ว่า $34.4 \times \text{Dilution}(10) = 343.67$

ดังนั้น ปริมาณสารฟีนอล คือ $343.67 \mu\text{g/mL}$

2. รากมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0151x + 0.0035$$

$y =$ ค่าการดูดกลืนแสง

$x =$ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า

$$0.77 = 0.0151x + 0.0035$$

$$0.77 - 0.0035 = 0.0151x$$

$$X = 50.9$$

คูณDilution จะได้ว่า $50.9 \times \text{Dilution}(10) = 509.02$

ดังนั้น ปริมาณสารฟีนอล คือ $509.02 \mu\text{g/mL}$

3. ไบโอมะพร้าว สกัดด้วยเอทานอล

สมการที่ได้จากกราฟ

$$y = 0.0151x + 0.0035$$

y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$)

จากสมการ จะได้ว่า

$$0.68 = 0.0151x + 0.0035$$

$$0.68 - 0.0035 = 0.0151x$$

$$X = 44.9$$

คูณDilution จะได้ว่า $44.9 \times \text{Dilution}(5) = 224.27$

ดังนั้น ปริมาณสารฟีนอล คือ $224.27 \mu\text{g/mL}$

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	แกมฉัตร จุลละสร
วัน เดือน ปีเกิด	4 พฤษภาคม 2546
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลนวมินทร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	Chikara apartment เลขที่ 20 หมู่ที่ 7 ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ.2561 จากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศ เตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ.2564 จากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศ เตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ปัจจุบัน	นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ธีรณัย เสารางทอย
วัน เดือน ปีเกิด	28 มกราคม 2546
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสองแคว จังหวัดน่าน
ที่อยู่ปัจจุบัน	52/268 หมู่ที่ 7 ตำบล หลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษา มัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2561 จากโรงเรียน นันทบุรีวิทยา พระปรีดิธรรม จังหวัดน่าน สำเร็จการศึกษา มัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2564 จากโรงเรียน ไตรเขตประชาสามัคคีรัชมังคลาภิเษก จังหวัดน่าน
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นุรฟามีน มุดอ
วัน เดือน ปีเกิด	17 กันยายน 2546
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลรามัน จังหวัดยะลา
ที่อยู่ปัจจุบัน	52/126-128 หมู่ 7 หมู่บ้านเมืองเอก ถ. พหลโยธิน ต.หลักหก อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2561 จากโรงเรียนธรรมวิทยามูลนิธิ จังหวัดยะลา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2564 จากโรงเรียนธรรมวิทยามูลนิธิ จังหวัดยะลา
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	รศศกร อัจฉยสวัสดิ์
วัน เดือน ปีเกิด	1 กันยายน 2546
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลรามารับดี จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	Chikara apartment เลขที่ 20 หมู่ที่ 7 ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2561 จากโรงเรียนกสิณธรเซนต์ปีเตอร์ จังหวัด นนทบุรี สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2564 จากโรงเรียนกสิณธรเซนต์ปีเตอร์ จังหวัด นนทบุรี
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	อิศริญาภรณ์ เหมหาญ
วัน เดือน ปีเกิด	9 ธันวาคม 2546
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสกลนคร จังหวัดสกลนคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	Chikara apartment เลขที่ 20 หมู่ที่ 7 ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 โรงเรียนบ้านหนองหนองพะเนาวัล มิตรภาพที่126 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

ชื่อเรื่องภาษาเพื่อการศึกษาระดับปริญญาโท พ.ศ. 2565

บทนำ