



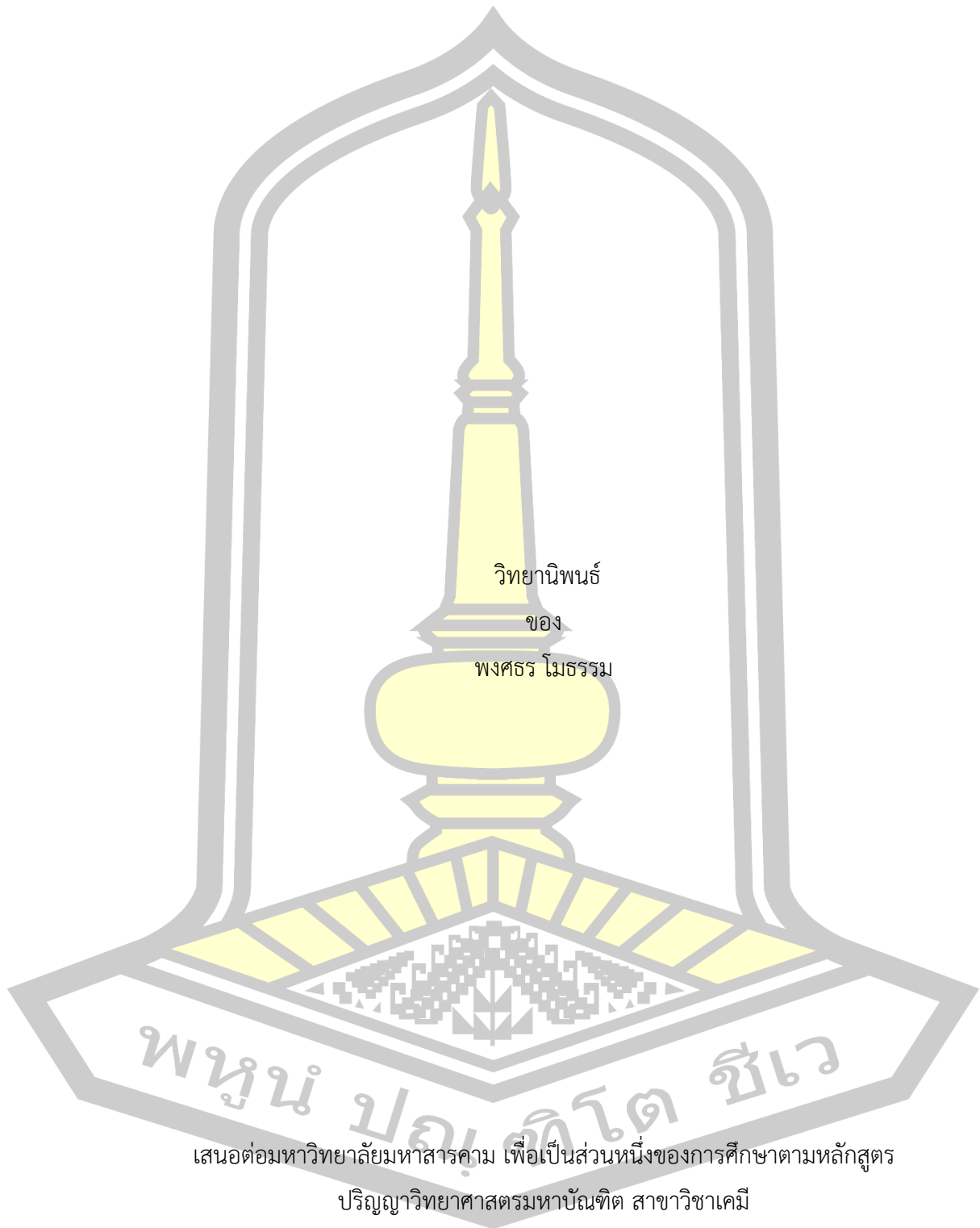
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกส่วนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

วิทยานิพนธ์
ของ
พงศธร โมธรรม

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
กุมภาพันธ์ 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกส่วนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี



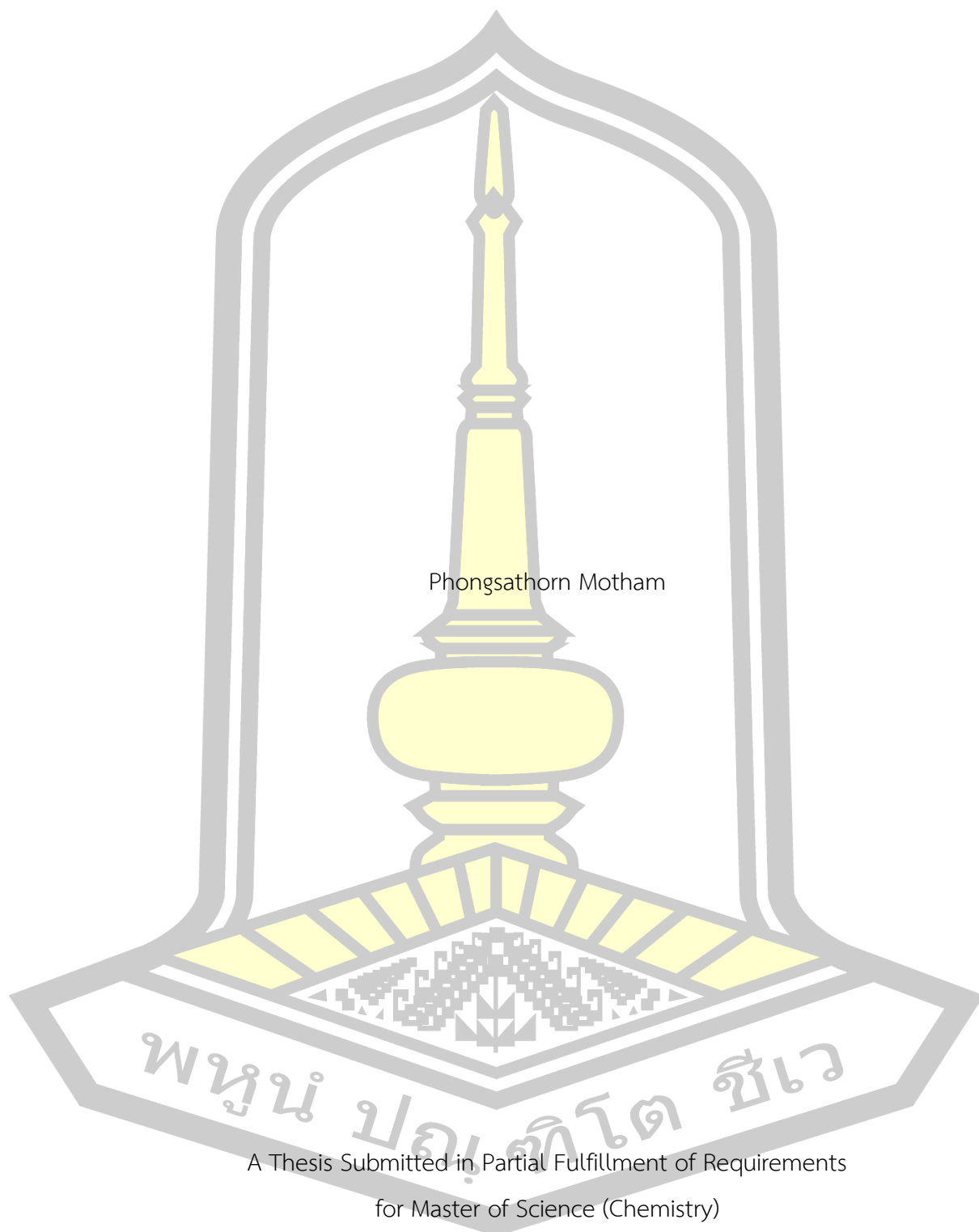
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

กุมภาพันธ์ 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Bioactive substances of sugarcane bagasse extracts fractionated by chromatography



Phongsathorn Motham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Chemistry)

February 2021

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนายพงศธร โมธรรม แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. คมศร สมไธสง)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รศ. ดร. ประสงค์ สีหานาม)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. อัญศยา ท่อนโพธิ์)

กรรมการ

(ผศ. ดร. คงวิทย์ ประสิทธิ์นอก)

กรรมการ

(ผศ. ดร. สิริพิศ พิศชวนชม)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

พหุ ปลูกจิต ชีวะ

ชื่อเรื่อง	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกส่วนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี		
ผู้วิจัย	พงศธร โมธรรม		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ประสงค์ สีหานาม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัญญา ท่อนโพธิ์		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	เคมี
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2564

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากชานอ้อย 3 สายพันธุ์ คือ อู่ทอง 17 สุพรรณบุรี 50 และ สุพรรณบุรี 72 ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อู่ทอง 17 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดในบรรดาสารฟลาโวนอยด์ที่ตรวจสอบ รองลงมา คือ สายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 โดยซาโปนินรวม เป็นสารฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดรองลงมา คือ ฟิโนลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม ตามลำดับ สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อู่ทอง 17 มีฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH, ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กและโลหะทองแดงสูงที่สุด ส่วนสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล ABTS สูงที่สุด สารสกัดจากชานอ้อยทั้ง 3 สายพันธุ์มีความจำเพาะต่ออนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่า DPPH นอกจากนี้ สารฟลาโวนอยด์ทุกตัวมีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากชานอ้อย เมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากชานอ้อยด้วยเครื่อง HPLC พบว่า สารหลักที่พบได้แก่ gallic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid และ quercetin เมื่อทำการแยกส่วนสารสกัดจากชานอ้อยด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วนำแต่ละส่วนไปตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในส่วนขนาดใหญ่มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดจากชานอ้อย โดยส่วนที่มีปริมาณและชนิดของสารฟลาโวนอยด์รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดสำหรับสารสกัดจากชานอ้อยแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ AU17M50, SP50M25 และ SP72M50 ผลการทดลองที่ได้นี้ แสดงให้เห็นว่า ชานอ้อยเป็นแหล่งของสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งน่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านสุขภาพและช่วยลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระได้

คำสำคัญ : ชานอ้อย, สารฟลาโวนอยด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ส่วนชะ, โครมาโทกราฟี

TITLE Bioactive substances of sugarcane bagasse extracts fractionated by chromatography

AUTHOR Phongsathorn Motham

ADVISORS Associate Professor Prasong Srihanam , Ph.D.
Assistant Professor Ansaya Thonpho , Ph.D.

DEGREE Master of Science **MAJOR** Chemistry

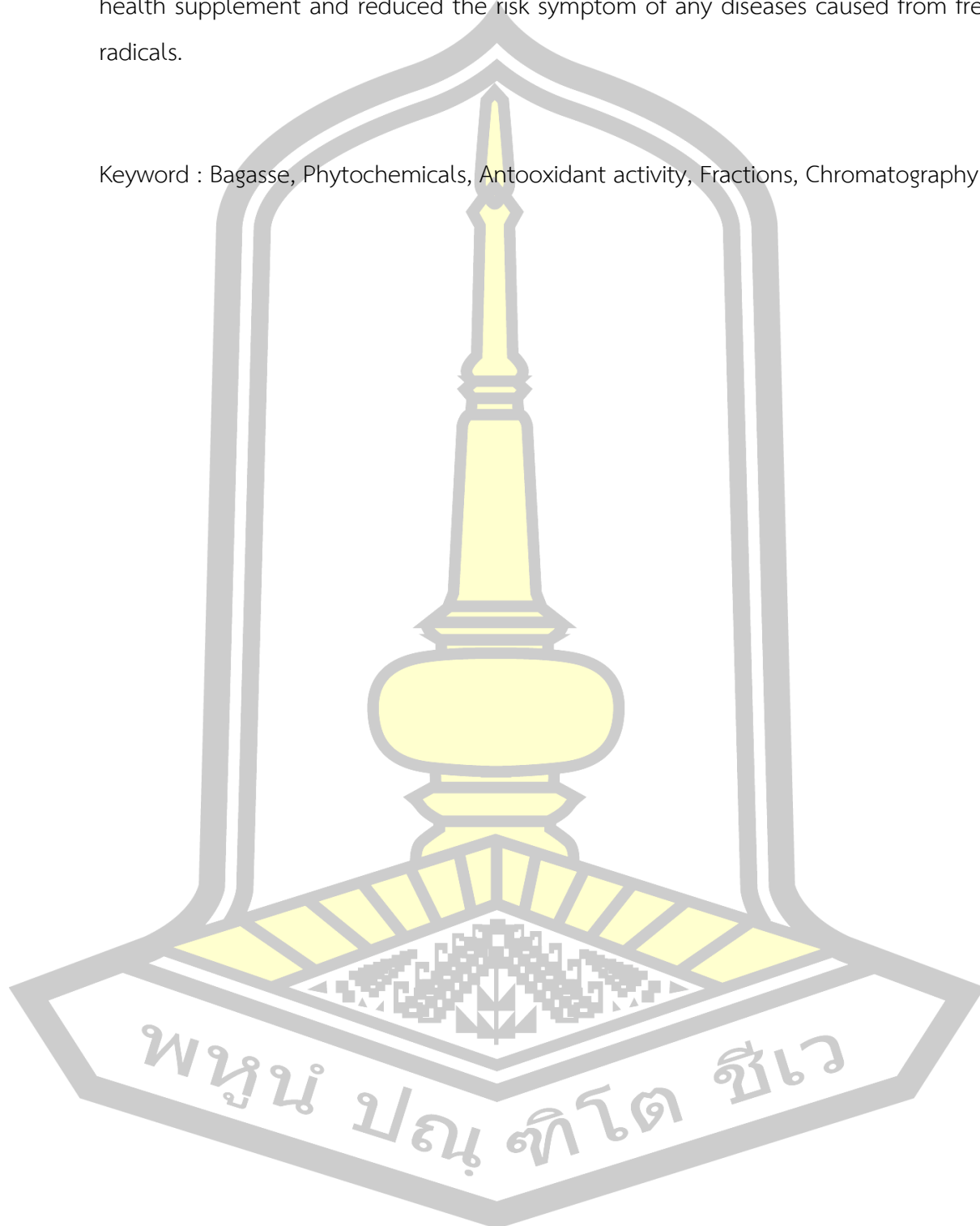
UNIVERSITY Maharakham **YEAR** 2021
University

ABSTRACT

This work aimed to investigate the phytochemicals and their antioxidant activity from the crude extracts of three cultivars bagasse; Authong 17 (AU17), Suphanburi 50 (SP50) and Suphanburi 72 (SP72). The results revealed that the crude extract of AU17 contained the highest content of all tested phytochemicals, followed by SP72. Among the phytochemicals studied, total saponins showed the highest content, then total phenolic and total flavonoid, respectively. The crude extract of AU17 showed the highest potential DPPH radical scavenging, ferric and cupric reducing antioxidant power activities while the SP72 extract had the highest ABTS radical scavenging activity. The extracts from all bagasse cultivars have specifically on ABTS in higher antioxidant activity than DPPH. Moreover, all tested phytochemicals showed positively correlated on the antioxidant activity of the bagasse extract. The type and content of phenolic compounds were then analyzed by HPLC. The results showed that gallic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid and quercetin were the main phenolic compounds in the bagasse. The crude extracts were then fractionated by silica gel column chromatography before phytochemicals investigation. The results indicated that at most phytochemicals in the fractionated extracts have higher contents than the crude extracts. The fractions which composed of highest type and content of phytochemicals with high potential antioxidant activity of the bagasse in each cultivar were AU17M50, SP50M25 and SP72M50. The obtained results indicated that the bagasse is a good source of phytochemicals which expressed antioxidant. This research

suggests the possibility to use the phytochemicals from the bagasse sugarcane for health supplement and reduced the risk symptom of any diseases caused from free radicals.

Keyword : Bagasse, Phytochemicals, Antioxidant activity, Fractions, Chromatography



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดีเพราะได้รับความกรุณาชี้แนะและช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ คือ รองศาสตราจารย์ ประสงค์ สีหนาม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อัญญา ท่อนโพธิ์ ที่ช่วยอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยแนะแนวทางในการเขียนวิทยานิพนธ์และตรวจแก้ไขจนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ คมศร ลมไธสง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คงวิทย์ ประสิทธิ์นอก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ สิริพิศ พิศชวนชม ผู้ทรงคุณวุฒิสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำวิธีการทำวิจัย ตั้งแต่เริ่มต้นจนสำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร. ชุติรัตน์ วงศ์ณรัตน์ ที่ช่วยแนะนำวิธีการเตรียมคอลัมน์และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการทดลอง

ขอขอบพระคุณบิดามารดา ที่อบรมเลี้ยงดูจนเติบโตใหญ่และสนับสนุนการศึกษา ตลอดจนให้ความอบอุ่น กำลังใจ และคอยเคียงข้างตลอดมา คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์นี้ ผู้วิจัยขอน้อมบูชาพระคุณบิดามารดาและบูรพาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนวิชาความรู้ และให้ ความเมตตาแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด คุณความดีของทุกท่านจะยังคงอยู่ในใจด้วยความรัก และเคารพตลอดไป

พงศธร โมธรรม

พหุบัณฑิต โท ชีเว

สารบัญ

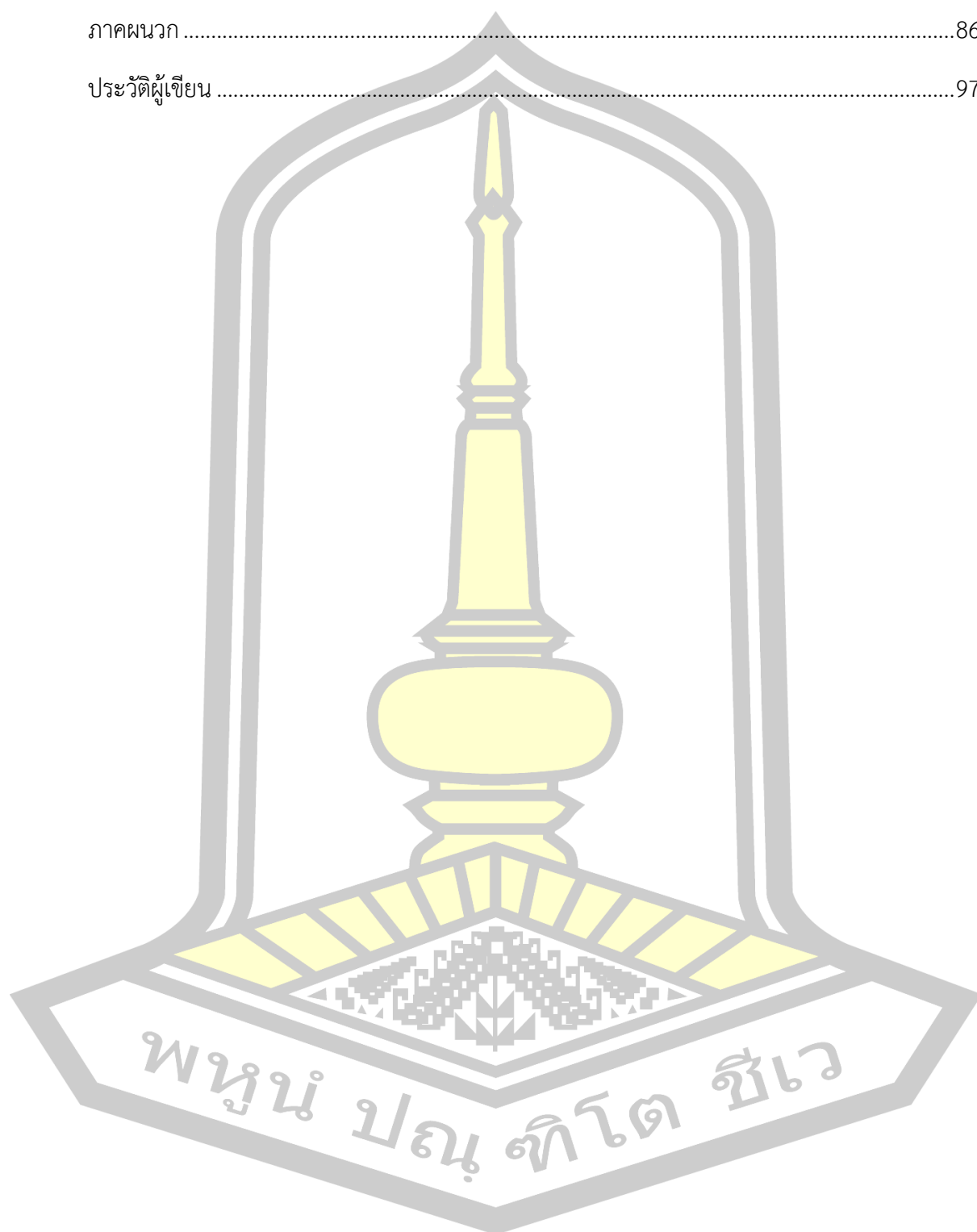
	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4) นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สารพฤษเคมี.....	4
2.2 การสกัดสารจากพืช.....	11
2.3 อนุมูลิสรระ.....	12
2.4 สารต้านอนุมูลิสรระ.....	15
2.5 อ้อย.....	19
2.6 ชานอ้อย.....	21
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	25
3.1 วัตถุประสงค์ในการทดลอง.....	25

3.2 สารเคมี.....	25
3.3 เครื่องมือ	26
3.4 วิธีการทดลอง.....	27
3.4.1 การสกัดตัวอย่าง.....	27
3.4.2 การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารสกัดหยาบจากชานอ้อย.....	27
3.4.3 การตรวจสอบสารพฤษเคมีรวม.....	27
3.4.4 การตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ.....	29
3.4.5 การวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC).....	31
3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	31
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง.....	32
4.1 ลักษณะอ้อยที่ใช้ในงานวิจัย	32
4.2 ร้อยละการได้กลับคืน.....	32
4.3 ปริมาณสารพฤษเคมีในสารสกัดหยาบ.....	33
4.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ.....	36
4.5 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างสารพฤษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ ...	37
4.6 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพฤษเคมีในสารสกัดหยาบ	39
4.7 ส่วนชะจากการแยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์.....	41
4.8 ปริมาณสารพฤษเคมีในส่วนชะ	43
4.9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนชะ	45
4.10 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพฤษเคมีในส่วนชะ.....	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	68
5.1 สรุปผลการทดลอง	68
5.2 ข้อเสนอแนะ	69

บรรณานุกรม70

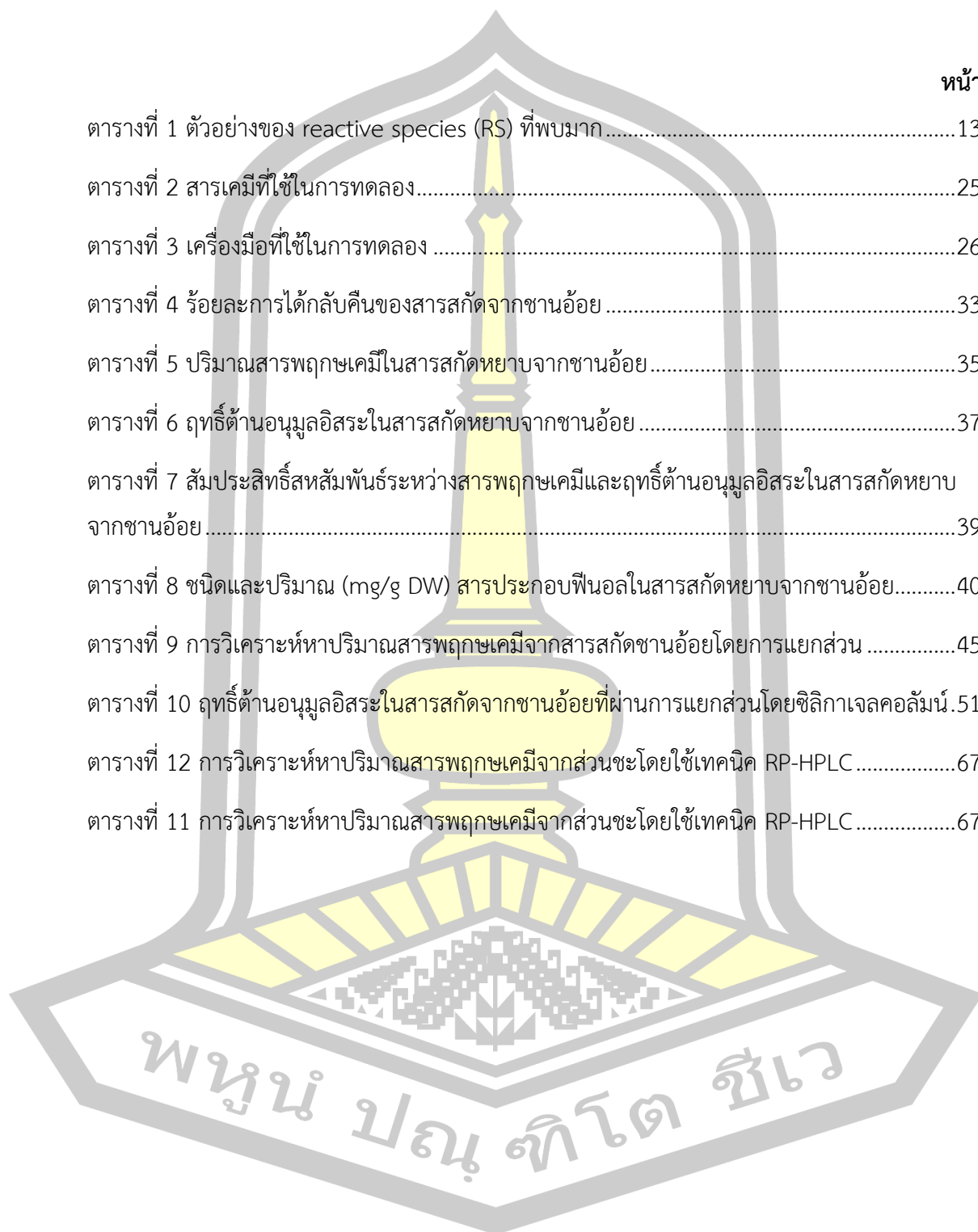
ภาคผนวก86

ประวัติผู้เขียน97



สารบัญตาราง

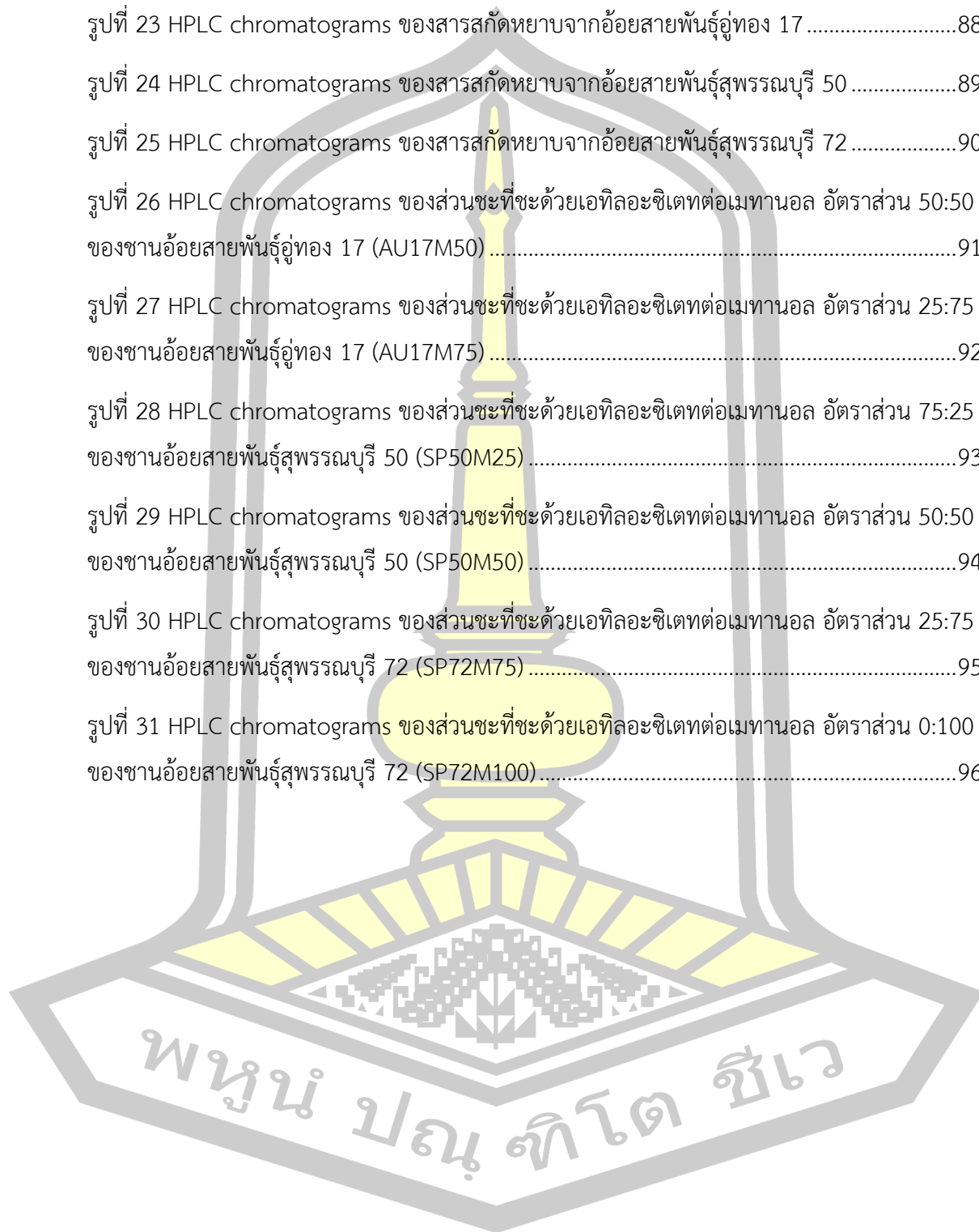
	หน้า
ตารางที่ 1 ตัวอย่างของ reactive species (RS) ที่พบมาก.....	13
ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	25
ตารางที่ 3 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	26
ตารางที่ 4 ร้อยละการได้กลับคืนของสารสกัดจากชานอ้อย	33
ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษเคมีในสารสกัดชานอ้อย.....	35
ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชานอ้อย	37
ตารางที่ 7 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชานอ้อย	39
ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณ (mg/g DW) สารประกอบฟีนอลในสารสกัดชานอ้อย.....	40
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษเคมีจากสารสกัดชานอ้อยโดยการแยกส่วน	45
ตารางที่ 10 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชานอ้อยที่ผ่านการแยกส่วนโดยซิลิกาเจลคอลัมน์.....	51
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษเคมีจากส่วนชะโดยใช้เทคนิค RP-HPLC	67
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษเคมีจากส่วนชะโดยใช้เทคนิค RP-HPLC	67



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ phenols และ phenolic acid	4
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ morphine และ cocaine	5
รูปที่ 3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ quercetin และ catechin	6
รูปที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ emodin และ diacerein	6
รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ aesculetin และ umbelliferone	7
รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ madecassoside	8
รูปที่ 7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ proanthocyanidins	8
รูปที่ 8 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ andrographolide	9
รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ testosterone และ progesterone	10
รูปที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ oleandrin	10
รูปที่ 11 แหล่งของ ROS ของระบบ antioxidant	14
รูปที่ 12 แสดงการจัดลำดับชั้นของสารต้านอนุมูลอิสระตามลำดับความแรงของสาร	16
รูปที่ 13 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์	16
รูปที่ 14 การเกิด Fenton reaction	17
รูปที่ 15 แสดง antioxidant network ภายในร่างกาย	18
รูปที่ 16 ปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลงของ glutathione ในร่างกาย	18
รูปที่ 17 ลักษณะของชานอ้อย	21
รูปที่ 18 แสดงลักษณะสีและปล้องของอ้อยที่ใช้ในการศึกษา	32
รูปที่ 19 แสดงการแยกส่วนสารสกัดหยาบของชานอ้อย	42
รูปที่ 20 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของส่วนชะ	47
รูปที่ 21 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูล ABTS ของส่วนชะ	48

รูปที่ 22 HPLC chromatograms ของสารมาตรฐาน	87
รูปที่ 23 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17	88
รูปที่ 24 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50	89
รูปที่ 25 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72	90
รูปที่ 26 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 50:50 ของชานอ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17 (AU17M50)	91
รูปที่ 27 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 25:75 ของชานอ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17 (AU17M75)	92
รูปที่ 28 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 75:25 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (SP50M25)	93
รูปที่ 29 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 50:50 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (SP50M50)	94
รูปที่ 30 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 25:75 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 (SP72M75)	95
รูปที่ 31 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 0:100 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 (SP72M100)	96



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันนักวิจัยกำลังพยายามหาสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติเพื่อป้องกันความเสี่ยงของโรค ทั้งที่เกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น อาหาร มลภาวะและโรค ที่มีการพัฒนาอยู่ตลอดเวลา และ ปัจจัยภายในร่างกาย เช่น ความเครียด พันธุกรรมและการขาดการออกกำลังกาย การส่งเสริมสุขภาพด้วยผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพต่อการลดสาเหตุของการเกิดโรคเหล่านี้ อาจเป็นวิธีการลดปัญหาได้โดยเฉพาะโรคในกลุ่มที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ แต่เกิดจากความเสื่อมของร่างกาย (โรคความเสื่อม) ได้แก่ โรคกระดูก โรคหัวใจ โรคเกี่ยวกับหลอดเลือด เบาหวาน ความดัน ต้อกระจก โรคเกี่ยวกับสมอง การกลายพันธุ์และชราภาพ โรคเสื่อมส่วนใหญ่เกิดจากภาวะที่ร่างกายมีอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลกับสารที่สามารถป้องกันอนุมูลอิสระได้ที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Meng et al., 2012) นักวิจัยได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารที่สามารถป้องกันหรือทำลายอนุมูลอิสระ และพบว่าแหล่งที่มาของสารดังกล่าวที่สำคัญและอุดมสมบูรณ์ในธรรมชาตินั้นมาจากพืช ซึ่งเรียกว่า จำเพาะ ปัจจุบันพบจำนวนมากและมีหลายประเภท เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คิวคินิน แทนนิน อัลคาลอยด์ ซาโปนิน และสเตอรอล (Antoniolli et al., 2015; Farooq & Koul, 2020; Lima et al., 2014; Liu et al., 2019; Malta et al., 2013; Meng et al., 2012) สารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและทางชีวภาพมากมาย อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการค้นพบและมีการสกัดสารหลายอย่างมาใช้ประโยชน์แล้ว แต่ก็ยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ยังคงน่าสนใจและยังไม่ได้รับการศึกษาดู เช่นเดียวกับฤทธิ์ทางชีวภาพสารพฤกษเคมีที่พบในพืชเหล่านั้น (Chen et al., 2019; Deng et al., 2016; Ferri et al., 2017; Li et al., 2015; Shukla et al., 2014; Tanamatayarat, 2016)

อ้อย (sugarcane) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Saccharum officinarum* L. เป็นพืชที่ปลูกแพร่หลายทั่วโลกและถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดชนิดหนึ่งของโลก (del Rio et al., 2015) อ้อยใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมน้ำตาล เนื่องจากให้น้ำตาลคุณภาพดี ปลูกและบำรุงรักษาได้ง่าย ในแต่ละปีทั่วโลกจะใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำตาลประมาณ 57 ล้านตันต่อปีและเหลือกากน้ำตาลประมาณ 6.4 ล้านตัน (Amezcuza-Allieri et al., 2019) นอกจากนี้ อ้อยยังใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล (Zheng et al., 2017) การศึกษาสารพฤกษเคมีในอ้อยมีการเผยแพร่ครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น (Nakasone et al., 1996) โดยนักวิจัยกลุ่มนี้ยังได้ทำการสกัดและแยกชนิด

ของสารพฤกษเคมีที่พบในอ้อยหลายชนิด (Takara et al., 2002) สารพฤกษเคมีที่พบในอ้อย มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีหลายอย่าง โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (antimutation) ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไทโรซิเดส (Duarte-Almeida et al., 2007; Takara et al., 2007) มีรายงานวิจัยที่พบว่า สารสกัดจากอ้อยประกอบด้วยสารชนิดหนึ่งที่เป็นอนุพันธ์ของไตรเทอร์พีน (triterpene) ที่เรียกว่า ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) (Feng et al., 2014; Georges et al., 2006) สารกลุ่มนี้มีโครงสร้างคล้ายคลอเลสเตอรอล (cholesterol) และมีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคลอเลสเตอรอลของลำไส้เล็กได้จึงส่งผลให้ปริมาณคลอเลสเตอรอลและระดับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein, LDL) ในกระแสเลือดต่ำด้วย

ขานอ้อย (bagasse) คือ ส่วนของลำต้นอ้อยที่ผ่านการคั้นเอาน้ำออกและเหลือเป็นเศษที่ไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์มากนัก ในแต่ละปีมีขานอ้อยที่เหลือจากอุตสาหกรรมน้ำตาลประมาณ 280 ล้านตัน ขานอ้อยประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Niju & Swathika, 2019) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจพบสารประกอบฟีนอล เช่น เคอร์ซีติน กรดแกลลิก กรดคูมาริก และกรดเฟอรูริก ในขานอ้อยโดยสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Zheng et al., 2017) สำหรับประเทศไทย รายงานการศึกษาเกี่ยวกับสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากขานอ้อยมีไม่มากนัก ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาสารในขานอ้อยรวมทั้งฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเหล่านั้น เพื่อให้ได้ข้อมูลสำคัญที่จะนำไปสู่การพัฒนาและประยุกต์ใช้สารสกัดจากขานอ้อยเพื่อสุขภาพและความงามต่อไป



1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1) เพื่อตรวจสอบปริมาณสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากชานอ้อย
- 1.2.2) เพื่อแยกบริสุทธิ์บางส่วนสารสกัดจากชานอ้อยโดยใช้ซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี
- 1.2.3) เพื่อตรวจสอบปริมาณและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

นำชานอ้อยที่มีสายพันธุ์แตกต่างกันมาสกัดด้วยวิธีฟลักซ์ แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปตรวจสอบปริมาณสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก่อนนำไปแยกบริสุทธิ์บางส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี นำแต่ละส่วนชะ (fraction) ไปตรวจสอบปริมาณสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แล้วเลือกส่วนชะที่มีปริมาณสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดไปตรวจจำแนกและหาปริมาณสารพิษเคมีรวมด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

1.4) นิยามศัพท์เฉพาะ

ชานอ้อย	อ้อยที่บีบน้ำอ้อยออกจนหมดแล้วนำไปอบให้แห้งก่อนนำมาบดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับสกัดสารภายใต้สภาวะที่กำหนดในการทดลองครั้งนี้
สารพิษเคมี	สารที่อยู่ในสารสกัดจากชานอ้อยที่สกัดจากสภาวะตามที่ออกแบบในการทดลองและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
สารต้านอนุมูลอิสระ	สารพิษเคมีที่พบในสารสกัดจากชานอ้อยภายใต้สภาวะที่ใช้ในการสกัดของการทดลองครั้งนี้ที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH ABTS และลดเลขออกซิเดชันของโลหะเหล็กและโลหะทองแดงได้

พหุ ประถมศึกษา

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารพฤกษเคมี

สารพฤกษเคมี (phytochemical) เป็นสารประกอบที่กระจายอยู่ในพืชเป็นส่วนใหญ่ ปัจจุบันพบมากกว่า 50,000 ชนิด (Abbasi et al., 2019) สารพฤกษเคมีส่วนใหญ่เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นเพื่อจุดประสงค์จำเพาะ สารเหล่านี้แบ่งเป็นหลายกลุ่มและมีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันไป สามารถจำแนกได้ ดังนี้

2.1.1 สารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ ตัวอย่างของสารประกอบ คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วงและหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ดังรูปที่ 1



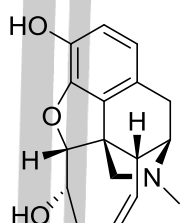
รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ phenols และ phenolic acid
(พิมพ์เพ็ญ, 2563)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบ คือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเองหรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

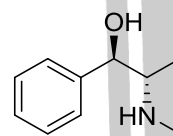
แหล่งที่พบสารประกอบฟีนอลพบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

2.1.2 แอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่มากที่สุดกลุ่มหนึ่ง มีสมบัติทางเคมีทางกายภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกัน พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง สมบัติของแอลคาลอยด์ คือ มีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ สารในกลุ่มแอลคาลอยด์นิยมนำมาใช้เป็นยาระงับปวด ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น morphine และ cocaine ซึ่งมีโครงสร้าง ดังรูปที่ 2



Morphine



Cocaine

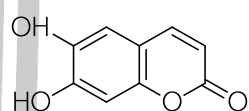
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ morphine และ cocaine
(Insain, 2018)

2.1.3 ฟลาโวนอยด์

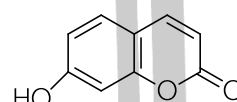
ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบที่มีวงฟีนอลในโครงสร้างมากกว่า 1 วง (polyphenolic compound) พบมากในธรรมชาติ โดยเฉพาะในพืชเนื่องจากเป็นเม็ดสี (pigment) ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ส่วนใหญ่ละลายได้ในน้ำ ในธรรมชาติจะพบฟลาโวนอยด์ทั้งในรูปอิสระและในรูปไกลโคไซด์ ที่อาจเรียกว่า ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น quercetin และ catechin ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 3

2.1.5 คูมาริน

คูมาริน (coumarins) มีโครงสร้างเป็นแล็กโตนของกรดซินนามิก (ortho-hydroxy cinnamic acid) ในพืชจะพบได้ทั้งในรูปอิสระและในรูปไกลโคไซด์ ที่เรียกว่า คูมารินไกลโคไซด์ (coumarins glycosides) หรือแล็กโตนไกลโคไซด์ (lactone glycosides) สารจำพวกคูมาริน มีสมบัติที่ดีหลายอย่าง นิยมนำมาใช้เป็นยาบำรุงเลือด ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ เช่น aesculetin และ umbelliferone ซึ่งมีโครงสร้าง ดังรูปที่ 5



Aesculetin



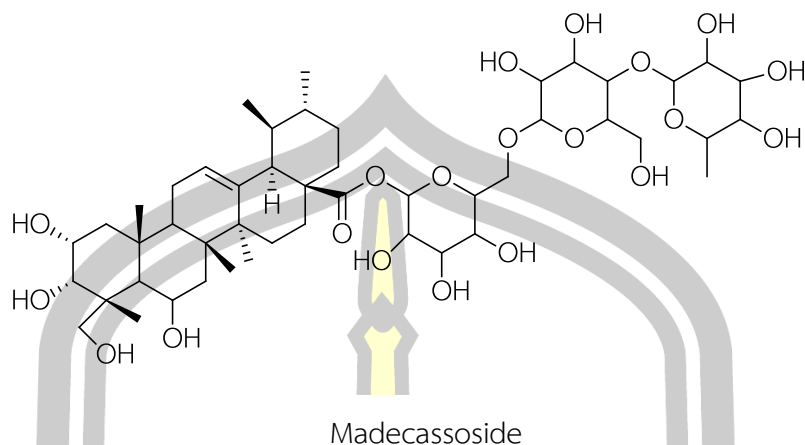
Umbelliferone

รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ aesculetin และ umbelliferone
(Insain, 2018)

2.1.6 ซาโปนิน

ซาโปนิน (saponins) หรือ ซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycosides) เป็นไกลโคไซด์ที่มีส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (aglycone) เป็นสาร steroids หรือ triterpenoids ส่วนนี้จะจับกับส่วนน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาลที่ตำแหน่ง C3 ได้เป็น o-glycoside น้ำตาลที่มาจับกับซาโปนินส่วนใหญ่เป็น oligosaccharide 1-5 หน่วย ซาโปนินไกลโคไซด์มีสมบัติบางอย่างคล้ายสบู่ เช่น สามารถเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ จึงนิยมนำไปใช้เป็นสารลดแรงตึงผิว (surface active agent) ป้องกันเม็ดเลือดแดงแตก และยังใช้เป็นยาฝาดสมาน ทำให้แผลหายเร็ว นอกจากนี้ ยังช่วยรักษาแผลไหม้ น้ำร้อนลวก ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ เช่น madecassoside ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 6

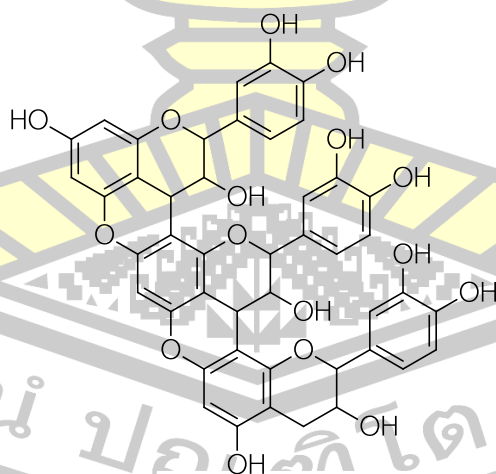
พหุ ประถมศึกษา ชีวะ



รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ madecassoside
(Insain, 2018)

2.1.7 แทนนินส์

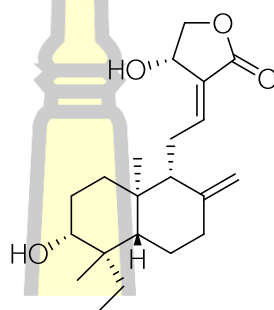
แทนนินส์ (tannins) เป็นกลุ่มสารที่มีโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงฟีนอลหลายวง มีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่และสลับซับซ้อน มีสมบัติเป็นกรดอ่อนและมีรสฝาด เป็นสารที่แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะไม่ตกผลึก พบได้ทั้งในรูปอิสระและรูปไกลโคไซด์ สมบัติและชนิดของแทนนินส์ขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล จึงทำให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ เช่น proanthocyanidins ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ proanthocyanidins
(Insain, 2018)

2.1.8 เทอร์พีนอยด์

เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) หรือ เทอร์พีน (terpenes) มีโครงสร้างหน่วยเล็กที่สุดเรียกว่า ไอโซพรีน (isoprene) ซึ่งเป็นโซ่ข้างของคาร์บอน 5 อะตอม และมีพันธะคู่ 2 ตำแหน่ง เป็นสารทุติยภูมิ ที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ เช่น sesquiterpenes ที่พบในฮอร์โมนของแมลง diterpenes พบในสัตว์ทะเลจำพวกฟองน้ำ triterpenoids มักพบในพืชในรูปของ cardiac glycosides, saponin และ phytosterol มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย ที่สำคัญและเป็นที่น่าสนใจของสารกลุ่มนี้ คือ มีฤทธิ์ต้านไวรัส และยารักษาโรคหัวใจ (cardiac glycosides) ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ เช่น andrographolide ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 8

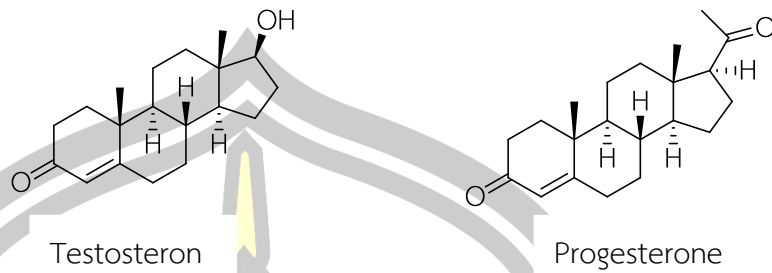


Andrographolide

รูปที่ 8 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ andrographolide
(Insain, 2018)

2.1.9 สเตียรอยด์

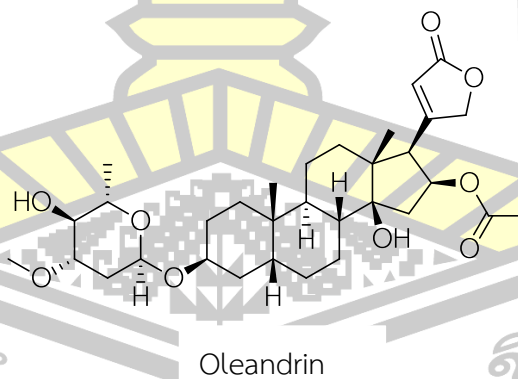
สเตียรอยด์ (steroids) เป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับสารในกลุ่ม tetracyclic triterpenes คือ มีวงแหวนเชื่อมต่อกันที่เป็นโครงสร้างหลัก 4 วง โดยมีวงแหวนหกเหลี่ยม 3 วง และวงแหวนห้าเหลี่ยม อีก 1 วง โครงสร้างพื้นฐานเป็น cyclopentano-perhydrophenanthrene nucleus เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการ ปัจจุบัน นำมาใช้ประโยชน์เป็นยาลดการอักเสบ ยาขับปัสสาวะ ยาคุมกำเนิดหลายชนิด และเป็นฮอร์โมนเพศ ตัวอย่าง สารกลุ่มนี้ เช่น testosterone และ progesterone ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ testosterone และ progesterone
(Insain, 2018)

2.1.10 คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) เป็นโครงสร้างของสเตียรอยด์ที่มีโมเลกุลของน้ำตาลมาต่อในโครงสร้าง เป็นไกลโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ โดยไปเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ จึงสามารถใช้รักษาโรคหัวใจวาย (congestive heart failure) และรักษาอาการโรคหัวใจที่มีการเต้นผิดปกติ อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของ aglycone และชนิด (และจำนวน) ของน้ำตาล ซึ่งน้ำตาลจะช่วยให้ไกลโคไซด์ละลายได้ดีขึ้น ทำให้การดูดซึมและการกระจายตัวของสารในร่างกายเพิ่มขึ้นจึงช่วยให้การออกฤทธิ์ของสารดียิ่งขึ้น ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ เช่น oleandrin ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ oleandrin
(Insain, 2018)

2.2 การสกัดสารจากพืช

การสกัดสารจากพืชทำได้หลายวิธี ซึ่งในการวิจัยแต่ละครั้งจะเลือกวิธีใดขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด สมบัติของสารที่ทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลาย แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป (นันทวัน, 2544) ตัวอย่างวิธีที่ใช้สกัดสารจากพืช

2.2.1 การหมัก (maceration) เป็นวิธีการสกัดสารที่สำคัญจากพืช (Wojdyto et al., 2021) โดยวิธีการหมักกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ โถหรือถังสแตนเลส เป็นต้น ในระหว่างการสกัดจะมีการเขย่าและคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยรินเอาสารสกัดออกพยายามบีบเอาสารละลาย ออกมาจากกาก (marc) ให้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้ไปกรอง ถ้าต้องการสกัดให้หมดจะต้องสกัดซ้ำ หลาย ๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่ไม่ต้องใช้ความร้อน แต่ข้อเสียคือ เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2.2.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (percolation) เป็นวิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่อง (LaHue & Linquist, 2021) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า percolator ทำได้โดยนำพืชตัวอย่างมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วค่อย ๆ บรรจุผงตัวอย่างที่ละน้อยเป็นชั้นลงใน percolator เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือตัวอย่างประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกโดยคอยเติมตัวทำละลายเหนือตัวอย่างตลอดอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปกรอง

2.2.3 การสกัดด้วยเครื่อง soxhlet เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ (Marsoul et al., 2020) การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในขวดรูปชมพู่ระเหยแล้วกลั่นตัวลงมาในภาชนะที่บรรจุพืชตัวอย่างไว้ เมื่อตัวทำละลายในช่องสกัดสูงถึงระดับสารสกัดจะไหลกลับลงไปขวดรูปชมพู่ ด้วยวิธีการกลั่นน้ำ ขวดรูปชมพู่นี้เมื่อได้รับความร้อนจากหม้ออังน้ำตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปทั้งสารสกัดไว้ในขวดรูปชมพู่ตัวทำละลายเมื่อกระทบกับตัวทำให้เกิดการควบแน่นจะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่วนเช่นนี้เรื่อย ๆ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนร่วมด้วยจึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัวได้

2.2.4 การสกัดแบบไหลย้อนกลับ (reflux extraction) ใช้ในการสกัดสารสำคัญออกจากสมุนไพรที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ เอ็กเซน หรือน้ำ โดยสมุนไพรที่แช่ด้วยแอลกอฮอล์ เอ็กเซน หรือน้ำ จะถูกต้มให้ความร้อน เพื่อทำการละลายสารสำคัญออกจากสมุนไพร โดยที่แอลกอฮอล์ หรือน้ำจะถูกต้มจนเดือดระเหยขึ้นไปด้านบน แล้วจะถูกควบแน่นด้วยคอนเดนเซอร์กลั่นลงมาทำละลายต่อเนื่องหมุนเวียนอย่างนี้ไปเรื่อยๆ จนสารสกัดละลายเข้มข้น จึงนำไปเข้าเครื่องระเหยแอลกอฮอล์ หรือเครื่องระเหยน้ำ เพื่อทำให้เข้มข้นต่อไป (สิริมา แก้วนุช 2555)

2.3 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ อย่างน้อย 1 ตัว เกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยา กับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมา คือ โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอน จะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Cornelli, 2009; Marsoul et al., 2020) อย่างไรก็ตาม การที่จะสรุปว่าอนุมูลอิสระทุกชนิดเป็นสารพิษต่อร่างกายนั้นไม่ถูกต้องนัก สิ่งที่จะควรนำมาใช้บอกระดับความเป็นพิษควรจะเป็นความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุล ในร่างกายมากกว่า สารชนิดนี้ เรียกว่า Reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ reactive chlorine species (RCS) และ reactive nitrogen species (RNS) ตามโมเลกุลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อาจพบได้ในรูปของ lipid radical หรือ genetic radical สารประกอบบางโมเลกุลที่ไม่ได้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระแต่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น H_2O_2 ถือเป็น RS เช่นกัน (Lockwood, 2007) ตัวอย่างของ reactive species (RS) ที่พบมากแสดงดังตารางที่ 1

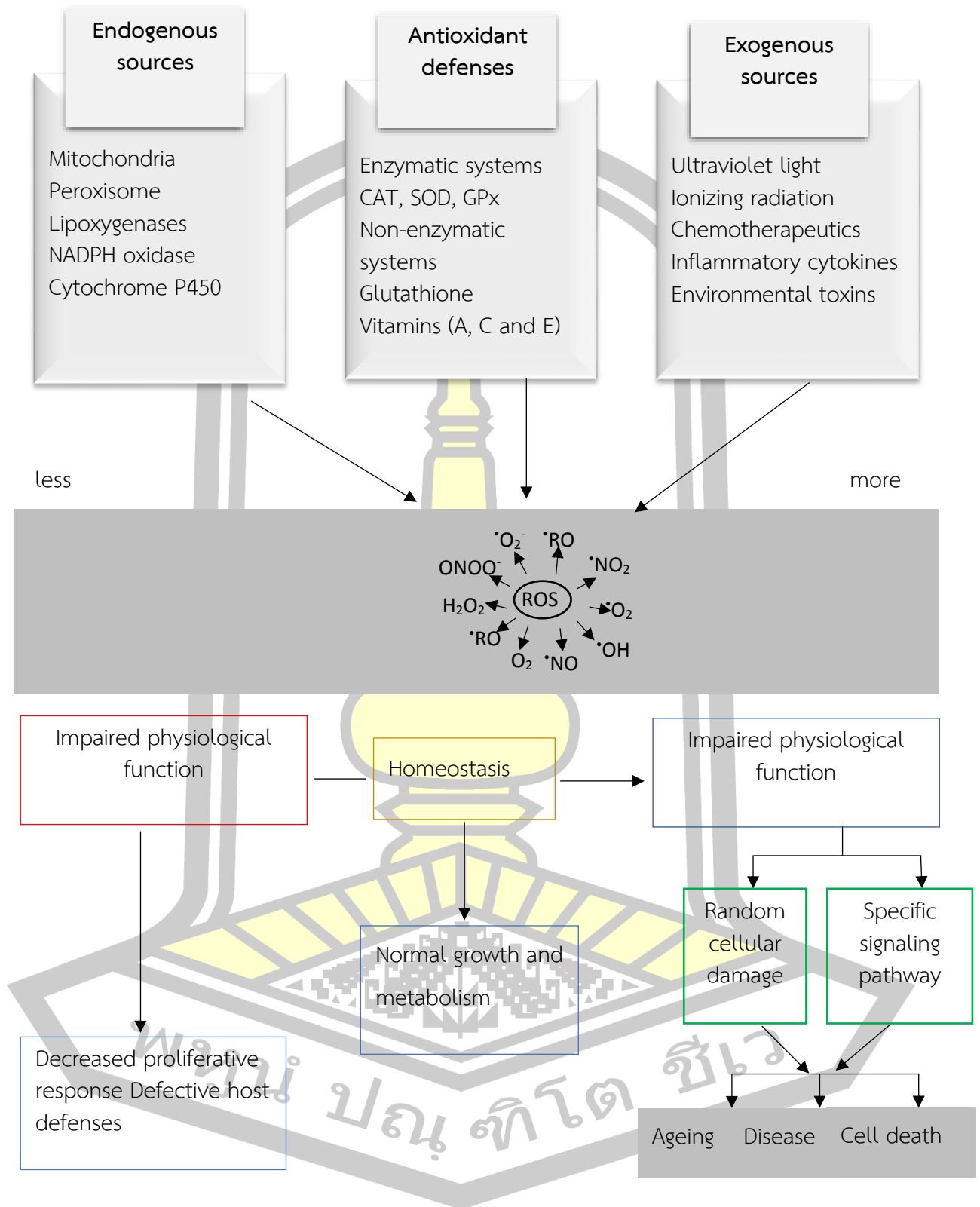
ROS ส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารสารต่าง ๆ กระบวนการสร้างพลังงาน การหายใจระดับเซลล์ รวมไปถึงเกิดขึ้นในจากกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายเมื่อได้รับเชื้อจุลินทรีย์ หากร่างกายขาดสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้มีการสะสมของ ROS มากขึ้นและทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นได้ ภาวะดังกล่าวนี้หากเกิดขึ้นในระยะเวลายาวๆ เพียงชั่วขณะนั้นจะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมากนัก (Nimse & Pal, 2015) แต่หากเกิดเป็นเวลานานจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผลไปทำลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมถึง DNA และจะนำไปสู่โรคในหลายระบบและความเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ ได้ เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางสมองและระบบประสาท เช่น Parkinson และ Alzheimer ผลต่อระบบต่อมไร้ท่อ มะเร็ง รวมไปถึงความยืดหยุ่นของผิวหนัง (Chanin et al., 2020; Cornelli, 2009; Li et al., 2013)

รูปที่ 11 แสดงแหล่งของ ROS และการนำไปสู่โรคเสื่อมของร่างกาย

พจนานุกรมศัพท์โตชีวะ

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของ reactive species (RS) ที่พบบ่อย

Reactive oxygen species			
Free radicals	Formula	Non-radicals	Formula
Oxygen radical	O_2^{\cdot}	Singlet oxygen	O_2^{\cdot}
Superoxide radical	$O_2^{\cdot-}$	Hydrogen peroxide	H_2O_2
Hydroxyl radical	OH^{\cdot}	Ozone	O_3
Hydroperoxyl radical	HO_2^{\cdot}	Organic peroxide	ROOH
Peroxyl radical	RO_2^{\cdot}	-	-
Alkoxy radical	RO^{\cdot}	-	-
carbonate radical	$CO_3^{\cdot-}$	-	-
Reactive chloride species			
Chloride radical	Cl^{\cdot}	Hypochloride acid	HOCl
		Nitryl chloride	NO_2Cl
		Chloride gas	Cl_2
Reactive nitrogen species			
Nitric oxide radical	NO^{\cdot}	Nitric oxide	HNO_2
Nitrogen dioxide radical	NO_2^{\cdot}	Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$
		Peroxynitrous acid	ONOOH
		Nitryl chloride	$NOOCl$

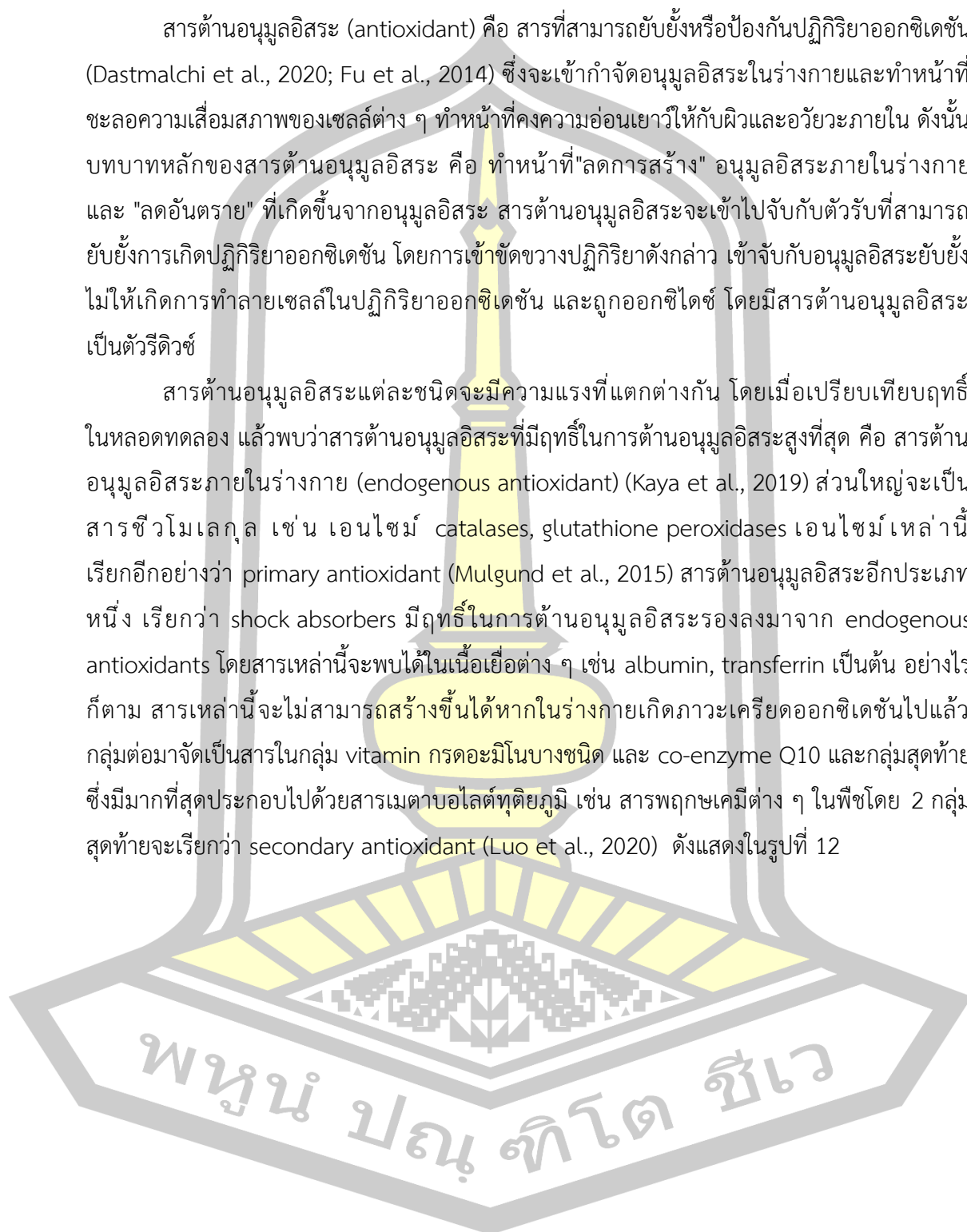


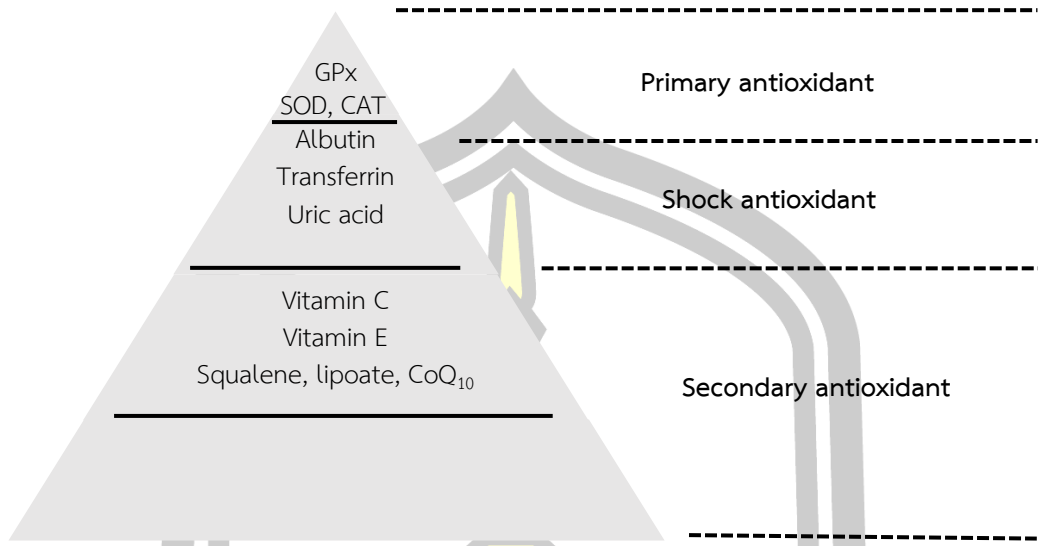
รูปที่ 11 แหล่งของ ROS ของระบบ antioxidant
(Li et al., 2013)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่สามารถยับยั้งหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Dastmalchi et al., 2020; Fu et al., 2014) ซึ่งจะเข้ากำจัดอนุมูลอิสระในร่างกายและทำหน้าที่ชะลอความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่าง ๆ ทำหน้าที่คงความอ่อนเยาว์ให้กับผิวและอวัยวะภายใน ดังนั้นบทบาทหลักของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ทำหน้าที่ "ลดการสร้าง" อนุมูลอิสระภายในร่างกาย และ "ลดอันตราย" ที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปจับกับตัวรับที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเข้าขัดขวางปฏิกิริยาดังกล่าว เข้าจับกับอนุมูลอิสระยับยั้งไม่ให้เกิดการทำลายเซลล์ในปฏิกิริยาออกซิเดชัน และถูกออกซิไดซ์ โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวรีดิวซ์

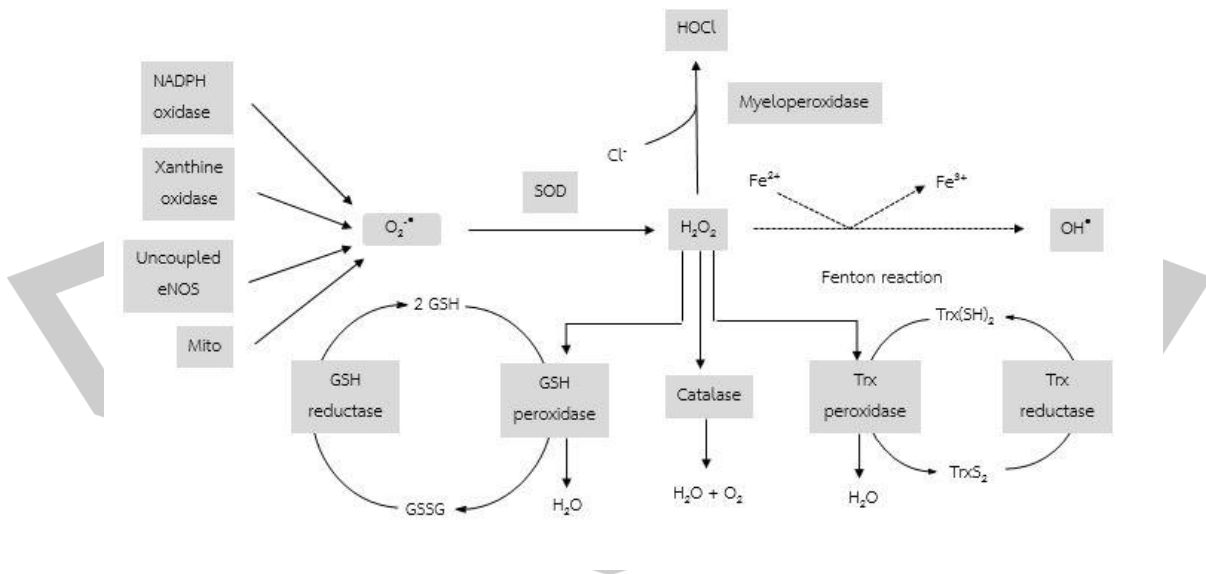
สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะมีความแรงที่แตกต่างกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในหลอดทดลอง แล้วพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ สารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (endogenous antioxidant) (Kaya et al., 2019) ส่วนใหญ่จะเป็นสารชีวโมเลกุล เช่น เอนไซม์ catalases, glutathione peroxidases เอนไซม์ เหล่านี้เรียกอีกอย่างว่า primary antioxidant (Mulgund et al., 2015) สารต้านอนุมูลอิสระอีกประเภทหนึ่ง เรียกว่า shock absorbers มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระรองลงมาจาก endogenous antioxidants โดยสารเหล่านี้จะพบได้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น albumin, transferrin เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สารเหล่านี้จะไม่สามารถสร้างขึ้นได้หากในร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันไปแล้ว กลุ่มต่อมาจัดเป็นสารในกลุ่ม vitamin กรดอะมิโนบางชนิด และ co-enzyme Q10 และกลุ่มสุดท้ายซึ่งมีมากที่สุดประกอบไปด้วยสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ เช่น สารพฤษเคมีต่าง ๆ ในพืชโดย 2 กลุ่มสุดท้ายจะเรียกว่า secondary antioxidant (Luo et al., 2020) ดังแสดงในรูปที่ 12





รูปที่ 12 แสดงการจัดลำดับชั้นของสารต้านอนุมูลอิสระตามลำดับความแรงของสาร (Cornelli, 2009)

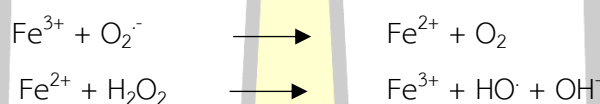
ROS ที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นน้ำโดยผ่านเอนไซม์ภายในร่างกาย เอนไซม์ที่ใช้เพื่อการกำจัด ROS ที่เกิดขึ้น เรียกรวมว่า antioxidant enzymes (รูปที่ 13) ประกอบด้วยเอนไซม์หลักที่สำคัญ ได้แก่ superoxide dismutases (SODs), catalases และ glutathione peroxidases ซึ่งแต่ละเอนไซม์มีโมเลกุลเป้าหมายที่ต่างกันไป



รูปที่ 13 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ (Li et al., 2013)

2.4.1 Superoxide dismutases (SODs)

Superoxide dismutases (SODs) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ superoxide ให้เปลี่ยนเป็น H_2O_2 ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้ จะพบในเซลล์ทุกเซลล์และพบใน extracellular fluid SODs นั้นจะมี cofactor เป็นโลหะหนักซึ่งได้แก่ Cu, Zn และ Mn ในมนุษย์ Cu/Zn-SODs จะพบใน cytoplasm ส่วน MnSODs จะพบใน mitochondria จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ของ SODs ยังคงเป็น ROS ในสภาวะปกติจะมีเอนไซม์ catalases และ peroxidases เข้ามาเปลี่ยนโมเลกุลของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำและ O_2 ต่อไป อย่างไรก็ตาม หากร่างกายเกิดภาวะขาดเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดข้างต้นจะทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และเสี่ยงต่อการเกิด Fenton reaction ซึ่งจะเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็น hydroxyl radical ซึ่งเป็น oxidizing agent ที่รุนแรงได้ โดยมีกลไกแสดงดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 การเกิด Fenton reaction

(Nimse & Pal, 2015)

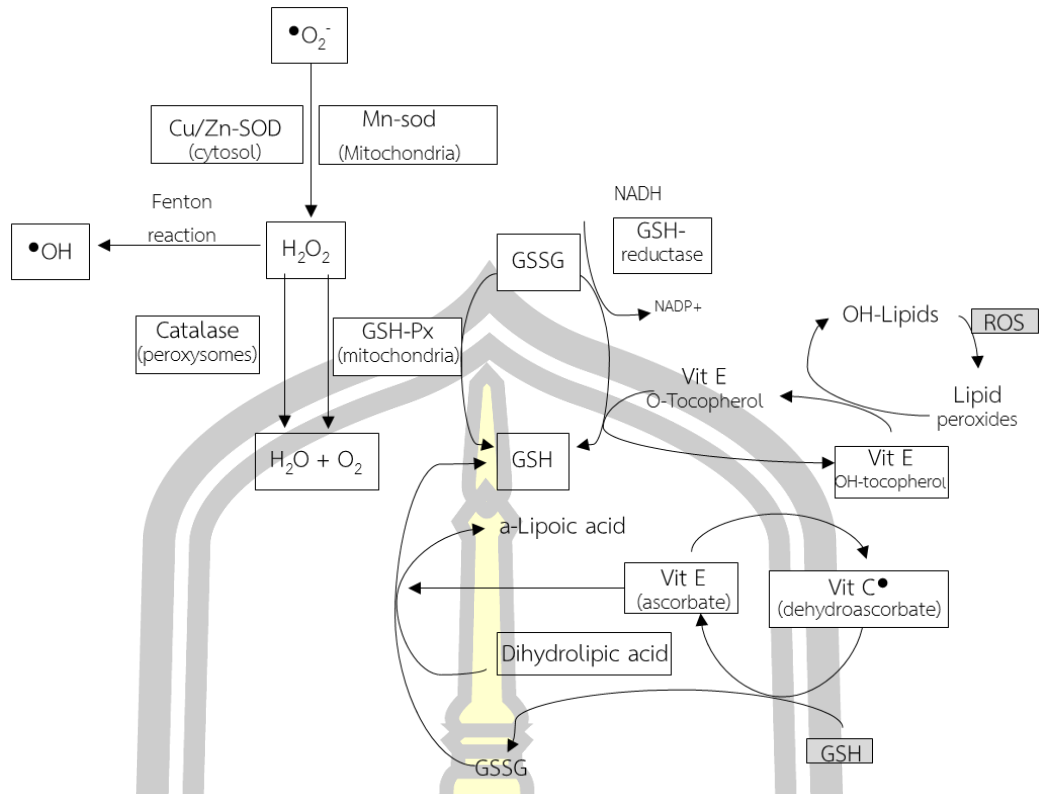
2.4.2 Catalases

Catalases เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำและ O_2 โดยใช้ substrate เป็น H_2O_2 จำนวน 2 โมเลกุล เอนไซม์ชนิดนี้มี Mn หรือ Fe เป็น cofactor ซึ่งจะพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ใน eukaryotic cell ทั่วไป (Nimse & Pal, 2015)

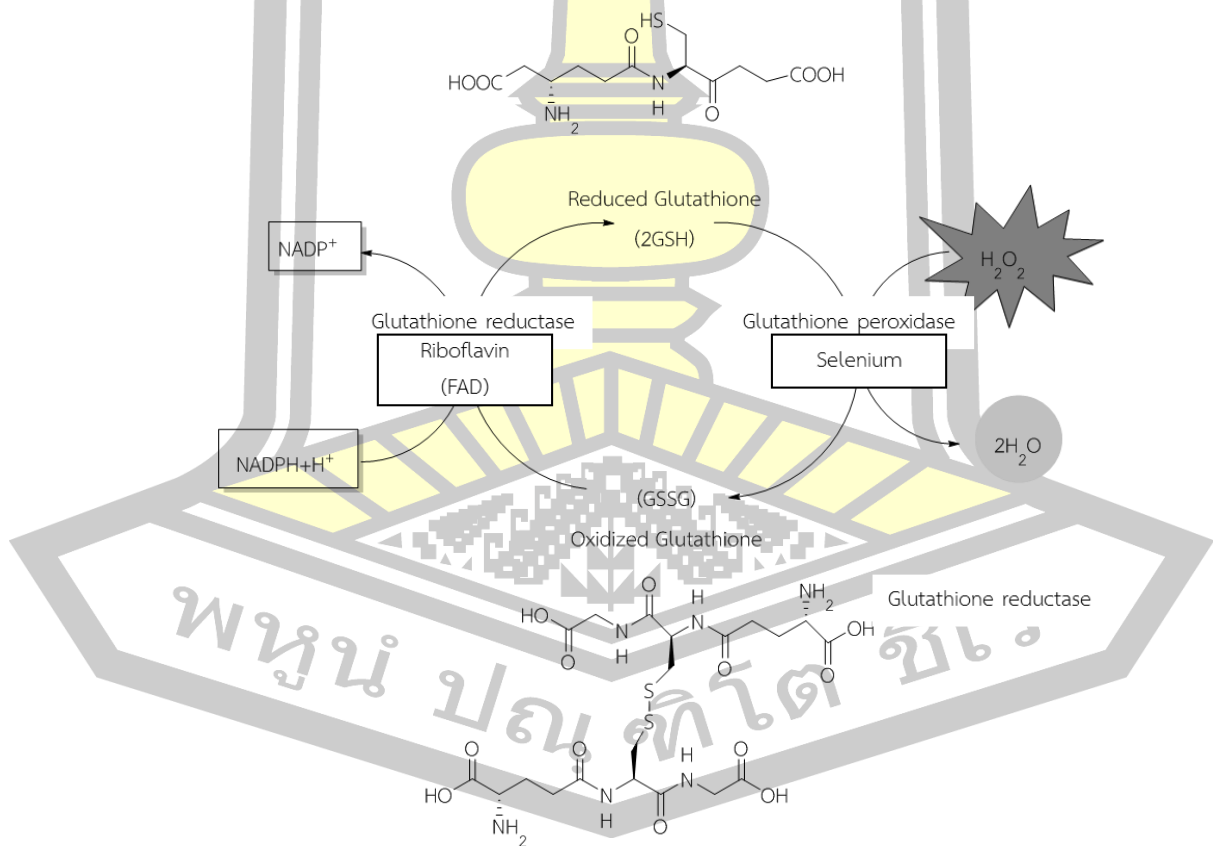
2.4.3. Glutathione peroxidases

Glutathione peroxidases ช่วยเร่งปฏิกิริยา reduction ของ hydrogen peroxide ซึ่งจะเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำ (Nimse & Pal, 2015)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในแต่ละส่วนของเซลล์จะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เข้ามาจัดการที่แตกต่างกันอย่างเป็นระบบ เรียกว่า antioxidant network เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้รับหรือให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระไป ตัวสารนั้นก็จะเป็น pro-oxidant โดยสามารถอธิบาย antioxidant network ภายในร่างกายดังรูปที่ 15 และ 16



รูปที่ 15 แสดง antioxidant network ภายในร่างกาย (Li et al., 2013)



รูปที่ 16 ปฏิกริยาการเปลี่ยนแปลงของ glutathione ในร่างกาย (Choe & Min, 2009)

2.5 อ้อย

นักพฤกษศาสตร์มีหลักฐานยืนยันว่าอ้อยมีถิ่นกำเนิดบนเกาะนิวกินี ซึ่งเป็นเกาะใหญ่ในมหาสมุทรแปซิฟิกลักษณะสำคัญของอ้อยดังกล่าวคือมีลำต้นใหญ่ ชาวพื้นเมืองใช้เป็นอ้อยเคี้ยวมาตั้งแต่สมัยโบราณ ปัจจุบันเรียกว่า "noble can" (*Saccharum officinarum* L.) ถือได้ว่าเป็นอ้อยที่มีความสำคัญในการผลิตลูกผสมของอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการทำน้ำตาลในปัจจุบัน เดิมทีมีผู้เข้าใจว่าอ้อยมีถิ่นกำเนิดในอินเดียตอนเหนือ แม้แต่ชื่อ Genus *Saccharum* ก็นำมาจากภาษาสันสกฤต คือ sakara หรือ shakkara ซึ่งพ้องหรือใกล้เคียงกับภาษาลาตินว่า *Saccharum* ที่มีความหมายว่า “พืชใหม่จากทางตะวันออก” มาภายหลังพิสูจนได้ว่าเป็นคนละชนิด คือ *S. barberi* Jesw. ซึ่งมีลำเล็ก ปล้องสั้น สีเข้ม มีน้ำหนักน้อย แต่ความหวานสูง ใช้เป็นอ้อยเคี้ยว และทำน้ำตาลมาเป็นเวลานานแล้วเช่นเดียวกัน อ้อยพันธุ์นี้พบในประเทศไทยเช่นกันโดยมีชื่อพื้นบ้านว่า “อ้อยขาไก่” ไม่ปรากฏหลักฐานว่านำมาจากที่ใด นอกจากนี้ ในประเทศไทยยังพบพันธุ์อ้อยป่าหลายชนิดขึ้นอยู่ทั่วไป ได้แก่ อ้อ แสม และพง (*S. spontaneum*) ซึ่งเป็นไปได้ว่าแหล่งกำเนิดของอ้อยมีพื้นที่ครอบคลุมถึงภูมิภาคส่วนนี้ด้วยก็ได้ อนุกรมวิธานของอ้อย (sugarcane) แสดงได้ดังนี้

Kingdom; Plantae

Order; Poales

Family; Poaceae

Genus; *Saccharum*

Species; *S. Officinarum*

การกระจายของอ้อย *S. officinarum* จากเกาะนิวกินีไปยังถิ่นอื่น ๆ นั้น Brandes (1976) ซึ่งเป็นผู้ศึกษาถิ่นกำเนิดของอ้อยชนิดนี้ กล่าวว่าเกิดขึ้นเนื่องมาจากการอพยพของมนุษย์สมัยโบราณ โดยสันนิษฐานว่ามีเส้นทางอยู่ 3 สายด้วยกันคือ

(1) ทางตะวันออกเฉียงใต้ : จากเกาะนิวกินีสู่หมู่เกาะโซโลมอน นิวเฮบริดิส และนิวคาลิโดเนีย ประมาณ 8000 ปีก่อนคริสตกาล

(2) ทางตะวันตก : เส้นทางนี้ได้แก่ การเข้าสู่ประเทศอินโดนีเซีย แหลมมลายู (รวมทั้งประเทศไทย) ฟิลิปปินส์ และอินเดีย ราว 6000 ปีก่อนคริสตกาล

(3) ทางตะวันออก : ได้แก่ ฟิลิ ดองกา ซามัว คุก โซไซอิตี อีสเตอร์ และฮาวาย ซึ่งเป็นหมู่เกาะต่าง ๆ ในมหาสมุทรแปซิฟิก เกิดขึ้นระหว่าง ค.ศ. 600-1100

อ้อยจากอินเดียเข้าสู่ยุโรปเป็นครั้งแรกโดยพระเจ้าอเล็กซานเดอร์มหาราช เมื่อประมาณ 325 ปีก่อนคริสตกาลโดยผ่านเปอร์เซีย อาราเบีย และอียิปต์เข้าสู่ประเทศต่าง ๆ ตามชายฝั่งทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ในปี ค.ศ. 1493 โคลัมบัสได้นำอ้อยไปยังเกาะฮิสปันีโอล่า หรือสาธารณรัฐเฮติในปัจจุบัน ในคราวเดินทางสำรวจทวีปอเมริกา และหลังจากนั้นก็กระจายต่อไปยังประเทศอื่น ๆ แถวอเมริกาตอนใต้ เช่น ปอร์โตริโก คิวบา จาไมกา เม็กซิโก ฯลฯ ในปีค.ศ. 1500 ชาวปอร์ตุเกสได้นำอ้อยเข้าไปในประเทศบราซิลและได้มีการปลูกแพร่หลายในประเทศต่าง ๆ จนเป็นแหล่งปลูกอ้อยที่สำคัญในโลก ส่วนแหล่งที่รวมพันธุ์อ้อยของโลก (world collection) เพื่อใช้เป็นที่เก็บเชื้อพันธุกรรม (germplasm) มีอยู่ 2 แห่งด้วยกัน คือที่ Canal Point รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา และที่ Cannanore ประเทศอินเดียตอนใต้ โดยทั้ง 2 แห่ง มีอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ รวมกันมากกว่า 4,000 สายพันธุ์

การปลูกอ้อยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลนั้นมีหลักฐานเชื่อว่าเริ่มขึ้นเมื่อประมาณ ค.ศ.1600 ในประเทศแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้ จนเป็นพืชที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลที่สำคัญที่สุดในปัจจุบัน น้ำตาลเป็นสารอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ประมาณกันว่าประชากรโลกบริโภคน้ำตาลประมาณ 83 ล้านตันต่อปี โดยเป็นน้ำตาลจากอ้อย ประมาณร้อยละ 60 และจากหัวผักกาดหวาน (beet root) ประมาณร้อยละ 40 ประชากรในประเทศไทยบริโภคน้ำตาลประมาณ 12 กิโลกรัมต่อคนต่อปี หรือประมาณ 5.5 แสนตัน/ปี เมื่อคิดรวมประชากรทั้งประเทศ ในขณะที่ประชากรในประเทศพัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา สวีเดน บริโภคน้ำตาลประมาณ 50 กิโลกรัมต่อคนต่อปี ปัจจุบันประเทศไทยผลิตน้ำตาลส่งขายนอกประเทศติดอันดับ 5 ของโลกรองจากประเทศออสเตรเลีย บราซิล คิวบา และฟิลิปปินส์ โดยมีปริมาณส่งออกสู่ตลาดโลกประมาณร้อยละ 8 ของปริมาณการผลิตทั่วโลก คิดเป็นมูลค่ามากกว่า 10,000 ล้านบาทต่อปี นับเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับ 3 ของประเทศรองจาก ข้าว มันสำปะหลัง หรือยางพารา โดยตลาดน้ำตาลที่สำคัญของประเทศไทย คือ ญี่ปุ่น มาเลเซีย สิงคโปร์ และสาธารณรัฐเกาหลี

พูน ปณ ทิโต ชีเว

2.6 ชานอ้อย

ชานอ้อย (bagasse) หมายถึง ส่วนของลำต้นอ้อยที่หีบเอาน้ำอ้อยหรือน้ำตาลออกแล้วมีส่วนประกอบ คิดเป็นค่าร้อยละโดยน้ำหนักต่อลำต้น ดังนี้ ชานอ้อยหรือเส้นใย (fiber) ร้อยละ 48.5 น้ำร้อยละ 48.0 น้ำตาลร้อยละ 3.0 และสารประกอบอื่น ๆ นอกจากที่กล่าวแล้ว 0.5 รูปที่ 17 แสดงลักษณะของชานอ้อย



รูปที่ 17 ลักษณะของชานอ้อย

การนำชานอ้อย ไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ได้แก่

- 1) ใช้เป็นเชื้อเพลิง สำหรับผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้าสำหรับใช้ภายในโรงงานน้ำตาล ชานอ้อยสามารถใช้น้ำมันเชื้อเพลิง (fuel oil) ได้ดี ชานอ้อยที่มีความชื้นร้อยละ 50 หนัก 3 ตัน เมื่อเผาจะให้พลังงานใกล้เคียงกับน้ำมันเชื้อเพลิงหนัก 1 ตัน
- 2) ใช้ผลิตวัสดุก่อสร้างโดยอาศัยกาก เช่น อัดเป็นแผ่น (particle board) ไม้อัดผิวเส้นใย (fiber-overlaid plywood) และแผ่นกันความร้อน (insulating board) เป็นต้น
- 3) ใช้ผลิตเยื่อกระดาษ (pulp) และกระดาษชนิดต่าง ๆ ชานอ้อยส่วนใหญ่ประกอบด้วย ลิกนิน (lignin) และมีเซลลูโลสอยู่บ้างเล็กน้อย
- 4) ใช้เป็นอาหารสัตว์ ถ้าให้สัตว์กินชานอ้อยโดยตรงมักจะทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับรสชาติ การย่อยของสัตว์ ตลอดจนมีอัตราส่วนระหว่างอาหารที่สัตว์กินกับน้ำหนักตัวที่เพิ่มค่อนข้างต่ำ วิธีที่ดี คือนำมาหมักก่อนที่จะให้สัตว์กิน วัสดุที่หมักประกอบด้วยชานอ้อย 1 ตัน (ความชื้นร้อยละ 55) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 5 ของน้ำหนักแห้ง กากน้ำตาลร้อยละ 15 ยูเรีย ร้อยละ 0.8 และข้าวโพด ร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ผสมแล้วทำให้มีความชื้นประมาณร้อยละ 60 หมักไว้ 4-6 สัปดาห์ จึงให้สัตว์กิน

- 5) ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมผลิต furfural, furfuryl alcohol และ xylitol
- 6) ใช้ทำปุ๋ยหมัก โดยหมักร่วมกับปุ๋ยคอก กากตะกอน หรือปุ๋ยวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ยังใช้ปุ๋ยคอกสัตว์ เพื่อรองรับมูลสัตว์และทำปุ๋ยหมักต่อไป
- 7) ใช้เป็นวัตถุดิบดิน เพื่อรักษาความชื้นของดินและป้องกันวัชพืช

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อ้อยมีสารพฤกษเคมีสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายไม่ว่าจะเป็น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และไฟโตสเตอรอล อีกทั้งในส่วนต่างๆ ของอ้อยยังพบว่ามีปริมาณสารเหล่านี้ไม่เท่ากัน และในพันธุ์ที่ต่างกันก็จะพบแตกต่างกันด้วย โดยพบว่าสารสำคัญในอ้อย มีบทบาทที่สำคัญแตกต่างกัน ดังเช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ ไฟโตสเตอรอล มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชัน ต้านการอักเสบ ต้านการกลายพันธุ์ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินและที่น่าสนใจมากกว่านี้ คือ จะพบสารในกลุ่ม ไฟโตสเตอรอล ได้แก่ ไตรเทอร์พีนอยด์ สติกมาสเตอร์ (stigmasterol), เบต้า-ซิโตสเตอรอล (β -sitosterol) และ สเตียรอยด์ ที่มีส่วนช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และลดระดับไขมันความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein; LDL) ในเลือดด้วย (Plat & Mensink, 2001)

Bhore และคณะในปี 2555 ทำการสกัดดอกอ้อยด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต บิวทานอล เมทานอลและน้ำ แล้วตรวจวัดสารพฤกษเคมี พบว่า สารสกัดดอกอ้อยประกอบด้วย แอลคาลอยด์ แทนนินส์ แอนทราควิโนน น้ำตาลรีดิซซ์ ซาโปนินส์ ฟลาโวนอยด์ พอลิฟีนอล สเตอรอยด์และเทอร์พีนอยด์ สารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ที่ก่อให้เกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจและลดริ้วรอย (Bhore et al., 2012)

Bian และคณะในปี 2556 ได้นำขานอ้อยมาแยกเฮมิเซลลูโลสด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จากนั้น ย่อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง สามารถผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) ได้สูงสุดร้อยละ 31.8 โดยมี xylobiose, xylotriose และ xylotetraose เป็นองค์ประกอบหลัก และมี oligosaccharides เช่น xylopenta-ose และ xylohexose บ้างเล็กน้อย เมื่อตรวจสอบด้วย FT-IR และ NMR พบว่า มีโครงสร้างแบบกิ่งผลึกและเมื่อใช้วิธี DPPH assay ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า XOS ที่สกัดได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงซึ่งอาจนำไปใช้ในงานที่เกี่ยวข้องกับอาหารได้ (Bian et al., 2013)

Feng และคณะในปี 2557 ทำการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและสารพฤกษเคมี เช่น ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์และไฟโตสเตอรอล จาก 4 ส่วนของอ้อย 2 สายพันธุ์ ในประเทศจีน ได้แก่ บริเวณแก่น ข้อต่อระหว่างปล้อง เปลือกและปลายยอด พบว่า ปริมาณ ไตรเทอร์พีนอยด์รวม ฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และสเตอรอลรวม มีปริมาณแตกต่างกันตามบริเวณที่ตรวจสอบและ สายพันธุ์อ้อย นอกจากนี้ ยังพบว่าปริมาณสารพฤกษเคมี มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP (Feng et al., 2014)

Zhao และคณะในปี 2558 ทำการศึกษาในปัจจุบันตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากขานอ้อย โดยพบว่า สารสกัดขานอ้อยแสดงฤทธิ์ของแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* และ *Salomonella typhimurium* นอกจากนี้สารสกัดขานอ้อยยังสามารถเพิ่มการนำไฟฟ้าของสารแขวนลอยของเซลล์แบคทีเรียซึ่งทำให้เกิดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ในเซลล์ (Zhao et al., 2015)

del Río และคณะในปี 2558 ศึกษาองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีไลโปฟิลิกในขานอ้อยและฟางอ้อยซึ่งเป็นสารตกค้างของการแปรรูปอ้อยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีพบว่า องค์ประกอบของลิพิดจากขานอ้อยและฟางอ้อยมีความแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ในขณะที่สารสกัดจากขานอ้อยมี n-aldehydes (ประมาณ 48% ของไขมันที่ระบุทั้งหมด) และ n-fatty alcohols (ประมาณ 23%) มีกรดไขมันในปริมาณต่ำกว่า (10%) และสเตียรอยด์คีโตน (14 %) สารสกัดจากฟางอ้อยประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (คิดเป็นประมาณ 60% ของสารประกอบทั้งหมด) โดยมีสารประกอบสเตียรอยด์จำนวนมาก (10%) และคีโตนสเตียรอยด์ (14%) นอกจากนี้ยังพบโทโคฟีรอลและ ไตรเทอร์พีนอลในสารสกัดฟางอ้อย ขานอ้อยและฟางอ้อยจึงถือได้ว่าเป็นวัตถุดิบที่มีสารพฤกษเคมีคุณค่าสูงสำหรับใช้ในทางโภชนาการและเภสัชการ (del Río et al., 2015)

Zheng และคณะในปี 2560 ทำการสกัดขานอ้อยด้วยเอทานอลแล้วนำไปตรวจสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดขานอ้อย มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ α -glucosidase sucrase และ maltase ได้ในระดับสูง และสามารถดูดซึมกลูโคสได้ดีเมื่อทดสอบด้วยเซลล์ HepG2 เมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดด้วย UHPLC-HR-TOFMS พบสาร 5 ชนิด ในปริมาณสูง คือ tricin 4-O-guaiacylglyceryl ether-7-O-glucopyranoside, genistin, p-coumaric acid, quercetin และ genistein ข้อมูลจากการวิจัยนี้บ่งชี้ว่า ขานอ้อยอ้อยสามารถใช้เป็นแหล่งสารประกอบฟีนอลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงและการเพิ่มรายได้อุตสาหกรรมเกษตร (Zheng, et al., 2017)

Thai และคณะในปี 2563 เตรียมวัสดุรูปจากเซลลูโลสชานอ้อยสำหรับการทำความสะอาดคราบน้ำมันและเป็นฉนวนกันความร้อน เพื่อพัฒนาวัสดุทดแทนชนิดใหม่และมีต้นทุนการผลิตต่ำที่มีประสิทธิภาพจากแหล่งของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีอยู่มากมาย สำหรับประยุกต์ใช้งานด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกมา เพื่อช่วยลดแหล่งที่มาของสถานะเรือนกระจกและในเวลาเดียวกันกับการปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้พลังงานการระบายความร้อนที่ดีในอาคารก่อสร้างด้วย(Thai et al., 2020)

Yadav และคณะในปี 2563 ใช้ขี้เถ้าชานอ้อยเป็นส่วนผสมของปอซโซลาน ซึ่งเป็นวัสดุอะลูมิโนซิลิเกตที่ไม่มีรูปร่างซึ่งอาจไม่ได้เป็นซีเมนต์ตามธรรมชาติ แต่ทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์และน้ำเพื่อสร้างสารประกอบซีเมนต์ เถ้าชานอ้อยอุดมไปด้วยแหล่งอะลูมิโนซิลิเกตซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักสำหรับคอนกรีตจีโอพอลิเมอร์ การศึกษาชี้ให้เห็นว่าเถ้าชานอ้อยและดินขาวเป็นวัสดุที่มีต้นทุนต่ำและหาได้ง่ายสำหรับสังเคราะห์จีโอพอลิเมอร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Yadav et al., 2020)



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 วัตถุดิบในการทดลอง

อ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17 (AU17) สุพรรณบุรี 50 (SP50) และสุพรรณบุรี 72 (SP72) สายพันธุ์ที่นิยมปลูกสำหรับผลิตน้ำตาลและสายพันธุ์ที่ลำต้นมีสีแตกต่างกัน ในบริเวณพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประเทศไทย นำมาปีบเอาน้ำออกจนได้ชานอ้อย แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำ ชานอ้อยที่แห้งแล้วมาบดให้มีขนาดเล็ก โดยใช้เครื่องสำหรับบดสารตัวอย่าง

3.2 สารเคมี

สารเคมีทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

Name	Formula	Grade	Company
2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulphonic acid) (ABTS)	$C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$	AR	Sigma-Aldrich
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	AR	Sigma-Aldrich
2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ)	$C_{18}H_{12}N_6$	AR	Sigma-Aldrich
Acetic acid	CH_3COOH	AR	Merck
Ethanol	C_2H_5OH	AR	Merck
Ethylacetate	$C_4H_8O_2$	AR	Merck
Ferric chloride hexahydrate	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	AR	Carlo Erba
Folin-Ciocalteu's Reagent	-	AR	Carlo Erba
Gallic acid	$C_7H_6O_5$	AR	Sigma-Aldrich
Hydrochloric acid	HCl	AR	Merck
Perchloric acid	$HClO_4$	AR	Merck
Potassium persulfate	$K_2S_2O_8$	AR	Merck
Silica gel	SiO_2	AR	Merck
Sodium acetate	CH_3COONa	AR	Merck
Sodium carbonate	Na_2CO_3	AR	Merck

Sodium hydroxide	NaOH	AR	Merck
Sodium nitrite	NaNO ₂	AR	Merck
Sulfuric acid	H ₂ SO ₄	AR	Merck
Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	R	Sigma-Aldrich

3.3 เครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

Instruments	Model	Company
Centrifuge	1040 series	CENTURION SCIENTIFIC
Oven	-	Scientific Promotion
Rotary evaporator	WJ-20	SIBATA
Shaker, PSU-20	Platform Shaker	Scientific Promotion
Spectrophotometer	4001/4	Thermo Spectronic
Stirring hotplate	-	Fisher Scientific
Ultrasonic bath	DT 100 H	Becthai Bangkok Equipment & Chemical
UV-visible spectrophotometer	Cary 60	THAI UNIQUE
Vortex	-	-
Water bath	TW 12	Scientific Promotion

พหุ ประถมศึกษา ชีวะ

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่างชานอ้อยมาสกัดโดยวิธีรีฟลักซ์ด้วยเอทานอล อัตราส่วน 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการแยกส่วนสารละลายและส่วนที่ไม่ละลายออกจากกัน โดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองและนำสารละลายมารวมกัน แล้วนำไประเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ภายใต้ระบบสุญญากาศ เป็นเวลา 30 นาที จะได้สารสกัดแห้งเป็นผง เก็บไว้ในถุงที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปใช้

3.4.2 การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารสกัดหยาบจากชานอ้อย

สารสกัดทั้งหมดจะถูกทำให้บริสุทธิ์ บางส่วนโดยการแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยการบรรจุสารสกัดที่ต้องการทำให้บริสุทธิ์ลงในคอลัมน์ แล้วชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตตและเอทานอลที่มีขั้วจากต่ำไปสูงในอัตราส่วนดังนี้ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0: 100 (v/v) ในการชะด้วยตัวทำละลายจะเก็บส่วนชะปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตรโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) เมื่อตรวจสอบการมีอยู่ของสารและนำส่วนชะที่มีการดูดกลืนแสงมารวมกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายโดยเครื่องระเหยแบบหมุนที่ 45 องศาเซลเซียส ภายใต้ระบบสุญญากาศ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บไว้จนกว่าจะทำการตรวจสอบต่อไป

3.4.3 การตรวจสอบสารพฤษเคมีรวม

1) การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content; TPC)

ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วน ตรวจสอบด้วยวิธี colorimetric โดยดัดแปลงวิธีของ (Shahram & Taghian Dinani, 2019) ทำได้โดยนำสารสกัดจากชานอ้อยปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปล่อยให้ทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้น เติมสารละลาย 7.5 % Na_2CO_3 ที่มีปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ลงไปผสมในสารละลายก่อนตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรโดยใช้เครื่อง UV-Vis สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐานปริมาณฟีนอลิกรวมแสดงในหน่วย มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่า (mg GAE/g DW)

2) การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Contents; TFC)

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วน ตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Hamed et al., 2019) ทำได้โดยนำสารสกัดจากชานอ้อยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 5% NaNO_2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่ไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาทีก่อนที่จะเติม 10% AlCl_3 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 1 M NaOH ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บ่มไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรโดยใช้ UV-Vis spectrophotometer โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์รวมแสดงในหน่วยมิลลิกรัมแควอร์ซิทิน เทียบเท่า (mg QE/g DW)

3) การวิเคราะห์ปริมาณซาโปนินส์รวม (Total Saponin Contents; TSC)

ปริมาณซาโปนินส์รวมของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วน ตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Brandão-Costa et al., 2020) ทำได้โดยนำสารสกัดจากชานอ้อย หรือ สารละลายมาตรฐานปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 8% vanillin-ethanol ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จากนั้น เติม 72% H_2SO_4 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงไปผสมคนให้เข้ากันแล้ว นำไปให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปแช่ใน น้ำเย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้ UV-Vis spectrophotometer โดยใช้ aescin เป็นสารมาตรฐานปริมาณซาโปนินส์รวมแสดงในหน่วย มิลลิกรัมเอสซินเทียบเท่า (mg Aes/g DW)

4) การหาปริมาณคอนเดนส์แทนนินส์รวม (Total Condensed Tannin Contents; CDT)

ปริมาณคอนเดนส์แทนนินส์รวม ของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์ บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Chupin et al., 2013) ทำได้โดยนำสารสกัดจากชานอ้อย 0.5 มิลลิลิตร มาเติม 4% vanillin-methanol ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และ HCl ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เก็บส่วนผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นส่วนผสมจะถูกใช้เพื่อวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ด้วย UV-Vis-spectrophotometer โดยใช้ catechin เป็นสารมาตรฐาน คอนเดนส์แทนนินส์รวมแสดงในหน่วยมิลลิกรัมคาร์เทชินเทียบเท่า (mg CE/g DW)

5) การวิเคราะห์ปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์รวม (Total Proanthocyanidins Contents; TPAC)

ปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์รวมของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Shan et al., 2019) ทำได้โดยนำสารสกัดจากขานอ้อย ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 4% vanillin-ethanol ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติม 37% HCl ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร บ่มไว้เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ด้วย UV-Vis spectrophotometer โดยใช้ catechin เป็นมาตรฐานปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์รวมแสดงในหน่วยมิลลิกรัมคาร์เทชินเทียบเท่า (mg CE/g DW)

3.4.4 การตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

1) ฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Sridhar & Charles, 2019) ทำได้โดยนำสารสกัดจากขานอ้อยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งและแสดงด้วยค่า IC_{50}

$$\% \text{ Inhibition} = [(Ac-As) / As] \times 100$$

โดยที่ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม ส่วน As = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

พหุ ประถมศึกษา

2) ฤทธิ์การดักจับอนุมูล ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulphonic acid)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Le Grandois et al., 2017) โดยมีขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนแรกเตรียมอนุมูลอิสระ ABTS โดยการผสม 7 mM ABTS กับสารละลาย 2.45 mM $K_2S_2O_8$ อัตราส่วน 1:1 ตั้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จนกระทั่งสถานะออกซิเดชันเกิดความเสถียร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.70 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ขั้นตอนการตรวจสอบปฏิกิริยา โดยนำสารละลายอนุมูล ABTS ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมกับสารสกัด ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งและแสดงด้วยค่า IC_{50}

3) ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะไอออน FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Su & Li, 2020) ขั้นตอนแรกจะทำการเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยนำสารละลาย acetate buffer pH 3.6 ผสมกับสารละลาย 20 mM $FeCl_3$ และสารละลาย TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) ความเข้มข้น 10 mM ที่ละลายใน 40 mM HCl ในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v) ขั้นตอนการตรวจสอบปฏิกิริยานำ FRAP reagent ปริมาตร 1800 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 240 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ค่าที่ได้นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) และแสดงในหน่วยไมโครโมลาร์ของเฟอร์รัสซัลเฟตเทียบเท่า ($\mu M FeSO_4/g DW$)

4) ฤทธิ์ การรีดิวซ์โลหะคอปเปอร์ CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity)

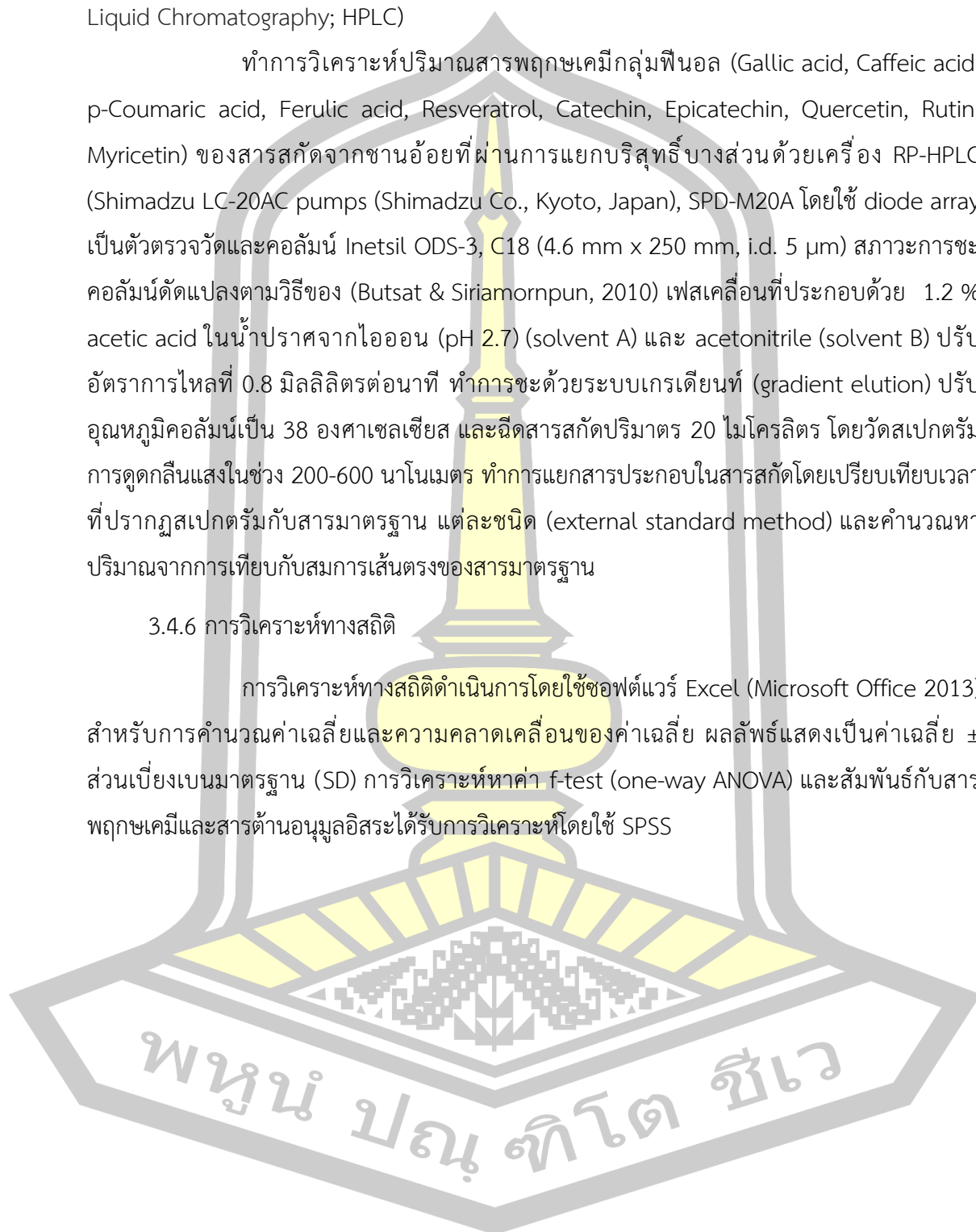
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC ของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนตรวจสอบโดยดัดแปลงวิธีของ (Krylova et al., 2016) โดยการผสมสารละลาย 0.01 M copper (II) chloride ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับสารละลาย 7.5 mM neocuproine ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับสารละลายตัวอย่าง 550 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารผสมที่ได้ตั้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ค่าที่ได้นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์ (TE) แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์เทียบเท่า (mg TE/g DW)

3.4.5 การวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤษเคมีกลุ่มฟีนอล (Gallic acid, Caffeic acid, p-Coumaric acid, Ferulic acid, Resveratrol, Catechin, Epicatechin, Quercetin, Rutin, Myricetin) ของสารสกัดจากขานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนด้วยเครื่อง RP-HPLC (Shimadzu LC-20AC pumps (Shimadzu Co., Kyoto, Japan), SPD-M20A โดยใช้ diode array เป็นตัวตรวจวัดและคอลัมน์ Inertsil ODS-3, C18 (4.6 mm x 250 mm, i.d. 5 μ m) สภาวะการชะคอลัมน์ดัดแปลงตามวิธีของ (Butsat & Siriamornpun, 2010) เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย 1.2 % acetic acid ในน้ำปราศจากไอออน (pH 2.7) (solvent A) และ acetonitrile (solvent B) ปรับอัตราการไหลที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการชะด้วยระบบเกรเดียนท์ (gradient elution) ปรับอุณหภูมิคอลัมน์เป็น 38 องศาเซลเซียส และฉีดสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วง 200-600 นาโนเมตร ทำการแยกสารประกอบในสารสกัดโดยเปรียบเทียบเวลาที่ปรากฏสเปกตรัมกับสารมาตรฐาน แต่ละชนิด (external standard method) และคำนวณหาปริมาณจากการเทียบกับสมการเส้นตรงของสารมาตรฐาน

3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติดำเนินการโดยใช้ซอฟต์แวร์ Excel (Microsoft Office 2013) สำหรับการคำนวณค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย ผลลัพธ์แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) การวิเคราะห์หาค่า f-test (one-way ANOVA) และสัมพันธ์กับสารพฤษเคมีและสารต้านอนุมูลอิสระได้รับการวิเคราะห์โดยใช้ SPSS



บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ลักษณะอ้อยที่ใช้ในงานวิจัย

ตัวอย่างชานอ้อยที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ คือ สายพันธุ์อู่ทอง 17 (AU17) สุพรรณบุรี 50 (SP50) และสุพรรณบุรี 72 (SP72) อ้อยทั้งสามสายพันธุ์เป็นอ้อยเคี้ยว มีเปลือกนํ้าม ชานนํ้าม มีความหวานปานกลางถึงค่อนข้างสูง ใช้บริโภคสด มีอายุประมาณ 8 เดือน ลักษณะสีและลำต้นของอ้อยแสดงดังรูปที่ 18



รูปที่ 18 แสดงลักษณะสีและปล้องของอ้อยที่ใช้ในการศึกษา
อู่ทอง 17 (ก) สุพรรณบุรี 50 (ข) และ สุพรรณบุรี 72 (ค)

4.2 ร้อยละการได้กลับคืน

ทำการสกัดสารจากชานอ้อยด้วยวิธีฟลักซ์โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนชานอ้อยต่อเอทานอล เท่ากับ 1:10 (w/v) ใช้เวลา 24 ชั่วโมง ผลการสกัด พบว่า ร้อยละการได้กลับคืนของสารสกัดแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของชานอ้อย โดยชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 ให้ร้อยละการได้กลับคืนสูงที่สุดดังแสดงในตารางที่ 4

พหุ ประถมศึกษา ชีวะ

ตารางที่ 4 ร้อยละการได้กลับคืนของสารสกัดจากชานอ้อย

สายพันธุ์อ้อย	ร้อยละการได้กลับคืน
AU17	4.61 ± 1.10 ^a
SP50	7.36 ± 1.03 ^b
SP72	5.42 ± 1.38 ^{a,b}

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

4.3 ปริมาณสารฟลักซ์เคมีในสารสกัดหยาบ

พืชในธรรมชาติจะมีสารฟลักซ์เคมีซึ่งเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นมาที่ใช้ประโยชน์อย่างอื่นนอกเหนือจากการเจริญเติบโต เช่น ป้องกันอันตรายจากศัตรูพืช รักษาบาดแผล การผสมพันธุ์และดำรงชีวิต นักวิจัยได้ศึกษาค้นคว้าสารเหล่านี้เพื่อประยุกต์ใช้งานในหลายด้านโดยเฉพาะทางเภสัชกรรม การบำรุงสุขภาพและความงาม สำหรับปริมาณสารฟลักซ์เคมีในสารสกัดหยาบจากชานอ้อย ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5 โดยภาพรวม จะเห็นว่า สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อู่ทอง 17 มีปริมาณสารฟลักซ์เคมีรวมสูงที่สุดในชานอ้อยทั้งสามสายพันธุ์ โดยพบว่าซาโปนินส์รวมคือสารฟลักซ์เคมีที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดรองลงมา คือ ฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟลักซ์เคมีในชานอ้อยสายพันธุ์ใกล้เคียงกันอย่างสุพรรณบุรี พบว่า สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 มีปริมาณสารฟลักซ์เคมีส่วนใหญ่สูงกว่าสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ยกเว้น ปริมาณซาโปนินส์ทั้งหมด อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารฟลักซ์เคมีที่พบยังน้อยกว่าที่พบในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อู่ทอง 17 มาก โดยรายละเอียด มีดังนี้

4.3.1 ปริมาณฟีนอลิกรวม

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีปริมาณสูงที่สุดและพบต่ำที่สุดในชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 ปริมาณฟีนอลิกรวมที่ตรวจพบนี้สูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดบัวหลวง(Feng et al., 2016) แต่ต่ำกว่าที่ตรวจพบในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์จีน (Guo et al., 2015) และในสารสกัดจากยอดและแก่นของอ้อย (วัลย์พรรณ กระพันธุ์เขียวและประสงค์ สีหานาม, 2559) มีงานวิจัยจำนวนมาก ที่แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญในพืช ฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิในพืชทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับสีของผักและผลไม้ ช่วยป้องกันพืชจากเชื้อโรค ปรสิตรและสัตว์กินเนื้อ (Zheng et al., 2017) สารประกอบฟีนอลิกยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น ยับยั้งมะเร็ง

(Wen et al., 2015) ป้องกันเบาหวาน (Zhang et al., 2012) และป้องกันโรคผิวหนังต่าง ๆ (Chaiprasongsuk et al., 2016) รวมทั้งต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ (Zheng et al., 2017)

4.3.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีปริมาณสูงที่สุดซึ่งใกล้เคียงกับที่ตรวจพบในชานอ้อยสายพันธุ์ SP72 และพบต่ำที่สุดในชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับปริมาณฟีนอลิกรวม โดยปริมาณที่พบนี้ค่อนข้างต่ำกว่าที่เคยมีรายงานมาก่อน (วลัยพรรณ กระจพันธุ์เขียวและประสงค์ สีหานาม, 2559) (Feng et al., 2014) โดยทั่วไปแล้วฟลาโวนอยด์ เป็นสารทุติยภูมิที่มีปริมาณสูงในพืช ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณและฤทธิ์ทางชีวภาพของฟลาโวนอยด์ในพืชหลากหลายชนิด (Ahammed et al., 2013; Camellia, 2017; Tanleque-Alberto et al., 2020; Wu et al., 2020)

4.3.3 ปริมาณซาโปนินส์รวม

ปริมาณซาโปนินส์รวมของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีปริมาณสูงที่สุดในขณะที่ชานอ้อยสายพันธุ์ SP72 พบต่ำที่สุด ผลที่ได้นี้แตกต่างจากปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมดที่ตรวจพบในชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ซาโปนินส์เป็นสารทุติยภูมิของพืชที่ใช้เป็นส่วนผสมในยาหลายชนิด (Dong et al., 2020) และยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและรา ด้านการอักเสบ (Ma et al., 1989; Yao et al., 2014) ปริมาณซาโปนินส์รวมแตกต่างกันตามชนิดของพืช (Del Hierro et al., 2020)

4.3.4 ปริมาณคอนเดนส์แทนนินส์รวม

ปริมาณคอนเดนส์แทนนินส์รวมของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีปริมาณสูงที่สุด ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบในชานอ้อยสายพันธุ์ SP72 เล็กน้อยและพบปริมาณต่ำที่สุดในชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 คอนเดนส์แทนนินส์ เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่พบทั่วไปในพืช จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา แสดงให้เห็นว่า แทนนินมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการทำให้ความดันเลือดสูง รวมทั้งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน และโคโมทริปซิน เอนไซม์โทรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการเกิดจุดดำที่ผิวหนังได้ (Chen et al., 2014) ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและยังช่วยเพิ่มไขมันดี (high density lipoprotein) และลดไขมันร้าย (low density lipoprotein) ได้ด้วย (Brasileira et al., 2015) นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้าน

โรคเบาหวานโดยสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ alpha amylase และ alpha glucosidase ได้ (Kunyanga et al., 2011) และฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ HCT-15

4.3.5 ปริมาณโปรแอนโทไซยานินดีนส์รวม

ปริมาณโปรแอนโทไซยานินดีนส์รวมของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีปริมาณสูงที่สุด ส่วนในสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรีทั้งสองสายพันธุ์ คือ SP50 และ SP72 พบปริมาณใกล้เคียงกันและต่ำกว่าที่พบในสายพันธุ์อุทอง 17 เล็กน้อย โปรแอนโทไซยานินดีนส์รวม เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณมากที่พบในพืชและสมุนไพรที่มีสี แดงยังพบในเปลือกและเมล็ดของผลไม้ด้วย (Garrido & Borges, 2013; Hernández-Jiménez et al., 2009; Mata, 2007) สารกลุ่มนี้ มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ ป้องกันโรคเสื่อมอันเกิดจากอนุมูลอิสระโดยเฉพาะโรคมะเร็ง (Bagchi et al., 2014)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดขานอ้อย

สายพันธุ์	TPC (mg GAE/g DW)	TFC (mg QE/g DW)	TSC (mg Aes/g DW)	CDT (mg CE/g DW)	TPAC (mg CE/g DW)
AU17	12.127 ± 0.331 ^c	10.877 ± 0.029 ^c	43.037 ± 0.133 ^c	2.747 ± 0.764 ^a	3.351 ± 0.191 ^b
SP50	6.640 ± 0.000 ^a	4.524 ± 0.081 ^a	30.228 ± 0.051 ^b	1.537 ± 0.696 ^a	2.030 ± 0.275 ^a
SP72	8.110 ± 0.276 ^b	10.033 ± 0.031 ^b	29.987 ± 0.048 ^a	2.681 ± 0.429 ^a	2.197 ± 0.076 ^a

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

โดยภาพรวม จะเห็นว่าปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดจากขานอ้อยมีปริมาณต่ำกว่าที่พบในสารสกัดจากต้นอ้อยมากเกือบร้อยละ 33 (วลัยพรรณ กระพันธ์เขียวและประสงค์ สีหานาม, 2559; ดวงมล เนาวะเศษและประสงค์ สีหานาม, 2560) ผลจากการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดจากขานอ้อย แสดงให้เห็นว่า ชนิดและปริมาณของสารแตกต่างกัน ซึ่งคาดว่ามีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น พื้นที่ปลูก สภาพภูมิอากาศ ส่วนต่าง ๆ ของพืช เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด สายพันธุ์ รวมทั้งวิธีการวิเคราะห์ เป็นต้น (Antoniolli et al., 2015; Feng et al., 2014; Gil et al., 2012)

4.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ

ทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากขานอ้อย 3 สายพันธุ์ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน ได้แก่ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กและโลหะทองแดง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6

4.4.1 ฤทธิ์ดักจับอนุมูล DPPH

เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงก็จะสามารถนำมาหาความเข้มข้นในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานได้ (Thaipong et al., 2006) โดยทั่วไป ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH จะแสดงด้วยค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) (Kedare & Singh, 2011) ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด รองลงมา คือ SP72 และในสายพันธุ์ SP50 มีฤทธิ์ต่ำที่สุด

4.4.2 ฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ ABTS

อนุมูล ABTS มักจะแสดงด้วยค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เช่นเดียวกับวิธี DPPH ฤทธิ์ดักจับอนุมูล ABTS ในสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 มีค่าสูงกว่าสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 เล็กน้อย และพบต่ำที่สุดในสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP50 จากค่า IC_{50} ทั้ง 3 สายพันธุ์แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากขานอ้อยมีความจำเพาะต่ออนุมูล ABTS สูงกว่าอนุมูล DPPH

4.4.3 ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะเหล็ก

ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 มีฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะเหล็กสูงที่สุด รองลงมา คือ ขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 และต่ำที่สุดในสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP50 จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของ ortho-dihydroxyl polyphenols สามารถเกิดโคออร์ดิเนชันกับ Fe^{2+} ได้ดี ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการจับกับโลหะสูง (Antoniolli et al., 2015; Visioli et al., 2011) ผลที่ได้สอดคล้องกับปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่พบว่า ขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 และสายพันธุ์ SP72 มีปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์ SP50

พูน ปณ ทิโต ชเว

4.4.4 ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะทองแดง

ฤทธิ์ลดแรงโลหะทองแดง ตรวจสอบด้วยวิธี CUPRAC ซึ่งจะแสดงออกมาในหน่วยของสารมาตรฐาน Trolox สมมูล (mg TE/g DW) ผลการทดลองมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการตรวจสอบฤทธิ์ลดแรงโลหะเหล็ก คือ สารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 จะมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 และต่ำที่สุดในสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP50 อย่างไรก็ตาม ค่าที่ได้ค่อนข้างต่ำกว่าฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะเหล็ก รายงานวิจัยส่วนใหญ่ชี้ให้เห็นว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเกี่ยวข้องโดยตรงกับองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอล เช่น โครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านั้น ตำแหน่งหมู่เกาะที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่าย เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) รวมทั้งพันธะคู่ที่อยู่ข้างเคียงในวงคาร์บอนอีกด้วย (Butsat et al., 2009; Mariod et al., 2009; Ola & Maroto-Valer, 2015)

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบจากขานอ้อย

ตัวอย่าง	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
	(IC ₅₀ mg/mL)	(IC ₅₀ mg/mL)	($\mu\text{M Fe}^{2+}$ /g DW)	(mg TE/g DW)
AU17	11.127 \pm 0.041 ^a	2.493 \pm 0.077 ^a	61.221 \pm 4.608 ^c	5.602 \pm 0.114 ^c
SP50	19.819 \pm 0.094 ^c	3.501 \pm 0.330 ^b	10.532 \pm 1.317 ^a	3.287 \pm 0.179 ^b
SP72	14.110 \pm 0.264 ^b	2.388 \pm 0.029 ^a	39.059 \pm 0.760 ^b	1.185 \pm 0.016 ^a

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

4.5 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างสารฟลักซ์เคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ

ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลักซ์เคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขานอ้อยแสดงด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ซึ่งโดยทั่วไปค่า r จะมีค่าตั้งแต่ -1 ถึง 1 ถ้าค่า r เป็นลบ (-) แสดงว่า ตัวแปรที่ศึกษามีความสัมพันธ์ตรงกันข้าม หากเข้าใกล้ 0 แสดงว่าตัวแปรมีความสัมพันธ์น้อย หรือถ้าเป็น 0 แสดงว่าตัวแปรไม่มีความสัมพันธ์กันเลย แต่ถ้าหากเป็นบวก (+) แสดงว่าตัวแปรมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ซึ่งจากตารางการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลักซ์เคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่าค่าที่ได้มีค่าเป็นบวก นั้นแสดงว่าหากปริมาณสารฟลักซ์เคมีที่ตรวจพบมีค่ามาก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะมากขึ้นด้วย ดังแสดงใน ตารางที่ 7

จากตารางแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์รวม มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุก ๆ วิธีการทดสอบ โดยฟลาโวนอยด์รวมมีค่าสหสัมพันธ์กับฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH ($r = 0.900$ หรือ 90.0%) ABTS ($r = 0.953$ หรือ 95.3%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) ($r = 0.940$ หรือ 94.0%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) ($r = 0.908$ หรือ 90.8%)

ในขณะที่ปริมาณฟีนอลิกรวมมีค่าสหสัมพันธ์สูงเช่นเดียวกับฟลาโวนอยด์รวม ยกเว้นวิธี ABTS ที่มีค่าสหสัมพันธ์ปานกลาง ดังนี้ ฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH ($r = 0.900$ หรือ 90.0%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) ($r = 0.939$ หรือ 93.9%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) ($r = 0.965$ หรือ 96.5%) และ ABTS ($r = 0.618$ หรือ 61.8%)

ปริมาณซาโปนินส์รวมมีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างสูงกับทุกวิธีที่ทดสอบยกเว้นวิธี ABTS ที่มีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำ ดังนี้ ฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH ($r = 0.752$ หรือ 75.2%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) ($r = 0.815$ หรือ 81.5%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) ($r = 0.871$ หรือ 87.1%) และ ABTS ($r = 0.393$ หรือ 39.3%)

ปริมาณโปรแอนโธไซยานินส์รวมมีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างสูงกับทุกวิธีที่ทดสอบยกเว้นวิธี ABTS ที่มีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำแต่สูงกว่าที่พบในซาโปนินส์รวม ดังนี้ ฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH ($r = 0.806$ หรือ 80.6%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) ($r = 0.848$ หรือ 84.8%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) ($r = 0.896$ หรือ 89.6%) และ ABTS ($r = 0.514$ หรือ 51.4%)

ปริมาณคอนเดนส์แทนนินรวมมีค่าสหสัมพันธ์ปานกลางกับทุกวิธีที่ทดสอบ ดังนี้ ฤทธิ์การดักจับอนุมูล DPPH ($r = 0.876$ หรือ 87.6%) ABTS ($r = 0.755$ หรือ 75.5%) ฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) ($r = 0.650$ หรือ 65.0%) และฤทธิ์รีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) ($r = 0.636$ หรือ 63.6%)

ฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์กับซาโปนินส์รวมและโปรแอนโธไซยานินส์รวมสูง มีความสัมพันธ์กับฟลาโวนอยด์รวมค่อนข้างสูงและมีความสัมพันธ์ปานกลางกับคอนเดนส์แทนนินรวม ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะโครงสร้างของคอนเดนส์แทนนินส์รวมแตกต่างจากสาร ทั้ง 3 ตัวจึงอาจส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลแตกต่างกัน

ฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับคอนเดนส์แทนนินรวม ค่อนข้างสูงและมีความสัมพันธ์ปานกลางกับซาโปนินส์รวมและโปรแอนโธไซยานินส์รวม ส่วนซาโปนินส์รวมมีความสัมพันธ์กับโปรแอนโธไซยานินส์รวมสูงแต่กับคอนเดนส์แทนนินส์รวมมีความสัมพันธ์ค่อนข้างต่ำ เช่นเดียวกันกับความสัมพันธ์ระหว่างโปรแอนโธไซยานินส์รวมกับคอนเดนส์แทนนินรวม

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารพฤกษเคมีทั้ง 4 ชนิด ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยสารที่มีฤทธิ์ ดักจับอนุมูลอิสระที่มีประจุเป็นกลาง DPPH ได้สูง คือ ฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม ส่วนสารอื่นมีฤทธิ์ค่อนข้างสูง แต่สารที่มีฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระประจุบวก ABTS

ได้สูง คือ ฟลาโวนอยด์รวม ส่วนคอนเดนส์แทนนินรวมมีฤทธิ์ค่อนข้างสูง และฟีนอลิกรวมและ โพรแอนโธไซยานินดินส์รวมมีฤทธิ์ปานกลางสารทุกชนิดมีฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กและทองแดงสูงยกเว้น คอนเดนส์แทนนินรวมที่มีฤทธิ์รีดิวซ์ปานกลาง ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า สารกลุ่ม ฟอลิฟินอลสามารถดักจับอนุมูลอิสระได้ เพราะมีโครงสร้างเคมีที่ประกอบด้วยหมู่ฟีนอลซึ่งมีสมบัติเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) ที่ดี (Lopes et al., 1999) เมื่อปริมาณสารฟอกซ์เคมีมากจะทำให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นด้วย อีกทั้งเมื่อให้อิเล็กตรอนแล้วสารฟอลิฟินอลจะรวมตัวกันเกิดเป็นฟอลิฟินอลใหม่ที่มีความ เสถียรยิ่งขึ้น (Abu et al., 2011; Feng et al., 2014; Zhishen et al., 1999)

ตารางที่ 7 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างสารฟอกซ์เคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ จากชานอ้อย

Factors	TPC	TFC	TSC	TPAC	CDT	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
TPC	1	.785*	.958**	.945**	.555	-.900**	-.618	.939**	.965**
TFC		1	.589	.667*	.726*	-.975**	-.953**	.940**	.908**
TSC			1	.954**	.383	-.752*	-.393	.815**	.871**
TPAC				1	.400	-.806**	-.514	.848**	.896**
CDT					1	-.697*	-.755*	.650	.636
DPPH						1	.880**	-.988**	-.977**
ABTS							1	-.823**	-.779*
FRAP								1	.991**
CUPRAC									1

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.6 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟอกซ์เคมีในสารสกัดหยาบ

ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟอกซ์เคมีในสารสกัดหยาบจากชานอ้อยด้วยเครื่อง HPLC ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8 จากตารางจะเห็นว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด พบในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 รองลงมา คือ สายพันธุ์ SP72 และ SP50 ตามลำดับดัง รายละเอียดต่อไปนี้

สายพันธุ์ AU 17 สารประกอบฟีนอลหลักที่ตรวจพบ ได้แก่ gallic acid และ *p*-coumaric acid ส่วนสายพันธุ์ SP72 สารประกอบฟีนอลหลักที่ตรวจพบ ได้แก่ gallic acid, caffeic acid และ *p*-coumaric อย่างไรก็ตาม สารประกอบฟีนอล 2 ชนิด คือ gallic acid และ *p*-coumaric acid ตรวจไม่พบในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 ในสารสกัดจากชานอ้อยทุกสายพันธุ์ พบปริมาณ ferulic acid ใกล้เคียงกัน ในขณะที่สารโพรแอนโทไซยานินส์เชิงเดี่ยวอย่าง epicatechin ก็ตรวจพบในสารสกัดจากชานอ้อยทุกสายพันธุ์เช่นกัน อย่างไรก็ตาม catechin ตรวจพบเฉพาะในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP72 เท่านั้น ในขณะที่ rutin พบเฉพาะในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 เท่านั้น ส่วน myricetin ตรวจพบในสารสกัดจากชานอ้อยทุกสายพันธุ์เช่นกันแต่พบในปริมาณต่ำ ความแตกต่างของชนิดและปริมาณสารเหล่านี้ เกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย ได้แก่ สายพันธุ์ ระยะเวลาเจริญ ส่วนที่นำมาศึกษา สี สภาพภูมิอากาศ การแพร่ระบาดของเชื้อโรค ความเชี่ยวชาญของเกษตรกรในการปลูกและเก็บเกี่ยว เป็นต้น (Jayaprakasha et al., 2003)

ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณ (mg/g DW) สารประกอบฟีนอลในสารสกัดหยาบจากชานอ้อย

สารประกอบ	AU17 (mg/ g)	SP50 (mg/ g)	SP72 (mg/ g)
Gallic acid	1.498 ± 0.002 ^b	ND	0.472 ± 0.817 ^a
Caffeic acid	0.557 ± 0.002 ^c	ND	0.547 ± 0.001 ^b
<i>p</i> -Coumaric acid	0.960 ± 0.035 ^c	0.460 ± 0.036 ^a	0.543 ± 0.034 ^b
Ferulic acid	0.323 ± 0.001 ^c	0.317 ± 0.003 ^b	0.306 ± 0.001 ^a
Resveratrol	0.432 ± 0.024 ^b	0.213 ± 0.006 ^a	0.246 ± 0.014 ^a
Catechin	ND	ND	0.031 ± 0.011 ^b
Epicatechin	0.232 ± 0.019 ^b	0.156 ± 0.003 ^a	0.158 ± 0.023 ^a
Quercetin	0.430 ± 0.015 ^a	0.464 ± 0.031 ^a	0.454 ± 0.005 ^a
Rutin	0.014 ± 0.001 ^b	ND	0.001 ± 0.003 ^a
Myricetin	0.006 ± 0.002 ^a	0.015 ± 0.004 ^b	0.018 ± 0.002 ^b

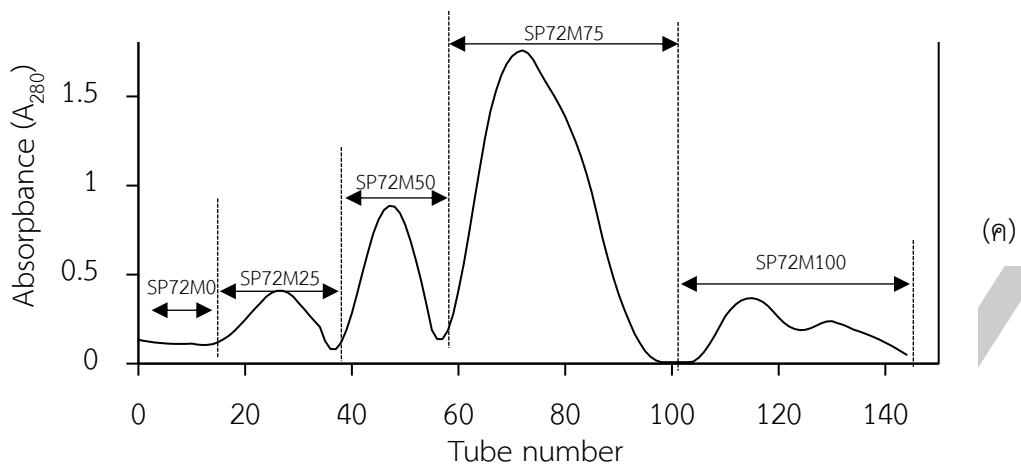
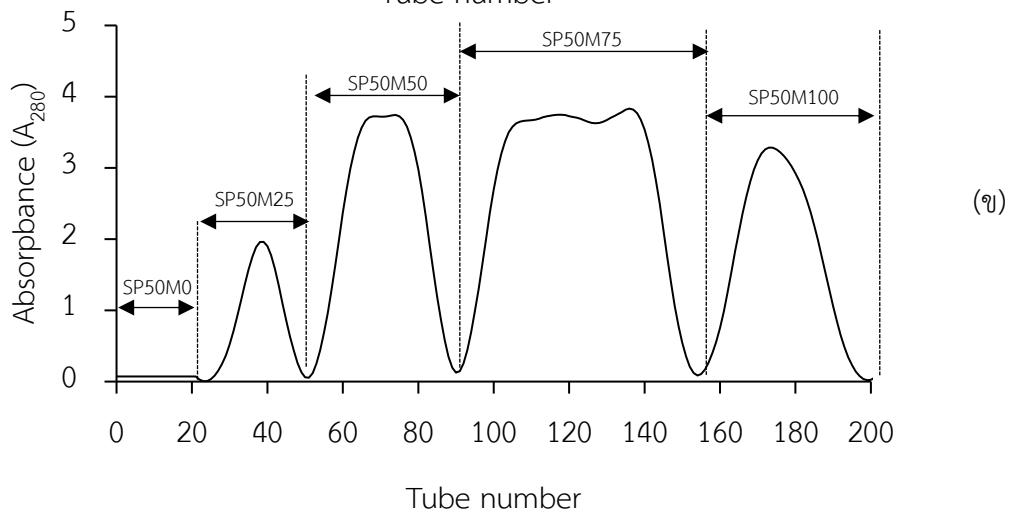
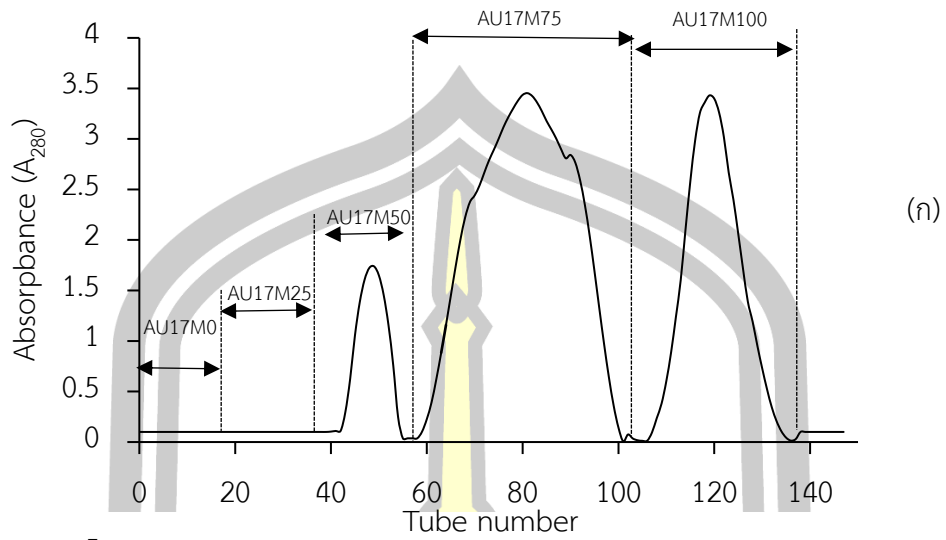
ND = not detected

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแถวเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

4.7 ส่วนชะจากการแยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์

ทำการแยกบริสุทธิ์บางส่วนของสารสกัดหยาบขานอ้อย โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีที่บรรจุคอลัมน์ด้วยซิลิกาเจล เก็บส่วนชะตามตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตทและเมทานอลที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน ดังนี้ เอทิลอะซิเตท : เมทานอล เป็น 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75 และ 0 : 100 ในการชะแต่ละครั้งจะทำการเก็บแต่ละส่วนชะไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร เพื่อตรวจสอบการมีอยู่ของสาร ทำการชะจนกว่าส่วนชะจะไม่ปรากฏค่าการดูดกลืนแสงแล้วจึงทำการชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายอัตราส่วนใหม่ จึงสามารถแยกส่วนชะออกเป็น 5 ส่วนชะ (fractions) ของอ้อยแต่ละสายพันธุ์ รูปแบบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากอ้อยแต่ละส่วนชะแสดงดังรูป 4.2 นำแต่ละส่วนชะไประเหยตัวทำละลายแล้วนำไปตรวจสอบปริมาณสารฟลักซ์เคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป





รูปที่ 19 แสดงการแยกส่วนสารสกัดหยาบของชานอ้อย

สายพันธุ์อุ้มทอง 17 (ก) สายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (ข) และสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 (ค)

4.8 ปริมาณสารพิษเคมีในส่วนชะ

สารพิษเคมีในส่วนชะที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบ สารพิษเคมีที่ทำการตรวจสอบทั้งหมดมีรายงานการศึกษา ที่แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ไม่ว่าจะเป็นพีนอลิกกรม (Saleh, 2011) ฟลาโวนอยด์รวม (Park et al., 2020) ซาโปนินส์รวม (Tian et al., 2020) คอนเดนส์แทนนินส์รวม (Chupin et al., 2013) และโพรแอนโธไซยานินดีนส์รวม (Wang et al., 2020) โดยในบรรดาสารพิษเคมีที่ตรวจสอบในส่วนชะ TSC พบปริมาณมากที่สุด และ TPAC พบปริมาณต่ำที่สุด ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 ในตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนเมทานอลต่ำกว่าร้อยละ 50 จะตรวจไม่พบสารใดเลย เมื่อพิจารณาส่วนชะที่ตรวจพบสารพิษเคมี จะเห็นว่า มีปริมาณ TPC ต่ำกว่าสารสกัดหยาบ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนชะ พบว่า ส่วนชะที่ได้จากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต/เมทานอลอัตราส่วน 25:75 (SF4M75) มีปริมาณสูงกว่าอัตราส่วน 50:50 (SF3M50) เล็กน้อย ในตัวทำละลายที่มีเมทานอลต่ำกว่า 50 ไม่พบสาร TPC แต่เมื่อพิจารณาที่สาร TFC พบว่า ส่วนชะจะมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดหยาบ ส่วนชะที่มีปริมาณสูงสุด คือ ส่วนชะที่ชะคอลัมน์ด้วยเมทานอล 100 % ซึ่งสูงกว่าอัตราส่วนเมทานอลร้อยละ 50 ส่วน TSC พบว่า ส่วนที่ชะด้วยเมทานอลร้อยละ 50 และ 75 จะมีปริมาณ TSC สูงกว่าสารสกัดหยาบ ในขณะที่ปริมาณ TPAC ที่ตรวจพบในส่วนชะ พบว่า มีปริมาณต่ำกว่าสารสกัดหยาบ ส่วนชะที่พบสูง คือ ส่วนชะที่มีอัตราส่วนเมทานอลร้อยละ 50 และ ปริมาณ CDT พบว่า ตัวทำละลายที่ใช้ชะคอลัมน์ที่เมทานอลเกินร้อยละ 50 จะมีปริมาณ CDT สูงกว่าสารสกัดหยาบ ดังแสดงในตารางที่ 9

ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP 50 ในตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนเมทานอลต่ำกว่าร้อยละ 25 ตรวจไม่พบสารใดเลย เมื่อพิจารณาส่วนชะที่ตรวจพบสารพิษเคมี จะเห็นว่า มีปริมาณ TPC สูงกว่าสารสกัดหยาบ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนชะ พบว่า ส่วนชะที่ได้จากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต/เมทานอลอัตราส่วน 75:25 (SF2M25) มีปริมาณ TPC สูงที่สุด ผลที่ได้นี้ คล้ายกับปริมาณ TFC ที่ตรวจสอบ คือ ส่วนชะจะมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดหยาบ ส่วนชะที่มีปริมาณสูงสุด คือ ส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 ส่วน TSC พบในปริมาณมาดสูงเช่นกันและสูงกว่าสารสกัดหยาบ โดยส่วนที่ชะด้วยเมทานอลร้อยละ 25 มีปริมาณ TSC สูงกว่าส่วนชะที่เป็นเมทานอล 100 % ในขณะที่ปริมาณ TPAC ตรวจพบเฉพาะในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 และ 50 โดยในส่วนชะอัตราส่วนตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต/เมทานอลเป็น 25:75 (SF2M25) พบปริมาณสูงสุดและสูงกว่าสารสกัดหยาบ ส่วนปริมาณ CDT พบปริมาณสูงสุดในส่วนชะที่ใช้เมทานอลอัตราส่วนร้อยละ 25 และมีปริมาณ CDT สูงกว่าสารสกัดหยาบ ดังแสดงในตารางที่ 9

ส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP 72 มีลักษณะคล้ายกับส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 คือ ในตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนเมทานอลต่ำกว่าร้อยละ 50 ตรวจไม่พบสารใดเลย เมื่อพิจารณาส่วนชะที่ตรวจพบสารฟลักซ์เคมี พบว่า มีปริมาณ TPC สูงกว่าสารสกัดหยาบทั้งหมด โดยส่วนชะที่ได้จากเมทานอล 100 % (SF5M100) มีปริมาณ TPC สูงที่สุด ผลที่ได้นี้ คล้ายกับส่วนชะที่มีปริมาณ TFC สูงสุด และสูงกว่าสารสกัดหยาบเล็กน้อย ส่วน TSC พบในปริมาณมาสูงเช่นกัน และสูงกว่าสารสกัดหยาบ โดยส่วนที่ชะด้วยเมทานอลร้อยละ 75 มีปริมาณ TSC สูงกว่าส่วนชะอื่น ในขณะที่ปริมาณ TPAC ตรวจพบเฉพาะในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 และ 100 แต่ปริมาณต่ำกว่าสารสกัดหยาบ ส่วนปริมาณ CDT พบปริมาณสูงสุดในส่วนชะที่ใช้เมทานอลอัตราส่วนร้อยละ 50 แต่ทุกส่วนชะมีปริมาณ CDT ต่ำกว่าสารสกัดหยาบ ดังแสดงในตารางที่ 9

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า หลังจากผ่านกระบวนการแยกส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์ สารฟลักซ์เคมีที่ตรวจสอบส่วนใหญ่มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบ แสดงให้เห็นว่า ซิลิกาเจลคอลัมน์ น่าจะสามารถนำมาใช้สำหรับแยกส่วนสารที่ไม่บริสุทธิ์ออกจากสารสกัดหยาบได้ โดยภาพรวมจะเห็นว่า สารฟลักซ์เคมีที่ตรวจพบมีปริมาณแตกต่างกันตามแต่ละส่วนชะ ตามชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะคอลัมน์ ความแตกต่างน่าจะเกิดจากโครงสร้างเคมีของสารแต่ละชนิด รวมทั้งความมีขี้ของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะคอลัมน์ (ดวงกมล เนาวะเศษและประสงค์ สีหานาม, 2560) ยิ่งกว่านั้น ชนิดและปริมาณของสารฟลักซ์เคมียังผันแปรตามปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัด วิธีการตรวจสอบ รวมทั้งขั้นตอนในการทดลองด้วย (Antoniolli et al., 2015; Feng et al., 2014)



ตารางที่ 9 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีจากสารสกัดขานอ้อยโดยการแยกส่วน

Sub fraction	TPC (mg/ g GAE)	TFC (mg/ g QE)	TSC (mg/ g Aes)	TPAC (mg/ g CE)	CDT (mg/g CE)
AU17 crude	12.127 ± 0.331 ^f	10.877 ± 0.029 ^{d,e}	43.037 ± 0.133 ^c	3.351 ± 0.191 ^c	2.747 ± 0.764 ^f
SF1M0	-	-	-	-	-
SF2M25	-	-	-	-	-
SF3M50	3.858 ± 0.266 ^b	26.663 ± 0.482 ^h	199.524 ± 2.182 ^h	1.844 ± 0.038 ^b	1.556 ± 0.154 ^{c,d}
SF4M75	4.092 ± 0.723 ^b	13.189 ± 0.316 ^g	186.190 ± 2.182 ^g	0.489 ± 0.038 ^a	3.289 ± 0.077 ^f
SF5M100	2.438 ± 0.149 ^a	27.575 ± 0.338 ⁱ	38.571 ± 2.857 ^{b,c}	0.333 ± 0.067 ^a	3.422 ± 0.077 ^f
SP50 crude	6.640 ± 0.000 ^c	4.524 ± 0.081 ^a	30.228 ± 0.051 ^a	2.030 ± 0.275 ^b	1.537 ± 0.696 ^e
SF1M0	-	-	-	-	-
SF2M25	37.563 ± 0.520 ^k	69.681 ± 0.818 ^l	195.238 ± 2.182 ^h	4.022 ± 0.077 ^d	13.018 ± 0.215 ^g
SF3M50	17.646 ± 1.138 ^h	11.575 ± 0.161 ^f	49.048 ± 3.299 ^d	0.178 ± 0.038 ^a	1.778 ± 0.077 ^d
SF4M75	10.682 ± 1.217 ^e	11.097 ± 0.061 ^{e,f}	68.907 ± 2.968 ^e	ND	0.798 ± 0.133 ^b
SF5M100	14.213 ± 0.578 ^g	10.230 ± 0.278 ^c	176.927 ± 1.427 ^f	ND	0.400 ± 0.133 ^a
SP72 crude	8.110 ± 0.276 ^d	10.033 ± 0.031 ^c	29.987 ± 0.048 ^a	2.197 ± 0.076 ^c	2.681 ± 0.429 ^e
SF1M0	-	-	-	-	-
SF2M25	-	-	-	-	-
SF3M50	14.230 ± 0.290 ^g	5.225 ± 0.161 ^b	194.286 ± 6.547 ^h	0.467 ± 0.133 ^a	1.422 ± 0.154 ^c
SF4M75	24.624 ± 0.331 ⁱ	5.470 ± 0.122 ^b	437.681 ± 7.759 ⁱ	ND	0.711 ± 0.077 ^b
SF5M100	34.052 ± 0.741 ^j	10.449 ± 0.122 ^{c,d}	36.190 ± 3.299 ^b	0.178 ± 0.038 ^a	0.809 ± 0.147 ^b

ND = not detected

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

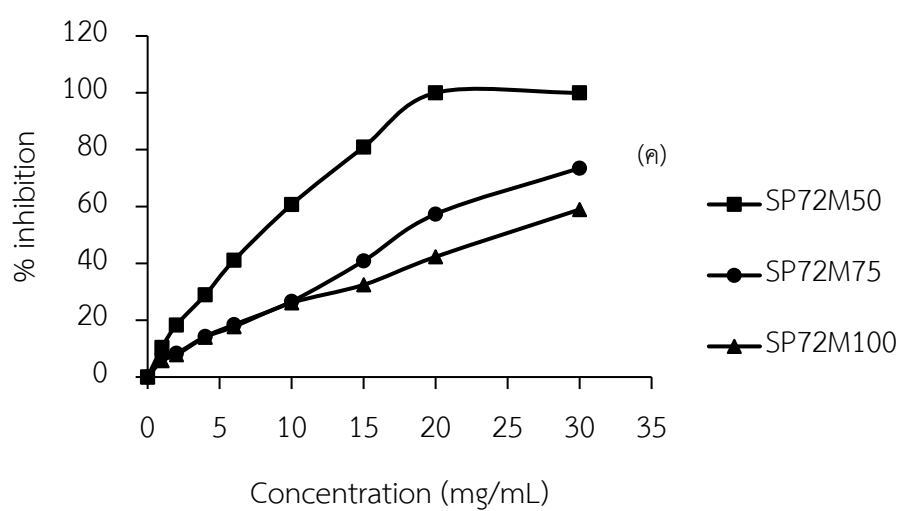
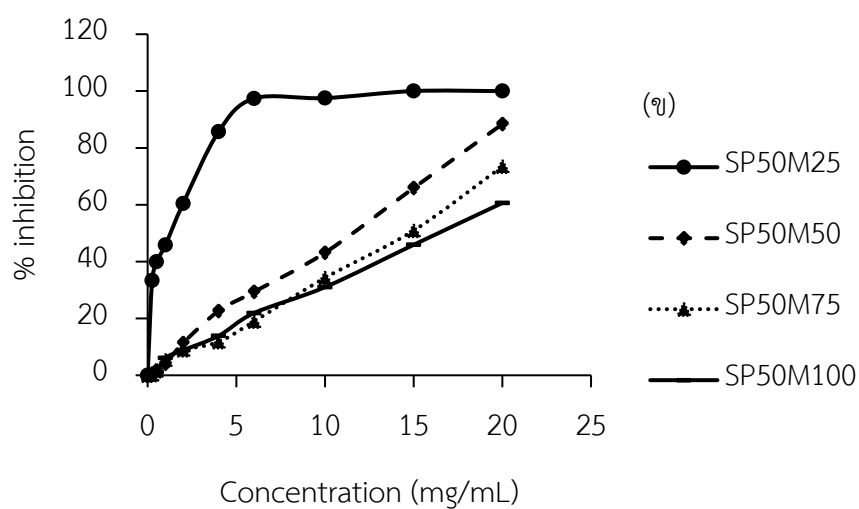
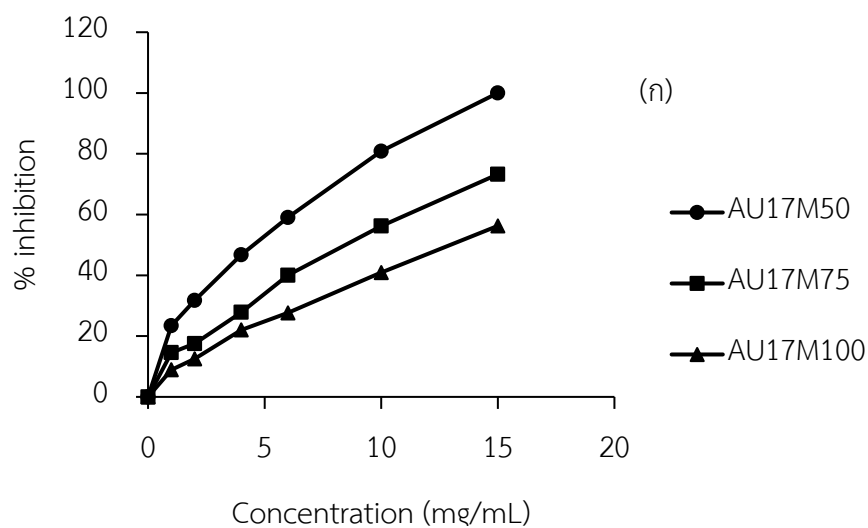
4.9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนชะ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของส่วนชะแสดงผลการทดลองเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%free radical inhibition) ดังรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้ รูปที่ 20 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของส่วนชะ ที่ผ่านการแยกส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์ ในส่วนชะของสารสกัดขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 พบว่า ส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 50 (AU17M50) มีร้อยละการยับยั้งสูงสุด (รูปที่ 20 ก) ในขณะที่ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP50 พบว่า ส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 25 (SP50M25) มีร้อยละการยับยั้งสูงสุด (รูปที่ 20 ข) และ

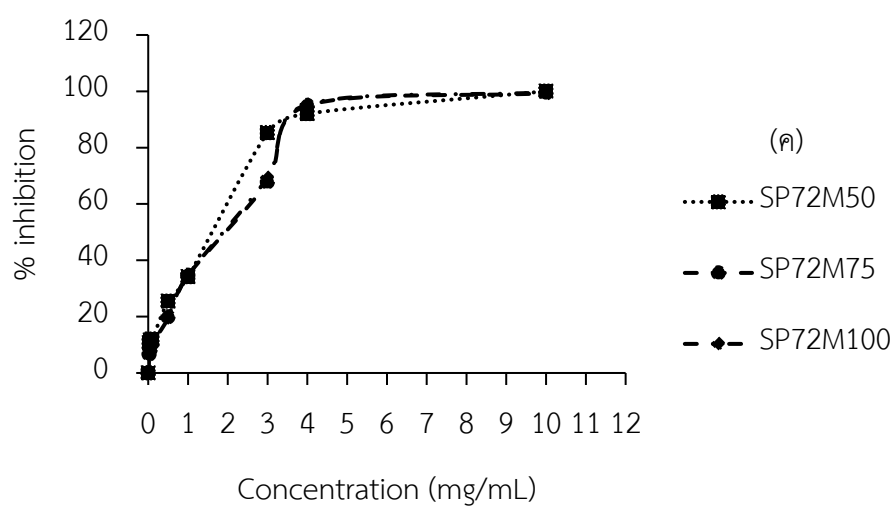
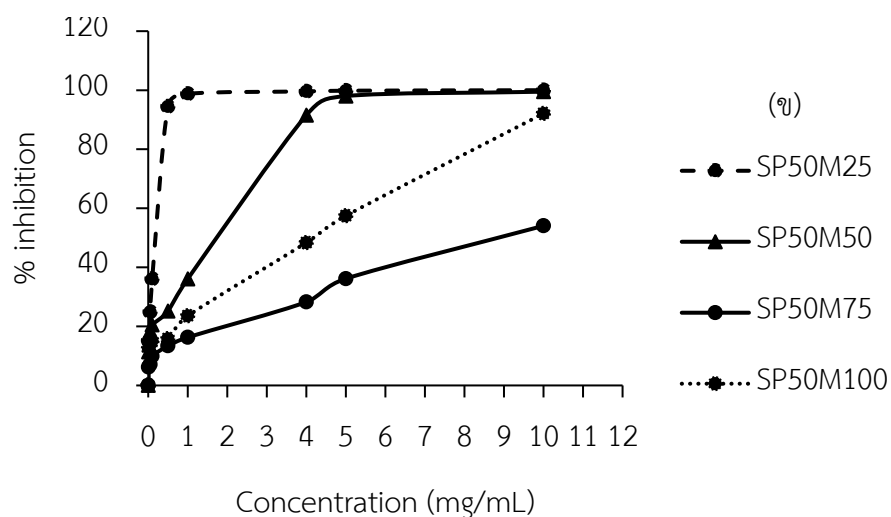
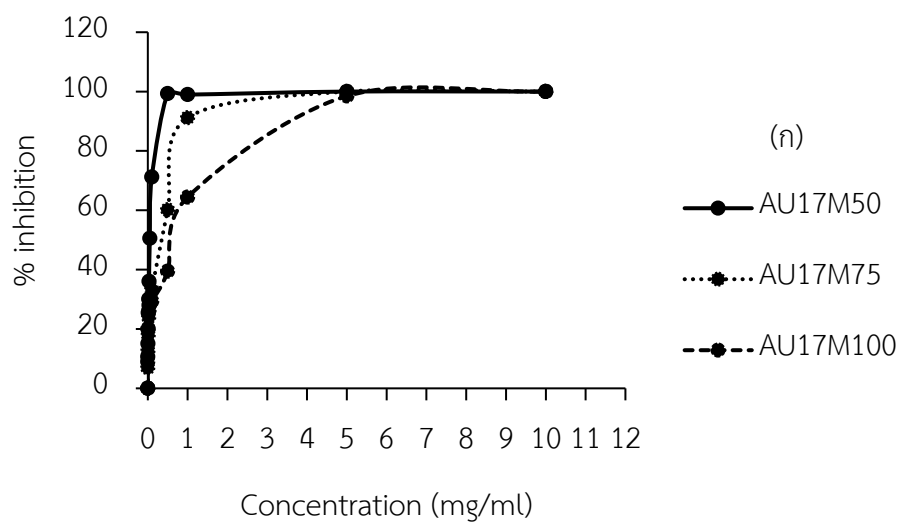
ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 พบว่า ส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 50 (SP72M50) มีร้อยละการยับยั้งสูงสุด (รูปที่ 20 ค)

แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ของส่วนชะ ที่ผ่านการแยกส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลลัมน์ ในส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 พบว่า ส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 50 (AU17M50) มีร้อยละการยับยั้งสูงสุด อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ส่วนชะที่ใช้เมทานอล 100% จะมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 50 (รูปที่ 21 ก) ในขณะที่ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP50 พบว่า ส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 25 (SP50M25) มีร้อยละการยับยั้งสูงสุด อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ส่วนชะที่ใช้เมทานอล 100% จะมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับส่วนชะที่เตรียมจากการชะคอลลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 25 (รูปที่ 21 ข) และส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 พบว่า ร้อยละการยับยั้งใกล้เคียงกัน (รูปที่ 21 ค)





รูปที่ 20 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของส่วนชะ
ที่แยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์; สายพันธุ์ AU17 (ก), สายพันธุ์ SP50 (ข) และสายพันธุ์ SP72 (ค)



รูปที่ 21 แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูล ABTS ของส่วนชะ

ที่แยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์; สายพันธุ์ AU17 (ก), สายพันธุ์ SP50 (ข) และสายพันธุ์ SP72 (ค)

ข้อมูลที่ได้จากร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มาแสดงในรูปของค่า IC_{50} และฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กและโลหะทองแดง โดยใช้โทรล็อกเป็นตัวเปรียบเทียบ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 รายละเอียดแสดงดังต่อไปนี้

ส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 เมื่อพิจารณาจากวิธี DPPH พบว่า ส่วนชะที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 50 และ 75 มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล DPPH สูงกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 2.3 และ 1.3 เท่า ตามลำดับ และยังมีฤทธิ์สูงกว่า Trolox อีกด้วย ส่วนวิธี ABTS พบว่า ส่วนชะทุกอัตราส่วนที่ตรวจพบสารออกฤทธิ์ สามารถดักจับอนุมูล ABTS สูงกว่าสารสกัดหยาบ โดยส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด และสูงกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 51 เท่า อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่า การตรวจสอบฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีความเหมาะสมกว่าวิธี ABTS เมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะเหล็ก (FRAP) พบว่าทุกส่วนชะมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดหยาบโดยเฉพาะในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 และ 75 เป็นตัวชะคอลัมน์ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์รีดิวซ์ของสารสกัดหยาบ พบว่า ทั้ง 2 ส่วนชะ มีฤทธิ์สูงกว่าประมาณ 2.5 และ 4.2 เท่า ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะทองแดง (CUPRAC) พบว่า ส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 มีฤทธิ์รีดิวซ์สูงกว่าสารสกัดหยาบ ประมาณ 1.5 เท่า และในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 100 เป็นตัวชะคอลัมน์ มีฤทธิ์รีดิวซ์ใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบ และเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระ พบว่า สารจากส่วนชะมีฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กต่ำกว่า แสดงดังตารางที่ 10

ส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 เมื่อพิจารณาจากวิธี DPPH พบว่า ส่วนชะที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต : เมทานอลทุกอัตราส่วน มีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบ เนื่องจากมีค่า IC_{50} ต่ำกว่า โดยส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล DPPH ได้สูงมากและสูงกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 18 เท่า รองลงมาคือ ส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 ส่วนวิธี ABTS พบว่า ส่วนชะที่มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล ABTS สูงกว่าสารสกัดหยาบ มีแค่เพียงส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 และ 50 เท่านั้น โดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 16 และ 2 เท่า ตามลำดับ และส่วนชะทั้งสองยังมีฤทธิ์สูงกว่า Trolox อีกด้วย ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การตรวจสอบฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีความเหมาะสมกว่าวิธี ABTS เมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะเหล็ก พบว่า ทุกส่วนชะมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดหยาบโดยเฉพาะในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 และ 50 เป็นตัวชะคอลัมน์ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์รีดิวซ์ของสารสกัดหยาบ พบว่า ทั้ง 2 ส่วนชะ มีฤทธิ์สูงกว่าประมาณ 47 และ 7 เท่า ตามลำดับ ผลที่ได้นี้มีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในผลการศึกษาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะทองแดงไอออน เนื่องจากทุกส่วนชะ มีฤทธิ์รีดิวซ์สูงกว่าสารสกัดหยาบ โดยเฉพาะในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25 และ 50 เป็นตัวชะคอลัมน์ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์รีดิวซ์ของสารสกัดหยาบ พบว่า

ทั้ง 2 ส่วนชะ มีฤทธิ์สูงกว่าประมาณ 27 และ 4 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระของส่วนชะ พบว่า สารจากส่วนชะมีฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กสูงกว่า แสดงดังตารางที่ 10

ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 เมื่อพิจารณาจากวิธี DPPH พบว่า ส่วนชะที่ได้จากการชะคอลัมน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 25 เท่านั้น มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล DPPH สูงกว่าสารสกัดหยาบเล็กน้อย และฤทธิ์ที่พบมีค่าใกล้เคียงกับ Trolox ส่วนวิธี ABTS พบว่า ส่วนชะที่มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล ABTS สูงกว่าสารสกัดหยาบ ได้แก่ส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 25, 50 และ 100 โดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบเล็กน้อย ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การตรวจสอบฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS มีผลใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะเหล็กพบว่า ทุกส่วนชะมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาบ โดยในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 100 มีฤทธิ์สูงสุด แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 2.5 เท่า ผลที่ได้นี้มีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในผลการศึกษาฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะทองแดง เนื่องจากทุกส่วนชะ มีฤทธิ์รีดิวซ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาบ โดยในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 75 มีฤทธิ์สูงสุด แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาบประมาณ 1.5 เท่า และเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระของส่วนชะ พบว่า สารจากส่วนชะให้ผลการทดสอบฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระสูงกว่าฤทธิ์รีดิวซ์โลหะเหล็กเล็กน้อย แสดงดังตารางที่ 10

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระแล้วจะเห็นว่า ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 และ SP50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลสูงกว่า SP72 ส่วนกลไกในการออกฤทธิ์ของสารในแต่ละส่วนชะมีความแตกต่างกัน ซึ่งคาดว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับชนิดและปริมาณของสารที่เป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะสารกลุ่มพอลิฟีนอลที่มีหมู่เกาะเป็น ortho-dihydroxyl polyphenols เช่น ฟลาโวนอยด์ และซาโปนินส์ สารกลุ่มนี้เป็นที่ทราบดีว่าสามารถจับกับไอออนโลหะได้ดีผ่านพันธะโคออร์ดิเนต นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลซึ่งในโครงสร้างจะมีหมู่เกาะเป็นไฮดรอกซิลจำนวนมากยังทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนได้ดีด้วย (Guendez et al., 2005; Visioli et al., 2011; Xia et al., 2011)

พจนัน ปณฺ ทิโต ชีเว

ตารางที่ 10ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกส่วนโดยซิลิกาเจลคอลัมน์

Sub fraction	DPPH	ABTS	FRAB	CUPRAC
	(IC ₅₀ µg/mL)	(IC ₅₀ µg/mL)	(µM Fe ²⁺ /g DW)	(mg TE/g DW)
AU17 crude	11.127 ± 0.041^e	2493 ± 0.077^a	20.407 ± 1.536^h	5.602 ± 0.114^e
SF1M0	-	-	-	-
SF2M25	-	-	-	-
SF3M50	4.859 ± 0.021 ^b	48.466 ± 1.323 ^a	50.420 ± 0.803 ^s	8.389 ± 0.333 ^f
SF4M75	8.528 ± 0.215 ^d	366.918 ± 4.810 ^c	85.541 ± 1.794 ⁱ	4.751 ± 0.095 ^e
SF5M100	12.863 ± 0.111 ^f	697.953 ± 33.815 ^d	26.891 ± 1.178 ^e	5.685 ± 0.225 ^e
SP50 crude	19.819 ± 0.094^k	3501 ± 0.330^a	3.511 ± 0.439^c	1.185 ± 0.016^d
SF1M0	-	-	-	-
SF2M25	1.327 ± 0.028 ^a	211.762 ± 3.884 ^b	167.052 ± 1.228 ^j	31.963 ± 2.135 ^s
SF3M50	11.215 ± 0.054 ^e	1857.000 ± 22.061 ^e	21.071 ± 0.614 ^d	4.972 ± 0.025 ^e
SF4M75	14.914 ± 0.083 ^h	8770.462 ± 175.835 ^s	5.034 ± 0.294 ^b	1.393 ± 0.092 ^b
SF5M100	16.366 ± 0.119 ⁱ	4514.905 ± 42.358 ^f	10.999 ± 0.291 ^c	3.041 ± 0.035 ^{c,d}
SP72 crude	14.110 ± 0.264^s	2388 ± 0.029^a	13.312 ± 0.670^f	3.287 ± 0.179^b
SF1M0	-	-	-	-
SF2M25	-	-	-	-
SF3M50	7.882 ± 0.099 ^d	1910.793 ± 14.727 ^e	2.2880 ± 0.151 ^a	2.148 ± 0.479 ^{b,c}
SF4M75	18.037 ± 0.068 ^j	1933.222 ± 22.742 ^e	1.761 ± 0.044 ^a	2.259 ± 0.170 ^{b,c,d}
SF5M100	24.489 ± 0.012 ^l	1935.726 ± 23.374 ^e	5.909 ± 0.133 ^b	1.356 ± 0.010 ^b
Trolox	8.567 ± 0.050^d	3.214 ± 0.047^a	-	-

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

4.10 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพฤษเคมีในส่วนชะ

เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจ ที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารเกิดจากความแตกต่างระหว่างวัฏภาค 2 ชนิด คือ วัฏภาคนิ่ง (stationary phase) หรือ คอลัมน์ (column) กับวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน สารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออก

จากกันได้นั้นจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับวัฏภาคเคลื่อนที่หรือวัฏภาคนิ่ง โดยสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับวัฏภาคเคลื่อนที่ สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ดีกับเฟสนิ่งก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์ด้วยเครื่อง RP-HPLC เนื่องจากเป็นหนึ่งในวิธีการที่ใช้อย่างแพร่หลายในการระบุและตรวจสอบปริมาณสารพฤกษเคมีในพืชและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (Nag et al., 2019) ในการวิจัยครั้งนี้ได้เลือกส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ละ 2 ส่วนชะที่มีปริมาณสารพฤกษเคมีสูงที่สุดเมื่อพิจารณาจากตารางที่ 10 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11 ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ AU17 ได้แก่ AU17M50 และ AU17M75 สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ ที่พบปริมาณสูง ได้แก่ gallic acid, *p*-coumaric acid และ caffeic acid อย่างไรก็ตาม ยังพบ resveratrol และ ferulic acid อีกด้วย ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบปริมาณสูง ได้แก่ quercetin และ epicatechin ตามลำดับ ในส่วนชะที่ใช้เมทานอลร้อยละ 50 เป็นสารชะคอลัมน์ ผลการทดลอง พบว่า ฟีนอลิกที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ resveratrol ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบในสารสกัดหยาบเกือบ 20 เท่า ส่วน caffeic acid และ *p*-coumaric acid และ ferulic acid พบปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบเล็กน้อย แต่ gallic acid พบปริมาณต่ำกว่าสารสกัดหยาบ เมื่อพิจารณาสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในส่วนชะทุกชนิดมีปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบ โดยสารที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ quercetin ในส่วนชะ AU17M75 จะตรวจพบสารจำนวนน้อยชนิด โดยสารกลุ่มฟีนอลิกที่พบปริมาณมากที่สุด คือ gallic acid และพบสูงกว่าในส่วนชะ AU17M50 ในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ ตรวจพบเฉพาะ quercetin โดยปริมาณที่พบสูงกว่าสารสกัดหยาบแต่ต่ำกว่าในส่วนชะ AU17M50

ส่วนชะของสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์ SP50 ได้แก่ SP50M25 และ SP50M50 พิจารณาสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ พบสารที่มีปริมาณสูง ได้แก่ *p*-coumaric acid, ferulic acid และ resveratrol ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบ ได้แก่ quercetin และ epicatechin ในส่วนชะ SP50M25 พบว่า ตรวจพบสารกลุ่มฟีนอลิกทุกชนิด โดยฟีนอลิกที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ resveratrol ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบในสารสกัดหยาบเกือบ 155 เท่า ส่วนสารอื่น ๆ ได้แก่ gallic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid และ ferulic acid ตรวจพบปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบ ส่วนสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในส่วนชะ ตรวจพบทุกชนิดยกเว้น quercetin และมีปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบเล็กน้อย โดยสารที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ catechin ในส่วนชะ SP50M50 ตรวจพบสารเพียงไม่กี่ชนิดและมีปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนชะ SP50M25 โดยสารกลุ่มฟีนอลิก

ที่พบบ้าง คือ resveratrol และ ferulic acid ส่วนในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ ตรวจพบเฉพาะ quercetin ในปริมาณเล็กน้อย

ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ SP72 ได้แก่ SP52M75 และ SP72M100 พิจารณาสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ พบสารที่มีปริมาณสูง ได้แก่ caffeic acid และ *p*-coumaric acid ในปริมาณพอ ๆ กัน รองลงมา คือ gallic acid, ferulic acid และ resveratrol ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบมากที่สุด ได้แก่ quercetin รองลงมา คือ epicatechin ส่วนสารอื่น ๆ พบในปริมาณเพียงเล็กน้อย ในส่วนชะ SP72M75 ตรวจพบสารกลุ่มฟีนอลิกทุกชนิด โดยฟีนอลิกที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ gallic acid ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบในสารสกัดหยาบแต่สารชนิดอื่นพบต่ำกว่าในสารสกัดหยาบ ส่วนสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในส่วนชะ ตรวจพบทุกชนิดยกเว้น catechin แต่มีปริมาณต่ำกว่าสารสกัดหยาบ ในส่วนชะ SP72M100 ตรวจพบสารเพียงไม่กี่ชนิดและมีปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนชะ SP50M25 โดยสารกลุ่มฟีนอลิกที่พบบ้าง คือ gallic acid, resveratrol และ *p*-coumaric acid ส่วนในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ ตรวจพบเฉพาะ quercetin ในปริมาณเล็กน้อย

สารที่พบในปริมาณสูงคือ กลุ่มฟีนอลิก (Perumalla & Hettiarachchy, 2011) และยังพบฟลาโวนอยด์บางชนิดในปริมาณสูง สารเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง (Ramila et al., 2005) และสารบางชนิดโดยเฉพาะกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น myricetin และ rutin มักพบในปริมาณต่ำ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยที่กล่าวว่า สารเหล่านี้มักพบในปริมาณต่ำในพืช ทั้งฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Jiang & Zhang, 2011; Meng et al., 2012) จึงถือว่าเป็นกลุ่มสารสำคัญในส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อย ส่วนชะของสารสกัดจากขานอ้อยสายพันธุ์ AU17 และ SP50 ตรวจพบ resveratrol ในปริมาณสูง ซึ่งผลที่ได้นี้ตรงข้ามกับรายงานวิจัยที่กล่าวว่า สารดังกล่าวนี้ตรวจพบเพียงเล็กน้อยในพืช (Pastrana-Bonilla et al., 2003; Yilmaz & Toledo, 2004) ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่า ทั้งชนิดและปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในขานอ้อยแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของอ้อย (Xie & Bolling, 2014) อีกทั้ง ผลการทดลองยังพบว่า ส่วนชะที่ได้จากการแยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์มีปริมาณสารสูงกว่าสารสกัดหยาบเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า ซิลิกาเจลในคอลัมน์ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารฟลาโวนอยด์ที่ต้องการในกระบวนการแยกได้

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีจากส่วนช่อดอกโดยใช้เทคนิค RP-HPLC

ตัวอย่าง	Gallic acid (mg/ g)	Caffeic acid (mg/ g)	p-Coumaric acid (mg/ g)	Ferulic acid (mg/ g)	Resveratrol (mg/ g)	Catechin (mg/ g)	Epicatechin (mg/ g)	Quercetin (mg/ g)	Rutin (mg/ g)	Myricetin (mg/ g)
AU17	1.498 ± 0.002 ^{b,c}	0.557 ± 0.002 ^b	0.960 ± 0.035 ^c	0.323 ± 0.001 ^c	0.432 ± 0.024 ^a	ND	0.232 ± 0.019 ^b	0.430 ± 0.015 ^a	0.014 ± 0.001 ^b	0.006 ± 0.002 ^a
AU17M50	0.968 ± 0.002 ^{a,b,c}	0.588 ± 0.007 ^{b,c}	1.179 ± 0.628 ^c	0.372 ± 0.022 ^c	8.390 ± 1.403 ^b	0.042 ± 0.037 ^a	0.524 ± 0.321 ^c	4.252 ± 1.622 ^b	0.050 ± 0.008 ^c	0.020 ± 0.011 ^b
AU17M75	1.051 ± 0.002 ^{a,b,c}	ND	0.128 ± 0.001 ^a	0.308 ± 0.002 ^{b,c}	0.311 ± 0.000 ^a	ND	ND	0.796 ± 0.000 ^a	ND	ND
SP50	ND	ND	0.460 ± 0.036 ^{a,b}	0.317 ± 0.003 ^c	0.213 ± 0.006 ^a	ND	0.156 ± 0.003 ^{a,b}	0.464 ± 0.031 ^a	ND	0.015 ± 0.004 ^b
SP50M25	1.895 ± 0.002 ^c	0.754 ± 0.003 ^c	5.605 ± 0.007 ^d	0.383 ± 0.003 ^c	32.620 ± 5.965 ^c	0.909 ± 0.065 ^b	0.194 ± 0.014 ^{a,b}	ND	0.100 ± 0.001 ^d	0.017 ± 0.001 ^b
SP50M50	ND	ND	0.130 ± 0.000 ^a	0.204 ± 0.177 ^b	1.133 ± 0.280 ^a	ND	ND	0.191 ± 0.014 ^a	0.003 ± 0.003 ^a	ND
SP72	0.472 ± 0.817 ^{a,b}	0.547 ± 0.001 ^b	0.543 ± 0.034 ^b	0.306 ± 0.001 ^{b,c}	0.246 ± 0.014 ^a	0.031 ± 0.011 ^a	0.158 ± 0.023 ^{b,b}	0.454 ± 0.005 ^a	0.001 ± 0.003 ^a	0.018 ± 0.002 ^b
SP72M75	1.619 ± 0.002 ^c	0.187 ± 0.325 ^a	0.313 ± 0.004 ^{a,b}	0.309 ± 0.001 ^{b,c}	0.196 ± 0.007 ^a	ND	0.051 ± 0.006 ^{a,b}	0.170 ± 0.128 ^a	0.013 ± 0.003 ^b	0.007 ± 0.002 ^a
SP72M100	0.478 ± 0.002 ^{a,b}	ND	0.127 ± 0.001 ^a	ND	0.323 ± 0.003 ^a	ND	ND	0.212 ± 0.026 ^a	ND	ND

ND = not detected

* ตัวอักษรแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1. ชานอ้อยประกอบด้วยสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด แต่มีปริมาณแตกต่างกันตามสายพันธุ์ของอ้อย โดยสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อุทอง 17 มีปริมาณสารพฤษเคมีรวมสูงที่สุดในชานอ้อยทั้งสามสายพันธุ์ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพฤษเคมีในชานอ้อยสายพันธุ์ใกล้เคียงกันอย่างสุพรรณบุรี 50 และ 72 พบว่า สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 มีปริมาณสารพฤษเคมีส่วนใหญ่สูงกว่าสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ยกเว้นปริมาณซาโปนินส์รวม
2. ซาโปนินส์รวม เป็นสารพฤษเคมีที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดรองลงมาคือ ฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวม ตามลำดับ
3. สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อุทอง 17 มีฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด รองลงมาคือ สุพรรณบุรี 72 และสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 มีฤทธิ์ต่ำที่สุด ส่วนฤทธิ์ดักจับอนุมูล ABTS ในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 มีค่าสูงกว่าสายพันธุ์อุทอง 17 เล็กน้อย และพบต่ำที่สุดในสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50
4. สารสกัดจากชานอ้อยทั้งสามสายพันธุ์มีความจำเพาะต่ออนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่า DPPH
5. สารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์อุทอง 17 มีฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะเหล็ก (Fe^{3+}) และโลหะทองแดง (Cu^{2+}) สูงที่สุด รองลงมา คือ สายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 และต่ำที่สุดในสารสกัดจากชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50
6. สารพฤษเคมีทุกตัวมีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากชานอ้อย
7. สารประกอบหลักในสารสกัดหยาบจากชานอ้อยสายพันธุ์อุทอง 17 ได้แก่ gallic acid และ *p*-coumaric acid ส่วนสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 ได้แก่ gallic acid, caffeic acid และ *p*-coumaric และสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 คือ caffeic acid, *p*-coumaric, gallic acid และ quercetin

8. ปริมาณสารพฤษเคมีในส่วนชะส่วนใหญ่มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดหยาบ แสดงให้เห็นว่า ซิลิกาเจลคอลัมน์สามารถนำมาใช้เพิ่มความบริสุทธิ์ของสารได้

9. ส่วนชะที่มีปริมาณและชนิดของสารพฤษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดสำหรับสารสกัดจากชานอ้อยแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ AU17M50, SP50M25 และ SP72M50

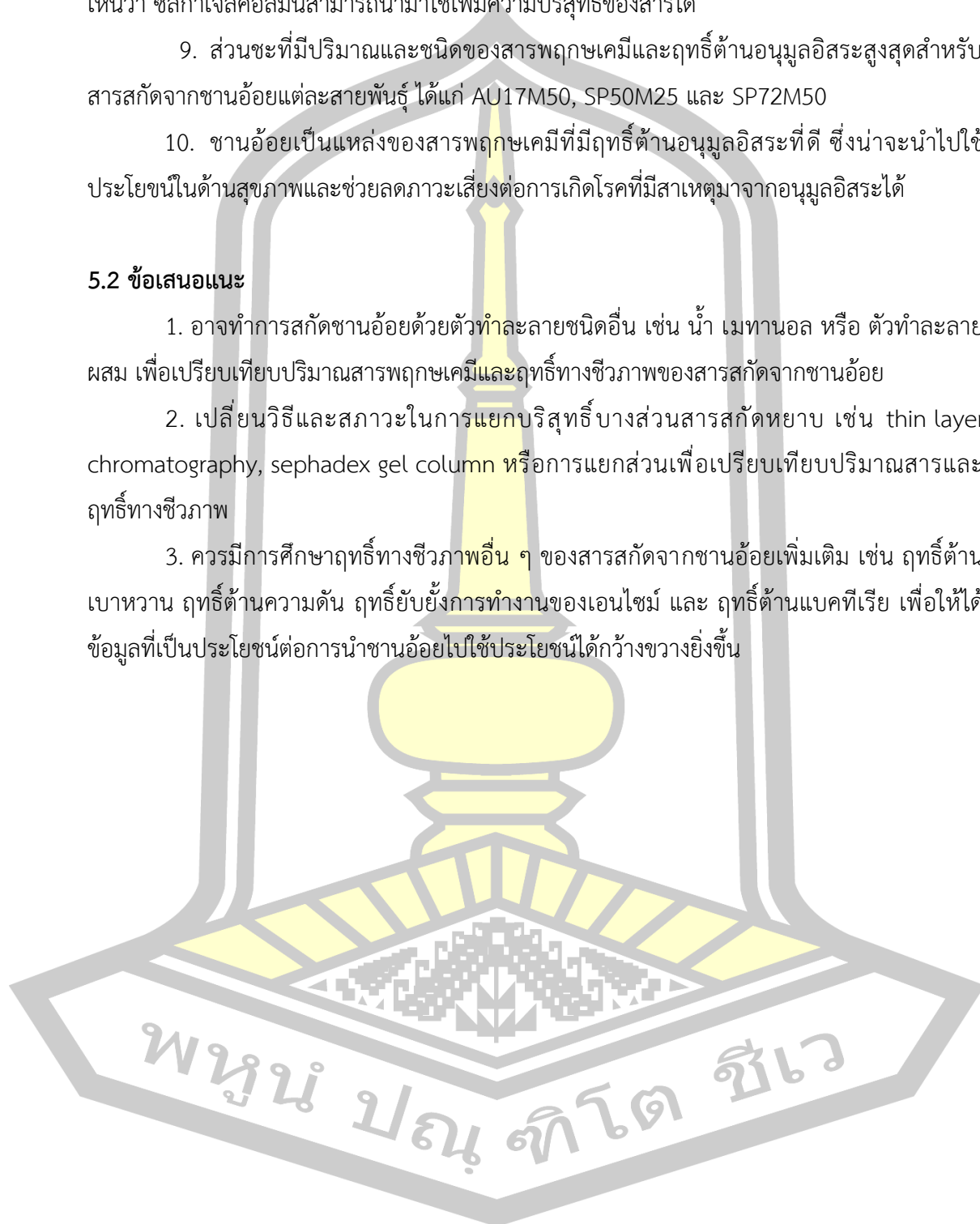
10. ชานอ้อยเป็นแหล่งของสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งน่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านสุขภาพและช่วยลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

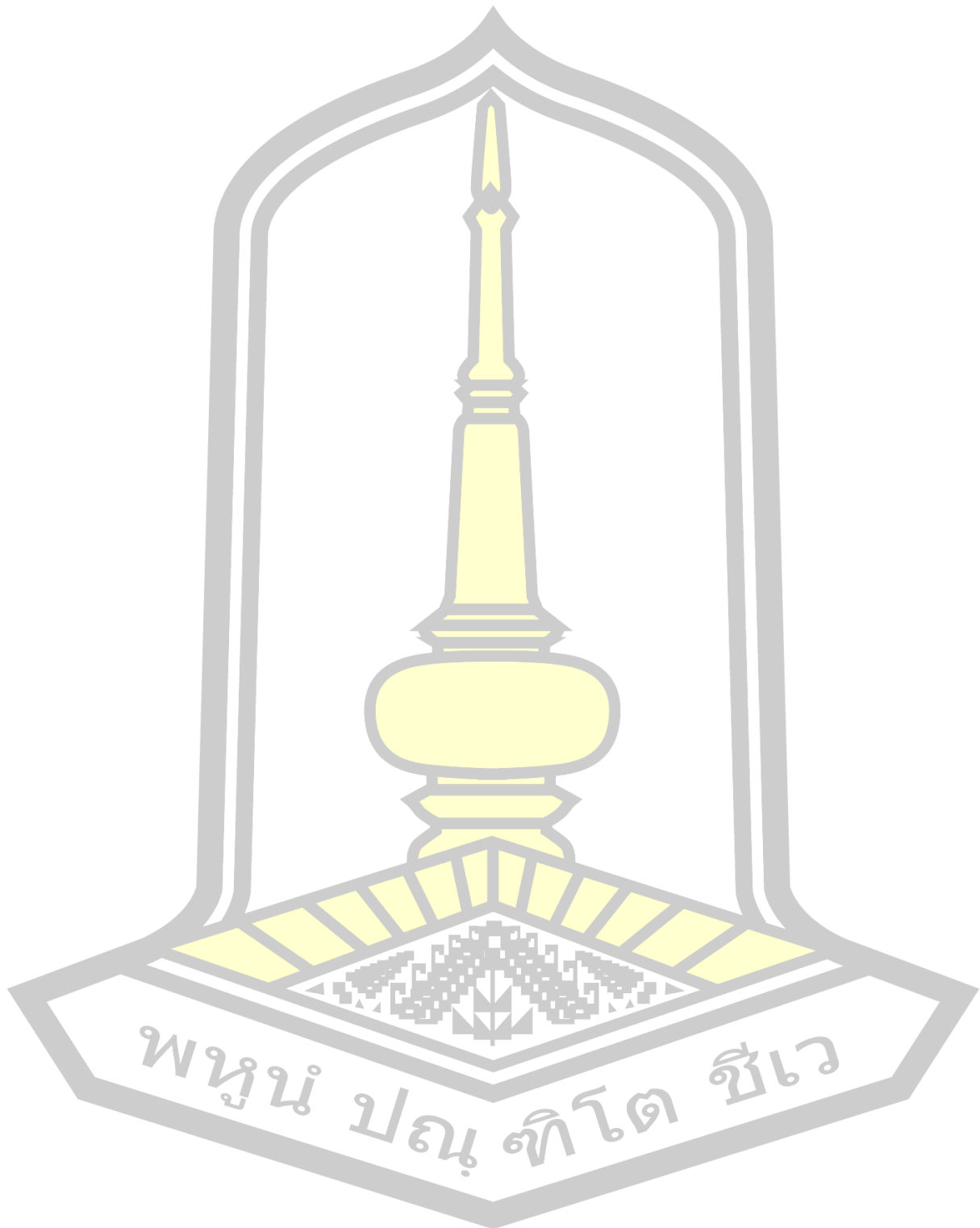
1. อาจทำการสกัดชานอ้อยด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น น้ำ เมทานอล หรือ ตัวทำละลายผสม เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพฤษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากชานอ้อย

2. เปลี่ยนวิธีและสภาวะในการแยกบริสุทธิ์บางส่วนสารสกัดหยาบ เช่น thin layer chromatography, sephadex gel column หรือการแยกส่วนเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารและฤทธิ์ทางชีวภาพ

3. ควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดจากชานอ้อยเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ฤทธิ์ต้านความดัน ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการนำชานอ้อยไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางยิ่งขึ้น



บรรณานุกรม



บรรณานุกรม

- วลัยพรรณ กระจพันธ์เขียว, ประสงค์ สีทานาม (2559). การตรวจสอบสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากส่วนที่แตกต่างกันของอ้อยที่ปลูกในจังหวัดบุรีรัมย์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม. หน้า 705-713. http://journal.msu.ac.th/upload/journal_file/jfile_no78_51809.pdf
- ดวงกมล เนาวะเศษ, ประสงค์ สีทานาม (2560). ปริมาณสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดอ้อยที่ผ่านการแยกบริสุทธิ์บางส่วนด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. ปีที่ 13 ฉบับพิเศษ หน้า 453-462. http://research.msu.ac.th/msu_journal/upload/articles/article2018_22934.pdf
- นันทวัน บุญยะประภัศร. (2544). การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร. ใน นพมาศ สมุทรเจริญนนท์ (บรรณาธิการ). เกษขวีนิพนธ์ ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ, 1,129-162.
- ประไพพิศ อินแสน. (2559). การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รี่ไทย. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 69-82
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2563). *Phenolic compounds / สารประกอบฟีนอล*. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds>. 9 ตุลาคม 2562
- สิริมา แก้วนุช (2563). การสกัดสมุนไพรโดยวิธี REFLUX (การสกัดแบบไหลย้อนกลับ). (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <https://www.gotoknow.org/posts/457805> 11 พฤศจิกายน 2563
- Abbasi, S., Fakhraei, J., Yarahamdi, H. M., & Khaghani, S. (2019). Productive performance, blood biochemical variables and immune responses of laying hens fed diets containing various fat sources. *South African Journal of Animal Sciences*, 49(4), 675–683. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i4.9>
- Abu, H. A. B., Arman, A. R., Mohamad, N. Y., & Nurkhuraishah, A. K. (2011). Factors determining growth of companies: A study on construction companies in Malaysia. *African Journal of Business Management*, 5(22), 8753–8762. <https://doi.org/10.5897/ajbm10.1142>

- Ahammed, G. J., Zhou, Y. H., Xia, X. J., Mao, W. H., Shi, K., & Yu, J. Q. (2013). Brassinosteroid regulates secondary metabolism in tomato towards enhanced tolerance to phenanthrene. *Biologia Plantarum*, *57*(1), 154–158. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0128-9>
- Amezcuca-Allieri, M. A., Martínez-Hernández, E., Anaya-Reza, O., Magdaleno-Molina, M., Melgarejo-Flores, L. A., Palmerín-Ruiz, M. E., Eguía-Lis, J. A. Z., Rosas-Molina, A., Enríquez-Poy, M., & Aburto, J. (2019). Techno-economic analysis and life cycle assessment for energy generation from sugarcane bagasse: Case study for a sugar mill in Mexico. *Food and Bioproducts Processing*, *118*, 281–292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.014>
- Antoniolli, A., Fontana, A. R., Piccoli, P., & Bottini, R. (2015). Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*, *178*, 172–178. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.082>
- Bagchi, R., Rachel, G., Gripenberg, S., Gurr, S., Narayan, L., Addis, C., Freckleton, R., & Lewis, O. (2014). Pathogens and insect herbivores drive rainforest plant diversity and composition. *Nature*, *506*, 85–88. <https://doi.org/10.1038/nature12911>
- Bhore, N. V., Pishawikar, S. A., & More, H. N. (2012). Phytochemical screening and antioxidant activity of flowers (inflorescence) of *Saccharum officinarum* Linn. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, *3*(2), 620–624.
- Bian, J., Peng, F., Peng, X.P., Peng, P., Xu, F., & Sun, R.C. (2013). Structural features and antioxidant activity of xylooligosaccharides enzymatically produced from sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, *127*, 236–241. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.112>

- Brandão-Costa, R. M. P., Pajeu Nascimento, T., Pedrosa Bezerra, R., & Porto, A. L. F. (2020). FDS, a novel saponin isolated from *Felcium decipiens*: Lectin interaction and biological complementary activities. *Process Biochemistry*, *88*, 159–169. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.018>
- Brasileira, S., Tropical, D. M., Kazemian, H., Ghafourian, S., Heidari, H., & Amiri, P. (2015). Major Article formation activities of *Chamaemelum nobile* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *48*, 432–436.
- Butsat, S., & Siriamornpun, S. (2010). Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chemistry*, *119*(2), 606–613. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.001>
- Butsat, S., Weerapreeyakul, N., & Siriamornpun, S. (2009). Changes in phenolic acids and antioxidant activity in Thai rice husk at five growth stages during grain development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(11), 4566–4571. <https://doi.org/10.1021/jf9000549>
- Çelik, E. E., Rubio, J. M. A., & Gökmen, V. (2018). Behaviour of Trolox with macromolecule-bound antioxidants in aqueous medium: Inhibition of auto-regeneration mechanism. *Food Chemistry*, *243*, 428–434. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.009>
- Chaiprasongsuk, A., Onkoksoong, T., Pluemsamran, T., Limsaengurai, S., & Panich, U. (2016). Photoprotection by dietary phenolics against melanogenesis induced by UVA through Nrf2-dependent antioxidant responses. *Redox Biology*, *8*, 79–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.12.006>
- Chen, X.-X., Shi, Y., Chai, W.-M., Feng, H.-L., Zhuang, J.-X., & Chen, Q.-X. (2014). Condensed Tannins from *Ficus virens* as Tyrosinase Inhibitors: Structure, Inhibitory Activity and Molecular Mechanism. *PLOS ONE*, *9*(3), e91809. <https://doi.org/0.1371/journal.pone.0091809>

- Chen, X., Yin, H., Li, G., Wang, W., Wong, P. K., Zhao, H., & An, T. (2019). Antibiotic-resistance gene transfer in antibiotic-resistance bacteria under different light irradiation: Implications from oxidative stress and gene expression. *Water Research*, *149*, 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.019>
- Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*(4), 345–358. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00085.x>
- Chupin, L., Motillon, C., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., & Charrier, B. (2013). Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. *Industrial Crops and Products*, *49*, 897–903. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.045>
- Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, *27*(2), 175–194. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.01.010>
- Del Hierro, J. N., Cueva, C., Tamargo, A., Núñez-Gómez, E., Moreno-Arribas, M. V., Reglero, G., & Martín, D. (2020). In vitro colonic fermentation of saponin-rich extracts from quinoa, lentil, and fenugreek. effect on saponin yield and human gut microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(1), 106–116. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05659>
- del Río, J. C., Marques, G., Lino, A. G., Lima, C. F., Colodette, J. L., & Gutiérrez, A. (2015). Lipophilic phytochemicals from sugarcane bagasse and straw. *Industrial Crops and Products*, *77*, 992–1000. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.064>

- Deng, Y.-T., Liang, G., Shi, Y., Li, H.-L., Zhang, J., Mao, X.-M., Fu, Q.-R., Peng, W.-X., Chen, Q.-X., & Shen, D.-Y. (2016). Condensed tannins from *Ficus altissima* leaves: Structural, antioxidant, and antityrosinase properties. *Process Biochemistry*, *51*(8), 1092–1099. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.04.022>
- Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, *149*, 112350. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350>
- Duarte-Almeida, J. M., Negri, G., Salatino, A., de Carvalho, J. E., & Lajolo, F. M. (2007). Antiproliferative and antioxidant activities of a tricin acylated glycoside from sugarcane (*Saccharum officinarum*) juice. *Phytochemistry*, *68*(8), 1165–1171. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.01.015>
- Farooq, B., & Koul, B. (2020). Comparative analysis of the antioxidant, antibacterial and plant growth promoting potential of five Indian varieties of *Moringa oleifera* L. *South African Journal of Botany*, *129*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.014>
- Feng, C. Y., Li, S. S., Yin, D. D., Zhang, H. J., Tian, D. K., Wu, Q., Wang, L. J., Su, S., & Wang, L. S. (2016). Rapid determination of flavonoids in plumules of sacred lotus cultivars and assessment of their antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, *87*, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.030>
- Feng, Y., De Franceschi, G., Kahraman, A., Soste, M., Melnik, A., Boersema, P. J., de Laureto, P. P., Nikolaev, Y., Oliveira, A. P., & Picotti, P. (2014). Global analysis of protein structural changes in complex proteomes. *Nature Biotechnology*, *32*(10), 1036–1044. <https://doi.org/10.1038/nbt.2999>

- Ferri, M., Rondini, G., Calabretta, M. M., Michelini, E., Vallini, V., Fava, F., Roda, A., Minnucci, G., & Tassoni, A. (2017). White grape pomace extracts, obtained by a sequential enzymatic plus ethanol-based extraction, exert antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activities. *New Biotechnology*, *39*, 51–58. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.07.002>
- Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols A chemical perspective. *Food Research International*, *54*(2), 1844–1858. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
- Georges, P., Sylvestre, M., Ruegger, H., & Bourgeois, P. (2006). Ketosteroids and hydroxyketosteroids, minor metabolites of sugarcane wax. *Steroids*, *71*(8), 647–652. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.01.016>
- Gil, M., Pontin, M., Berli, F., Bottini, R., & Piccoli, P. (2012). Metabolism of terpenes in the response of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf tissues to UV-B radiation. *Phytochemistry*, *77*, 89–98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.12.011>
- Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D., & Kefalas, P. (2005). Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chemistry*, *89*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.010>
- Guo, H., Callaway, J., & Ting, J. (2015). Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine*, *21*. <https://doi.org/10.1038/nm.3893>
- Hamed, Y. S., Abdin, M., Akhtar, H. M. S., Chen, D., Wan, P., Chen, G., & Zeng, X. (2019). Extraction, purification by macrospores resin and in vitro antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oleifera* leaves. *South African Journal of Botany*, *124*, 270–279. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.006>

- Hernández-Jiménez, A., Gómez-Plaza, E., Martínez-Cutillas, A., & Kennedy, J. A. (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from monastrell × syrah grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22), 10798–10803. <https://doi.org/10.1021/jf903465p>
- Insain, P. (2018). Inhibition of melanogenesis from Thai berries. *EAU HEritAgE JoUrNAl Science and Technology Vol.*, 12(2), 69–82.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117–122. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00116-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3)
- Jiang, B., & Zhang, Z.-W. (2011). Phenolic compounds and antioxidant properties of grape berries and wines in loess plateau region (China). *Asian Journal of Chemistry*, 23, 2558–2564.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Krylova, E., Gavrilenko, N., Saranchina, N., & Gavrilenko, M. (2016). Novel colorimetric sensor for cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) measurement. *Procedia Engineering*, 168, 355–358. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.11.120>
- Kunyanga, C. N., Imungi, J. K., Okoth, M., Momanyi, C., Biesalski, H. K., & Vadivel, V. (2011). Antioxidant and antidiabetic properties of condensed tannins in acetonic extract of selected raw and processed indigenous food ingredients from Kenya. *Journal of Food Science*, 76(4). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02116>

- Le Grandois, J., Guffond, D., Hamon, E., Marchioni, E., & Werner, D. (2017). Combined microplate-ABTS and HPLC-ABTS analysis of tomato and pepper extracts reveals synergetic and antagonist effects of their lipophilic antioxidative components. *Food Chemistry*, 223, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.008>
- Li, H., Horke, S., & Förstermann, U. (2013). Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(6), 313–319. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.03.007>
- Li, X., Zhang, L., Ahammed, G. J., Li, Z.-X., Wei, J.-P., Shen, C., Yan, P., Zhang, L.-P., & Han, W.-Y. (2017). Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced flavonoid biosynthesis in *Camellia sinensis* L. *Journal of Plant Physiology*, 214, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.04.005>
- Li, Z., Jiang, H., Xu, C., & Gu, L. (2015). A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals. *Food Hydrocolloids*, 43, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.010>
- Lima, M. D. S., Silani, I. D. S. V., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Biasoto, A. C. T., Pereira, G. E., Bordignon-Luiz, M. T., & Ninow, J. L. (2014). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food Chemistry*, 161, 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.109>
- Liu, G. H., Zong, Z. M., Liu, F. J., Zheng, Q. X., Li, J. X., & Wei, X. Y. (2019). Changes in oxygen functionality of soluble portions and residues from bagasse sub- and supercritical alkanolyses: Identification of complex structural fragments. *Biomass and Bioenergy*, 127(July). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105288>
- Lockwood, B. (2007). *Nutraceuticals: A guide for healthcare professionals*. pharmaceutical Press. <https://books.google.co.th/books?id=2QfSsgEACAAJ>

- Lopes, L. V., Cunha, R. A., & Ribeiro, J. A. (1999). ZM 241385, an adenosine A_{2A} receptor antagonist, inhibits hippocampal A₁ receptor responses. *European Journal of Pharmacology*, 383(3), 395–398. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00659-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00659-7)
- Ma, W.-W., Heinstein, P. F., & McLaughlin, J. L. (1989). Additional toxic, bitter saponins from the seeds of *Chenopodium quinoa*. *Journal of Natural Products*, 52(5), 1132–1135. <https://doi.org/10.1021/np50065a035>
- Malta, L. G., Tessaro, E. P., Eberlin, M., Pastore, G. M., & Liu, R. H. (2013). Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. *Food Research International*, 53(1), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.024>
- Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., & Ismail, N. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 116(1), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.051>
- Mata, R. (2007). Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and applications. *Journal of Natural Products*, 70(1), 140. <https://doi.org/10.1021/np068246q>
- Meng, J. F., Fang, Y. L., Qin, M. Y., Zhuang, X. F., & Zhang, Z. W. (2012). Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). *Food Chemistry*, 134(4), 2049–2056. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.005>
- Molyneux, P. (2003). The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2), 211-219

- Nag, M., Kar, A., Chanda, J., & Mukherjee, P. K. (2019). RP-HPLC analysis of methanol extract of *Viscum articulatum* A plant from Ayurveda. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2018.02.135>
- Naik, G. H., Priyadarsini, I., Satav, J. G., Banavalikar, M., Sohoni, D. P., Biyani, M. K., & Mohan, H. (2003). Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochemistry*, 63, 97–104. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00754-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00754-9)
- Nakasone, Y., Takara, K., Wada, K., Tanaka, J., Yogi, S., & Nakatani, N. (1996). Antioxidative compounds isolated from kokuto, non-centrifugal cane sugar. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60(10), 1714–1716. <https://doi.org/10.1271/bbb.60.1714>
- Niju, S., & Swathika, M. (2019). Delignification of sugarcane bagasse using pretreatment strategies for bioethanol production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20(2019), 101263. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101263>
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/c4ra13315c>
- Ola, O., & Maroto-Valer, M. M. (2015). Review of material design and reactor engineering on TiO₂ photocatalysis for CO₂ reduction. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 24, 16–42. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2015.06.001>
- Park, M., Choi, J., & Lee, H. (2020). Flavonoid-Rich Orange Juice Intake and Altered Gut Microbiome in Young Adults with Depressive Symptom: A Randomized Controlled Study. *Nutrients*, 12(6), 1815, <https://doi.org/10.3390/nu12061815>

- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C. C., Sellappan, S., & Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(18), 5497–5503. <https://doi.org/10.1021/jf030113c>
- Plat, J., & Mensink, R. (2001). Effects of plant sterols and stanols on lipid metabolism and cardiovascular risk. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *11*, 31–40.
- Ramirez, D. A., Altamirano, J. C., & Camargo, A. B. (2021). Multi-phytochemical determination of polar and non-polar garlic bioactive compounds in different food and nutraceutical preparations. *Food Chemistry*, *337*, 127648. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127648>
- Saleh, E. (2011). Phenolic contents and antioxidant activity of various date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits from Saudi Arabia. *Food and Nutrition Sciences*, *02*, 1134–1141. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.210152>
- Shahram, H., & Taghian Dinani, S. (2019). Influences of electrohydrodynamic time and voltage on extraction of phenolic compounds from orange pomace. *LWT - Food Science and Technology*, *111*(May), 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.002>
- Shan, X., Li, Y., Yang, S., Gao, R., Zhou, L., Bao, T., Han, T., Wang, S., Gao, X., & Wang, L. (2019). A functional homologue of Arabidopsis TTG1 from *Freesia* interacts with bHLH proteins to regulate anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in both *Freesia hybrida* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *141*(May), 60–72. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.015>
- Shukla, S., Meeran, S. M., & Katiyar, S. K. (2014). Epigenetic regulation by selected dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, *355*(1), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.09.017>

- Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040>
- Su, Y., & Li, L. (2020). Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from four auriculariales. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115407. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115407>
- Takara, K., Matsui, D., Wada, K., Ichiba, T., & Nakasone, Y. (2002). New antioxidative phenolic glycosides isolated from kokuto non-centrifuged cane sugar. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(1), 29–35. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.29>
- Takara, K., Otsuka, K., Wada, K., Iwasaki, H., & Yamashita, M. (2007). 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory effects of constituents of sugarcane molasses. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71(1), 183–191. <https://doi.org/10.1271/bbb.60432>
- Tanamatayarat, P. (2016). Antityrosinase, antioxidative activities, and brine shrimp lethality of ethanolic extracts from *Protium serratum* (Wall. ex Colebr.) Engl. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(12), 1050–1055. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.10.001>
- Tanleque-Alberto, F., Juan-Borrás, M., & Escriche, I. (2020). Antioxidant characteristics of honey from Mozambique based on specific flavonoids and phenolic acid compounds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 86, 103377. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103377>
- Thai, Q. B., Nguyen, S. T., Ho, D. K., Tran, T. Du, Huynh, D. M., Do, N. H. N., Luu, T. P., Le, P. K., Le, D. K., Phan-Thien, N., & Duong, H. M. (2020). Cellulose-based aerogels from sugarcane bagasse for oil spill-cleaning and heat insulation applications. *Carbohydrate Polymers*, 228, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115365>

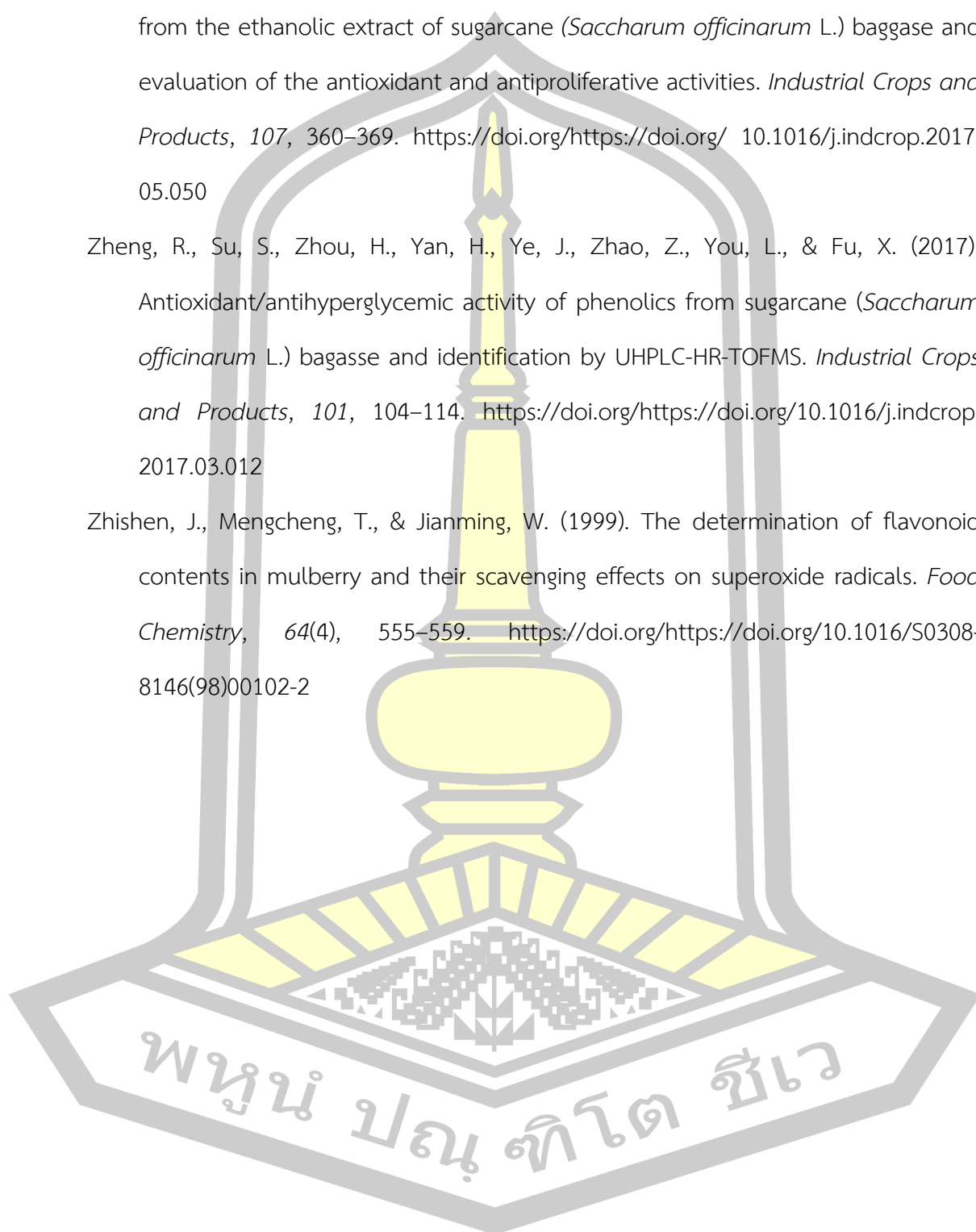
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*, 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Tian, C., Chang, Y., Liu, X., Zhang, Z., Guo, Y., Lan, Z., Zhang, P., & Liu, M. (2020). Anti-inflammatory activity in vitro, extractive process and HPLC-MS characterization of total saponins extract from *Tribulus terrestris* L. fruits. *Industrial Crops and Products*, *150*, 112343. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112343>
- Visioli, F., de la Lastra, C. A., Andres-Lacueva, C., Aviram, M., Calhau, C., Cassano, A., D'Archivio, M., Faria, A., Favé, G., Fogliano, V., Llorach, R., Vitaglione, P., Zoratti, M., & Edeas, M. (2011). Polyphenols and human health: A prospectus. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(6), 524–546. <https://doi.org/10.1080/10408391003698677>
- Wang, P., Liu, Y., Zhang, L., Wang, W., Hou, H., Zhao, Y., Jiang, X., Yu, J., Tan, H., Wang, Y., Xie, D.-Y., Gao, L., & Xia, T. (2020). Functional demonstration of plant flavonoid carbocations proposed to be involved in the biosynthesis of proanthocyanidins. *The Plant Journal*, *101*(1), 18–36. <https://doi.org/10.1111/tpj.14515>
- Wen, L., Guo, X., Liu, R. H., You, L., Abbasi, A. M., & Fu, X. (2015). Phenolic contents and cellular antioxidant activity of Chinese hawthorn “*crataegus pinnatifida*.” *Food Chemistry*, *186*, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.017>
- Wu, D., Feng, J., Lai, M., Ouyang, J., Liao, D., Yu, W., Wang, G., Cao, F., Jacobs, D. F., & Zeng, S. (2020). Combined application of bud and leaf growth fertilizer improves leaf flavonoids yield of *Ginkgo biloba*. *Industrial Crops and Products*, *150*(2020), 112379. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112379>

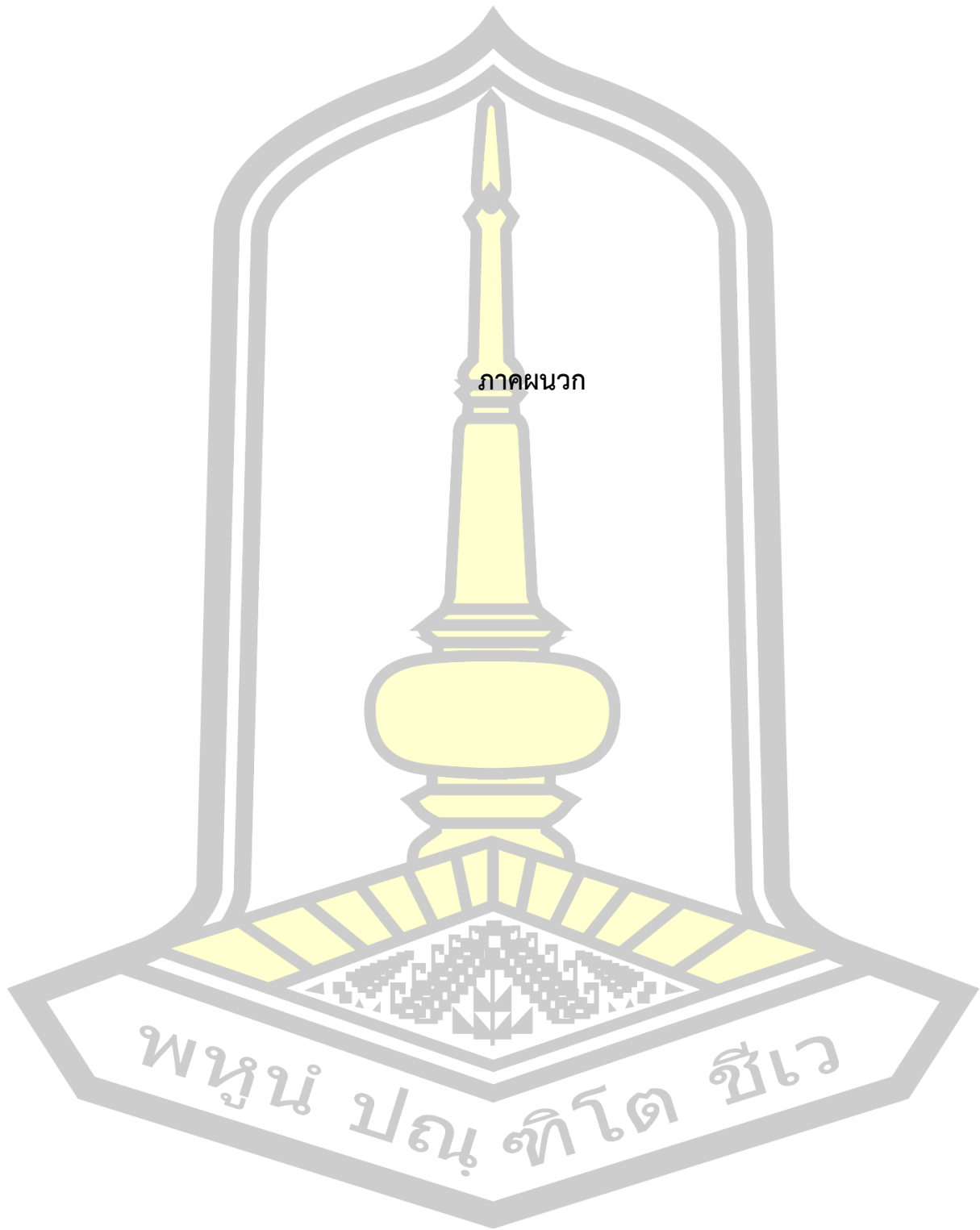
- Xia, F., Perebeinos, V., Lin, Y., Wu, Y., & Avouris, P. (2011). The origins and limits of metal–graphene junction resistance. *Nature Nanotechnology*, *6*(3), 179–184. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.6>
- Xie, L., & Bolling, B. W. (2014). Characterisation of stilbenes in California almonds (*Prunus dulcis*) by UHPLC-MS. *Food Chemistry*, *148*, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.057>
- Yadav, A. L., Sairam, V., Srinivasan, K., & Muruganandam, L. (2020). Synthesis and characterization of geopolymer from metakaolin and sugarcane bagasse ash. *Construction and Building Materials*, *258*, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119231>
- Yao, Y., Yang, X., Shi, Z., & Ren, G. (2014). Anti-Inflammatory activity of saponins from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds in lipopolysaccharide-stimulated raw 264.7 macrophages cells. *Journal of Food Science*, *79*(5), H1018-23 <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12425>
- Yilmaz, Y., & Toledo, R. T. (2004). Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(2), 255–260. <https://doi.org/10.1021/jf030117h>
- Zhang, W. Y., Lee, J. J., Kim, Y., Kim, I. S., Han, J. H., Lee, S. G., Ahn, M. J., Jung, S. H., & Myung, C. S. (2012). Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(31), 7652–7658. <https://doi.org/10.1021/jf300601z>
- Zhao, Y., Chen, M., Zhao, Z., & Yu, S. (2015). The antibiotic activity and mechanisms of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse extract against food-borne pathogens. *Food Chemistry*, *185*, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.120>

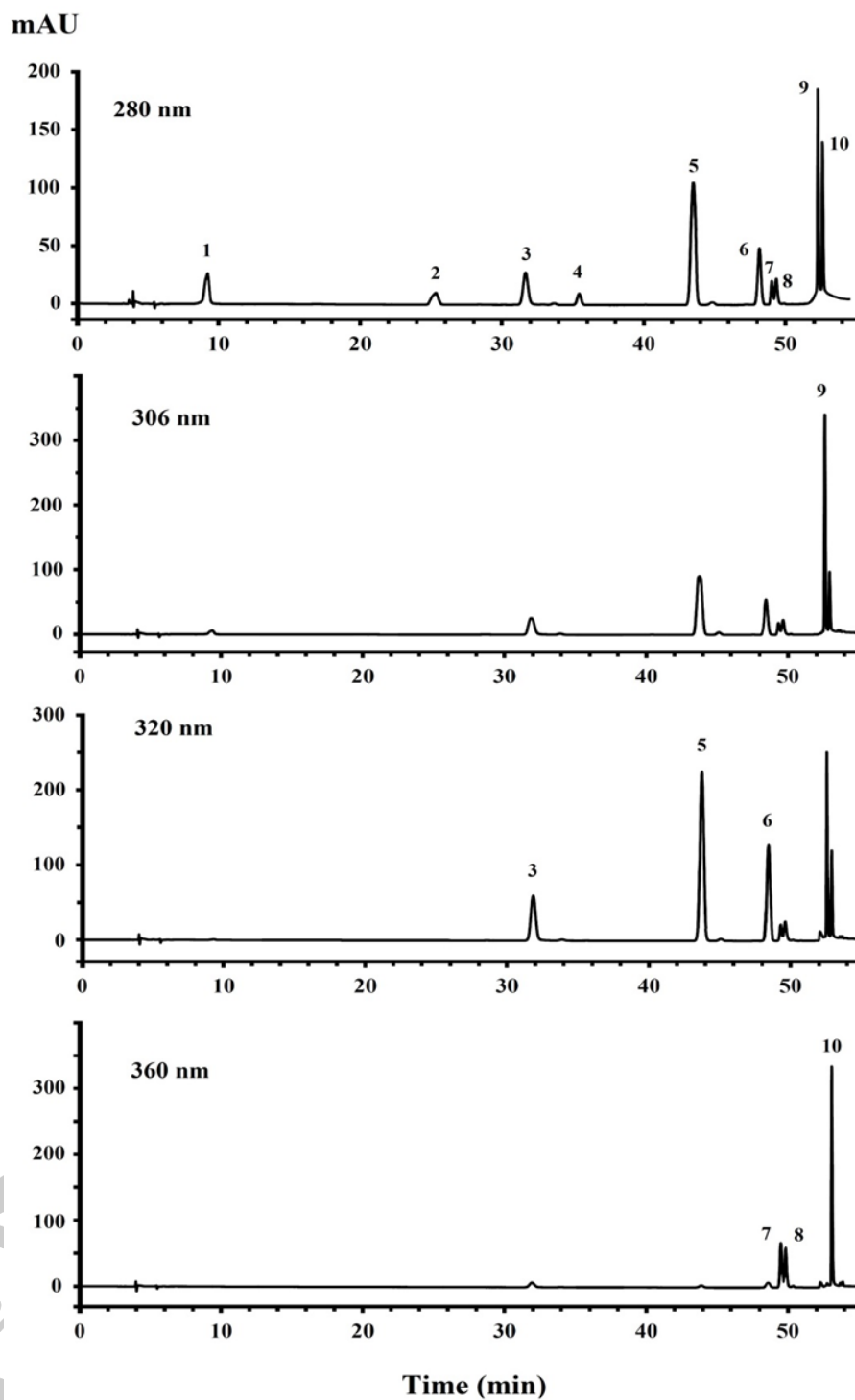
Zheng, R., Su, S., Li, J., Zhao, Z., Wei, J., Fu, X., & Liu, R. H. (2017). Recovery of phenolics from the ethanolic extract of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) baggase and evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities. *Industrial Crops and Products*, *107*, 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.050>

Zheng, R., Su, S., Zhou, H., Yan, H., Ye, J., Zhao, Z., You, L., & Fu, X. (2017). Antioxidant/antihyperglycemic activity of phenolics from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse and identification by UHPLC-HR-TOFMS. *Industrial Crops and Products*, *101*, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.012>

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)



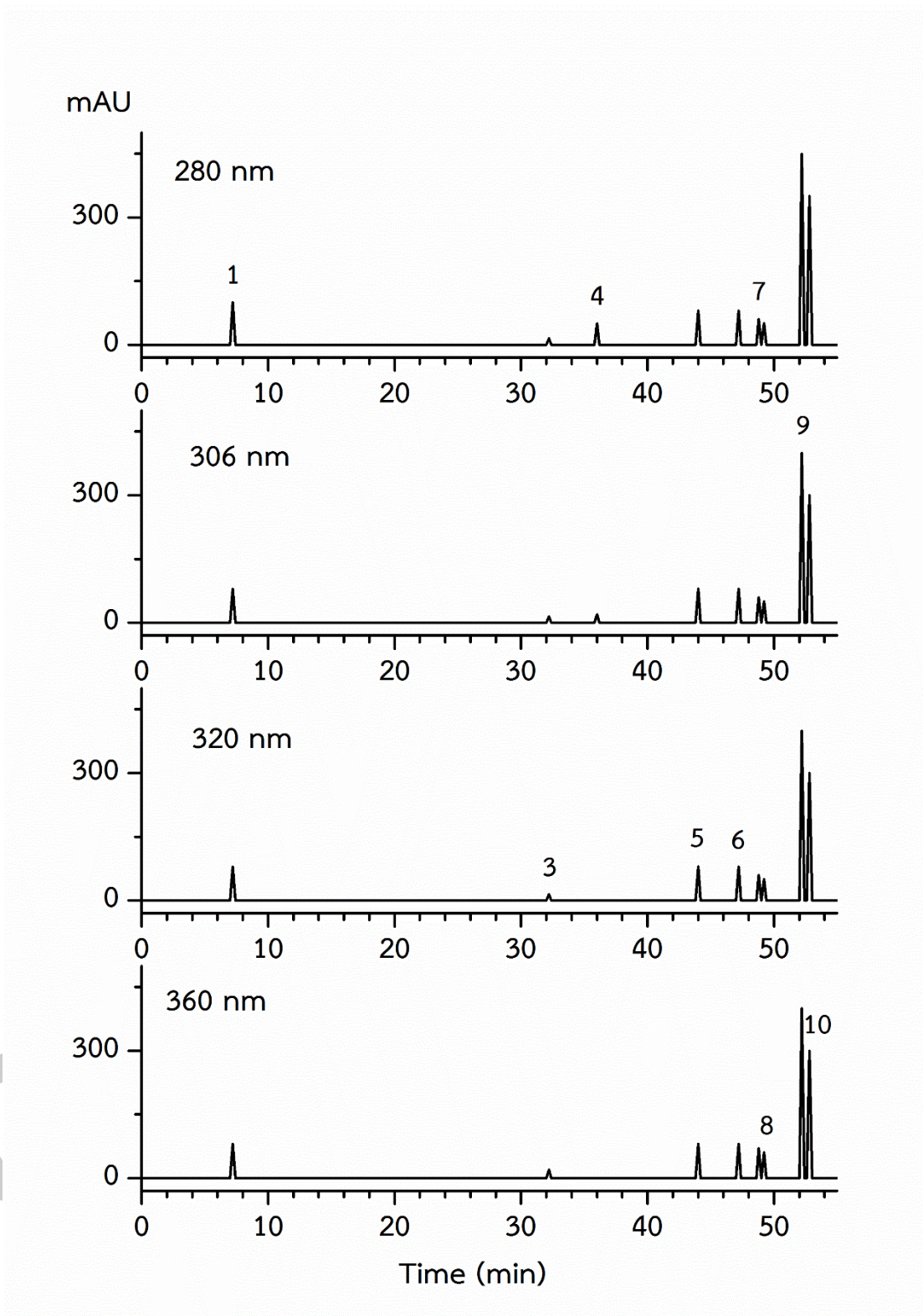




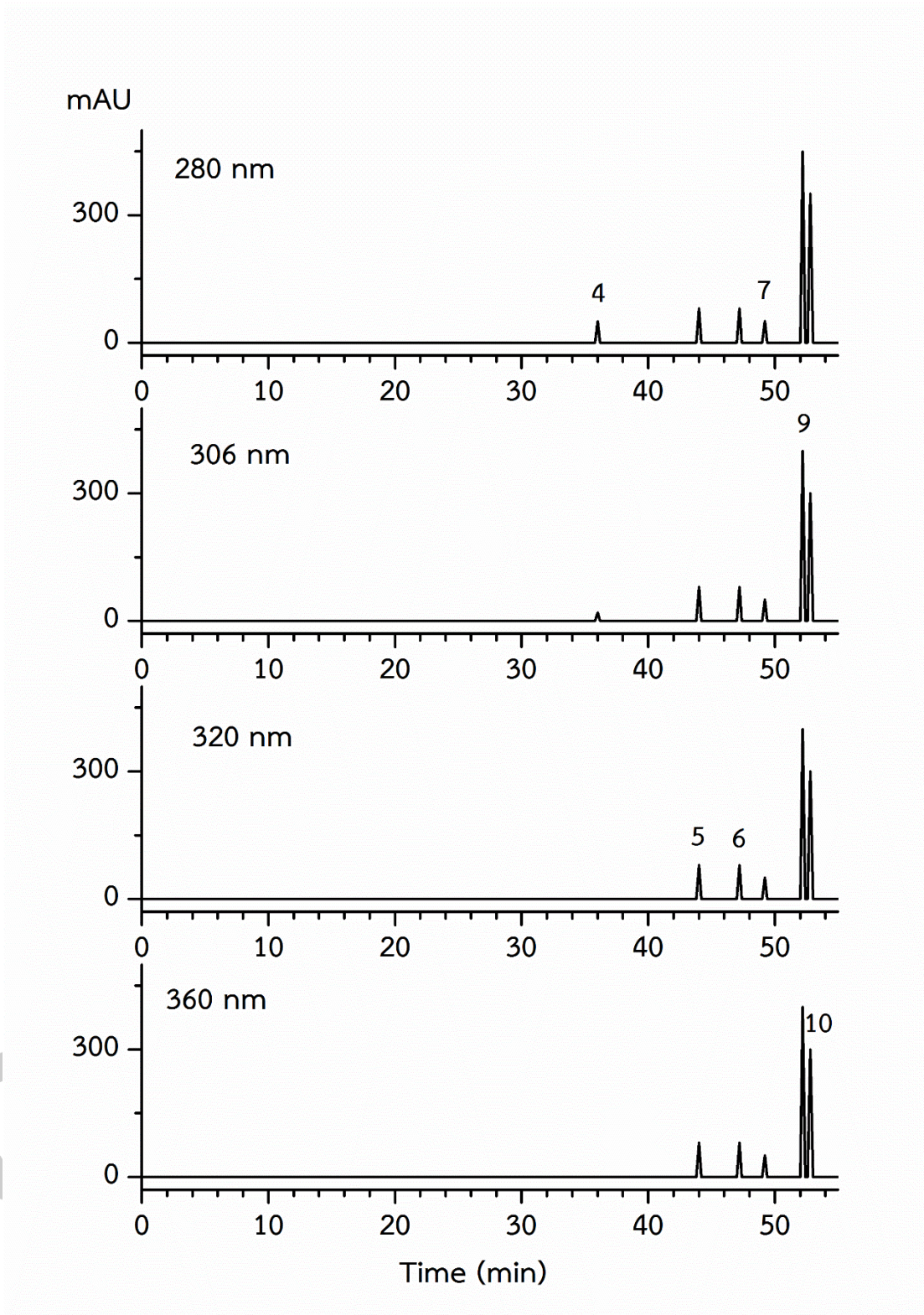
รูปที่ 22 HPLC chromatograms ของสารมาตรฐาน

ความยาวคลื่น 280 nm, 306 nm, 320 nm และ 360 nm ของสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน:

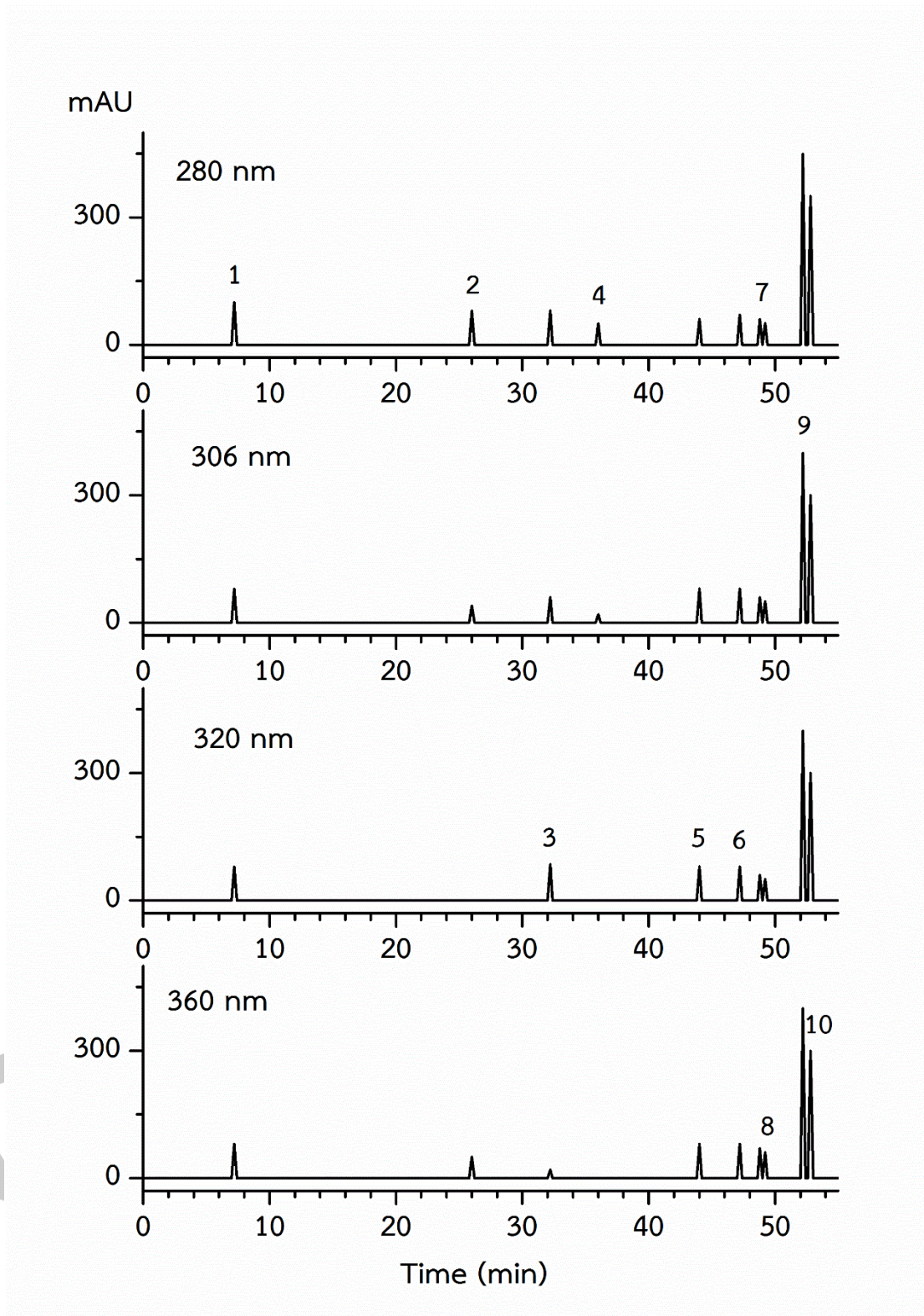
(1) gallic acid, (2) catechin, (3) caffeic acid, (4) epicatechin, (5) p-coumaric acid, (6) ferulic acid, (7) rutin, (8) myricetin, (9) resveratrol, and (10) quercetin.



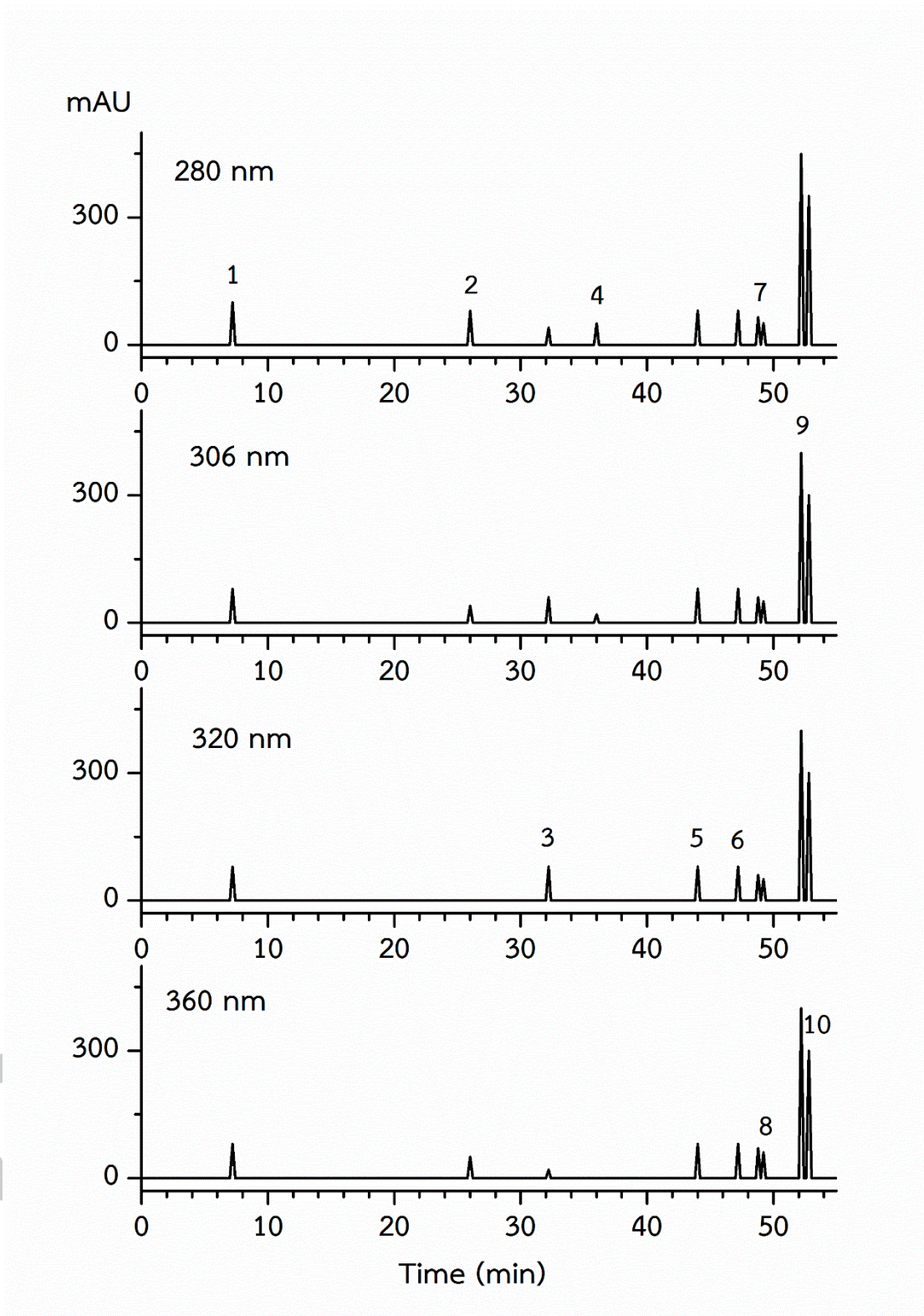
รูปที่ 23 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์อุทอง 17



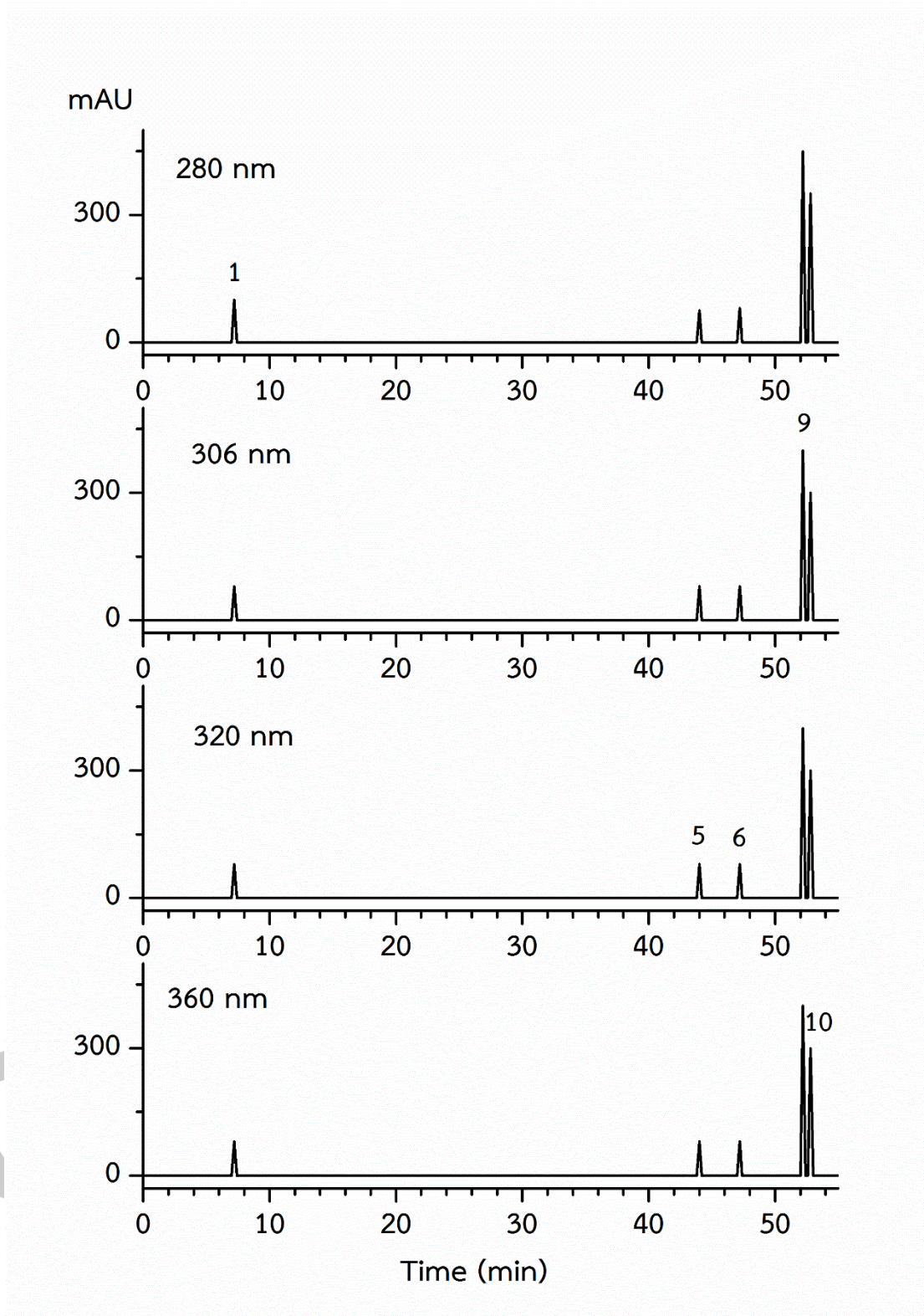
รูปที่ 24 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50



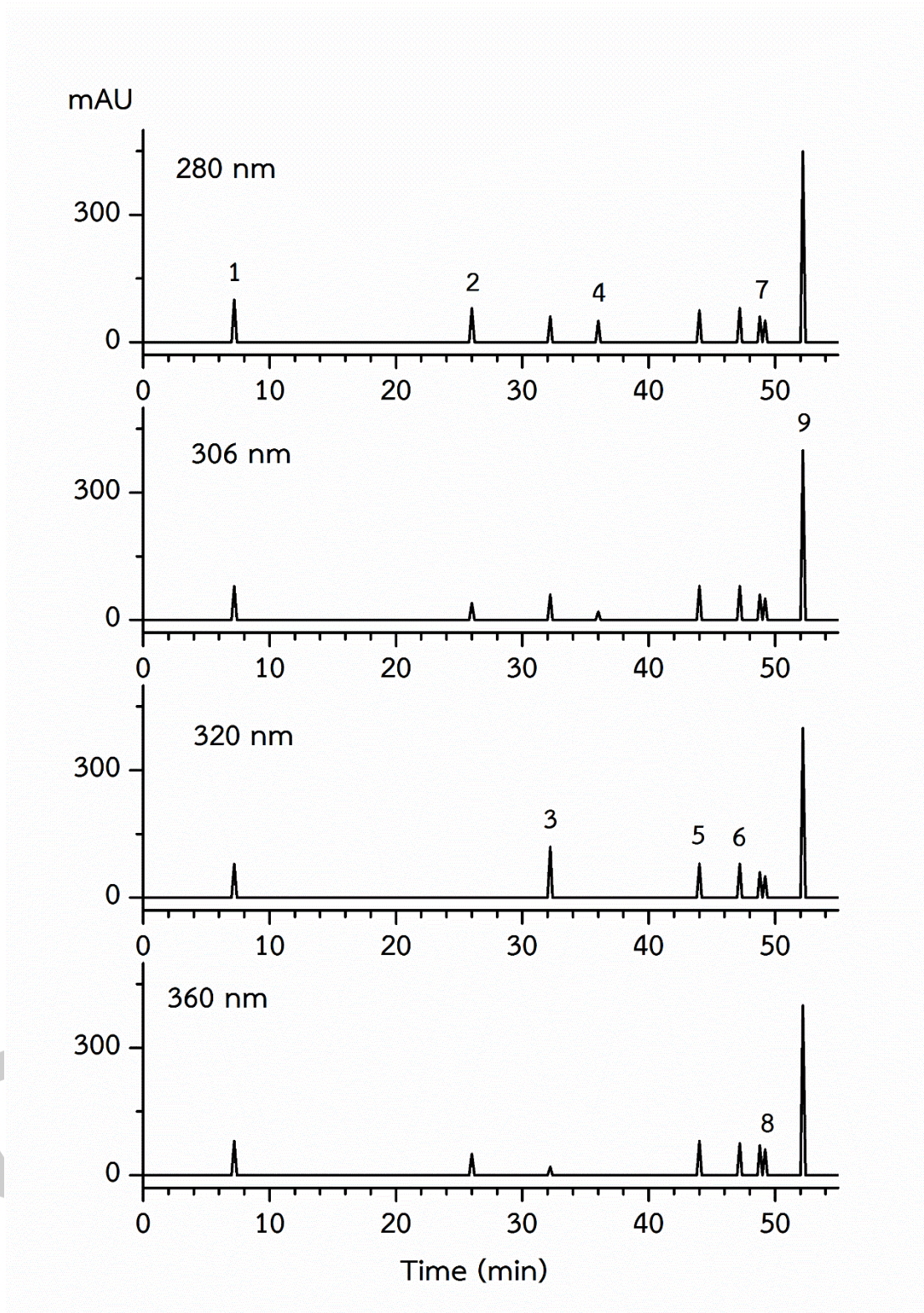
รูปที่ 25 HPLC chromatograms ของสารสกัดหยาบจากอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72



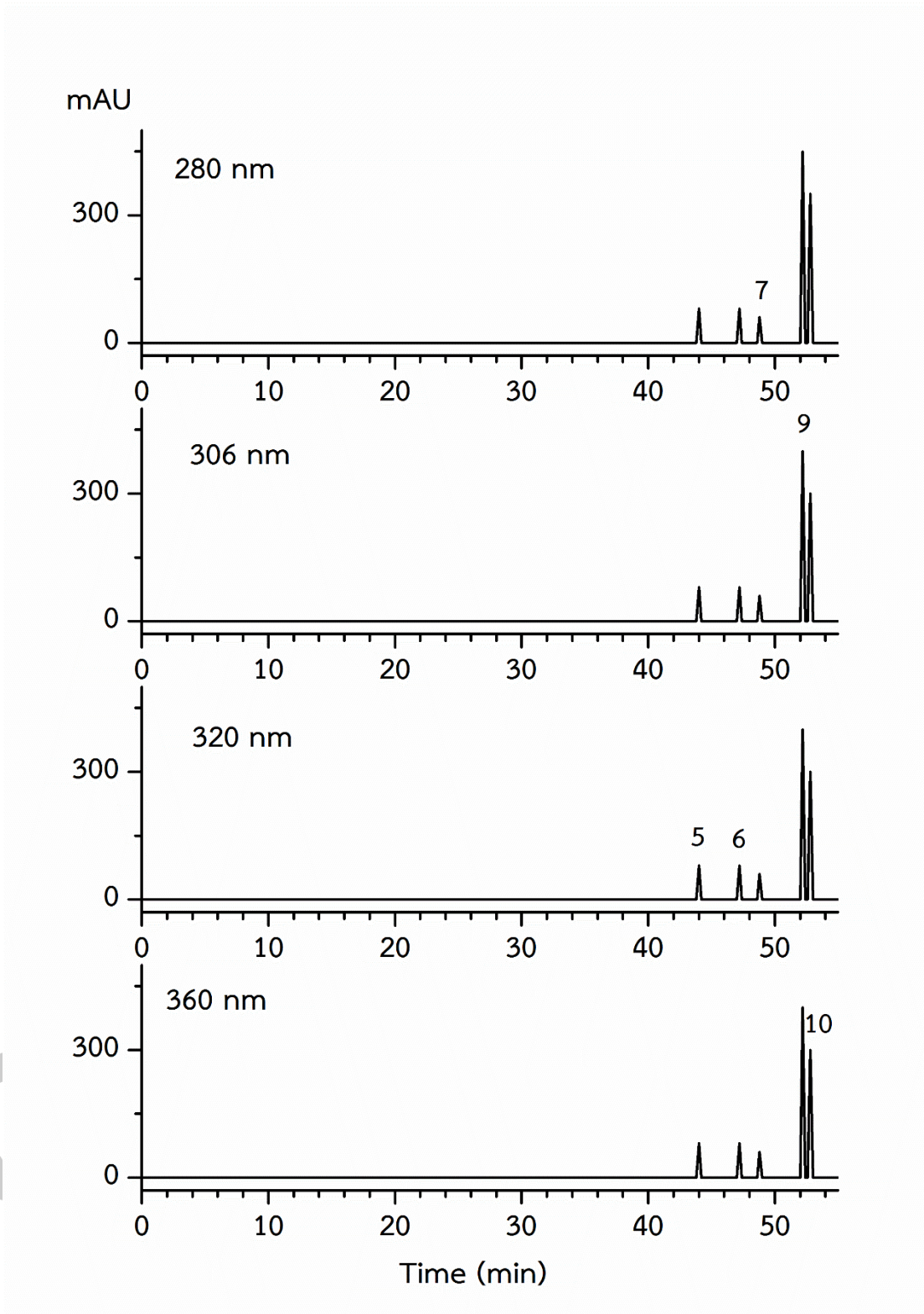
รูปที่ 26 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 50:50 ของชานอ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17 (AU17M50)



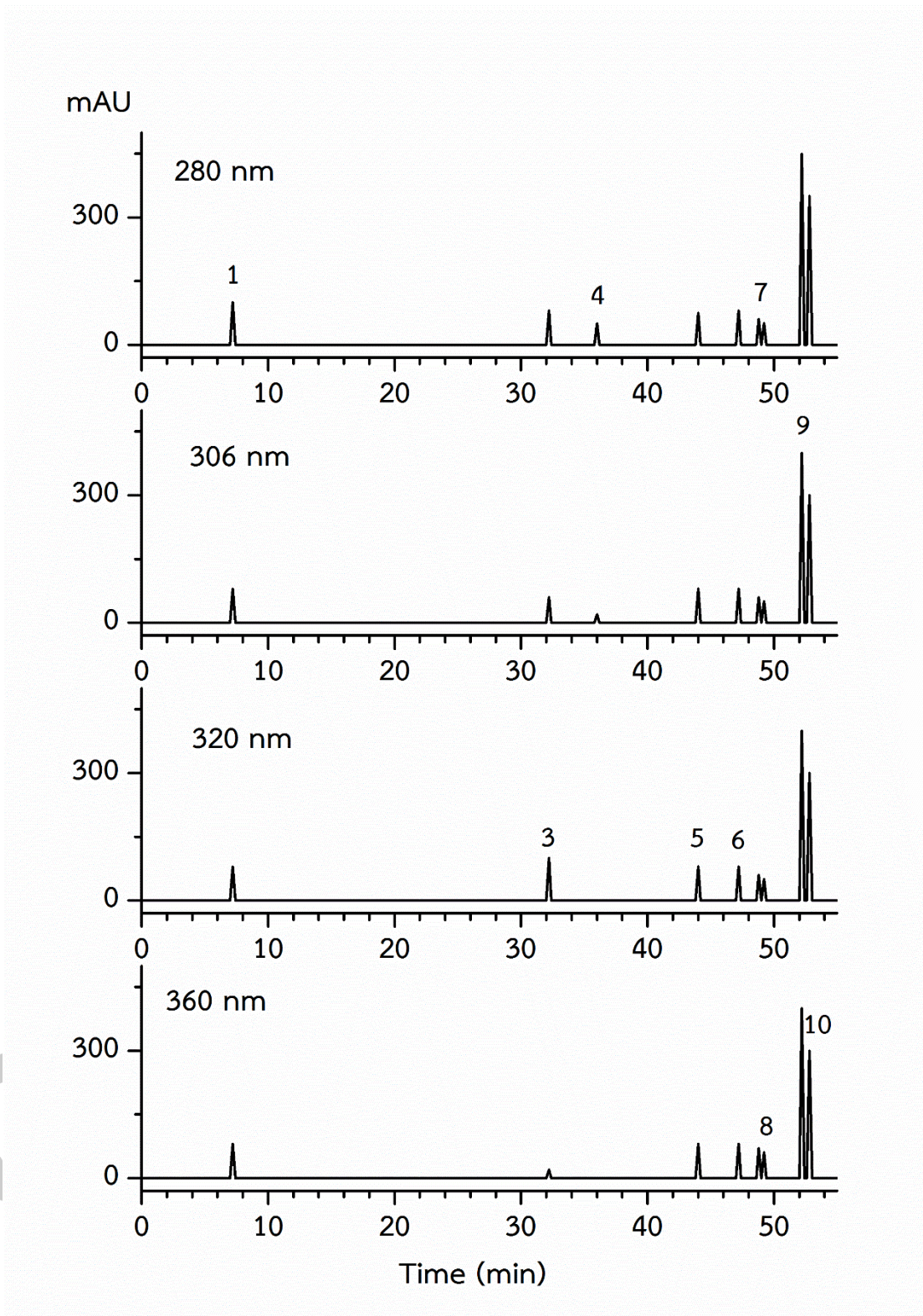
รูปที่ 27 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 25:75 ของชานอ้อยสายพันธุ์อุ้มทอง 17 (AU17M75)



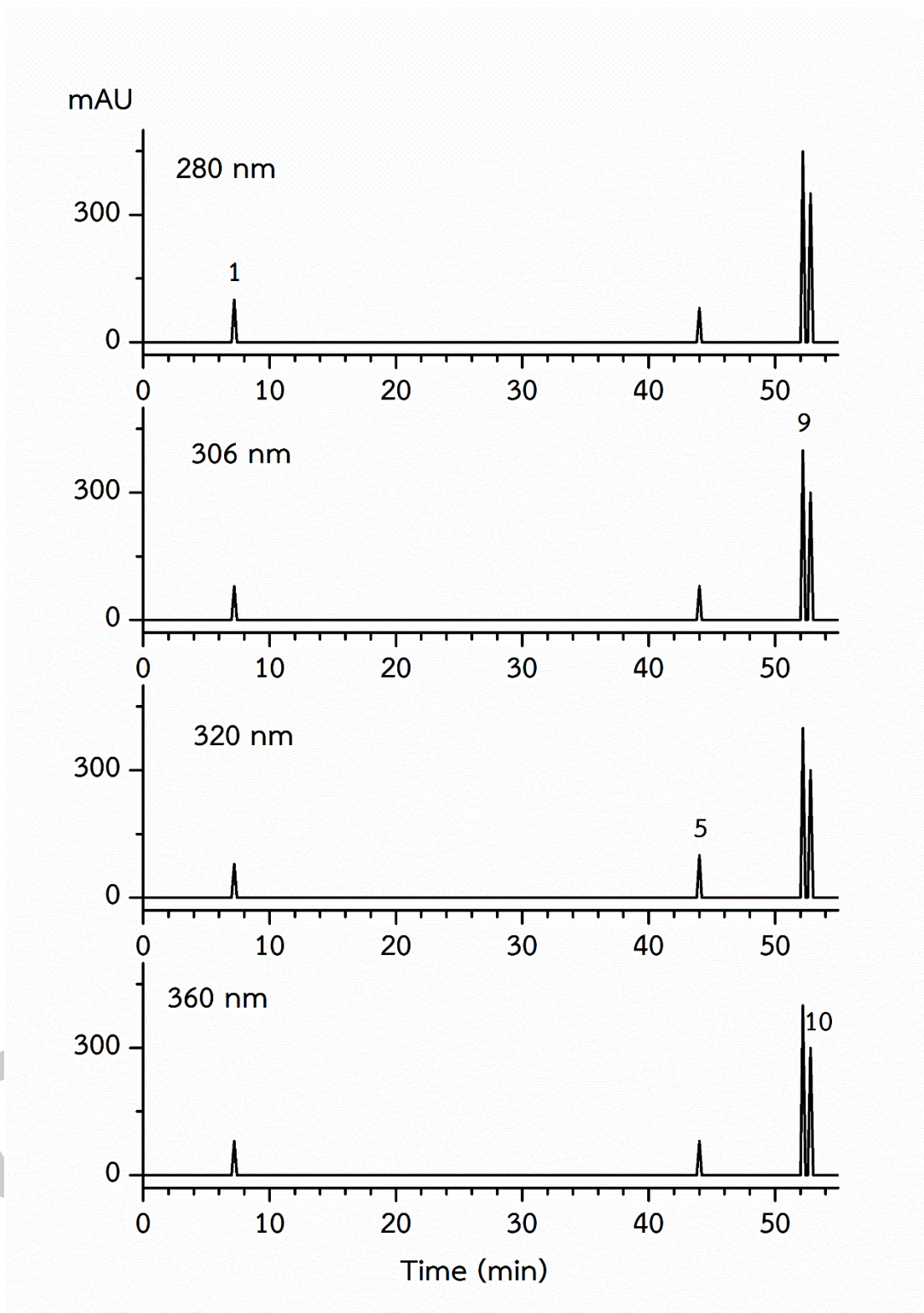
รูปที่ 28 HPLC chromatograms ของส่วนเซที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 75:25 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (SP50M25)



รูปที่ 29 HPLC chromatograms ของส่วนเซที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 50:50 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (SP50M50)



รูปที่ 30 HPLC chromatograms ของส่วนชะที่ชะด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 25:75 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 (SP72M75)



รูปที่ 31 HPLC chromatograms ของส่วนเซที่เซด้วยเอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล อัตราส่วน 0:100 ของชานอ้อยสายพันธุ์สุพรรณบุรี 72 (SP72M100)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายพงศธร โมธรรม
วันเกิด	วันที่ 9 สิงหาคม พ.ศ. 2537
สถานที่เกิด	บ้านเลขที่ 18 หมู่ 6 ตำบลหนองชน อำเภอนาทม จังหวัดนครพนม 48140
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	หอพักหทัยกานต์ 407 หมู่ 20 ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัด มหาสารคาม 44150
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	นักศึกษา
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม พ.ศ. 2563 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

พูนุ ปณุกิตโต ชีวะ