การศึกษาทางด้านพฤกษเคมีจากสารสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลือง

เภสัชกรอดิศักดิ์ ถมอุดทา
เภสัชกรหญิงปริญา ถมอุดทา
โรงพยาบาลมหาสารคาม

บทนำและความสำคัญ

ว่านเอ็นเหลือง (*Curcuma sp.*) ถูกประกาศจากกระทรวงสาธารณสุขในปี พ.ศ.2556 ให้เป็นตัวยาตรงในตำรับยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณกลุ่มบรรเทาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ข้อมูลทางด้านพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน (Ethnopharmacology) ใช้หัวว่านเป็นยารักษาโรคหลายขนาน แก้อัมพาต เหน็บชา แก้ปวดเมื่อยตามข้อต่างๆ ในร่างกาย แก้มือตาย ตีนตาย รักษาโรคเหน็บชา โรคอันเกี่ยวกับเส้นเอ็นทั้งปวง เส้นตรงที่ใดเคล็ด ช้ำบวม อัมพาต หรือไตพิการ เบาหวาน รักษาได้ระดับหนึ่ง โดยกินว่านนี้ด้วยวิธีต้มกินเป็นประจำใช้หัวว่านในปริมาณ 3 กิโลกรัม ต้มกับน้ำ 3 ส่วน แล้วเคี่ยวให้เหลือน้ำ 1 ส่วน กินก่อนอาหาร 3 เวลา ข้อมูลทางลักษณะทางพฤกษศาสตร์ หัวเป็นแง่งขนาดกลาง แตกเป็นแผง ทั้งสองด้านของลำต้น และใต้ลำต้นแง่งแตกชิดติดกัน และเบียดกันแน่น เนื้อในของแง่งสีเหลือง มีกลิ่นหอมก้านใบสีเขียวด้านในเป็นร่องแคบและลึก ด้านนอกกลมนูน กาบใบสีเขียว โอบหุ้มกันเป็นลำ ใบ รูปรียาว ปลายใบแหลมเป็นติ่ง โคนใบทู่ เส้นกลางใบทางด้านบนเป็นร่องสีเขียวอ่อน ด้านล่างนูนเป็นสัน สีเขียวเช่นเดียวกับแผ่นใบ จากการที่ว่านเอ็นเหลืองได้ถูกประกาศจากกระทรวงสาธารณสุขในปี 2556 ให้เป็นตัวยาตรงในตำรับยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณกลุ่มบรรเทาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาทางด้านพฤกษเคมี (phytochemistry) และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioassays) เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนทางด้านการประยุกต์ใช้สมุนไพรชนิดนี้สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรชนิดนี้เพื่อเพิ่มมูลค่า สร้างเศรษฐกิจฐานราก เกิดความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืน เป็นไปตามเจตจานงมุ่งหมายของรัฐบาลที่ต้องการให้สมุนไพรไทยเป็นที่ นิยม ประชาชนรู้จัก เชื่อมั่น ชอบและใช้การแพทย์แผนไทยและสมุนไพร

รูปที่ 1 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของว่านเอ็นเหลือง

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาผลของส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลืองในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์
2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง
3. เพื่อศึกษาผลของส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลืองต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในโรงงานผลิตยาสมุนไพรจัมปาศรี โรงพยาบาลมหาสารคาม ตั้งแต่เดือนมกราคม – มิถุนายน พ.ศ. 2564 โดยได้มีการออกแบบและดำเนินการดังนี้

- การเตรียมสมุนไพรว่านเอ็นเหลืองเข้าสู่กระบวนการสกัดหยาบ
- การสกัดสารแบบหยาบ
- การสกัดสารแบบ Vacuum Chromatography
- การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง
- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการทำปฏิกิริยากับ DPPH
- การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ phenolic รวม
- การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดส

การสกัดสมุนไพร จากเหง้าว่านเอ็นเหลือง

1.การสกัด crude extract จากเหง้าว่านเอ็นเหลือง

วัตถุดิบสมุนไพรที่ใช้ : เหง้าของว่านเอ็นเหลืองจากพื้นที่จังหวัดปราจีนบุรี ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ส่วนเหง้าของว่านเอ็นเหลือง มีขั้นตอนการเตรียมโดยนำเหง้าสดมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำมาหั่นเป็นแผ่นๆ และทำให้แห้งโดยการอบในตู้อบสมุนไพรโดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง อบซ้ำจนตัวอย่างสมุนไพรให้ประมาณ 4 รอบ จากนั้นนำมาบดเป็นผงแห้งเพื่อเข้าสู่กระบวนการสกัดต่อไป

ตัวทำละลาย : จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดว่านเอ็นเหลืองคือ 95% ethanol ซึ่งเหมาะสมกับสมุนไพรที่จะสกัดเนื่องจากมีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการแยกสกัด มีสัมประสิทธิ์ความอิ่มตัวของสารในตัวทำละลายสูง ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นในพืช มีราคาไม่แพง ไม่เป็นพิษกับคนและสิ่งแวดล้อม และสามารถละเหยได้ดี

รูปแบบสารสกัด: สำหรับการศึกษานี้ใช้รูปแบบการสกัดแบบ Extracts ซึ่งจะใช้พืชสมุนไพรผสมกับตัวทำละลายที่เหมาะสมในที่นี้คือ 95% Ethanol(polarity index 5.2) โดย ethanol มีความสามารถทำให้ผนังเซลล์ของพืชสมุนไพรพรุน ทำให้สารสามารถแพร่ออกจากเซลล์พืชสมุนไพรได้ดีขึ้น หลังจากนั้นก็จะทำการละเหยตัวทำละลายออกไป จนได้สารสกัดในรูปแบบ crude extract

เทคนิคการสกัด : เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยใช้การหมัก (maceration) โดยการแช่ผงแห้งของเหง้าว่านเอ็นเหลืองกับ 95% ethanol เป็นระยะเวลาขั้นต่ำ 3 วันในภาชนะปิด หลังจากครบ 3 วันจะทำ

การกรองสารกัด และนำกากที่ได้จากการกรองไปสกัดซ้ำกับ 95% ethanol อีกครั้งขั้นต่ำ 3 วันแล้วนำมากรองจนได้สารสกัดว่านเอ็นเหลืองใน 95 % ethanol นำสารสกัดไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องมือ Rotary evaporator for binder recovery จะได้สารสกัดเข้มข้น แล้วนำไประเหยให้แห้งต่อใน porcelain dish จนได้ Crude extract

รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนการสกัด crude extract จากเหง้าว่านเอ็นเหลือง

ขั้นตอนการสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลือง

เหง้าสดว่านเอ็นเหลืองที่ล้างสะอาด(9.50 kg)

↓

ฝานเป็นแผ่นทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

↓

บดเป็นผงแห้งของว่านเอ็นเหลือง (ได้ผงว่านเอ็นเหลืองประมาณ 2.412 kg.)

↓

นำผงแห้งว่านเอ็นเหลือง 1.50 kg มาหมักด้วย 95% ethanol ปริมาตร 15 ลิตร ขั้นต่ำจำนวน 3 วัน

↓

นำสารสกัดน้ำว่านเอ็นเหลืองไประเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator for binder recovery

↓

นำสารสกัดเข้มข้นไปทำให้แห้งโดยใช้ porcelain dish อังบน water bath ที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส

↓

จะได้ crude extract ของเหง้าว่านเอ็นเหลือง

ผลการศึกษา

การคำนวณเพื่อเทียบหาสมุนไพรขั้นต้น

ว่านเอ็นเหลืองสด 9.5 kg ทำให้แห้งและบดเป็นผงได้ 2.412 kg.

นำผงว่านเอ็นเหลือง 1500 g ละลายใน 95% ethanol 15 L (1 mg/15 ml)

ทำการสกัดสารละลายว่านเอ็นเหลืองจำนวน 13 L

ได้ crude extract 90.76 mg

ถ้าสกัดครบ 15 ลิตร จะได้ crude extract ประมาณ 15x90.76/13 = 104.72 mg

จะได้ว่า ผงยาว่านเอ็นเหลือง 1.5 kg ละลายใน 95% ethanol 15 L เมื่อทำการสกัดจะได้ crude extract 104.72 mg

ดังนั้นผงว่านเอ็นเหลือง 1 kg จะสกัดได้ crude extract 1x104.72/1.5 = 69.81 mg

หรือจากผงแห้งว่านเอ็นเหลือง 2.412 kg จากสมุนไพรสด 9.5 kg

จะสามารถสกัดได้ crude extract 69.81x2.412 = 168.38 mg

สรุป ว่านเอ็นเหลืองสด 9.5 kg บดเป็นผงได้ 2.412 kg สามารถสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 95% ethanol ในอัตราส่วน 1 mg/15 ml จะได้ crude extract 168.38 mg.

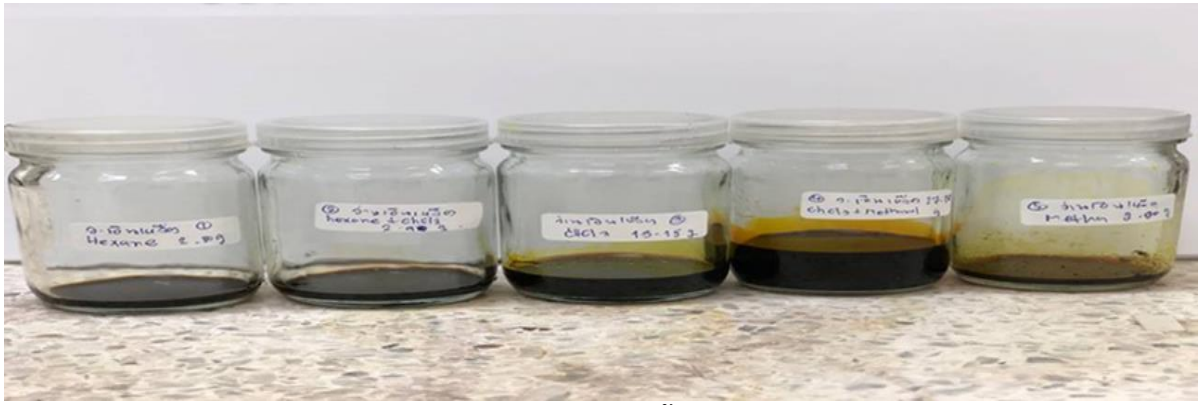
2. การ separation crude extract จากเหง้าว่านเอ็นเหลือง

ภายหลังจากได้ crude extract จากเหง้าว่านเอ็นเหลืองขั้นตอนต่อมาคือการ separation เพื่อหากลุ่มสารต่างๆใน crude extract โดยเทคนิคในการศึกษาครั้งนี้คือใช้วิธี Chromatographic Method ซึ่งมีหลักการที่สำคัญคือเป็นวิธีแบบรงคเลข จะต้องมีองค์ประกอบที่สำคัญ 2 ส่วนคือวัฏภาคคงที่ (stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยให้สารเคลื่อนที่ผ่านไปบน stationary phase โดยอาศัย mobile phase เป็นตัวพา ทำให้เกิดการแยกของสารตามความสามารถในการเข้ากันกับ mobile phase (ใช้หลักการ like dissolve like)

โดย chromatographic method ที่ใช้ในการศึกษานี้คือวิธีการของ vacuum liquid chromatography โดยใช้ mobile phase ไล่ตามการมีขั้ว เพื่อสกัดสารให้ได้ตามหลักการ like dissolve like สำหรับ mobile phase ทีใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ hexane, hexane+chloroform, chloroform, chloroform+methanol และ methanol จากนั้นจะนำสารสกัดที่ละลายอยู่ในแต่ละ mobile phase มาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator for binder recovery จนได้สารสกัดเหนียวข้นในแต่ละส่วนสกัด

ตารางที่ 1 แสดงคุณลักษณะและน้ำหนักของส่วนสกัดทั้ง 5 fractions

fraction ของสารสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง	นำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
Ethanol (ตั้งต้น)	48.23	100	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
Hexane	2.80	5.80	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
Hexane+Chloroform	2.90	6.01	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
Chloroform	13.15	27.26	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
Chloroform+methanol	27.18	56.35	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ
Methanol	2.0	4.15	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลดำ



รูปที่ 3 แสดงคุณลักษณะของสารสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองทั้ง 5 ส่วนสกัด

1. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง

การศึกษานี้ใช้วิธี paper disk susceptibility test ใช้เมื่อต้องทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดในเวลาเดียวกัน โดยการศึกษานี้ใช้ส่วนสกัดต่างๆ เป็นตัวแทนของยาปฏิชีวนะในการทดสอบความไวของเชื้อ โดยส่วนสกัดจะซึมออกมารอบๆ disk ซึ่งความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพจะเป็นสัดส่วนกับระยะห่างของ disk หลังจากนั้นจะทำการวัดค่า inhibition sensitive zone เพื่อดูความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังแสดงผลการทดลองได้ใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลขอส่วนสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองในการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ

ส่วนของสารสกัดว่านเอ็นเหลือง	hibition zone (มิลลิเมตร)			
	E. coli	*MRSA*	*S.aureus*	*P. aeruginosa*
Hexane fraction	0.6	0.6	0.6	0.6
Hexane+Chloroform fraction	0.6	0.6	0.6	0.6
Chloroform fraction	0.6	0.8	0.8	0.6
Chloroform+Methanol fraction	0.6	0.6	0.6	0.6
Methanol fraction	0.6	0.6	0.6	0.6

ผลของสารสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลืองในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยวิธี disk diffusion พบว่า ส่วนสกัดว่านเอ็นเหลืองใน chloroform fraction มี inhibition sensitive zone 0.8 มิลลิเมตร ต่อเชื้อ *MRSA* และ *S. aureus* ส่วน fraction อื่นๆ ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli, MRSA, S. aureus* และ *P. aeruginosa*

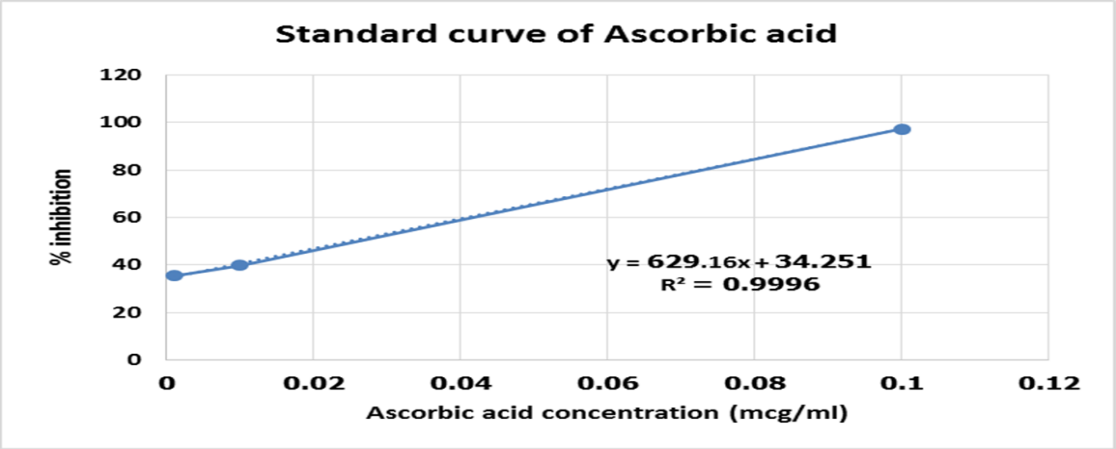
2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดว่านเอ็นเหลืองโดยการทำปฏิกิริยากับ DPPH หลักการที่ใช้ทดสอบในการศึกษานี้สามารถสรุปได้ตามสมการเคมี

$$DPPH^{*} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{*}$$

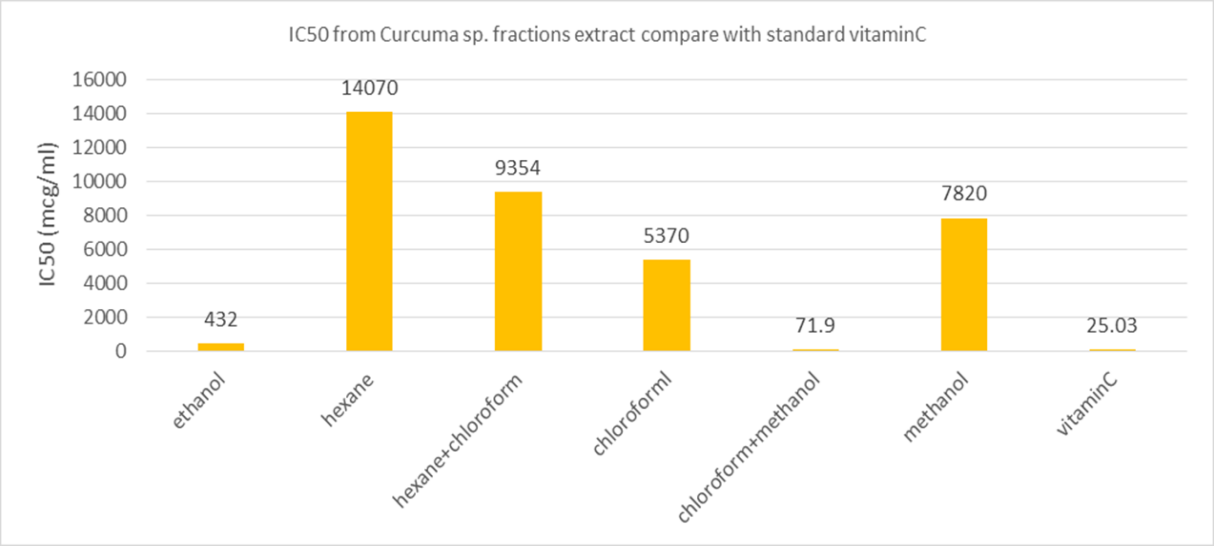
ตารางที่ 3 แสดง DPPH (IC50) ของส่วนสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองแต่ละ fraction

Treatment	DPPH assay,IC50 (mcg/ml)
L-ascorbic acid	**25.03**
Ethanol (ตั้งต้น)	**432**
Hexane	**14070**
Hexane+Chloroform	**9354**
Chloroform	**5370**
Chloroform+methanol	**71.9**
Methanol	**7820**

รูปที่ 4 แสดงร้อยละความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานวิตามินซี



รูปที่ 5 แสดง DPPH (IC50) ของสารสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองแต่ละ fraction

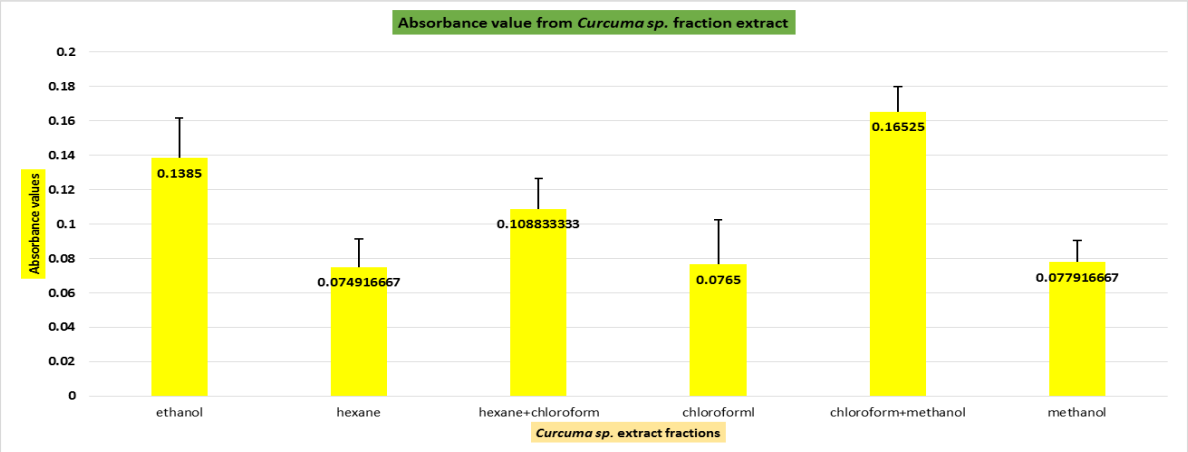


จากการทดลองพบว่าส่วนสกัด chloroform+methanol มีค่า IC50 ต่ำที่สุดรองลงมาคือส่วนสกัด ethanol และ chloroform ตามลำดับ

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ phenolic รวมของส่วนสกัดว่านเอ็นเหลือง

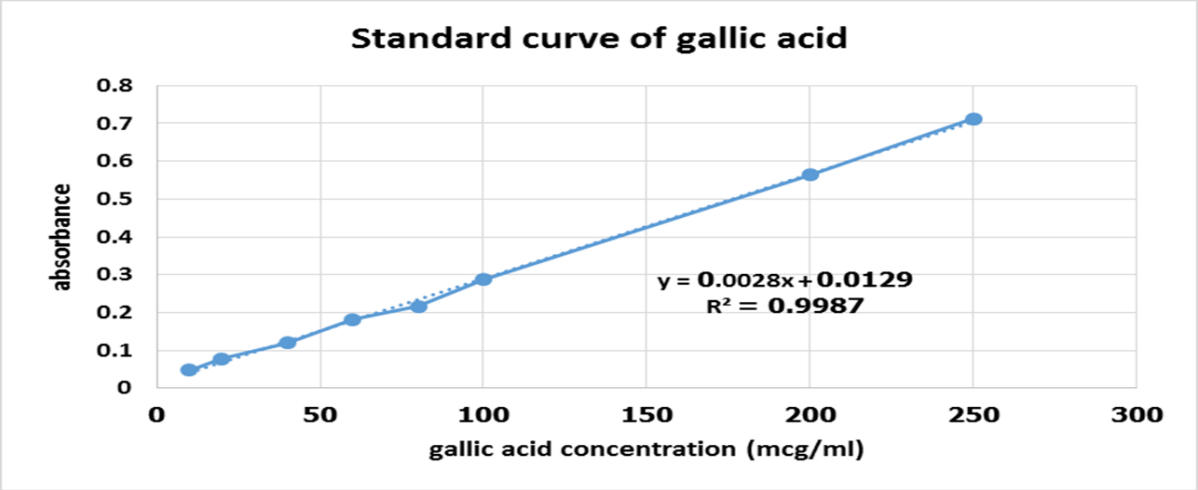
การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด (total phenolic content) มีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในส่วนสกัดว่านเอ็นเหลืองจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเกิดเป็น สารประกอบเชิงซ้อน phosphotungstic-phosphomolybdic complex ซึ่งมีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ผลการศึกษาดังแสดง

รูปที่ 6 แสดงค่าการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 nm.ของส่วนสกัดว่านเอ็นเหลือง

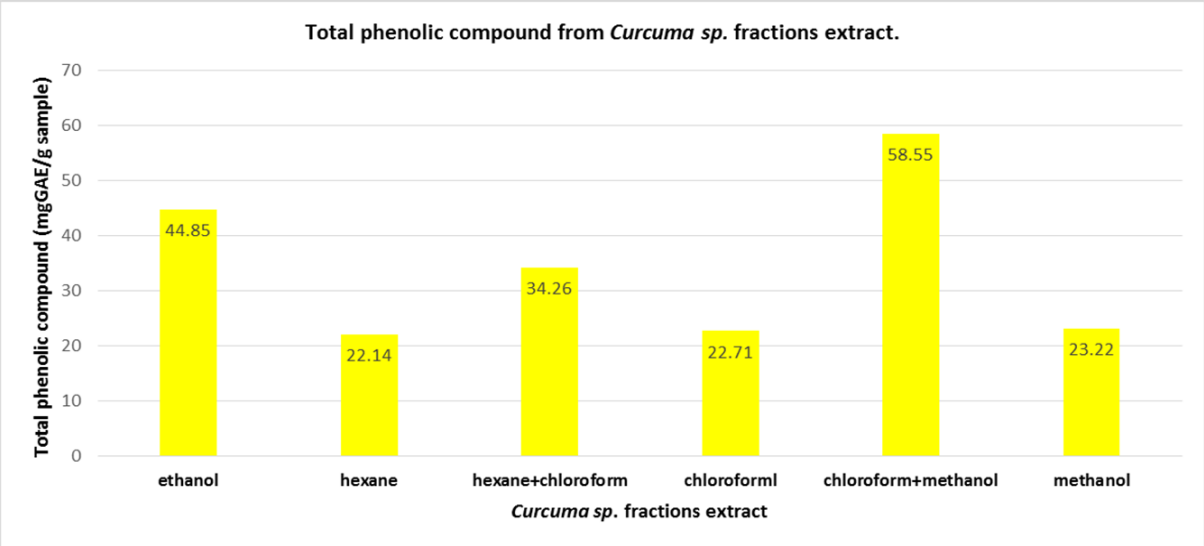


fraction	ethanol	hexane	hexane+chloroform	chloroforml	chloroform+methanol	methanol
mean	0.1385	0.0749	0.1088	0.0765	0.1652	0.0779
std.	0.0232	0.0166	0.0175	0.0258	0.0144	0.0125

รูปที่ 7 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของกรดแกลลิคกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Folin-ciocalteu ที่ทำปฏิกิริยา



รูปที่ 8 แสดง Total phenolic compound ของส่วนสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองแต่ละ fraction



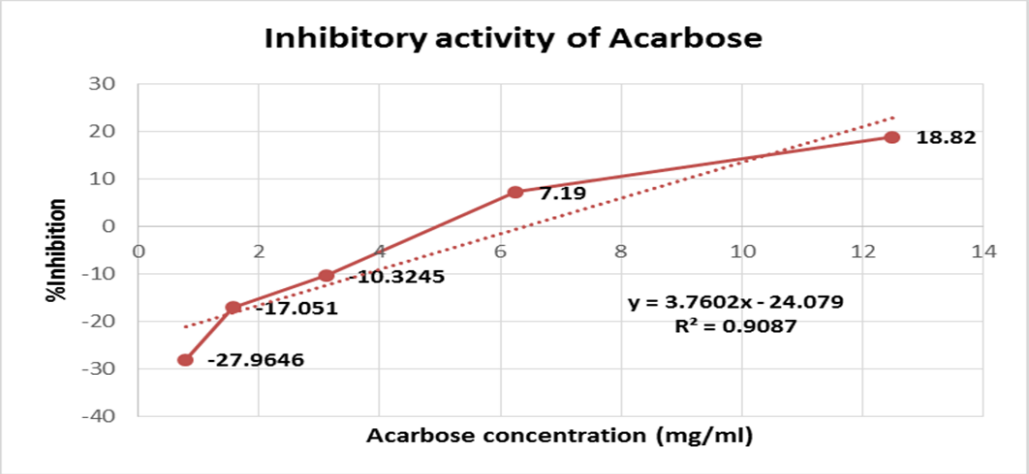
ethanol	hexane	hexane+chloroform	chloroforml	chloroform+methanol	methanol
44.85	22.14	34.26	22.71	58.55	23.22

จากผลการศึกษาพบว่าส่วนสกัด chloroform+methanol fraction ให้ค่า total phenolic content มากที่สุดคือ 58.55 mg GAE/g sample รองลงมาคือ ethanol , hexane+chloroform , methanol, chloroform และ hexane fraction ตามลำดับ

4. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคสิเดสของส่วนสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลือง

หลักการของการศึกษานี้เพื่อวัดประสิทธิภาพของส่วนสกัดเหง้าว่านเอ็นเหลืองในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ alpha-glucosidase โดยมี substrate คือ p-NPG , positive control คือ acarbose, negative control คือ vehicle และ blank จะใช้น้ำแทนการเติมเอนไซม์ alpha-glucosidase โดยผลการศึกษาแสดงผลได้ดังต่อไปนี้

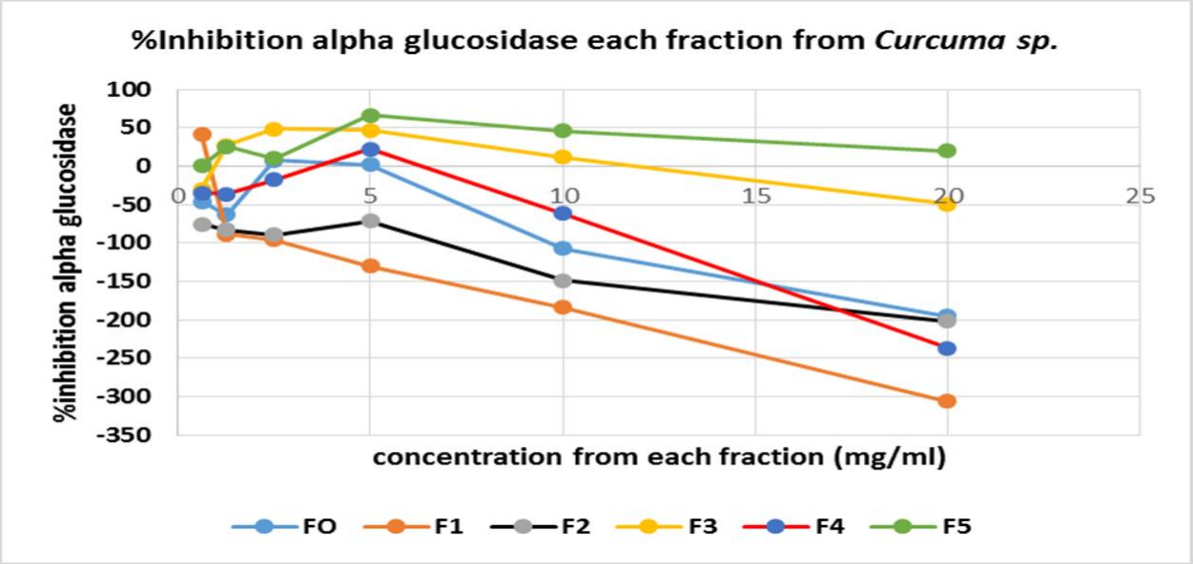
รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน acarbose



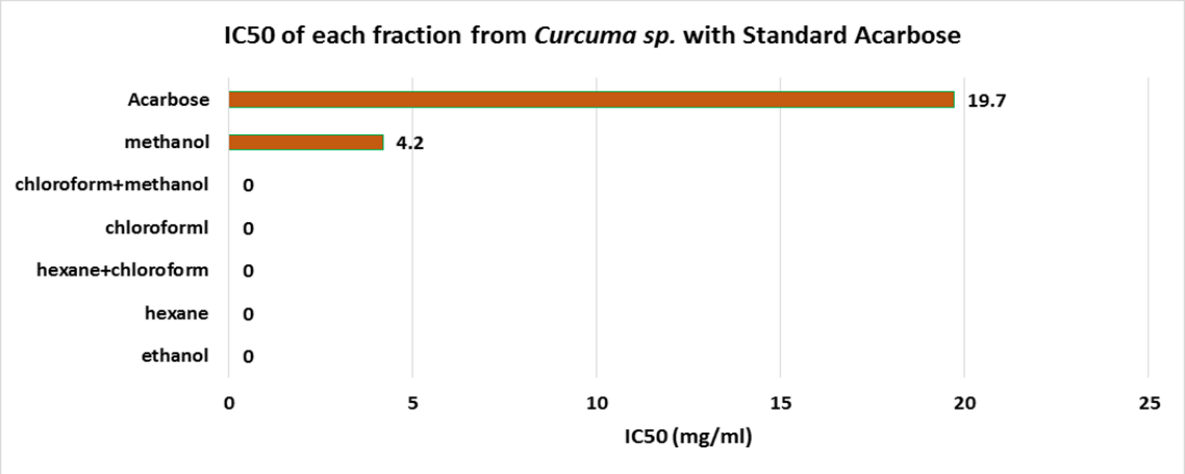
จากสมการ y = 3.7602x – 24.079

คำนวณค่า IC50 ของสารมาตรฐาน Acarbose ได้เท่ากับ 19.70 mg/ml

รูปที่ 10 แสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase และความเข้มข้นของแต่ละส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง



รูปที่ 11 แสดงค่า IC50 ของแต่ละส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลือง



ethanol	hexane	hexane+chloroform	chloroforml	chloroform+met	methanol	Acarbose
can't report	can't report	can't report	can't report	can't report	4.2	19.7

ผลการศึกษาพบว่าค่า IC50 ของ methanol fraction มีค่าเท่ากับ 4.2 mg/ml โดยมีค่าน้อยกว่าค่า IC50 ของ acarbose ซึ่งมีค่าเท่ากับ 19.7 mg/ml

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การสกัดแบบ vacuum chromatography สามารถแยกสารออกได้ตามความมีขั้วของ mobile phase ซึ่งมีประโยชน์เป็นอย่างมากในการศึกษาทางด้านพฤกษเคมี โดยส่วนสกัดที่สามารถแยกได้มากที่สุดคือ chloroform+methanol fraction คิดเป็นร้อยละ 56.35 ของน้ำหนักสารสกัดหยาบ (crude extract) ตั้งต้น รองลงมาคือ chloroform และ chloroform+hexane fraction ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส การทดสอบฤทธิ์ส่วนสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยขนาดของ inhibition sensitive zone ไม่ได้บอกว่าสารสกัดที่มีขนาด inhibition sensitive zone ที่มากกว่าจะมีฤทธิ์ที่ดีกว่า ซึ่งขนาดของ inhibition sensitive zone ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางด้านกายภาพและเคมี (physico-chemical) ของสารนั้นๆ ควรทำการทดสอบด้วยวิธีการ dilution test เพิ่มเติมเพื่อยืนยันถึงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ของส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนั้นควรทำการทดสอบเพื่อยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ในวิธีอื่นเพิ่มเติมเช่น ABTS assays เพื่อเป็นการยืนยันถึงการมีฤทธิ์ anti-oxidant และควรศึกษาโมเดลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอื่นๆที่มีสภาวะใกล้เคียงกันกับร่างกายมนุษย์เพื่อที่จะเป็นตัวแทนในการอธิบายคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ได้เหมาะสมมากขึ้น การศึกษาเพื่อหา total phenolic compounds พบว่าส่วนสกัดที่มีขั้วสูงจะมีปริมาณสาร total phenolic ในปริมาณที่สูงซึ่งผลการศึกษาก็คล้ายคลึงกันกับการศึกษาอื่นๆ และยังพบว่าส่วนสกัดจากเหง้าว่านเอ็นเหลืองมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสในช่วงความเข้มข้นต่ำๆ โดย

ความเข้มข้นที่มากกว่า 10 mg/ml การยับยั้งจะลดลง ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับจลศาสตร์ของเอนไซม์ (enzyme kinetics) เพื่อทีจะทำให้ทราบว่าส่วนสกัดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์เป็นแบบใด การศึกษานี้ยังพบปัญหาสีของส่วนสกัดเป็นสีเหลือง ซึ่งมีผลในการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของตัวเปรียบเทียบ (blank) เนื่องจากค่า absorbance ของ blank มีค่าสูงกว่าสารตัวอย่างที่ทำการศึกษา โดยจะต้องทำการหาวิธีการกำจัดสีเหลืองของส่วนสกัดออก แก้ปัญหาโดยการใช้ค่า absorbance จาก sample ในการคำนวณ % inhibition สำหรับโมเดลการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส หากผลการศึกษาพบว่าส่วนสกัดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งไม่ได้บ่งบอกว่าสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน แต่ทำให้เราทราบเบื้องต้นว่าโมเดลนี้มีกลไกการออกฤทธิ์แบบนี้เท่านั้น ยังคงมีอีกหลายๆโมเดล เช่น โมเดลการกระตุ้นการหลั่ง insulin จากเซลล์ตับอ่อนเป็นต้น จึงมีความจำเป็นในการศึกษาในหลายๆ โมเดล เพราะกลไกการเกิดโรคเบาหวานมีหลายแบบ อันจะทำให้เราทราบถึงกลไกในการลดระดับน้ำตาลในเลือดจากส่วนสกัดที่มีฤทธิ์

บรรณานุกรม

1. Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clinical infectious diseases. 2009 Dec 1;49(11):1749-55.
2. Moon, J. K.; Shibamoto, T., Antioxidant assays for plant and food components. Journal of agricultural and Food Chemistry 2009, 57, (5),1655-1666.
3. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of food science and technology. 2011;48(4):412-422. doi:10.1007/s13197-011-0251-1.
4. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nature protocols. 2007 Apr;2(4):875.
5. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O. α-glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. Pharmacognosy reviews. 2011 Jan;5(9):19.