



## ปัญหาพิเศษ

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ  
มะม่วงหาวมะนาวโห่

STUDY OF BIOACTIVE COMPONENTS AND ANTIOXIDATIVE  
PROPERTIES OF *CARISSA CARANDAS* L.

โดย  
นางสาววิไลลักษณ์ ขจรวคิน

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2562



ใบรับรองปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

สาขา

วิทยาศาสตร์

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของมะม่วงหาวมะนาวโห่

STUDY OF BIOACTIVE COMPONENTS AND ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF  
CARISSA CARANDAS L.

นามผู้วิจัย.....นางสาววิไลลักษณ์ ขจรวดีน.....

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ.....

(.....อาจารย์พุทธพร ส่องศรี, D.Eng.....)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(.....ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แต่งอ่อน พรหมมิ, ปร.ด.....)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2562

# การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของมะม่วงหาว มะนาวโห่

วิไลลักษณ์ ขจรวคิน และ พุทธพร สองศรี

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในผลสดและผลแห้ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งไทโรซิเนส ปริมาณแอนโทไซยานินและวิเคราะห์สารด้วยวิธี TLC พบว่าที่อัตราเจือจาง 1:100 ผลสดมีปริมาณฟีนอลิก ( $48.77 \pm 6.45$  mg GAE/g) มากกว่าผลแห้ง ( $23.91 \pm 1.32$  mg GAE/g) ในผลสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงถึง  $90.11 \pm 1.10$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนในผลแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงถึง  $87.82 \pm 0.43$  เปอร์เซ็นต์ และผลสดมีฤทธิ์ในการยับยั้งไทโรซิเนสอยู่บ้างในขณะที่ผลแห้งไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งปริมาณแอนโทไซยานินในผลสด 1:100 ( $310.60 \pm 11.57$  mg/l) มากกว่าผลแห้ง ( $50.65 \pm 14.20$  mg/l) และการตรวจสอบสารด้วยวิธี TLC พบว่าในมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการเลือกมะม่วงหาวมะนาวโห่ไปใช้ประโยชน์ควรเลือกผลสดเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่มาก

คำสำคัญ: มะม่วงหาวมะนาวโห่ ฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ ไทโรซิเนส แอนโทไซยานิน

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

/ /

# Study of Bioactive Components and Antioxidative Properties of *Carissa carandas* L.

Wilailuk Kajonwasin and Puttaporn Songsri

---

## ABSTRACT

This research aims to study the bioactive compounds of *Carissa carandas* L. in fresh and dried fruits. Total phenolics content, antioxidant activity, tyrosinase, total anthocyanin and analysis of extracts by TLC. It was found that at 1:100 concentrations, fresh fruits had a greater amount of phenolic compounds ( $48.77 \pm 6.45$  mg GAE/g) than in dried fruits ( $23.91 \pm 1.32$  mg GAE/g). In fresh fruits, the antioxidant activity is as high as  $90.11 \pm 1.10$  percent and in dried fruits, the antioxidant activity is as high as  $87.82 \pm 0.43$  percent. In fresh fruits, there is some inhibition of tyrosinase while the dried fruits have no effect and fresh fruits with at 1:100 concentrations has total anthocyanin ( $310.60 \pm 11.57$  mg/l), higher than dried fruits ( $50.65 \pm 14.20$  mg/l) and analysis of extracts by TLC show that *Carissa carandas* L. has anthocyanin. Therefore, fresh *Carissa carandas* L. fruit should be selected because they have higher bioactive compounds.

Keywords: *Carissa carandas* L., Total phenolic, Antioxidant, Tyrosinase, Anthocyanin

\_\_\_\_\_  
Student's signature

\_\_\_\_\_  
Advisor's signature

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## บทนำ

มะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นไม้พุ่มยืนต้นสูงประมาณ 5 เมตร มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียและมีการเพาะปลูกในประเทศไต้หวัน อินโดนีเซีย มาเลเซีย พม่า ศรีลังกา ไทย และหมู่เกาะแปซิฟิก เป็นผลไม้ที่กินได้ ลำต้นมีอายุที่เป็นง่ามหนามยาวไม่เกิน 5 เซนติเมตร (El-desoky *et al.*, 2018) ผลอ่อนจะมีสีชมพูอ่อนๆและค่อยๆเข้มขึ้นเป็นสีแดงจนกระทั่งสุกเป็นสีดำ เมล็ดแบนมี 6 เมล็ด เนื่องด้วยผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสีเข้มมากจนถึงดำจึงเป็นแหล่งของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) และจากรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบว่าแอนโทไซยานินเป็นหนึ่งในกลุ่มของรงควัตถุที่มีศักยภาพในการป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ (ณพัธอร, 2561) ผลดิบมีรสเปรี้ยวโดยทั่วไปนิยมนำมาประกอบอาหารเช่น ซอส แกง เครื่องดื่ม แยม และนำมาดอง ซึ่งอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่างๆ สารประกอบฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ วิตามิน เปปไทด์ และน้ำตาลเป็นต้น (Arif *et al.*, 2016) ผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงถึง 427 มก./100 ก. และมีสูงกว่าในผลดิบในส่วนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าผลสุกจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าในผลดิบเช่นเดียวกัน แต่ในผลดิบมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าในผลสุก (วชิราภรณ์ และคณะ, 2556; สกุกานต์ และคณะ, 2556) นอกจากนี้มะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสุกจะมีรสหวานและมีสรรพคุณเย็น ใช้เป็นผลไม้เรียกน้ำย่อย บรรเทาอาการลักปิดลักเปิดและเป็นประโยชน์ต่อผู้มีอาการอาเจียน มีเสมหะ ภาวะเบื่ออาหาร แผลไหม้ โรคหืด อาการคันและอาการอื่นๆจากโรคผิวหนัง นอกจากนี้ยังบรรเทาภาวะโลหิตจางและช่วยถอนพิษ มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อรา (สกุกานต์, 2559)

Itankar *et al.*, 2011 ได้รายงานว่าการสกัดจากผลดิบพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลและเอทิลอะซิเตต ที่ความเข้มข้น 400 มก./กก. สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดลงได้อย่างมีนัยสำคัญถึง 48 และ 64.5% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับยาต้านเบาหวานแผนปัจจุบัน จึงทำให้ผลดิบมะม่วงหาวมะนาวโห่มีศักยภาพในการใช้เป็นยาต้านเบาหวานได้ (Siddiqi *et al.*, 2011; Singh and Sangwan, 2011) รายงานถึงความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเนื้อผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยพบว่า สารสกัดที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$  มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* ที่เป็นสาเหตุของสาร aflatoxin ซึ่งจะ เป็นประโยชน์อย่างมากในผลิตภัณฑ์อาหาร

การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาสารประกอบสำคัญที่มีประโยชน์จากมะม่วงหาวมะนาวโห่ หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส การทดสอบแอนโทไซยานินและเพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์จากมะม่วงหาวมะนาวโห่โดยนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์ให้มีมูลค่าเพิ่มขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การสกัดสารจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

นำมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสุกที่มีสีดำทั้งผลสดและผลแห้งที่ตากเป็นเวลา 1 สัปดาห์ อย่างละ 65 ผล (คิดเป็นน้ำหนักกรัมของผลสดเท่ากับ 67.71 กรัม และผลแห้งเท่ากับ 50 กรัม) หั่นเป็นสี่ส่วน จากนั้นสกัดด้วยเมทานอล 99% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ระเหยตัวทำละลายด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส

### 2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกโดยดัดแปลงจากวิธีการของ (Bhadane and Patil, 2017) โดยการนำสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่เจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 ใส่ในหลอดทดลองและเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) และน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิก (Gallic acid) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม (mg GAE/g )

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity โดยดัดแปลงวิธีการของ (Andrica *et al.*, 2016) การวัดทั้งหมดทำสามซ้ำ วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้สารบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน (Butylated hydroxytoluene, BHT) เป็นสารมาตรฐาน

### 4. การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยดัดแปลงวิธีการของ (Neagu *et al.*, 2016) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร ณ เวลา 0 5 10 และ 15 นาที หลังเกิดปฏิกิริยาซึ่งทำสามซ้ำ โดยใช้กรดโคจิก (Kojic acid) เป็นสารมาตรฐาน

### 5. การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยดัดแปลงจากวิธีการของ (Wu *et al.*, 2006) โดยนำสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่เจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ pH 1.0 ตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยspectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank จากนั้นนำสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ใส่ลงในหลอดทดลองเติมโซเดียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ pH 4.5 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน คำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารทดสอบตามสมการปริมาณแอนโทไซยานิน

## 6.วิธี Thin layer chromatography (TLC)

ระบบตัวชะใช้ ethyl acetate:formic acid:water (8:1:1), EFW โดยวิธี (Sherma, 2000) โดยมีการดัดแปลงบางส่วน ซึ่งใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ การคำนวณระยะทางที่สารเคลื่อนที่ในรูปค่า R<sub>f</sub> (Rate of flow) โดยเทียบกับสารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์

### ผลการศึกษา

ผลการสกัดสารจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้งผลสดและผลแห้งด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อสกัดแล้วได้ปริมาณสุทธิของมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสด 50 มิลลิลิตร และปริมาณสุทธิของมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลแห้ง 32 มิลลิลิตร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยเมทานอล 99% พบว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดที่เจือจาง 1:100 เหมาะสมที่สุดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด  $48.77 \pm 6.45$  mg GAE/g และสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลแห้งที่เจือจาง 1:100 เหมาะสมที่สุดมีปริมาณฟีนอลิก  $23.91 \pm 1.32$  mg GAE/g คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2010 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $P < 0.05$ )

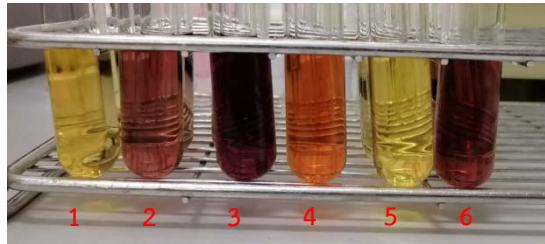
**ตารางที่ 1** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างกัน

| สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด |        |        | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย (mg GAE/g) $\pm$ SD |
|----------------------------|----------------------|--------|--------|--|
|                            | 1                    | 2      | 3      |  |
| สด 1:10                    | 110.65               | 112.61 | 112.83 | $112.03 \pm 1.20^d$                            |
| สด 1:100                   | 47.17                | 55.87  | 43.26  | $48.77 \pm 6.45^c$                             |
| สด 1:1000                  | 5.87                 | 4.78   | 8.04   | $6.23 \pm 1.66^a$                              |
| แห้ง 1:10                  | 98.04                | 113.70 | 107.39 | $106.38 \pm 7.88^d$                            |
| แห้ง 1:100                 | 22.39                | 24.57  | 24.78  | $23.91 \pm 1.32^b$                             |
| แห้ง 1:1000                | 1.74                 | 4.13   | 3.04   | $2.97 \pm 1.20^a$                              |

หมายเหตุ : a, b, c, d, เป็นค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) โดยเปรียบเทียบชุดข้อมูลที่ตัวแปรเดียวกัน, ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดเจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ  $63.96 \pm 1.86$ ,  $90.11 \pm 1.10$  และ  $27 \pm 8.69$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลแห้งเจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ  $87.82 \pm 0.43$ ,  $57.97 \pm 14.88$  และ  $2.46 \pm 3.38$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0, 39.73, 62.01, 67.76, 73.31 และ 76.89

เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยจะสังเกตเห็นว่าสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดที่ความเข้มข้น 1:100 และผลแห้งที่ความเข้มข้น 1:10 มีลักษณะเป็นสีเหลืองและมีเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สูงที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเช่นกันเมื่อเทียบกับสัดส่วนกับความเข้มข้นอื่นๆ โดยคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2010



#### ภาพที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

โดยที่ 1 = สารสกัดผลแห้งเจือจาง 1:10, 2 = สารสกัดผลแห้งเจือจาง 1:100, 3 = สารสกัดผลแห้งเจือจาง 1:1000, 4 = สารสกัดผลสดเจือจาง 1:10, 5 = สารสกัดผลสดเจือจาง 1:100 และ 6 = สารสกัดผลสดเจือจาง 1:1000 ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่เวลา 5 นาที เทียบกับเวลา 0 นาที สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดที่ความเข้มข้น 1:100 มีค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสง 0.056 ซึ่งมากกว่าความเข้มข้น 1:10 ที่มีค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง 0.024 ในขณะที่ผลแห้ง 1:100 กลับมีค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง 0.026 ซึ่งน้อยกว่าความเข้มข้น 1:10 มีค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง 0.047 สรุปได้ว่าสารสกัดผลสดที่ความเข้มข้น 1:10 ยับยั้งไทโรซิเนสได้ดีกว่า 1:100 และสารสกัดผลแห้งที่ความเข้มข้น 1:100 ยับยั้งไทโรซิเนสได้ดีกว่า 1:10 เนื่องจากค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงยิ่งน้อยสามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้ดี

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่พบว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดเจือจาง 1:100 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด ( $310.60 \pm 11.57$  mg/L) รองลงมาคือ 1:1000 ( $272.75 \pm 51.02$  mg/L) และ 1:10 มีปริมาณสารแทนโทไซยานินน้อยที่สุด ( $236.73 \pm 13.23$  mg/L) ตามลำดับ และสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลแห้งเจือจาง 1:100 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด ( $50.65 \pm 14.20$  mg/L) รองลงมาคือ 1:1000 ( $27.83 \pm 48.21$  mg/L) และ 1:10 มีปริมาณสารแอนโทไซยานินน้อยที่สุด ( $19.43 \pm 2.76$  mg/L) ตามลำดับดังตารางที่ 2 คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2010 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $P < 0.05$ )

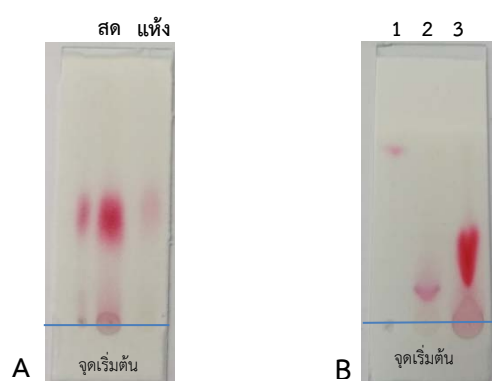
#### ตารางที่ 2 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างกัน



| ความเข้มข้นของ<br>สารสกัด | ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด |        |        | ปริมาณแอนโทไซยานิน<br>ทั้งหมดเฉลี่ย (mg/L) $\pm$ SD |
|---------------------------|------------------------------|--------|--------|---|
|                           | 1                            | 2      | 3      |   |
| สด 1:10                   | 227.10                       | 251.82 | 231.28 | 236.73 $\pm$ 13.23 <sup>b</sup>                     |
| สด 1:100                  | 317.28                       | 317.28 | 297.24 | 310.60 $\pm$ 11.57 <sup>c</sup>                     |
| สด 1:1000                 | 217.09                       | 317.28 | 283.88 | 272.75 $\pm$ 51.02 <sup>b,c</sup>                   |
| แห้ง 1:10                 | 16.70                        | 19.37  | 22.21  | 19.43 $\pm$ 2.76 <sup>a</sup>                       |
| แห้ง 1:100                | 66.80                        | 45.09  | 40.08  | 50.65 $\pm$ 14.20 <sup>a</sup>                      |
| แห้ง 1:1000               | 0.00                         | 0.00   | 83.49  | 27.83 $\pm$ 48.21 <sup>a</sup>                      |

หมายเหตุ : a, b, c, d, เป็นค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) โดยเปรียบเทียบชุดข้อมูลที่ตัวแปรเดียวกัน, ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการตรวจสอบการแยกสารจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี TLC พบว่าทั้งผลสดและผลแห้งที่ชะด้วยระบบ EFW (ภาพ A) มี 1 แถบ มีค่า  $R_f$  คือ 0.36 และ 0.42 แต่เมื่อนำสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดเทียบกับสารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์และสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (ภาพ B) พบว่ามี 1 แถบเช่นกัน โดยมีค่า  $R_f$  คือ 0.36, 0.90 และ 0.17



ภาพที่ 2 ผลการตรวจสอบการแยกสารจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี TLC

(A) เปรียบเทียบระหว่างมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดและผลแห้ง (B) เปรียบเทียบสารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์, กระเจี๊ยบแดง และมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยที่ 1 = ไซยานิดินคลอไรด์, 2 = กระเจี๊ยบแดง และ 3 = มะม่วงหาวมะนาวโห่

### วิจารณ์ผลการศึกษา

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่เจือจาง 1:100 พบว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสดมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าผลแห้ง เนื่องจากในผลสดมีปริมาณน้ำมากกว่าผลแห้งและตัวทำละลายเมทานอลมีขั้วต่ำจึงทำให้ทำลายผนังเซลล์ของพืช

ซึ่งส่วนใหญ่จะไม่มีขั้ว เมื่อผนังเซลล์แตกออกทำให้สารจำพวกฟีนอลิกรวมถึงแอนโทไซยานินสามารถออกมาจากเซลล์ของเนื้อมะม่วงหาวมะนาวโห่ละลายอยู่ในตัวทำละลายได้มากขึ้น (สุภาพร และ ศิริประภา, 2560) รวมถึงสมบัติการมีขั้วของน้ำจึงช่วยในการละลายสารได้ดีทำให้เมื่อสกัดสารออกมาแล้วมีปริมาณสารฟีนอลิกในผลสดมากกว่าในผลแห้ง

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในมะม่วงหาวมะนาวโห่พบว่าสารสกัดจากผลสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผลแห้ง แต่ทั้งนี้ในสารสกัดจากผลสดและผลแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน BHT โดยสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อมีปริมาณสารฟีนอลิกมากเป็นผลให้มีแนวโน้มของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นไปด้วยซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (วชิราภรณ์ และคณะ, 2556) ได้ทำการวิเคราะห์อทธิพลของระยะเวลาสุกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่าผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะสุกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสด ที่ความเข้มข้น 1:10 มีค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า 1:100 แสดงว่าเอนไซม์ไทโรซิเนสถูกยับยั้ง สารสกัดทำงานได้ดีจึงมีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำ ในขณะที่สารสกัดในผลแห้ง 1:100 กลับมีค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า 1:10 แสดงว่าผลแห้ง 1:100 มีฤทธิ์ในการยับยั้งไทโรซิเนสได้ดีกว่า 1:10

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งในผลสดและผลแห้งต่างมีปริมาณแอนโทไซยานินที่สูงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (สกุลกานต์, 2556) พบว่าเมื่อผลมีระยะการสุกเพิ่มมากขึ้น ผลจะมีสีเข้มขึ้น ความเป็นสีแดงลดลง มีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มมากขึ้น

การทดสอบ TLC เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ สารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์และกระเจี๊ยบแดง จะเห็นได้ว่าสารมาตรฐานไซยานิดินคลอไรด์มีระยะทางในการเคลื่อนที่สูงที่สุด เนื่องจากไซยานิดินไม่มีโมเลกุลของน้ำตาลทำให้เคลื่อนที่ได้เร็ว รองลงมาเป็นสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ซึ่งมีโมเลกุลของน้ำตาลมาเชื่อม 1 โมเลกุล (Cyanidin-3-galactoside) จึงเคลื่อนที่ได้ดีกว่ากระเจี๊ยบแดงซึ่งมีโมเลกุลของน้ำตาลมาเชื่อม 2 โมเลกุล (Sarkar *et al.*, 2018)

### สรุปผลการศึกษา

มะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสุกทั้งผลสดและผลแห้งมีปริมาณฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณแอนโทไซยานินอยู่มาก ส่วนฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมีอยู่บ้างเล็กน้อย ในภาพรวมผลสดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าผลแห้ง ดังนั้นการนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ไปใช้ประโยชน์จึงควรเลือกผลสดมากกว่าผลแห้ง มะม่วงหาวมะนาวโห่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ และ ฝ่ายกิจการนิสิต คณะศิลปศาสตร์และ  
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความสนับสนุนทุนการทำวิจัย  
และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีวเคมีที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- ณพัฐอร บัวฉวน. 2561.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้  
โห่. **วารสารวิจัยและพัฒนาโดยลงกรรมในพระบรมราชูปถัมภ์** 13(2): 53-63.
- วชิราภรณ์ ผิวล่อง, สุรศักดิ์ สัจจบุต, ศิริลักษณ์ สิงห์เพชร และจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ. 2556. อิทธิพล  
ของระยะเวลาสุกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงหาวมะนาวโห่. **ว.วิทยาศาสตร์  
เกษตร**. 44(2): 337-340.
- สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และพัชรี สิริตระกูลศักดิ์. 2556. การประเมินปริมาณสารฟลาโวนอยด์  
เคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน *Carissa carandas* L. **แก่น  
เกษตร** 41(1): 602-606.
- สกุลกานต์ สิมลา. 2559. มะนาวโห่: พืชในวรรณคดีไทยที่มากมายด้วยประโยชน์. **แก่นเกษตร** 44(3):  
557-566.
- สุภาพร พักเงิน และ ศิริประภา มีรอด. 2560. การสกัดแยกหาปริมาณแอนโทไซยานินจากลูกมะม่วง  
หาว มะนาวโห่, น. 1002-1011. ใน **รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ  
ครั้งที่4**. สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร, กำแพงเพชร.
- Andrica, F.M., G.A. Draghici, C. Soica, I. Pinzaru, D. Coricovac, C. Citu and C. Dehelean.  
2016. Antioxidant Activity Assessment of Ethanolic Spirulina Extracts. **Revista  
de Chimie-Bucharest** 67(2): 289-290.
- Arif, M., M. Kamal, T. Jawaid, M. Khalid, K.S. Saini, A. Kumar and M. Ahmad. 2016.  
*Carissa carandas* Linn. (Karonda): An exotic minor plant fruit with immense  
value in nutraceutical and pharmaceutical industries. **Asian Journal of  
Biomedical and Pharmaceutical Sciences** 6(58): 14-19.
- Bhadane, B.S. and R.H. Patil. 2017. Isolation, purification and characterization of  
antioxidative steroid derivative from methanolic extract of *Carissa carandas*  
(L.) leaves. **Biocat Agri Biotechnol.** 10: 216-223.
- El-desoky, A.H., R.F. A-Rahman, O.K. Ahmed and H.S. El-Beltagi. 2018. Anti-  
inflammatory and antioxidant activities of naringin isolated from *Carissa  
carandas* L.: *In vitro* and *in vivo* evidence. **Phytomedicine** 42: 126-134.
- Itankar, P.R., S.J. Lokhande, P.R. Verma, S.K. Arora, R.A. Sahu and A.T. Patil. 2011.  
Antidiabetic potential of unripe *Carissa carandas* Linn. Fruit extract. **J.  
Ethnopharmacology.** 135: 430-433.

- Neagu, E., G.L. Radu, C. Albu and G. Paun. 2016. Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium umbellatum* extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences** 25(3): 578-585.
- Sarkar, R., A. Kundu, K. Banerjee and S. Saha. 2018. Anthocyanin composition and potential bioactivity of karonda (*Carissa carandas* L.) fruit: An Indian source of biocolorant. **Food Science and Technology** 93: 673-678.
- Sherma, J. 2000. Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis. **Journal of Chromatography A** 880(1-2): 129-147.
- Siddiqi, R., S. Naz, S. Ahmad and S.A. Sayeed. 2011. Antimicrobial activity of the polyphenolic fractions derived from *Grewia asiatica*, *Eugenia jambolana* and *Carissa carandas*. **International Journal of Food Science & Technology** 46(2): 250-256.
- Singh, B. and P. Sangwan. 2011. Taxonomy, Ethnobotany and Antimicrobial Activity of *Alstonia scholaris* (L.) R. Br., *Carissa carandas* L. and *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **International Journal of Biotechnology and Biosciences** 1(1): 102-112.
- Wu, L.C., H.W. HSU, Y.C. Chen, C.C. Chiu, Y.I. Lin and J.A.A. Ho. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry** 95: 319-327.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
สารเคมีและวิธีการเตรียมสาร

**สารเคมี**

1. Folin-Ciocalteu (FC) reagents
2. Gallic acid
3. Methanol
4. Sodium carbonate
5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
6. Butylated hydroxytoluene (BHT)
7. Disodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
8. Sodium biphosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
9. Kojic acid
10. L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)
11. Mushroom tyrosinase
12. ethyl acetate
13. formic acid

**การเจือจางสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่**

1. ดูดสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองจากนั้นเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร (เจือจาง 1:10)
2. จากนั้นดูดสารสกัดที่เจือจางแล้ว 1:10 จากข้อที่ 1 มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง และเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร (เจือจาง 1:100)
3. จากนั้นดูดสารสกัดที่เจือจางแล้ว 1:100 จากข้อที่ 2 มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองและเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร (เจือจาง 1:1000)

**ตารางผนวกที่ ก1 การเตรียม butylated hydroxytoluene (BHT)**

| ความเข้มข้น (µg/ml) | BHT 100 µg/100ml<br>(ml) | เมทานอล (ml) |
|---------------------|--------------------------|--------------|
| 0                   | 0                        | 10           |
| 20                  | 2                        | 8            |
| 40                  | 4                        | 6            |
| 60                  | 6                        | 4            |
| 80                  | 8                        | 2            |
| 100                 | 10                       | 0            |

**ตารางผนวกที่ ก2 การเตรียมสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) เตรียมสารละลายเข้มข้นที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร**

| ความเข้มข้น (mg/L) | Gallic acid 100 mg/L<br>(ml) | น้ำกลั่น (ml) |
|--------------------|------------------------------|---------------|
| 0                  | 0                            | 10            |
| 20                 | 2                            | 8             |
| 40                 | 4                            | 6             |
| 60                 | 6                            | 4             |
| 80                 | 8                            | 2             |
| 100                | 10                           | 0             |



ภาคผนวก ข  
วิธีการทดลองและผลการทดลอง

### วิธีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

- นำสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างละ 1 ml ผสมกับ Folin-Ciocalteu (FC) 10% ปริมาตร 1 ml
- ตามด้วย 7.5% Sodium carbonate ปริมาตร 4 ml และเติมน้ำกลั่น 10 ml ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- หลังจากนั้นวัดการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Visible spectrophotometer ทำการทดสอบตัวอย่างละสามซ้ำ

### วิธีการวิเคราะห์ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ

- นำสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ใส่หลอดทดลองอย่างละ 1 ml จากนั้นเติมเมทานอลตัวอย่างละ 3 ml
- ตามด้วย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 1 mmol/L ปริมาตร 0.5 ml แล้วเขย่าสารให้เข้ากัน
- จากนั้นบ่มตัวอย่าง 20 นาที ในที่มืด และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm การวัดทั้งหมดจะทำสามซ้ำ โดยเทียบกับ BHT เป็นสารมาตรฐาน

**สูตรการคำนวณ** เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity, RSA%) โดยคำนวณดังนี้

$$(RSA, \%) = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

เมื่อ  $A_{\text{control}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

$A_{\text{sample}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกันกับสารละลาย DPPH

### สูตรการคำนวณค่า $R_f$

$R_f$  = ระยะทางที่สารเคมีเคลื่อนที่ (cm) / ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (cm)

### วิธีการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

- ขั้นแรกเติมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 12 ยูนิตต่อ 100  $\mu$ l ปริมาตร 500  $\mu$ l
- จากนั้นเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ปริมาตร 100  $\mu$ l ตามด้วยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M พีเอช 6.8 ปริมาตร 4 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
- จากนั้นเติมสารละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) ความเข้มข้น 2.5 mM ปริมาตร 200  $\mu$ l วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 5 10 และ 15 นาที โดยใช้ kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

### วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

-ปิเปตสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลอดทดลองปริมาตร 2 ml จากนั้นเติมโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ พีเอช 1.0 ปริมาตร 2 ml ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

-ปิเปตสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลอดทดลองปริมาตร 2 ml จากนั้นเติมโซเดียมอะซีเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 2 ml ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

-จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank

**สูตรการคำนวณ ปริมาณแอนโทไซยานิน**

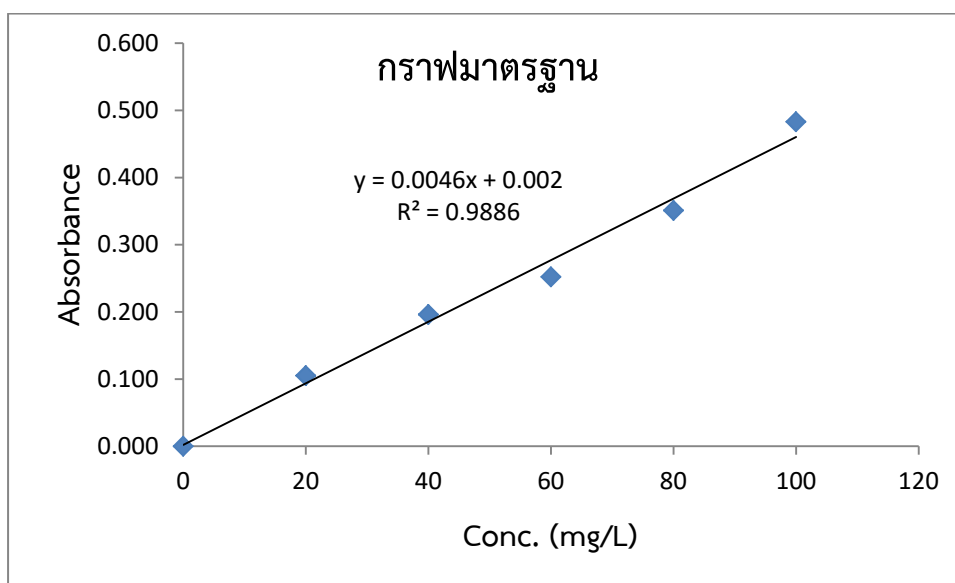
$$\text{Monomeric anthocyanin pigment (mg/l)} = (A_{\text{diff}} \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / \epsilon$$

โดย MW = molecular weight of cyaniding-3-glucoside, 449.2 กรัม/โมล

DF = อัตราการเจือจาง

$\epsilon$  = molar absorptivity of cyaniding-3-glucoside, 26,900  $\text{L/mol}\cdot\text{cm}$

$$A_{\text{diff}} = [A_{520} - A_{700}]_{\text{pH } 1.0} - [A_{520} - A_{700}]_{\text{pH } 4.5}$$

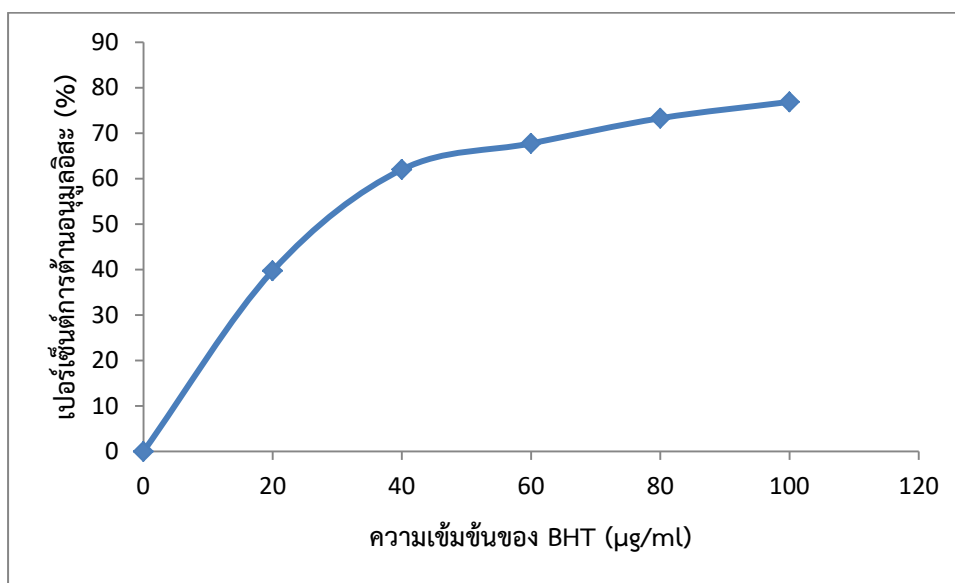


ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid)

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างกัน

| สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ | ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ |       |       | ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย ( mg GAE/g ) ± SD |
|----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|
|                            | 1                        | 2     | 3     |  |
| สด 1:10                    | 62.01                    | 65.71 | 64.17 | 63.96 ± 1.86 <sup>c</sup>                        |
| สด 1:100                   | 91.07                    | 90.35 | 88.91 | 90.11 ± 1.10 <sup>d</sup>                        |
| สด 1:1000                  | 20.43                    | 36.86 | 23.72 | 27 ± 8.69 <sup>b</sup>                           |
| แห้ง 1:10                  | 87.47                    | 87.68 | 88.30 | 87.82 ± 0.43 <sup>d</sup>                        |
| แห้ง 1:100                 | 62.42                    | 70.12 | 41.38 | 57.97 ± 14.88 <sup>c</sup>                       |
| แห้ง 1:1000                | 4.31                     | 4.52  | -1.44 | 2.46 ± 3.38 <sup>a</sup>                         |

หมายเหตุ คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยโปรแกรม Excel 2010 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)



ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย BHT

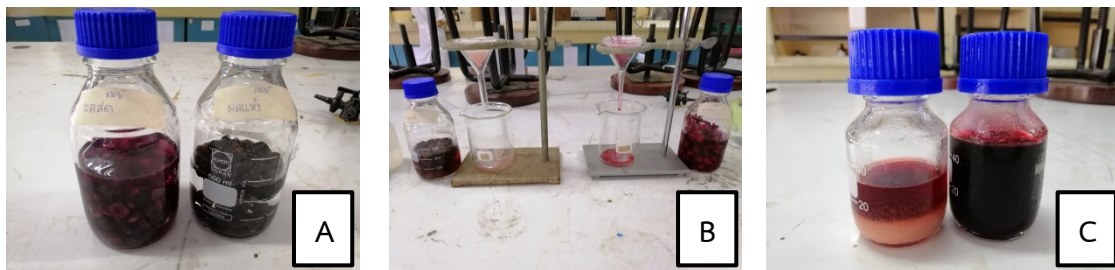
การวิเคราะห์หาความยาวคลื่นของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

-ได้ทำการวิเคราะห์หาช่วงความยาวคลื่นของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเครื่อง visible spectrophotometer พบว่ามีความยาวคลื่นที่ 506 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค  
ภาพการทดลอง



ภาพผนวกที่ ค1 มะม่วงหาวมะนาวโห่สุก (A) ผลสด และ (B) ผลแห้ง



ภาพผนวกที่ ค2 การเตรียมสารสกัด (A) มะม่วงหาวมะนาวโห่สกัดในเมทานอลเป็นเวลา 1 สัปดาห์, (B) กรองสาร, (C) สารสกัดที่ระเหยตัวทำละลายออกแล้ว



ภาพผนวกที่ ค3 การเตรียมอุปกรณ์สำหรับ thin layer chromatography (A) การเตรียมแผ่น TLC และ (B) การชะด้วยตัวทำละลาย