



ฤทธิ์ของสารสกัดสะตอในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส

Inhibitory Effects of Stink Bean (*Parkia speciosa*) Extracts Against α -amylase and α -Glucosidase Activity

วนิดา ปานทอง¹, อรอนงค์ สมทรัพย์¹, เพ็ญพร สุจิตตนารัตน์^{1*}

Wanita Pantong¹, On-Anong Somsap¹, Penporn Sujiwattanasat^{1*}

(Received: April 30, 2024; Revised: August 6, 2024; Accepted: August 29, 2024)

บทคัดย่อ

สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk) พืชที่นิยมในพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนใต้ของประเทศไทย สารสกัดจากผลสะตอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของสะตอต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดสยังไม่แพร่หลาย ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดมีบทบาทสำคัญต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่งผลต่อการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ดังนั้นในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลสะตอด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยวิธี 50 % เอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุดร้อยละ 96.65 ± 6.58 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งยับยั้งได้ดีกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนู พบว่าสารสกัดจากผลสะตอมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ได้น้อย การทดสอบเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสารสกัดด้วยวิธี 100 % เอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ดีที่สุดร้อยละ 27.67 ± 2.38 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

¹คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Medicine, Princess of Naradhiwas University

*Corresponding Author: penporn.s@pnu.ac.th



ฤทธิ์ของสารสกัดจากผลสะตอสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดได้ งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนเพื่อการวิจัยทางด้านอาหารเสริม และส่งเสริมการบริโภคในรูปแบบแพทย์ทางเลือก พร้อมทั้งการป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้

คำสำคัญ: แอลฟาอะไมเลส, แอลฟาไกลูโคซิเดส, สารสกัดสะตอ, การยับยั้งเอนไซม์

Abstract

Sator (*Parkia speciosa* Hassk) is the favorite plant in the 3 southern border provinces of Thailand. The sator extracts indicated the presence of antioxidants, antimicrobials and inhibition of cancer cells. However, the previous study of inhibition of α -amylase and α -glucosidase activity has not been reported. Both enzymes play an importance role of decreasing blood glucose levels resulting in amelioration of non-communication chronic diseases (NCDs). Therefore, this study focused on 4 distinct extraction methods. The results showed that the 50% ethanol extraction is the most ability to inhibit the α -amylase at 96.65 ± 6.58 % and IC_{50} at 0.42 mg/ml. The fifty percentage of ethanol extraction is a better inhibitor than acarbose for the α -amylase ($p < 0.05$). To investigate the preference of the α -glucosidase from intestinal rat inhibition, these extracts had less α -glucosidase inhibitory activity. The result of α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* was found to be most inhibition by 100 % ethanol extraction of 27.67 ± 2.38 % at the enzyme concentration of 0.25 mg/ml compared with the acarbose significantly ($p < 0.05$). The sator extracts have been able to inhibit both α -amylase and α -glucosidase activity. The data from this study can be used as supporting knowledge for further research in supplemental food and complementary medicine including prevention of NCDs.

Keywords: α -amylase, α -glucosidase, *Parkia speciosa* (Sator) extract, Enzyme inhibition

บทนำ

สะตอ (*Parkia speciosa* Hassk) ชื่อสามัญ stink bean เป็นไม้ยืนต้นในวงศ์ Leguminosae วงศ์ Mimosaceae อยู่ในสกุล (genus) *Parkia* ชนิด (species) *Speciosa* พบมากในแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ (Rozaq & Sofriani, 2009; Samuel et al., 2010) และแถบทางภาคใต้ของประเทศไทย รวมทั้งพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนใต้ สะตอจัดเป็นพืชประจำถิ่นทางภาคใต้และเป็นที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลาย (Manoon, 1988) ผลของสะตอมีคุณค่าทางอาหาร



ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เมื่อเทียบกับผักชนิดอื่นพบว่าสะอาดจัดเป็นแหล่งสำคัญของสารอาหารพวกเกลือแร่ เช่น แคลเซียม โพแทสเซียม วิตามินซี และวิตามินอี (Kamisah et al., 2013) จากการศึกษาสารสกัดของผลสะอาดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท คือ 100 % เอทานอล 50 % เอทานอล ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีการต้ม และตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีไมโครเวฟ พบสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่สำคัญ ได้แก่ โพลีฟีนอล (polyphenol) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียประเภทแกรมบวก เช่น Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Salmonella typhi* อีกทั้งสารสกัดจากสะอาดมีระดับการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่แตกต่างกันและมีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์ปกติ 2 ชนิด คือ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (human dermal fibroblasts cells; HDF) (ATCC PCS-201-012) และเซลล์ท่อน้ำดี (immortalized human cholangiocyte cells; MMNK-1) (Pantong et al., 2024) จากผลการศึกษาดังกล่าวเห็นถึงประโยชน์ คุณค่าทางอาหาร และคุณค่าทางสมุนไพร สามารถนำสะอาดมารับประทานเพื่อส่งเสริมสุขภาพได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการรับประทานสะอาดเพื่อเป็นการรักษาโรคขั้นพื้นฐานได้ เช่น อาการของโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ความผิดปกติของไต และอาการปวดหัว เป็นต้น (Sungkhachart, 2019) เนื่องจากในยุคปัจจุบันวิถีชีวิตแบบแผนการบริโภคอาหารของคนไทยเปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก ส่งผลให้คนไทยเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรังสูง (non-communication chronic diseases (NCDs)) เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง ซึ่งโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเป็นปัญหาสุขภาพที่กำลังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกพื้นที่ทั้งในระดับโลกและระดับประเทศ (Kamjanapiboonwong, 2020) ในขณะที่จังหวัดนราธิวาสมีการรายงานอัตราการเสียชีวิตของประชากรในปี 2565 ด้วยโรคความดันโลหิตสูงซึ่งสูงที่สุดคิดเฉลี่ย 59 ราย เมื่อเทียบกับโรคอื่น ๆ (Narathiwat Provincial Statistical Office, 2023) วิธีการรักษาโดยทั่วไปใช้วิธีการรับประทานยาหรือในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อโรคจะเป็นการแนะนำการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์และมีคุณค่าทางโภชนาการร่วมกับการออกกำลังกาย ดังนั้นทางเลือกใหม่สำหรับพืชสมุนไพรหรือสารสกัดธรรมชาติจากพืช เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะช่วยในการเลือกรับประทานอาหารที่ดีต่อผู้บริโภคเพื่อลดปัญหาการเกิดโรคต่าง ๆ และลดความเสี่ยงต่ออาการไม่พึงประสงค์จากการรับประทานยาเป็นระยะเวลานาน (Azliza et al., 2012)

เนื่องจากผลของสะอาดมีสารสำคัญที่มีประโยชน์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเซลล์มะเร็ง มีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์ปกติ 2 ชนิด คือ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (human dermal fibroblasts cells; HDF) (ATCC PCS-201-012) และเซลล์ท่อน้ำดี (immortalized human cholangiocyte cells; MMNK-1) (Pantong et al., 2024) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาสารสกัดของผลสะอาดที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ได้แก่ 100 % เอทานอล 50 % เอทานอล ตัวทำละลายน้ำด้วย



วิธีการต้ม และตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีไมโครเวฟ (Pantong et al., 2024) เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucose) หากสารสกัดจากผลสะตอสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ได้ จะช่วยให้การดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดลดลงและลดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง ส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรังลดน้อยลง (Laya et al., 2022) จากนั้นเปรียบเทียบผลการยับยั้งจากการสกัดสารแต่ละวิธี เพื่อหาวิธีการสกัดที่ดีที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด แนวทางการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับวิธีการสกัดสารสกัดหยาบที่มีอยู่ในผลสะตอต่อฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มข้อมูลสู่การพัฒนาสารสกัดในรูปแบบต่าง ๆ และคุณสมบัติของสะตอ อีกทั้งเป็นแนวทางในการส่งเสริมการบริโภคในรูปแบบแพทย์ทางเลือกเพื่อป้องกันการเกิดโรคที่ไม่ติดต่อเรื้อรัง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ของสารสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) จากลำไ้หนุ และ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท

วิธีการวิจัย

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase from *Aspergillus oryzae*) เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (rat-intestinal acetone powder) อะคาร์โบส (acarbose) จากบริษัท Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) พารา-ไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (p-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) จากบริษัท Merck ประเทศ Germany



วิธีการสกัดผลสะตอ

ผู้วิจัยนำผลสะตอมาจากพื้นที่ของจังหวัดนราธิวาส ในช่วงเดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2565 โดยนำผลสะตอปลอกเปลือกล้างด้วยน้ำสะอาดพักไว้ให้แห้งเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิทเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ชั่งผงของผลสะตอที่ได้ 10 กรัม นำมาสกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท คือ 1) 100 % เอทานอล (100 % ethanol) ละลายผงสะตอในเอทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร 2) 50 % เอทานอล (50 % ethanol) ละลายผงสะตอในเอทานอลกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 25:25 มิลลิลิตร 3) ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีการต้ม (boiling water) ละลายผงสะตอในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และ 4) ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีไมโครเวฟ (microwave-assisted water) ละลายผงสะตอในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำเข้าไมโครเวฟที่ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที พักให้เย็นลง 10 นาที จากนั้นนำเข้าไมโครเวฟต่อที่ กำลังไฟฟ้า 750 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ทั้ง 4 ประเภท ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 rpm 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง เก็บส่วนสารละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Pantong et al., 2024)

การหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) และแอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) ที่เหมาะสม

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำโดยเตรียมสารสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยการละลายใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 จากนั้นปิเปตมาปริมาตร 40 ไมโครลิตร ทำการเจือจางเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ให้มีความเข้มข้น 0.25 0.5 1 2 และ 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปิเปตมาปริมาตร 4.0 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายแป้งข้าวโพดร้อยละ 1 (ละลายอยู่ใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย 1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (Luyen et al., 2013; Chalopagorn & Klomsakul, 2017)

เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ทดสอบในงานวิจัยนี้มี 2 ชนิด คือ แอลฟาไกลูโคซิเดสที่มาจาก ลำไ้หนุ และแอลฟาไกลูโคซิเดสที่มาจาก *Saccharomyces cerevisiae* การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนุ ทำโดยชั่ง rat-intestinal acetone powder ปริมาณ 5 กรัม ละลายใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.9 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปกวนที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะได้สารละลายที่มีเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเข้มข้น 36 มิลลียูนิตต่อ



มิลลิลิตร (Connolly et al., 2014) จากนั้นทำการเจือจางเอนไซม์ให้มีความเข้มข้น 1.125 2.25 4.5 9 และ 18 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร สำหรับการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* ทำโดยเจือจางเอนไซม์ให้มีความเข้มข้น 13.75 27.5 55 110 และ 220 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร ในงานวิจัยนี้จะทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยวิธี para-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Connolly et al. (2014) เริ่มต้นด้วยการเติมสารสกัด ผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท แต่ละประเภทจะมีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตเอนไซม์มา 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลาย 5 มิลลิโมลาร์ พารา-ไนโตรฟีนิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (p-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด (% Inhibition) ด้วยสูตร $[(A-B)/A] \times 100$ เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารสกัดจากผลสะตอ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารสกัดจากผลสะตอ

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase)

ทำการเจือจางสารละลายสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ให้มีความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตมา 40 ไมโครลิตร เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายแป้งข้าวโพดร้อยละ 1 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย 1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (% Inhibition) ด้วยสูตร $[(A-B)/A] \times 100$ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน อะคาร์โบส (Acarbose) ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase) จากลำไ้หนู และ *Saccharomyces cerevisiae*

ทำการเจือจางสารละลายสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ให้มีความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตมา 40 ไมโครลิตร เติมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนูความเข้มข้น 1.125 และ 2.25 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร หรือเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* ที่ความเข้มข้น 27.5 และ 55 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40



ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลาย 5 มิลลิโมลาร์ พารา-ไนโตรฟีนอล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร คำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (% Inhibition) ด้วยสูตร $[(A-B)/A] \times 100$ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส (Acarbose)

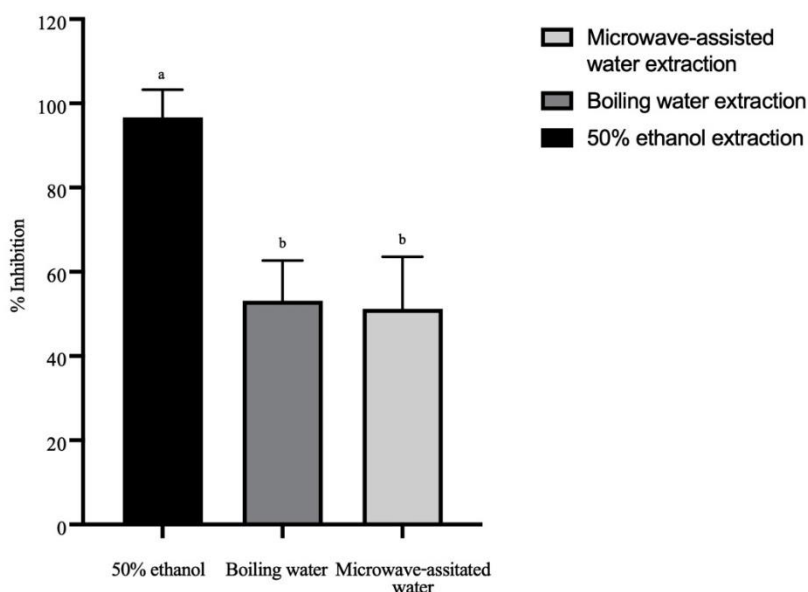
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โครงการงานวิจัยนี้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับทุกชุดการทดลอง การคำนวณค่าทางสถิติ (ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยการวิเคราะห์ผลทางสถิติใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Graph Pad Prism Ver.10 ด้วยวิธี One-Way ANOVA (One-Way Analysis of Variance) Two-Way ANOVA และ t-test (Independent Sample t – test) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

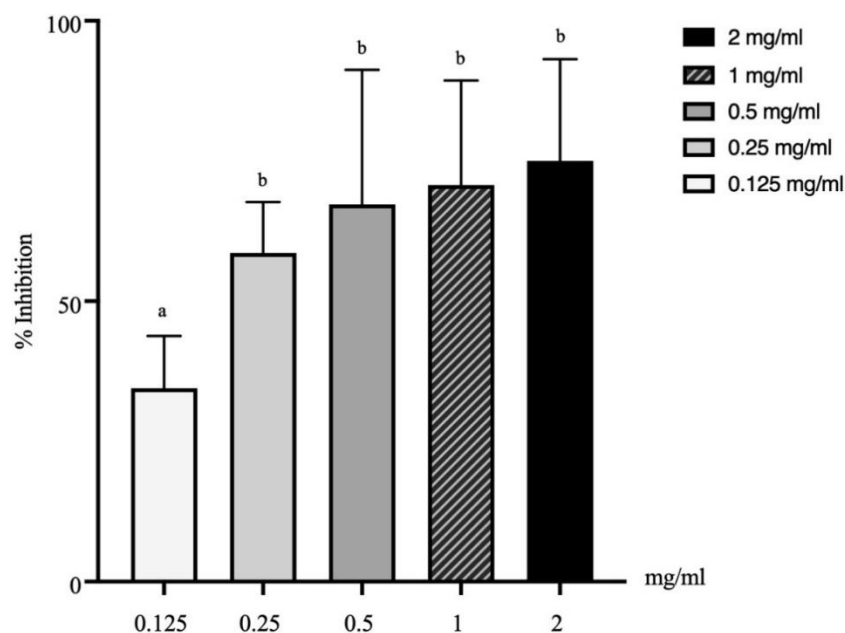
การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

จากการทดลองหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยมีความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 0.25 0.5 1 2 และ 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลสะต่อที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่สารสกัดด้วยวิธี 50 % เอทานอล ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีการต้มและตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีด้วยวิธีไมโครเวฟสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เท่ากับร้อยละ 96.65 ± 6.58 53.11 ± 9.56 51.20 ± 12.38 ตามลำดับ ซึ่งวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม One-Way ANOVA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม t-test พบว่าสารสกัดด้วยวิธี 50 % เอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีการต้มและไมโครเวฟอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดังภาพที่ 1 สำหรับสารสกัดด้วยวิธี 100 % เอทานอลไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ เลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มาทำการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำการเจือจางสารสกัดผลสะต่อที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภทให้มีความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 1 แสดงร้อยละการยับยั้งของสารสกัดทั้ง 3 วิธี โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่ม a กับกลุ่ม b มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสพบว่าสารสกัดจาก 50 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุด คิดเป็น ร้อยละ 75 ± 18.16 แสดงดังภาพที่ 2 และยับยั้งปฏิกิริยาได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อพิจารณาสารสกัดจาก 50 % เอทานอลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอะคาร์โบสสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้เพียงร้อยละ 5.17 ± 2.99 และ 2.16 ± 1.83 แสดงดังตารางที่ 1



ภาพที่ 2 แสดงร้อยละการยับยั้งของสารสกัด 50 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่ม a กับกลุ่ม b มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 1 แสดงร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเปรียบเทียบระหว่างอะคาร์โบสและสารสกัด 50 % เอทานอล

สาร	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	0.125	0.25	0.5	1
อะคาร์โบส	NA	NA	5.17 ± 2.99^{aA}	2.16 ± 1.83^{aA}
50% เอทานอล	34.48 ± 9.08^{aB}	58.62 ± 9.08^{aB}	67.24 ± 24.04^{bC}	70.69 ± 18.65^{bC}

^{abc} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

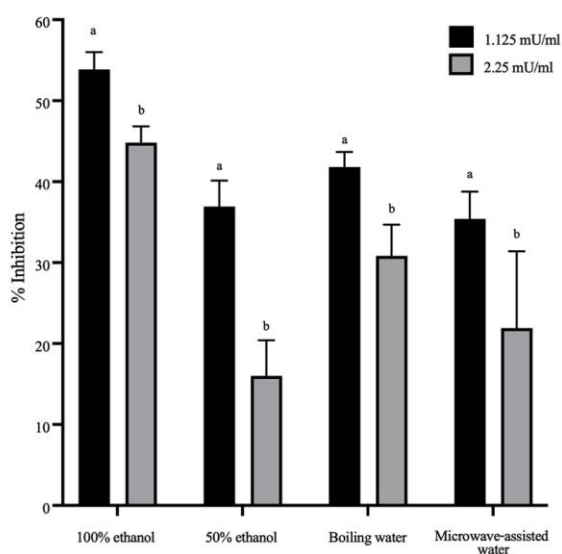
^{ABC} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

NA ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

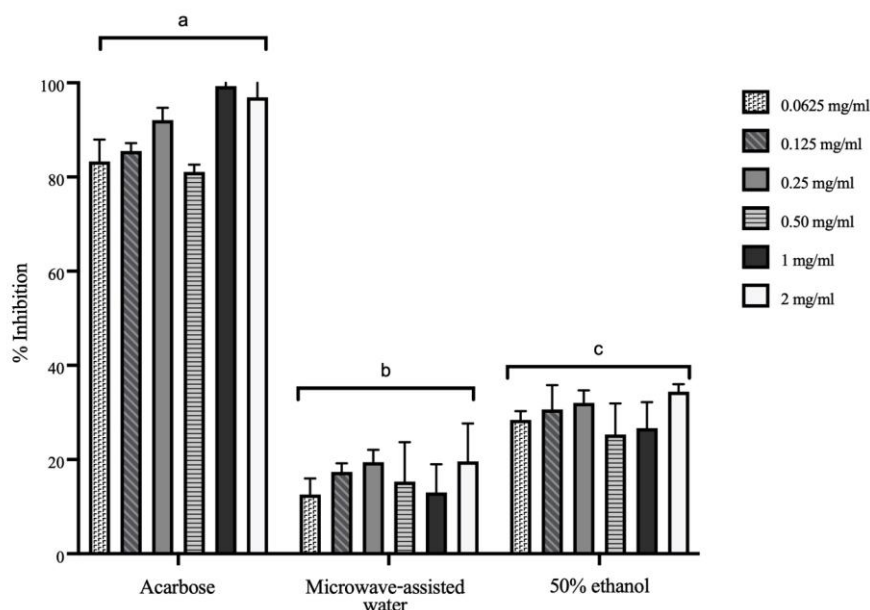


การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนู

จากการทดลองหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนูโดยมีความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 1.125 2.25 4.5 9 และ 18 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลสะท้อนที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดทั้ง 4 ประเภทสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ที่มีความเข้มข้น 1.125 และ 2.25 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่สามารถยับยั้งดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1.125 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดังภาพที่ 3 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นดังกล่าวเพื่อศึกษาฤทธิ์ของการยับยั้งเอนไซม์ต่อไป โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลสะท้อนที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภทให้มีความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุด (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดตัวทำละลายน้ำด้วยไมโครเวฟ และ 50 % เอทานอล สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 1.125 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เท่ากับร้อยละ 18.59 ± 6.35 และ 34.42 ± 1.58 ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานอาคาร์โบส (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าสารมาตรฐานสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่า คิดเป็นร้อยละ 96.90 ± 4.51 ซึ่งวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม TWO - Way ANOVA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 3 แสดงร้อยละการยับยั้งของสารสกัดทั้ง 4 ประเภทที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยใช้เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนูที่ความเข้มข้น 1.125 และ 2.25 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่ม a กับกลุ่ม b มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4 แสดงร้อยละการยับยั้งของสารอาคาร์โบส สารสกัดตัวทำละลายน้ำด้วยไมโครเวฟ และสารสกัด 50 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้หนูที่ความเข้มข้น 1.125 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่ม a กับกลุ่ม b และกลุ่ม a กับกลุ่ม c และข้อมูลกลุ่ม b และกลุ่ม c มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *Saccharomyces cerevisiae*

จากการทดลองหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 13.75 27.5 55 110 และ 220 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลสะต่อที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัด 100 % เอทานอล สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ที่มีความเข้มข้น 27.5 และ 55 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม t-test ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นทั้งสองเพื่อศึกษาร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ต่อไป สำหรับสารสกัดด้วยวิธี 50 % เอทานอล ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีการต้มและตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีด้วยวิธีไมโครเวฟไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดผลสะต่อที่สกัดด้วย 100 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 0.0625 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 55 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เท่ากับร้อยละ 18.29 ± 2.81 23.05 ± 6.62 และ 27.67 ± 2.38



ตามลำดับ และสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบสที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม One - Way ANOVA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* เปรียบเทียบระหว่างอะคาร์โบสและสารสกัด 100 % เอทานอล

สาร	ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก <i>S. cerevisiae</i> ที่ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	0.0625	0.125	0.25
อะคาร์โบส	4.38 ± 5.25^{aA}	2.90 ± 2.64^{aA}	5.62 ± 5.97^{aA}
100 % เอทานอล	18.29 ± 2.81^{bB}	23.05 ± 6.62^{bB}	27.67 ± 2.38^{bB}

^{abc} ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

^{ABC} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

อภิปรายผล

การศึกษาสารสกัดของผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ได้แก่ 100% เอทานอล 50 % เอทานอล ตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีต้ม และตัวทำละลายน้ำด้วยวิธีไมโครเวฟ พบว่าการสกัดด้วยวิธี 50 % เอทานอล มีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic) และสารต้านอนุมูลอิสระ ในปริมาณมากที่สุด อีกทั้งยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และเซลล์มะเร็งได้ โดยพบมีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์ปกติ (Pantong et al., 2024) ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้สนใจศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งของสารสกัดผลสะตอต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาไกลูโคซิเดส ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่งผลต่อการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง จากการทดลองหาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลสะตอที่สกัดด้วยวิธีการสกัด 4 ประเภท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดด้วยวิธี 50% เอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีที่สุดร้อยละ 96.65 ± 6.58 เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยวิธีอื่นและมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัด 50 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ร้อยละ 70.69 ± 18.65 เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานอะคาร์โบส (2.16 ± 1.83) อย่าง



มีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับพืชในวงศ์ถั่ว (Mimosaceae) คือ กระถิน พบว่าสารสกัดจากกระถินด้วย 100 % เอทานอล ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่าการยับยั้งเอนไซม์การทำงานของเอนไซม์ IC_{25} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความสอดคล้องกันในพืชวงศ์ถั่ว โดยพบมีสารประกอบฟีนอลิกที่สูงเช่นเดียวกับสารสกัดจากผลสะตอ (Sangchan, 2018)

การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนุ พบว่าอะคาร์โบสสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ดีกว่าสารสกัดจากผลสะตอ การทดสอบเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* สารสกัดด้วยวิธี 100 % เอทานอลที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 55 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 27.67 ± 2.38 เมื่อเทียบกับอะคาร์โบสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากผลสะตอด้วย 100 % เอทานอล พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ร้อยละ 45.72 ± 5.67 (Tunsaringkarn et al., 2008) ในขณะที่สารสกัดของผลสะตอด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้เพียงร้อยละ 4.00 ± 3.75 (Tunsaringkarn et al., 2009) ซึ่งพบว่ามีความสอดคล้องกันเนื่องจากการสกัดด้วยเอทานอลให้ผลของสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำซึ่งให้ผลของสารสำคัญในปริมาณที่น้อยกว่า (Pantong et al., 2024)

สรุป

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดผลสะตอทั้ง 4 ประเภทต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนุ และ แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* พบว่า สารสกัดจากเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ได้ทั้ง 3 ประเภท โดย 50 % เอทานอล สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารมาตรฐานอะคาร์โบส ซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน ในขณะที่สำหรับเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไ้หนุ และ แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* สารสกัดสามารถยับยั้งได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่สารสกัดด้วยวิธี 100 % เอทานอลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจาก *S. cerevisiae* ได้ดีที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการพัฒนาการทำบริสุทธิ์ของสารสกัดทั้ง 4 ประเภท เพื่อหาชนิด และประเภทของสารที่มีความสำคัญ และควรมีการศึกษาในระดับสัตว์ทดลองต่อไป



2. ผลงานวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนเพื่อวิจัยทางด้านอาหารเสริม ในการส่งเสริมการบริโภคในรูปแบบแพทย์ทางเลือก และป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ต่อไปในอนาคต

รายการอ้างอิง (References)

- Azliza, M.A., Ong, H.C., Vikineswary, S., Noorlidah, A., & Haron, N.W. (2012). Ethno- Medicinal Resources Used by the Temuan in Ulu Kuang Village. *Ethno Medicine*, 6(1), 17 - 22. <http://doi.org/10.1080/09735070.2012.11886415>
- Chalopagorn, P., & Klomsakul, P. (2017). α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Ceasalpinia sappan, Ficus foveolata and Eurycoma longifolia Extracts. *Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)*, 12(1), 63 – 73. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/PRRJ_Scitech/article/view/67254
- Connolly, A., Piggott, C.O., & FitzGerald, R.J. (2014). In Vitro α -Glucosidase, Angiotensin Converting Enzyme and Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitory Properties of Brewers' spent Grain Protein Hydrolysates. *Food Research International*, 56, 100 - 107. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.021>
- Kamisah, Y., Othman, F., Qodriyah, H.M.S., & Jaarin, K. (2013). Parkia speciosa Hassk.: A Potential Phytomedicine. *Evid Based Complement Alternat Med*, 709028. <https://doi.org/10.1155/2013/709028>
- Karnjanapiboonwong, A. (2020). Situation of non-communicable diseases according to Thailand's 9 global goals. In Karnjanapiboonwong, A., Khamwangsanga, P., & Kaewtha, S. (Eds.), *Report on the NCDs disease situation diabetes, high blood pressure and related risk factors 2019* (pp. 15-31). PARBPIM Ltd.
- Laya, A., Koubala, B.B., & Negi, P.S. (2022). Antidiabetic (α -Amylase and α -Glucosidase) and Anti-Obesity (Lipase) Inhibitory Activities of Edible Cassava (Manihot esculenta Crantz) as Measured by In Vitro Gastrointestinal Digestion: Effects of Phenolics and Harvested Time. *International Journal of Food Properties*, 25, 492 - 508. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2050256>



- Luyen, N.T., Tram, L.H., Hanh, T.T.H., Binh, P.T., Dang, N.H., Minh, C.V., & Dat, N.T. (2013). Inhibitors of α -Glucosidase, α -Amylase and Lipase from *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochemistry Letters*, 6(3), 322 - 325. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.03.015>
- Manoon, S. (1988). *Sator*. Agricultural base Printing.
- Narathiwat Provincial Statistical Office. (2023). *Narathiwat Provincial Statistical*. Author
- Pantong, W., Somsap, O., Kamnate, A., Ekchaweng, K., Obchoei, S., & Saeheng, S. (2024). Analyzing the Antibacterial, Anticancer, and Antioxidant Qualities of the Stink Bean (*Parkia speciosa*) by Various Extraction Techniques. *Trends in Sciences*, 21(9), 7994. <https://doi.org/10.48048/tis.2024.7994>
- Rozaq, P., & Sofriani, N. (2009). Organic Pesticide from Urine and Spices Modification. *Asian Journal of Food and Agro-Industry, Special Issue*, 105 -111. <https://typeset.io/papers/organic-pesticide-from-urine-and-spices-modification-5bn4igqhlx>
- Samuel, A.J.S.J, Kalusalingam, A., Chellappan, D.K., Gopinath, R., Radhamani, S., Husain, H.A., & Promwichit, P. (2010). Ethnomedical Survey of Plants Used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 6, 1 - 5. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-6-5>
- Sangchan, A. (2018). *Inhibitory Effect of Thai Vegetable Extracts on Activity of Lipase, Alpha-Amylase, Trypsin and Alcohol Dehydrogenase* [Master's Thesis]. Burapha University. https://digital_collect.lib.buu.ac.th/dcms/files/56910052.pdf
- Sungkhachart, K. (2019) *Area-based and people-centered management of non- communication chronic disease*. PARBPIM Ltd.
- Tunsaringkarn, T., Rungsiyothin, A., & Ruangrunsi, N. (2008). α -Glucosidase Inhibitory Activity of Thai Mimosaceous Plant Extracts. *Journal of Health Research*, 22(1), 29 – 33. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/jhealthres/article/view/155555>
- Tunsaringkarn, T., Rungsiyothin, A., & Ruangrunsi, N. (2009). α -Glucosidase Inhibitory Activity of Water-Soluble Extract from Thai Mimosaceous Plants. *The Public Health Journal of Burapha University*, 4(2), 54 - 63. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/phjbuu/article/view/45607>