ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก

Relationship of Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content Affecting Antioxidant Activity of *Momordica subangulata* Bl. and *Lepionurus sylvestris* Bl.

ประกิต ไชยธาดา[1*] อัญญารัตน์ ล้ำเลิศ[1] ชารีน่า เกตุมุณี[1] และ ธวัชชัย คงนุ่ม[1]
Prakit Chaithada[1*], Unyarat Lamlert[1], Chareena Ketmunee[1] and Thawatchai Kongnoom[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก โดยนำใบและผลของแหมะและหมากหมกสกัดแบบซอกเลตในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท อะซิโตน และเอทานอล นำสารสกัดที่ได้ทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteau's reagent โดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม โดยใช้เคอร์ซิตินเป็นสารมาตรฐาน และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุดเท่ากับ 150.12±5.41 mgGAE/g extract และสารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมกมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุดเท่ากับ 0.27±0.00 mgQE/g extract การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมีค่า IC_{50} = 37.47±8.18 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก (38.53±1.51 มิลลิกรัมต่อลิตร) สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก (48.17±3.41 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตามลำดับ และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าทั้งปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 โดยปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์มากกว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเล็กน้อยด้วยค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันเท่ากับ -0.779 และ -0.755 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
[*] Corresponding author e-mail: prakit_cha@nstru.ac.th

Received: 17 September 2019, Revised: 24 December 2019, Accepted: 26 December 2019

Abstract

This research is aimed to study the relationship of total phenolic content and total flavonoids content with antioxidant activity of *Momordica subangulata* Bl. and *Lepionurus sylvestris* Bl. Leave and fruit of *M. subangulata* and *L. sylvestris* were extracted by Soxhlet extractor using ethyl acetate, acetone and ethanol as solvents. The investigation of the total phenolic content was analyzed by Folin-Ciocalteau's reagent using gallic acid as a standard substance, total flavonoids content using quercetin as a standard substance, and antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that the acetone extract of leaves of *M. subangulata* (MSLA) had the most of total phenolic content (150.12±5.41 mgGAE/g extract). The ethanol extract of fruit of *L. sylvestris* (LSFE) showed the highest of total flavonoids content (0.27±0.00 mgQE/g extract). The antioxidant activity was determined and its result showed that the acetone extract of leaves from *M. subangulata* (MSLA) showed the strongest antioxidant activity with IC_{50} of 37.47±8.18 mg/L, followed by the ethyl acetate extract of fruit from *L. sylvestris* (LSFA, 38.53±1.51 mg/L) and the ethanol extract of fruit from *L. sylvestris* Bl. (LSFE, 48.17±3.41 mg/L), respectively. The study of relationship between total phenolic content and total flavonoids content with antioxidant activity found that both the total phenolic and total flavonoid contents were negatively correlated with the 50% free radical inhibitory concentration. The total phenolic content had slightly more related than the total flavonoid content with Pearson's correlation coefficient of -0.779 and -0.755, respectively.

Keyword: total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity

บทนำ

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับอนุมูลอิสระได้รับความสนใจอย่างมาก อนุมูลอิสระเป็นสารที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอนเดี่ยว 1 ตัว ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ สารอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์ หากสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไม่ถูกยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อนุมูลอิสระก็จะทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง การแก่ก่อนวัย โรคมะเร็ง เป็นต้น (ราตรี, 2559) ปกติภายในร่างกายมีกลไกป้องกันตัวเองจากอนุมูลอิสระ โดยอาศัยการทำงานของสารต้านออกซิเดชันที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) catalase (CAT) และ peroxidase (POX) เป็นต้น (Wu *et al.*, 2013) เมื่ออายุมากขึ้นหรือร่างกายอ่อนแอ มีความเครียด ภูมิคุ้มกันจะไม่สามารถต่อสู้กับอนุมูลอิสระได้ อนุมูลอิสระจึงทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์ทำงาน

ผิดปกติ (บุหรัน, 2556) การรับประทานอาหารของคนทั่วไปในปัจจุบันพบว่ามีความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น การรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์เป็นประจำจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง ทำให้คนทั่วไปหันมาให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับสุขภาพกันมากขึ้น ผู้รับประทานอาหารประเภทพืช ผัก และผลไม้เป็นประจำมีความเสี่ยงน้อยกว่า เนื่องจากในพืชผักและผลไม้มีวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าเคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล แทนนิน ฟลาโวนอยด์ ที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกายได้ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิดอาจพบในรูปของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ หรือสารประกอบอื่น ๆ การทำยารักษาโรคส่วนใหญ่จึงต้องมีการใช้สารสกัดจากพืชเป็นส่วนประกอบเพื่อยับยั้งอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดโรค สารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถพบได้ในสารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขั้วได้มากกว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (Chaithada *et al.*, 2018)

การศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการสกัดจากพืชสมุนไพรได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก ตัวอย่างเช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการสกัดพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ด้วยตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในเอทานอลร้อยละ 10 และศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ ผักโขม มะระขี้นก และผักปลัง ตามลำดับ ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพืชพบว่า ผักโขม ผักปลัง และผักแพว ใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาทีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และมะระขี้นกใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาทีอุณหภูมิห้อง (ศรัญญา, 2559) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรพื้นบ้าน ได้แก่ อัญชัน ขมิ้น ใบเตย มะรุม กระเจี๊ยบ โหระพา สะระแหน่ มะตูม ข่า ขิง มะขาม กะเพรา ตะไคร้ แมงลัก และมะนาว พบว่ากระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุด คือ 21.21 µmol Trolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 µmol Trolox/g นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สุด คือ 4.83 mgGAE/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.42-4.80 mgGAE/g ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวมนั้น อัญชันและกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกัน คือ 8.65 และ 7.96 mgCE/g ตามลำดับ (เอนก และบุณยกฤต, 2560) ยาห้ารากเป็นตำรับยาแผนโบราณของไทยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ 2,2-azobis-(3-ethylbenzothialzoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ด้วยค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (SC_{50}) เท่ากับ 120.17±0.07 และ 73.27±0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และยังสามารถยับยั้งการอักเสบจากการหลั่งไนตริกออกไซด์ ด้วยค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งไนตริกออกไซด์ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 16.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (วิยดา และกิ่งกาญจน์, 2561)

แหมะมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Momordica subangulata* Bl. จัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae เป็นผักพื้นบ้านจำพวกพืชล้มลุก เป็นเถาเลื้อยมีมือเกาะลำต้นเป็นเหลี่ยมใบเดี่ยวเรียงสลับกันแผ่นใบรูปไตแกมรูปไข่ปลายใบแหลมหยักเว้าเป็น 3 ถึง 5 แฉก ขอบใบเป็นจักห่าง ๆ ไม่สม่ำเสมอ ดอกเดี่ยว

ออกดอกตามข้อย่าน มีกลีบดอกสีเหลืองขนาดใหญ่ มีผลกลมค่อนข้างรีเป็นเหลี่ยม 4-5 เหลี่ยม ปลายแหลม จากข้อมูลสรรพคุณพบว่าช่วยในการรักษาโรคเบาหวาน ลดน้ำตาลในเลือด แก้ไข้ แก้ร้อนในกระหายน้ำ บำรุงระดู มีฤทธิ์เย็น ช่วยขับพิษ ช่วยฟอกเลือด บำรุงตับ มีผลดีต่อสายตาและผิวหนัง แต่ไม่ค่อยนิยมในการรับประทานเพราะมีรสขม ชาวพื้นเมืองในรัฐเกรละ ประเทศอินเดีย นำใบสดมาคั่นเพื่อรักษาโรคดีซ่าน (Asha, 2001) ส่วนหมากหมกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lepionurus sylvestris* Bl. จัดอยู่ในวงศ์ Opiloaceae เป็นผักพื้นบ้านจำพวกไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ทรงกลม ลำต้นสูง 0.5-1.0 เมตร เปลือกไม้ค่อนข้างเรียบ สีน้ำตาล ใบ ใบเดี่ยว เรียงสลับแผ่นใบเป็นคลื่นเล็กน้อยรูปรีขอบขนานผิวใบเรียบเป็นมันทั้งสองด้าน ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ปลายใบแหลม จากข้อมูลสรรพคุณพบว่า ใช้หัวสดกินดิบ หรือเคี่ยวกับน้ำ กินบำรุงกำลัง หรือใช้หัวตากแล้วบดเป็นผงผสมกับน้ำผึ้งรวง เป็นยาบำรุงกำลัง รากกินดิบ ๆ หรือต้มเป็นยาบำรุงกำลัง รักษาโรคนิ่ว แก้โรคไต ช่วยขับปัสสาวะ (อรทัย และคณะ, 2557) จากสรรพคุณต่าง ๆ ของพืชทั้ง 2 ชนิด และยังไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมาก่อน ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของแหมะและหมากหมก เพื่อนำไปสู่การรู้คุณค่าประโยชน์ของพืชผักที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นข้อมูลที่สามารถสนับสนุนข้อมูลเบื้องต้นทางยาเพื่อใช้ประโยชน์ในทางเภสัชวิทยาต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากพืชตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืช คือ ใบแหมะ ลูกแหมะ ใบหมากหมก และผลหมากหมก น้ำหนักสดอย่างละ 2 กิโลกรัม นำพืชมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใบพืชทั้งสองใช้เวลาอบ 6 ชั่วโมง ขณะที่ผลพืชทั้งสองใช้เวลาอบ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำพืชที่แห้งแล้วไปบดให้ละเอียดเพื่อเพิ่มพื้นผิวสัมผัสกับตัวทำละลาย ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดด้วยตัวทำละลายละลายอินทรีย์ นำพืชที่บดละเอียดมาสกัดด้วยเครื่องสกัดซอกเล็ต โดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท อะซิโตน และเอทานอล นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน แล้วคำนวณหาร้อยละของการสกัด (%yield) จากสูตร

$$\%\text{yield (w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนสกัดหยาบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของพืชตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (total phenolic content, TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน (ดัดแปลงวิธีจาก อรชร และกาญจนา, 2558) เตรียมสารตัวอย่างความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติม Folin-ciocalteu's reagent 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิค โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค และคำนวณหาค่าปริมาณฟีนอลิกรวม ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด (mgGAE/g extract) ดังสมการ

$$TPC = \frac{GAE \times V \times D}{W}$$

เมื่อ TPC คือ ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g extract)
GAE คือ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิค (mg/mL)
V คือ ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ (mL)
D คือ ปัจจัยการเจือจาง
W คือ น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content, TFC)

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม โดยใช้เคอร์ซิตินเป็นสารมาตรฐาน (ดัดแปลงวิธีจาก สุธิรา และประสบอร, 2559) ละลายสารสกัดด้วยเมทานอล นำสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วเติมเมทานอลลงไป 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติมโพแทสเซียมอะซิเตทเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร แล้วเทลงใส่หลอดทดลองที่เตรียมไว้ เขย่าให้เข้ากัน นำไปเก็บไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานเคอร์ซิติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด (mgQE/g extract) ดังสมการ

$$TFC = \frac{QE \times V \times D}{W}$$

เมื่อ TFC คือ ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g extract)
QE คือ มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิติน (mg/mL)
V คือ ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ (mL)
D คือ ปัจจัยการเจือจาง
W คือ น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงวิธีจาก Nascimentoa *et al*., 2016) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH เข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารมาตรฐาน DPPH หนัก 0.0060 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (AR grade) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเมทานอล

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

โดยชั่งสารสกัดหยาบจากแหมะและหมากหมกอย่างละ 0.1 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (AR grade) ในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล (ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) เตรียมสารตัวอย่างจากพืชที่ความเข้มข้น 1,000 500 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เจือจางจาก stock solution

4.2 การวัดการดูดกลืนแสงยูวี

นำสารตัวอย่างที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล ใส่สารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเติมเมทานอลหลอดละ 0.8 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปเขย่าสารให้เข้ากัน นำไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และโทรล็อกซ์ (trolox) ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) สามารถคำนวณ ดังสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง + DPPH

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

นำร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปพล็อตกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50}

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 21

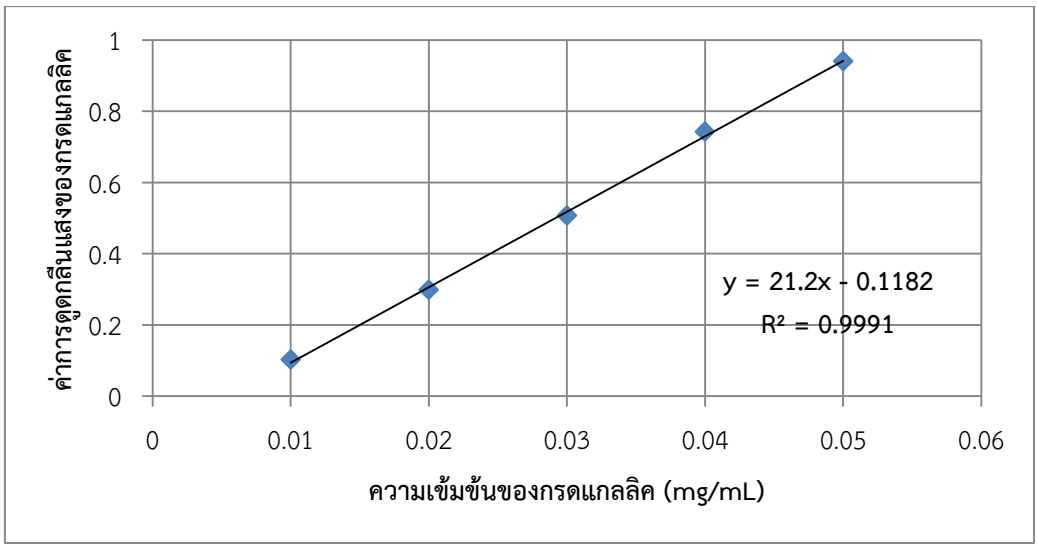
ผลการวิจัย

จากการนำใบแหมะ ลูกแหมะ ใบหมากหมก และลูกหมากหมก มาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท อะซิโตน และเอทานอล พบว่าสารสกัดจากใบแหมะและใบหมากหมกของตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะหนืดสีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดจากลูกแหมะของตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะหนืดสีน้ำตาลเข้ม และสารสกัดจากลูกหมากหมกของตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะหนืดเป็นมันสีส้มเข้ม เมื่อชั่งน้ำหนักแห้งและคิดร้อยละของสารสกัด พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมกมีร้อยละของการสกัดสูงที่สุด คือ ร้อยละ 7.76 รองลงมา คือ สารสกัดอะซิโตนจากใบหมากหมก (ร้อยละ 7.58) สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบหมากหมก (ร้อยละ 7.08) ขณะที่ส่วนสกัดเอทานอลจากลูกแหมะร้อยละของการสกัดต่ำที่สุด คือ ร้อยละ 2.39 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

สารสกัด	น้ำหนักพืช (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	ร้อยละของผลิตภัณฑ์ (%yield)
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบแหมะ (MSLEa)	50.00	3.17	6.34
สารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ (MSLA)	50.04	2.44	4.88
สารสกัดเอทานอลจากใบแหมะ (MSLE)	49.99	2.93	5.86
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกแหมะ (MSFEa)	50.07	1.93	3.85
สารสกัดอะซิโตนจากลูกแหมะ (MSFA)	50.09	2.21	4.41
สารสกัดเอทานอลจากลูกแหมะ (MSFE)	50.13	1.20	2.39
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบหมากหมก (LSLEa)	51.69	3.66	7.08
สารสกัดอะซิโตนจากใบหมากหมก (LSLA)	51.71	3.92	7.58
สารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมก (LSLE)	50.11	3.89	7.76
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก (LSFEa)	50.00	2.86	5.72
สารสกัดอะซิโตนจากลูกหมากหมก (LSFA)	50.01	3.11	6.22
สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก (LSFE)	50.03	2.98	5.96

เมื่อนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม โดยวิธี Folin-ciocalteu reagent เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิคความเข้มข้น 0.01-0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 1 เมื่อนำค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคมาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกออกมาจากใบแหมะและใบหมากหมกได้ดีที่สุด คือ อะซิโตน ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 150.12±5.41 และ 86.82±0.26 mgGAE/g extract ตามลำดับ ขณะที่ตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกออกมาจากผลแหมะและผลหมากหมกได้ดีที่สุด คือ เอทิลอะซิเตท ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 66.71±0.05 และ 139.47±0.92 mgGAE/g extract ตามลำดับ โดยปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดอะซิโตนของใบแหมะและสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกแหมะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ปริมาณฟีนอลิกรวมในสกัดสารสกัดอะซิโตนจากลูกแหมะและสารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ดังตารางที่ 2



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของกรดแกลลิคต่อการดูดกลืนแสง

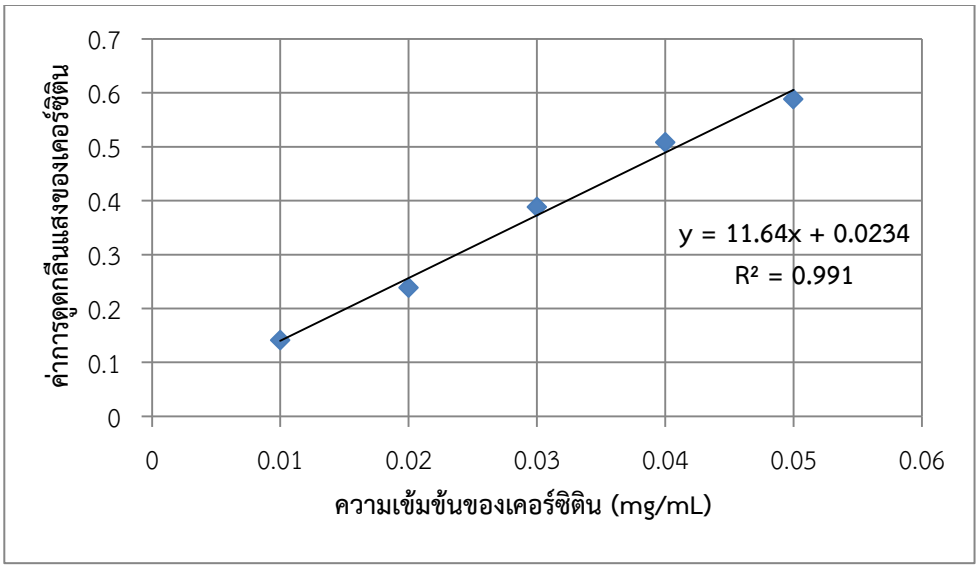
ตารางที่ 2 แสดงค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดต่าง ๆ

สารสกัด	บริมาณฟีนอลิกรวม (TPC; mgGAE/g extract)
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบแหมะ (MSLEa)	84.88±3.17^{c}
สารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ (MSLA)	150.12±5.41^{a}
สารสกัดเอทานอลจากใบแหมะ (MSLE)	53.75±2.85^{e}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกแหมะ (MSFEa)	66.71±0.05^{d}
สารสกัดอะซิโตนจากลูกแหมะ (MSFA)	8.04±0.12^{h}
สารสกัดเอทานอลจากลูกแหมะ (MSFE)	45.59±2.38^{f}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบหมากหมก (LSLEa)	60.40±2.55^{de}
สารสกัดอะซิโตนจากใบหมากหมก (LSLA)	86.82±0.26^{c}
สารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมก (LSLE)	7.46±0.25^{h}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก (LSFEa)	139.47±0.92^{b}
สารสกัดอะซิโตนจากลูกหมากหมก (LSFA)	90.07±1.87^{c}
สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก (LSFE)	36.39±1.50^{g}

หมายเหตุ: ตัวอักษรในคอลัมน์ที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม โดยวิธี aluminium chloride colorimetric method เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเคอร์ซิตินความเข้มข้น 0.01-0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 2 พบว่าสารสกัดจากลูกหมากหมกของตัวทำละลายทั้งสามชนิดสามารถสกัดฟลาโวนอยด์ออกมาได้มากที่สุดมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอยู่ในช่วง 0.26-0.27 mgQE/g extract ตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารฟลาโวนอยด์ออกมาจากใบแหมะและใบหมากหมกได้ดีที่สุด คือ อะซิโตน

ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.23±0.00 และ 0.21±0.01 mgQE/g extract ตามลำดับ ขณะที่ตัวทำละลายทั้งสามมีความสามารถในการสกัดสารฟลาโวนอยด์จากลูกแหมะได้พอ ๆ กัน มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอยู่ในช่วง 0.06-0.07 mgQE/g extract ดังตารางที่ 3



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเคอร์ซิตินต่อการดูดกลืนแสง

ตารางที่ 3 แสดงค่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC; mgQE/g extract)
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบแหมะ (MSLEa)	0.21±0.01^{b}
สารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ (MSLA)	0.23±0.00^{b}
สารสกัดเอทานอลจากใบแหมะ (MSLE)	0.08±0.00^{d}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกแหมะ (MSFEa)	0.07±0.00^{de}
สารสกัดอะซิโตนจากลูกแหมะ (MSFA)	0.07±0.00^{de}
สารสกัดเอทานอลจากลูกแหมะ (MSFE)	0.06±0.01^{e}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบหมากหมก (LSLEa)	0.13±0.02^{c}
สารสกัดอะซิโตนจากใบหมากหมก (LSLA)	0.21±0.01^{b}
สารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมก (LSLE)	0.05±0.00^{e}
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก (LSFEa)	0.27±0.01^{a}
สารสกัดอะซิโตนจากลูกหมากหมก (LSFA)	0.26±0.00^{a}
สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก (LSFE)	0.27±0.00^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรในคอลัมน์ที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อนำสารสกัดทั้งหมดมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยเตรียมสารสกัดและสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากและมีฤทธิ์ที่ไม่แตกต่างจากสารมาตรฐานทั้งกรดแอสคอร์บิกและโทรล็อกซ์อย่างมีนัยสำคัญ คือ สารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด คือ 37.47±8.18 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 38.53±1.51 และ 48.17±3.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดชนิดอื่น ๆ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดต่าง ๆ

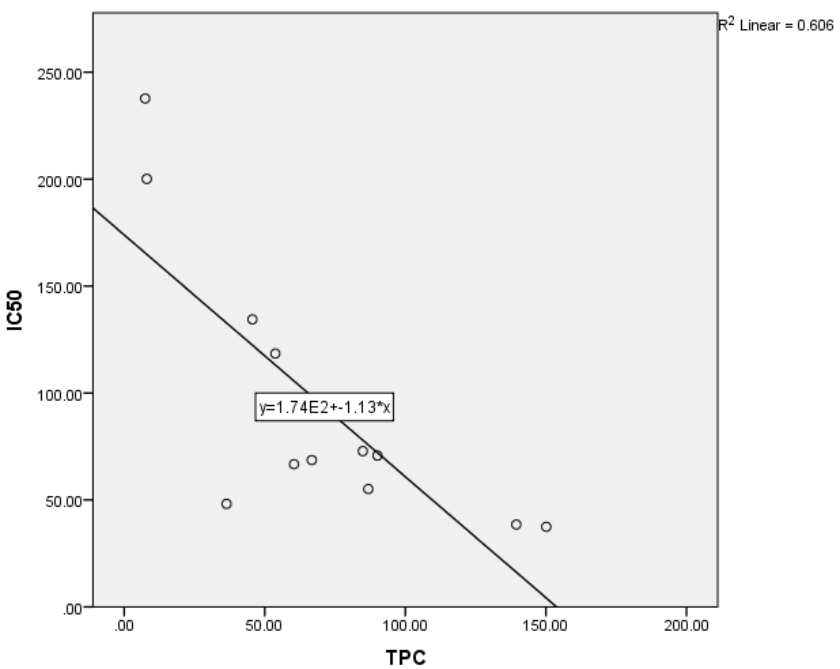
สารสกัด	IC_{50} (mg/L)
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบแหมะ (MSLEa)	$72.84±9.35^{d}$
สารสกัดอะซิโตนจากใบแหมะ (MSLA)	$37.47±8.18^{a}$
สารสกัดเอทานอลจากใบแหมะ (MSLE)	$118.45±6.36^{e}$
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกแหมะ (MSFEa)	$68.67±3.83^{cd}$
สารสกัดอะซิโตนจากลูกแหมะ (MSFA)	$200.12±6.53^{f}$
สารสกัดเอทานอลจากลูกแหมะ (MSFE)	$134.45±7.25^{e}$
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากใบหมากหมก (LSLEa)	$66.73±4.10^{cd}$
สารสกัดอะซิโตนจากใบหมากหมก (LSLA)	$55.12±8.33^{bc}$
สารสกัดเอทานอลจากใบหมากหมก (LSLE)	$237.74±4.53^{g}$
สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากลูกหมากหมก (LSFEa)	$38.53±1.51^{ab}$
สารสกัดอะซิโตนจากลูกหมากหมก (LSFA)	$70.76±1.70^{cd}$
สารสกัดเอทานอลจากลูกหมากหมก (LSFE)	$48.17±3.41^{ab}$
กรดแอสคอร์บิก	$48.05±6.46^{ab}$
โทรล็อกซ์	$46.74±2.89^{ab}$

หมายเหตุ: ตัวอักษรในคอลัมน์ที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

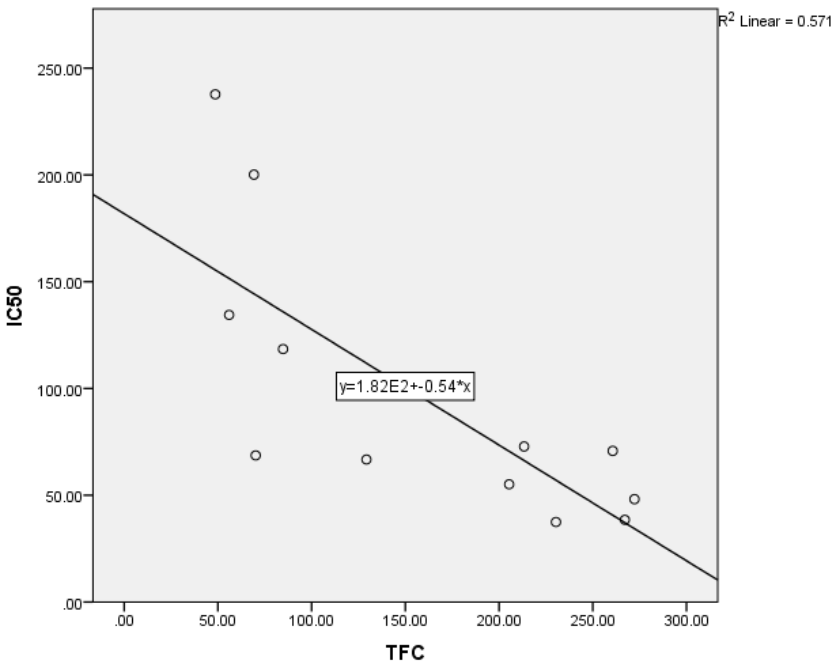
การหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร 2 ตัวที่อยู่ในมาตราการวัดระดับ interval หรือ ratio scale ค่าที่ได้เรียกว่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ โดยปกติจะมีค่าอยู่ระหว่าง -1.00 ถึง 1.00 ถ้ามีค่าติดลบ หมายความว่า ตัวแปร 2 ตัวมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม ถ้ามีค่าเป็นบวกหมายความว่า ตัวแปร 2 ตัวมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ถ้ามีค่าเป็น 0 หมายความว่าตัวแปร 2 ตัวไม่มีความสัมพันธ์กัน จากการหาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ในทิศทางตรงกันข้าม โดยปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเล็กน้อยจากค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3-4

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก

ความสัมพันธ์	Pearson correlation (r)
ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (TPC-IC_{50})	-0.779
ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (TFC-IC_{50})	-0.755



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวมและค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

อภิปรายผลการวิจัย

จากการเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัด อะซิโตนของใบแหมะ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่ด้วย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.36±2.87 มิลลิกรัมต่อลิตร และเป็นส่วนสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุดเท่ากับ 93.21±3.21 mgGAE/g extract และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่สูง มีค่าเท่ากับ 0.21±0.01 mgQE/g extract สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรพื้นบ้าน ซึ่งใช้พืชสมุนไพรที่หาซื้อได้ในจังหวัดกำแพงเพชร มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม ทั้งนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดย 3 เทคนิคคือ ABTS DPPH และ FRAP รวมถึงศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ พบว่ากระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุดคือ 21.21 µmolTrolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 µmolTrolox/g นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.83 mgGAE/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.42-4.80 mgGAE/g ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ พบว่าอัญชันและกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกันคือ 8.65 และ 7.96 mgCE/g ตามลำดับ (เอนก และบุณยกฤต, 2560) และจากศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว พบว่าสารละลาย DPPH มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.568 นาโนเมตร ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ลดลงเท่ากับ 0.119 0.140 0.131 และ 0.074 นาโนเมตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าพืชทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ ผักโขม มะระขี้นก และผักปลัง (ศรัญญา, 2559) สารประกอบฟีนอลิกเป็นโมเลกุลที่มีขั้วจึงมักเป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขั้ว ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเลือกตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง คือ เอทิลอะซิเตท ตัวทำละลายที่มีขั้วค่อนข้างสูง คือ อะซิโตน และตัวทำละลายที่มีขั้วสูง คือ เอทานอล จากผลการวิจัย พบว่าใบแหมะและใบหมากหมก สามารถสกัดสารฟีนอลิกออกมาได้มากที่สุดโดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตน และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทและเอทานอล ขณะที่ลูกแหมะและลูกหมากหมกสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้มากที่สุดโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลาย อะซิโตนและเอทานอล สอดคล้องกับการศึกษาผลของความมีขั้วของตัวทำละลายต่อปริมาณฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกทานตะวัน โดยนำสารสกัดเอทานอลมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท บิวทานอล และน้ำ พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทมีปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 516.21 mgGAE/g และ 326.06 mgQCE/g ตามลำดับ และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 132.63±0.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Ri *et al.*, 2019) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแหมะและหมากหมก พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ในทิศทางตรงกันข้าม กล่าวคือสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูง จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงตามไปด้วย ทำให้มีค่า IC_{50} ต่ำ โดยปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันเท่ากับ -0.779 มากกว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์รวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อยด้วยค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันเท่ากับ -0.755 สอดคล้องกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ซึ่งพบว่าสารสกัดสาหร่ายใบมีค่าสัมประสิทธิ์ (r^2) เท่ากับ 0.9483 สาหร่ายพวงองุ่นมีค่าสัมประสิทธิ์ (r^2) เท่ากับ 0.9028 และสาหร่ายทุ่นมีค่าสัมประสิทธิ์ (r^2) เท่ากับ 0.8422 (มนต์สรวง และนงพร, 2557) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้ 12 ชนิด มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับปริมาณฟีนอลิกรวมและวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันในช่วง 0.868-0.882 (วรานนท์ และคณะ, 2557)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากผักพื้นบ้าน ได้แก่ ใบแหมะ ลูกแหมะ ใบหมากหมก และลูกหมากหมก พบว่าสารสกัดใบแหมะและใบหมากหมกด้วยตัวทำละลายอะซิโตนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.36±2.87 และ 55.12±8.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดลูกแหมะและลูกหมากหมกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าตัวทำละลายอะซิโตนและเอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 68.67±3.83 และ 38.53±1.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ด้วยค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันเท่ากับ -0.779 และ -0.755 ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ค้นพบว่าตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท อะซิโตน และเมทานอล สามารถสกัดประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้แตกต่างกัน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติม ดังนี้

จากการวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดลูกหมากหมกที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลสามารถให้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีค่าสูง ดังนั้นในการวิจัยครั้งต่อไป ควรศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลูกหมากหมกด้วยตัวทำละลายอื่น และศึกษาถึงประเภทของสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผักพืชบ้าน และจากการวิจัยครั้งนี้ทำให้เล็งเห็นถึงคุณค่าและประโยชน์ของผักพื้นบ้าน เพื่อใช้ในการรักษาโรคต่อไปในอนาคต ข้อมูลที่ได้จะเป็นการต่อยอดความรู้ภูมิปัญญาชาวบ้านสู่การนำไปใช้ประโยชน์ โดยมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณอุไร ล้ำเลิศ ชาวบ้านหมู่ที่ 13 ตำบลเสาเภา อำเภอสิชล จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างแหมะและหมากหมก รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณณิชาภา รัตนโกมล และคุณอณิษฐา จันทร์ไพฑูรย์ ที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ และอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ ในระหว่างการทำวิจัยทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3), 275-286.

มนต์สรวง ยางทอง และนงพร โตวัฒนะ. (2557). ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ของสาหร่ายทะเล 6 ชนิด จากชายฝั่งภาคใต้ของประเทศไทย. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*, 8(1), 93-104.

ราตรี พระนคร. (2559). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกฤษณา. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 3(ฉบับพิเศษ (III)), 21-24.

วรานนท์ ทองอินลา ชลธิชา วรรณวิมลรักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง. (2557). ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 19(2), 93-104.

วิยดา กวานเหียน และกิ่งกาญจน์ บรรลือพืช. (2561). ความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของ ตำรับยาห้ารากที่สกัดด้วยน้ำ. *วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 37(ฉบับพิเศษ), 27-38.

ศรัญญา มณีทอง. (2559). *การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช.* สืบค้นเมื่อ 10 กันยายน 2562, จาก: https://dspace.bru.ac.th/xmlui/handle/123456789/3301.

สุธิรา มณีฉาย และประสบอร รินทอง. (2559). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อย. *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 44(1), 142-152.

อรชร ไอสันเทียะ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2558). การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรืองสด. *วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*, 7, 29-40.

อรทัย เนียมสุวรรณ ศรายุทธ ตันเถียร และสุวรรณดี เพ็ชรบุญ. (2557). การสำรวจพืชสมุนไพรที่ใช้บำรุงกำลัง จากอุทยานแห่งชาติเขาพนมเบญจา จังหวัดกระบี่. *ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ*, 9(1), 26-33.

เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ*, 40(2), 283-293.

Asha, V.V. (2001). Preliminary studies on the hepatoprotective activity of *Mamordica subangulata* and *Naragamia alata*. *Indian Journal of Pharmacology*, 33, 276-279.

Chaithada, P., Supapan, J., Rodthuk, P. and Chainarong, S. (2018). Total flavonoids, total phenolic content and antioxidant activity from fruits, leaves, twigs and flowers of *Mesua ferrea* L. *Walailak Journal of Science and Technology*, 15(4), 295-304.

Nascimentoa, K.S., Sattlera, J.A.G., Macedoa, L.F.L., Gonzálezb, C.V.S., Meloa, I.L.P., Araújoa, E.S., Granatoc, D., Sattlerd, A. and Almeida-Muradiana, L.B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT - Food Science and Technology*, 91, 85-94.

Ri, H.I., Kim, C.S., Pak, U.H., Kang, M.S. and Kim, T.M. (2019). *Effect of different polarity solvents on total phenols and flavonoids content, and In-vitro antioxidant properties of flowers extract from Aurea Helianthus*. Retrieved 24 December 2019, from: https://arxiv.org/abs/1906.12006.

Wu, J.Q., Kosten, T.R. and Zhang, X.Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense systems and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 200-206.