



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

โดย

ดร. ชัชวิน เพชรเลิศ

ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๖

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

โดย

ดร. ชัชวิน เพชรเลิศ

ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๖

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๖

ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ โครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จ.จันทบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชสมุนไพรมาใช้ในการทำวิจัย และผศ.ดร.กล่าวขวัญ ศรีสุข จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ได้ให้คำปรึกษาในการทำวิจัยมาตั้งแต่ต้นจนทำให้งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นอกจากนี้ยังต้องขอบคุณนิสิตชั้นปีที่ ๔ ของภาควิชาชีวเคมี และนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ทุกคนที่ร่วมมือร่วมใจกันในการทำวิจัยจนทำให้ได้ผลการวิจัยอันน่าพึงพอใจ ตลอดจนคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้คำแนะนำและคอยช่วยเหลือในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนในโครงการวิจัยนี้

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Antioxidant activities and inhibitory effect on the lipid peroxidation of some herb extracts from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi province

หัวหน้าโครงการวิจัย ดร.ชัชวรินทร์ เพชรเลิศ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษารสชาติของพืชพื้นบ้าน 6 ชนิด ได้แก่ จิก เสม็ดแดง (เม็ก) ชำมะเลียง ผักหวานบ้าน พญาดาบหัก (ราชดัด) และสันดานบ้านในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยจะศึกษาในส่วนที่กินได้ของพืช ซึ่งในการทดสอบจะใช้ส่วนของใบยกเว้นพญาดาบหักที่จะใช้ส่วนของเมล็ด นำมาตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทำการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม นอกจากนี้ยังนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันโดยทำการทดสอบค่าคอนจูเกตต์ไดอีน เปอร์ออกไซด์ และ TBARS จากการทดลองพบว่า ผลของฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ชี้ให้เห็นว่า ใบจิก ใบเสม็ดแดง มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ดี (ค่า IC_{50} ของใบจิก ใบเสม็ดแดง วิตามินซีและบีเอชที เท่ากับ 41.87 ± 5.702 , 41.70 ± 3.746 , 10.74 ± 0.334 และ 23.10 ± 0.986 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการรีดิวซ์ของพืชเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยใบจิกมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด ทั้งนี้พบว่าใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุดเท่ากับ 251.26 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด และใบชำมะเลียงมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดเท่ากับ 234.23 ± 0.013 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด และยังพบว่าส่วนสกัดน้ำของพืชพื้นบ้าน 6 ชนิดช่วยยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันทั้งปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (Initiation) และปฏิกิริยาขั้นดำเนินไปของปฏิกิริยา (Propagation) โดยพญาดาบหักสามารถยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอีนในขั้นเริ่มต้นของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีที่สุด นอกจากนี้ผักหวานยังสามารถลดการเกิดเปอร์ออกไซด์ได้ดี และพญาดาบหักสามารถยับยั้งการเกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ดี โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะเพิ่มตามความเข้มข้นของสารสกัดน้ำของพืชพื้นบ้าน การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่า พืชพื้นบ้านที่นำมาวิจัยจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ดนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่ดี

Abstract

Water extract from six kinds of indigenous vegetable included Jig *Barrington augusta* Kurz., Mek *Syzygium gratum* (Wight) S.N. Mitra var. *gratum*, Luna nut *Lepisanthes fruticosa* (Roxb.) Leenh., Pak-wan Tree *Sauropus amabilis* Airy Shaw, Pyadabhak *Brucea javanica* (L.) Merr., and *Lasia spinosa* (L.) Thwaite from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. For this experiment, the leaves of all plants were used except the seeds of Pyadabhak. The antioxidant capacity and phytochemicals were investigated by DPPH scavenging method; reducing power; total

phenolic contents; total flavonoid contents. Moreover, the inhibitory effect on the lipid peroxidation with the conjugated diene, peroxide value, TBARS were also determined. The results demonstrated that Jig and Mek showed the highest DPPH scavenging activity. (IC_{50} of Jig, Mek, vitamin C and BHT were 41.87 ± 5.702 , 41.70 ± 3.746 , 10.74 ± 0.334 and 23.10 ± 0.986 $\mu\text{g/ml}$, respectively). Moreover, the reducing power of plant extracts increased in dose-dependent. We found that Jig present the highest reducing power. High total phenolic contents of plants extracts of all leaves were observed especially in Jig (251.26 ± 0.005 mg gallic acid equivalent/g extract). Total flavonoid contents of plants extracts of all leaves were also found particularly in Luna nut (234.23 ± 0.0013 mg quercetin equivalent/g extract). We also found that Pyadabhak seeds had a strong inhibitory activity on the conjugated diene at maximum concentration. Moreover, the peroxide value was powerfully reduced by Pak-wan. In addition, Pyadabhak seeds could strongly inhibit the malondialdehyde. The percentage of inhibition on the lipid peroxidation apparently increased according to the concentration of extracts. This research can be implied that traditional vegetables from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project have remarkable antioxidant activity and also exerts the inhibitory effect against the lipid peroxidation.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญรูป	จ
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	8
บทที่ 3 ผลการวิจัย	17
บทที่ 4 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง	34
รายงานสรุปการเงิน	41
บรรณานุกรม	42
ภาคผนวก	46
ประวัตินักวิจัย	53

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 3-1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกในการหาปริมาณสารประกอบ ฟีนอลรวมของสารสกัดพืช	18
รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดพืช	19
รูปที่ 3-3 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช	21
รูปที่ 3-4 การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี	22
รูปที่ 3-5 การหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายบีเอชที	22
รูปที่ 3-6 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ	23
รูปที่ 3-7 กราฟมาตรฐานในการรีดิวซ์ของสารละลายกรดแกลลิก	23
รูปที่ 3-8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง อนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช	24
รูปที่ 3-9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช	24
รูปที่ 3-10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และความสามารถ ในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืช	25
รูปที่ 3-11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์ การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช	25
รูปที่ 3-12 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณ คอนจูเกตดีไอนีน	28
รูปที่ 3-13 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าเปอร์ออกไซด์	31
รูปที่ 3-14 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าปริมาณทีบาร์	33

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 2-1	รายชื่อพืชที่นำมาศึกษาจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี	10
ตารางที่ 3-1	ปริมาณสารสกัดและ % yield ของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	17
ตารางที่ 3-2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดพืช	18
ตารางที่ 3-3	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืช	19
ตารางที่ 3-4	ค่า IC ₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด สารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิงวิตามินซีและบีเอชที	21
ตารางที่ 3-5	ค่าคอนจูเกตต์ไดอินคอนจูเกตต์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	26
ตารางที่ 3-6	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งคอนจูเกตต์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	27
ตารางที่ 3-7	ค่าเปอร์ออกไซด์เปอร์ออกไซด์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	29
ตารางที่ 3-8	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	30
ตารางที่ 3-9	ค่าทีบาร์ TBARS ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	31
ตารางที่ 3-10	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง TBARS ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด	32

บทที่ 1

บทนำ

1.1 เนื้อหาของเรื่องที่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน

ปัจจุบันประชาชนทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยหันมานิยมใช้สมุนไพรทั้งในแง่เป็นยา อาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพอื่นๆ แม้แต่องค์การอนามัยโลกก็เริ่มที่จะตระหนักถึงความสำคัญของการแพทย์พื้นบ้านของแต่ละประเทศในระบบบริการสาธารณสุข โดยมีการหยิบยกขึ้นพิจารณาตั้งแต่สมัยประชุมสมัชชาอนามัยโลก และมีมติชัดเจนเรื่องการส่งเสริมบทบาทของการแพทย์พื้นบ้าน (Traditional Medicine) ของแต่ละประเทศ อย่างไรก็ตามยังไม่มี การกำหนดนโยบายไว้อย่างชัดเจน (Banmonan et al., 1983)

ประเทศไทยนิยาม “สมุนไพร” ว่าหมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา (นโยบายแห่งชาติด้านยา พ.ศ. 2536) ส่วนพ.ร.บ.คุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย (พ.ศ. 2542) นิยามไว้ว่า “สมุนไพร” หมายถึง สัตว์ จุลชีพ ธาตุวัตถุ สารสกัดดั้งเดิมจากพืชหรือสัตว์ที่ใช้ หรือแปรรูป หรือผสม หรือปรุง เป็นยาหรืออาหาร เพื่อการตรวจวินิจฉัย บำบัด รักษา หรือป้องกันโรค หรือเสริมสุขภาพ ร่างกายของมนุษย์หรือสัตว์ (อรพรรณ มาตังคสมบัติ, 2546) พืชสมุนไพรหลายชนิดมีข้อมูลที่ค่อนข้างชัดเจนซึ่งสามารถสืบค้นได้จากฐานข้อมูลทางยาต่างๆ เช่น German Commission E, WHO monograph, Thai Herbal Pharmacopoeia หรือ National Center for Complementary and Alternative Medicine ซึ่งสมุนไพรในกลุ่มนี้มีข้อมูลทางคลินิกสนับสนุน แต่ก็ยังมีสมุนไพรอยู่อีกมากที่ใช้สืบทอดกันมาตามภูมิปัญญาท้องถิ่นหรือตำรับของหมอชาวบ้านในท้องถิ่นนั้นๆ ที่ให้ผลในการรักษา แต่ยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ หรือทางคลินิกสนับสนุน

พืชสมุนไพรประกอบด้วยสารพฤกษเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ สเตียรอล (sterols) เทอร์ปีน (terpenes) และ ลิกแนน ไกลโคไซด์ (lignan glycosides) และจากรายงานของ Andarwulan และคณะ (2010) พบว่าในพืชสมุนไพรส่วนใหญ่มีฟลาโวนอยด์อยู่เป็นจำนวนมากซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์

จะเห็นได้ว่ารายงานเกี่ยวกับสารพฤกษเคมีในพืชสมุนไพร เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน ลดความเสี่ยงจากอนุมูลอิสระที่เข้าไปทำลายเซลล์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดต่างๆ มีความสำคัญในการยับยั้งการเกิดมะเร็งตลอดจนโรคเรื้อรังต่างๆ งานวิจัยของ Fuhrman และคณะ (2005) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมว่าสามารถลดการสะสมของคอเลสเตอรอลโดยการกุด oxidized-LDL และการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในเซลล์แมคโครฟาจ นอกจากนี้ Pothitirat และคณะ (2009) ยังพบว่าในเปลือกของพืชบางชนิดยังมีสารแทนนินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อไวรัส HIV และ herpes simplex virus มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีสารประกอบในกลุ่ม xanthone ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย รา และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ที่สำคัญยังช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (human leukemia HL60 cells) โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis และป้องกันการออกซิเดชันของ LDL หรือบางชนิดก็สามารถยับยั้งแอกติวิตี้ของ เอนไซม์ myeloperoxidase และมีบทบาทสำคัญในการลดการอักเสบ (Zeraik และคณะ, 2011) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Hossain และ Rahman (2011) ยังพบว่าส่วนสกัดเมทานอลในสมุนไพรบางอย่างยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีในสมุนไพรเหล่านั้น ดังนั้นจึงน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาเพื่อให้เข้าใจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชันหลังจากผ่านกระบวนการย่อยอาหารแล้วของพืชสมุนไพรไทยเพื่อใช้เป็นองค์ความรู้พื้นฐานอันจะเป็นจุดเริ่มต้นที่จะนำไปสู่การบริโภคด้วยความเชื่อมั่นและปรับปรุงผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของพืชที่มีอยู่แล้วในประเทศให้ยั่งยืนต่อไป

1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เป็นสิ่งสำคัญ หากแต่การศึกษาหาสิ่งที่จะนำมารักษาหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคโดยเฉพาะสารที่ได้รับจากธรรมชาตินั้นน่าจะมี ความสำคัญมากกว่า ภายใต้ภาวะของอุบัติการณ์ของโรคร้ายต่างๆ ที่มีอยู่ในปัจจุบันโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเรื้อรังอันเกิดจากความไม่สมดุลของสารต่างๆ ภายในร่างกาย รูปแบบการดำรงชีวิตที่เปลี่ยนแปลงไป รูปแบบการบริโภคอาหารที่ล้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเหล่านี้แทบทั้งสิ้น

จากการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาพบว่า สารอาหารที่ได้รับความสนใจมากที่สุดและเป็นที่ยอมรับว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับอาการอัมพาต คือ ไขมัน ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นอัมพาต ไขมันไม่เพียงแต่จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญแก่ร่างกายเท่านั้น แต่ยังรวมอยู่เป็นองค์ประกอบในเมมเบรนและทำหน้าที่ควบคุมของเหลวในเมมเบรน ลิพิดเปอร้ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและพอสโพลีพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดลิพิดเปอร้ออกไซด์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ หรือ ลิพิดในเลือด และในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร้ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา ดังนั้นความเสียหายจะไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะกับเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น แต่จะขยายวงกว้างไปยังองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ อาจทำให้เกิดการตายของเซลล์ การอักเสบ อันจะก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคความเสื่อมต่างๆ ตามมา เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Atherosclerosis) โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคอัมพาต โรคอัลไซเมอร์ โรคต่อกระดูก เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาหาสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรที่จะมีผลต่อการลดความเสี่ยงอันอาจเกิดขึ้นจากไขมันจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากกระบวนการที่จะนำมาอธิบายให้ชัดเจนนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด มีเพียงสมมติฐานที่ตั้งขึ้นมาเป็นแนวทางเพื่อรอการพิสูจน์ต่อไป

นอกจากลิพิดเปอร้ออกซิเดชันแล้ว ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยยังสนใจที่จะทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันภายในเซลล์ โดยเฉพาะความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของกรดนิวคลีอิก จะสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปยังเซลล์ที่เกิดใหม่ บางครั้งอาจแสดงออกมาให้เห็นที่รูปร่างของสิ่งมีชีวิต หรืออาจเปลี่ยนแปลงจนถึงขั้นกลายเป็นอัมพาตในที่สุด ดังนั้นการค้นหามะเร็งที่อาจยับยั้งอนุมูลอิสระต่างๆ รวมถึงกลไกการต่อต้านกระบวนการดังกล่าวจึงเป็นจุดเริ่มต้นที่น่าสนใจสำหรับการหยุดยั้งการพัฒนาไปเป็นอัมพาตรวมทั้งโรคเรื้อรังอื่นๆ อันเป็นสาเหตุการตายลำดับต้นๆ ในปัจจุบัน

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พระราชทานพระราชดำริให้สำนักงานมูลนิธิชัยพัฒนาดำเนินการรับโอนที่ดินซึ่งครอบครัวลักคุณะ ประสิทธิ์ขอพระราชทานน้อมเกล้าฯ ถวายที่ดินจำนวน 14 แปลง เนื้อที่รวม 160 ไร่ 1 งาน 46 ตารางวา ตั้งอยู่ที่ตำบลตกรม อำเภอลำปาง จังหวัดจันทบุรี เพื่อใช้ประโยชน์ในมูลนิธิชัยพัฒนา โดยได้ดำเนินการจัดทำโครงการพัฒนาป่าชุมชนให้ผู้สนใจเข้ามาศึกษา

หาความรู้ เพื่อการอนุรักษ์ และฟื้นฟูสภาพป่าไม้ รวมทั้งสนับสนุนให้ชุมชนมีความเข้าใจ และรู้จักใช้ทรัพยากรธรรมชาติให้เกิดประโยชน์อย่างยั่งยืน

จากการศึกษาเก็บข้อมูลเบื้องต้นจากโครงการฯ ดังกล่าว พบว่าในพื้นที่ของโครงการฯ มีพืชสมุนไพรที่หลากหลายอยู่เป็นจำนวนมาก แต่มีปัญหาในเรื่องการขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มารองรับการนำไปใช้ จึงทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาผลของส่วนสกัดหยาดและสารบริสุทธิ์ที่ได้จากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์เพื่อเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนการใช้สมุนไพรพื้นบ้านอันเป็นการสนองแนวพระราชดำริในสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และเพื่อลดการนำเข้ายาและอาหารเสริมสุขภาพจากต่างประเทศ นอกจากนี้อาจได้สารที่จะนำพัฒนาเป็นยาต้นแบบรักษาโรคต่างๆ ต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดพืชสมุนไพร
2. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของพืชสมุนไพร
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของพืชสมุนไพร
4. ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

นำพืชสมุนไพรจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากส่วนสกัด จากนั้นนำสารที่สกัดได้ทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการทำในหลอดทดลอง จากนั้นนำส่วนสกัดย่อยไปแยกให้ได้สารบริสุทธิ์และหาโครงสร้างทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป ทฤษฎี และ/หรือ แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

สมุนไพรไทยหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานของประเทศไทย มีสรรพคุณทางยาหลายด้าน เช่น รักษาผดผื่นคัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ความดัน และโรคหัวใจ รักษาอาการ ขับเบา ปัสสาวะพิการ ขับปัสสาวะ ริดสีดวงทวาร แก้กษัย ขับนิ่ว ขับปัสสาวะ ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ แก้ไข้ ขับเหงื่อ และแก้เบาหวาน รักษาอาการเส้นตึง หรือนำมาทำเป็นขี้ผึ้งรักษาแผลเรื้อรัง ใบสดตำพอกบริเวณที่เป็นแผล แก้อักเสบ แก่ริดสีดวงจมูก ขับนิ่วในทางเดินปัสสาวะ ใบและราก แก่โรคบิด ขับเหงื่อ แก้แผลอักเสบ รากสดตำพอกบริเวณแผล (มานิช วามานนท์, เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ, 2540) ถึงแม้ว่าจะเป็นที่ทราบกันดีในกลุ่มแพทย์แผนไทยว่าสมุนไพรไทยมีสรรพคุณต่างๆ มากมาย แต่หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่มีรายงานส่วนใหญ่มักจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการลดน้ำตาล ลดความดัน และการขับปัสสาวะ แต่ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันยังมีค่อนข้างจำกัด ซึ่งทำให้เกิดข้อกังขาได้ว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรพื้นบ้านเป็นประจำเพื่อใช้เป็นยาอายุวัฒนะจะมีผลต่อกระบวนการต่างๆ เหล่านี้หรือไม่ และในกรณีของผู้ป่วยโรคเรื้อรังหรือโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์สมุนไพรจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดกระบวนการดังกล่าวหรือไม่ นอกจากนี้ยังมีคำถามต่อไปว่า สารที่พบในสมุนไพรจะมีฤทธิ์ดังกล่าวหรือไม่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีซึ่งสารดังกล่าวอาจมีฤทธิ์ในการก่อโรคร้ายอื่นๆ ได้เช่นกัน ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทดสอบสมมติฐานดังกล่าวซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาใช้เพื่อเป็นหลักฐานสนับสนุนถึงความปลอดภัยและเห็นคุณค่าของการใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานและส่งเสริมคุณค่าของผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นสินค้าเพื่อสุขภาพในลำดับต่อไป

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรจะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของพืชสมุนไพร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้จากพืชสมุนไพร และนำข้อมูลที่ได้จัดองค์ความรู้ที่ได้ในรูปแบบสิทธิบัตรได้ ทำให้องค์ความรู้นี้เป็นของประเทศไทย และยังสามารถตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทาง

วารสารวิชาการเป็นการสร้างชื่อเสียงให้แก่ประเทศไทย นอกจากนี้สามารถใช้ข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยไปเป็นพื้นฐานและองค์ความรู้ที่สามารถนำไปต่อยอด และผลิตเป็นยาชนิดใหม่ได้

1.6.2 บริการความรู้แก่ประชาชน

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์การต้านยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพร จะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของสมุนไพร เพื่อส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกและอนุรักษ์พืชสมุนไพรมากขึ้น โดยทำการเผยแพร่ผ่านสื่อต่างๆ เช่นรายการวิทยุเพื่อประชาชน และวารสารต่างๆ รวมทั้งข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปเผยแพร่โดยโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

1.6.3 บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ และนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

สมุนไพรต่างๆ อาจเป็นพืชที่มีศักยภาพต่อการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้ เพราะมีการเจริญเติบโตได้เร็วเมื่อมีการเก็บเกี่ยว ขึ้นได้ทั่วไปในเขตป่าภาคตะวันออกเฉียง ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ได้จะเป็นสิ่งยืนยันของประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการนำมาใช้เป็นชา หรือเป็นสมุนไพรในเครื่องสำอาง ส่งเสริมการขายให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชน ทำให้ผู้ซื้อมีความมั่นใจในผลิตภัณฑ์มากขึ้น และผู้ผลิตสามารถขยายตลาดออกไปสู่วงกว้างมากขึ้น รวมทั้งการนำความรู้นี้ไปประยุกต์ใช้ทำยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอย่างอื่นได้อีก

นอกจากนี้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของส่วนสกัดจากสมุนไพรที่แยกได้ อาจเป็นสารชนิดใหม่และมีประสิทธิภาพดีกว่าสารแอนติออกซิแดนซ์เดิมในอุตสาหกรรมอาหารและยา หลังจากจดสิทธิบัตรแล้วสามารถให้ข้อมูลแก่ภาคธุรกิจได้แก่ องค์การเภสัชกรรม หรือ บริษัทฯ เป็นต้น เพื่อนำไปผลิตเป็นสูตรยาในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.6.4 เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมาย

ประชากรทั่วไปของประเทศไทยโดยเฉพาะผู้สูงอายุที่มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคที่เกิดจากความเสื่อมและโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระกันมาก จะสามารถได้ใช้ยาที่มีคุณภาพมากกว่าเดิม และผลข้างเคียงน้อยลง นอกจากนี้ในโครงการวิจัยนี้เมื่อแล้วเสร็จ คาดว่าจะสามารถผลิตนักวิจัยรุ่นใหม่ภายใต้การศึกษาระดับ

บัณฑิตศึกษา จำนวนไม่น้อยกว่า 2 คน และเป็นโครงการวิจัยย่อยแก่นิติระดับปริญญาตรีประมาณ 3-4
โครงการ

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัย ทั้งในด้านชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือ หน่วยงาน บริษัทอุตสาหกรรมยา ในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยา และชุมชน และประชาชนมีหลักฐานทาง วิทยาศาสตร์รองรับการใช้สมุนไพรต่างๆ

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ชุดเครื่องแก้วและเครื่องมือมาตรฐาน

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (Whatman, ประเทศสหราชอาณาจักร)
2. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 2-20 ไมโครลิตร, 20-200 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร (Gilson, ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส)
3. ไมโครเพลท (Sterilin Limited, ประเทศสหราชอาณาจักร)
4. ตู้อบ (BINDEA, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precsia, ประเทศสมาพันธรัฐสวิสเซอร์แลนด์)
7. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Electrolux, ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน)
8. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hettich ZENTRIFUGEN, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
9. เครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) (GAST Mfg. Corp., ประเทศสหรัฐอเมริกา)
10. เครื่อง rotary vacuum evaporator (EYELA, ประเทศญี่ปุ่น)
11. เครื่องผสมสาร (vortex) (IKA work, ประเทศมาเลเซีย)
12. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท (VERSAMAX, ประเทศแคนาดา)
13. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น 713 pH Meter (Metrohm, ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส)

2.2 สารเคมี

1. Aluminium chloride (Merck, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
2. Ammonia solution (Merck, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

3. Folin-Ciocalteu's reagent (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
4. Gallic acid (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
5. Hydrochloric acid (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
6. Iron (III) Chloride hexahydrate (MERCK, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
7. L- ascorbic acid (Unilab, ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
8. Magnesium Powder (Lab chem., ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
9. Methyl alcohol (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
10. Octyl alcohol (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
11. Potassium dihydrogen phosphate (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
12. Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) (BIO BASIC., ประเทศแคนาดา)
13. Potassium hydroxide (pellets) (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
14. Quercetin (Sigma, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
15. Sodium carbonate (Carlo erba, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
16. Sodium nitrite (Univar, ประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย)
17. Trichloroacetic acid (TCA) (Panreac, สหภาพยุโรป)
18. Zinc (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
19. 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) (Acros organics, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
20. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
21. วุ้นผง (นกยูง, ประเทศไทย)
22. Acetic acid glacial (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
23. Chloroform (CARLO ERBA สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
24. Ethyl alcohol (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

25. Hydrochloric (HCL) (CARLO ERBA, ประเทศฝรั่งเศส)
26. Malondialdehyde (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
27. Methyl Alcohol (CARLO ERBA สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
28. Potassium iodide (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
29. Sodium hydroxide (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
30. Sodium thiosulfate (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
31. สารละลายแป้ง
32. Thiobarbituric acid (TBA) (MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
33. Trichloroacetic acid (TCA) (PANCEAC สหภาพยุโรป)
34. น้ำมันพืช

2.2 พืชที่นำมาใช้ในการศึกษา

ตารางที่ 2-1 รายชื่อพืชที่นำมาศึกษาจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัด
จันทบุรี

ชื่อพื้นเมือง	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้
จิก	<i>Barrington augusta</i> Kurz.	Lecythidaceae	ใบ
เสม็ดแดง (เม็ก, เสม็ดขุน)	<i>Syzygium gratum</i> (Wight) S.N. Mitra var. <i>gratum</i>	Myrtaceae	ใบ
ขำมะเลียง	<i>Lepisanthes fruticosa</i> (Roxb.) Leenh.	Sapindaceae	ใบ
ผักหวานบ้าน	<i>Sauropus amabilis</i> Airy Shaw	Euphorbiaceae	ใบ
พญาดาบหัก (ราชดัด)	<i>Brucea javanica</i> (L.) Merr.	Simaroubaceae	เมล็ด
ผักหนาม	<i>Lasia spinosa</i> (L.) Thwaites	Araceae	ใบ

2.3 การเตรียมตัวอย่างพืช 6 ชนิด

นำพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ ใบจิก ใบเสม็ดแดง ใบขำมะเลียง ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาตาบหัก และใบผักหนาม มาล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งและป่นให้ละเอียด แบ่งพืชมาต้มในน้ำเดือดอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยผ้าขาวบางแยกส่วนกากและส่วนน้ำ ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำส่วนน้ำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนใสด้วยกรวยบุชเนอร์ จากนั้นนำไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ นำสารที่ได้แช่ในตู้ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำไป Freeze dry เก็บส่วนสกัดที่ได้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2.4 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ดัดแปลงจากวิธีของปรียานูช อินทร์รอด (2551) โดยทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) โดยเตรียมกรดแกลลิก (gallic acid) ละลายในเมทานอล แล้วนำมาเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) หรือส่วนสกัดพืช ปริมาตร 0.125 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม สารละลาย 7% โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายลงในไมโครเพลท ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท แสดงปริมาณสารฟีนอลรวมจากสมการกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) โดยมีสมการเส้นตรง คือ $y = 1.760 + 0.146x$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.990 แสดงปริมาณฟีนอลรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

2.5 การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ดัดแปลงจากวิธีของ Kim, Jeong และ Lee (2003) โดยสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของเคอร์เซติน โดยละลายเคอร์เซตินในเมทานอล จากนั้นทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตสารละลายมาตรฐาน เคอร์เซตินหรือสารสกัดพืช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม 5% โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.2 มิลลิลิตร เพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.174x + 0.047$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

2.6 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

ดัดแปลงจากวิธีของปริญานูช อินทร์รอด (2551) โดยเตรียมสารละลาย DPPH ในเมทานอลที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และสารสกัดพืช ได้แก่ ใบจิก ใบเสม็ดแดง ใบขำมะเลียง ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาตาบหัก ใบผักหนามที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดพืช 50 ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) และบียเอชที (butylated hydroxytoluene) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิง ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH} = \frac{A_a - (A_b - A_c)}{A_a} \times 100$$

โดยที่ A_a คือค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุมที่ประกอบด้วยเมทานอลและสารละลาย DPPH

A_b คือค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุมที่ประกอบด้วยตัวอย่างและสารละลาย DPPH

A_c คือค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยตัวอย่างและเมทานอล

ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

จากนั้นวิเคราะห์หาค่า IC_{50} โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงของพืชแต่ละชนิด ดังนี้ คำนวณค่า IC_{50} ของใบจิกจากสมการเส้นตรง $y = 0.863x+13.90$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.904 คำนวณค่า IC_{50} ของใบเสม็ดแดงจากสมการเส้นตรง $y = 0.825x+15.60$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.952 คำนวณค่า IC_{50} ของใบข่ามะเลียงจากสมการเส้นตรง $y = 0.656x+3.877$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.993 คำนวณค่า IC_{50} ของใบผักหวานบ้านจากสมการเส้นตรง $y = 0.238x+8.003$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.992 คำนวณค่า IC_{50} ของเมล็ดพญาตาบหักจากสมการเส้นตรง จาก $y = 0.216x+9.521$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.949 คำนวณ IC_{50} ของใบผักหนามจากสมการเส้นตรง $y=0.146x+1.308$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.994 และค่า IC_{50} ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซีจากสมการ $y = 4.657x-0.031$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 รวมทั้งค่า IC_{50} ของสารละลายมาตรฐานบีเอซีทีจากสมการ $y = 26.95x-34.67$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.998 ผลที่ได้ทั้งหมดแสดงค่า IC_{50} ในรูปไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.7 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์

ดัดแปลงจากวิธีของ Rao et al. (2010) สร้างกราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยละลายกรดแกลลิกในเมทานอล จากนั้นทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบโดยเริ่มจากปิเปตสารละลายกรดแกลลิก หรือสารสกัดพืช ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2 โมลาร์, pH 6.6) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 1% โพแทสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสด้วยตุ๋นควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติม 10% กรดไทรคลอโรอะซิติก ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และเก็บสารละลายส่วนบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.1% เพอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นา

โนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์จากกราฟ มาตรฐานของกรดแกลลิก โดยมีสมการเส้นตรง คือ $y = 7.616x + 0.069$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 แสดงความสามารถในการรีดิวซ์ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสาร สกัดพืช ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ

2.8 การทดสอบฤทธิ์ต้านลิวติเปอร์ออกซิเดชัน

จากการศึกษาวิจัยจำนวนมากจนเป็นที่ยืนยันว่า ลิวติเปอร์ออกซิเดชันและภาวะถูกออกซิไดซ์มี บทบาทสำคัญในการเกิดโรคและพัฒนาการของโรค ดังนั้นผลผลิตหรือสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาลิวติเปอร์ ออกซิเดชันจะใช้เป็นตัวชี้บ่งชี้ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (โอบา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) ลิวติเปอร์ ออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นโดยอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และ อนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิวติและทำให้เกิดอนุมูลลิวติ (L^{\cdot} หรือ R^{\cdot}) อัตราเร็วของปฏิกิริยา และ บริเวณที่เกิดปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับชนิดหรือประเภทของอนุมูลที่ทำปฏิกิริยาและประเภทของลิวติ

2.8.1 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Juntachote et al., 2007)

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ชั่งสารสกัดพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด ได้แก่เสม็ดแดง ชำมะเลียง ผักหวานบ้าน จิก สันดานบ้าน และพญาดาบหัก มาตัวอย่างละ 0.005 0.05 0.5 และ 2.5 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำส่วนสกัดที่ชั่งมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาแบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร เติมหคลอโรฟอร์ม : กรดอะซิติก (2 : 3) เติมหาละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิมตัว ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร จนได้สารละลายสีเหลือง จากนั้นไทเทรตกับ 0.01 นอร์มอลของโซเดียมไฮโอ ซัลเฟต จนกระทั่งสารละลายมีสีจางลงเล็กน้อย เติม 1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำแป้ง 0.5 มิลลิลิตร สีของ สารละลายจะขุ่นขึ้นทำการไทเทรตต่อจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองใส บันทึกปริมาตร นำสารละลาย พืชบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณดังสูตร

$$\text{Peroxide value} = S \times M \times 1000 / W$$

โดย Peroxide value = มิลลิกรัมของเปอร์ออกไซด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง

เมื่อ S = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟต สำหรับตัวอย่าง

M = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโอซัลเฟต

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ส่วนตัวควบคุมเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง

2.8.2 การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตดีไดอิน (Juntachote et al., 2007)

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งส่วนสกัดพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ เสม็ดแดง ชำมะเลียง ผักหวานบ้าน จิก สันดานบ้าน และพญาดาบหัก มาตัวอย่างละ 0.005 0.05 0.5 และ 2.5 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำส่วนสกัดที่ซังมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แบ่งสารละลายใส่หลอดทดลอง 60 ไมโครลิตร เติม 60 เปอร์เซ็นต์ เมธานอล 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 233 นาโนเมตร นำสารละลายพืชบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง นำค่าที่ได้มาคำนวณดังสูตร

$$A = \epsilon BC$$

โดย Conjugated dienes = ไมโครโมลาร์ต่อกรัม

เมื่อ ϵ = ค่าคงที่

A = ค่าการดูดกลืนแสง

B = เส้นผ่านศูนย์กลางควิเวตต์ (เซนติเมตร)

ส่วนตัวควบคุมเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำไปปั่นที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง

2.8.3 การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (Juntachote et al., 2007)

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งส่วนสกัดพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด มาตัวอย่างละ 0.005 0.05 0.5 และ 2.5 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำส่วนสกัดที่ซังมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่และผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปปั่นที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แบ่งสารละลายใส่ Eppendorf tube 200 ไมโครลิตร เติม TBA reagent 400 ไมโครลิตร เติม 50 มิลลิโมลาร์ บีเอชที 6 ไมโครลิตร แล้วผสมด้วย vortex นำไปปั่นที่ 95 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วนำไปทำให้เย็นในน้ำแข็ง 30 นาที นำไปเซนทริฟิวจ์ที่ 3000 rpm 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ แล้วนำไปเซนทริฟิวจ์ที่ 3000 rpm 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำสารละลายพืชบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง คำนวณค่า TBARS จากกราฟมาตรฐาน (0-250 ไมโครโมลาร์) ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งค่า TBARS ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็นไมโครโมลาร์ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกรัมของตัวอย่าง ส่วนตัวควบคุมเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 2 มิลลิลิตร และ tween20 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำไปปั่นที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นบ่มต่อให้ครบเวลา 72 ชั่วโมงแล้วนำมาทำการทดสอบอีกครั้ง

2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทุกตัวอย่างในแต่ละการวิเคราะห์ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เป็นจำนวน 3 ครั้ง โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean \pm SD) การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA ถูกนำไปใช้กับข้อมูลเพื่อกำหนดความแตกต่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่ $P < 0.05$ ในการวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 13.0 for windows

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากผักพื้นบ้าน

จากการนำผักพื้นบ้าน ได้แก่ พญาดาบหัก เสม็ดแดง จิก ผักหวานบ้าน มา 90 กรัม และขำมะเลียง 36.47 กรัม ผักหนาม 8.27 กรัม สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:10 และนำไประเหยแห้ง โดยจะได้น้ำหนักสารสกัดและ คำนวณ % yield ตามตารางที่ 4-1 โดยผักหวานบ้านได้น้ำหนักสารสกัด และมี %yield มากที่สุด คือ 31.90 กรัม และ 35.44% ตามลำดับ

ตารางที่ 3-1 ปริมาณสารสกัดและ % yield ของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

ตัวอย่างพืช	น้ำหนักผักสด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	% yield
ใบผักหวานบ้าน	90	31.90	35.44
ใบจิก	90	25.07	27.85
เมล็ดพญาดาบหัก	90	14.49	16.10
ใบเสม็ดแดง	90	10.95	12.17
ใบขำมะเลียง	36.47	5.67	15.55
ใบผักหนาม	8.27	1.91	23.09

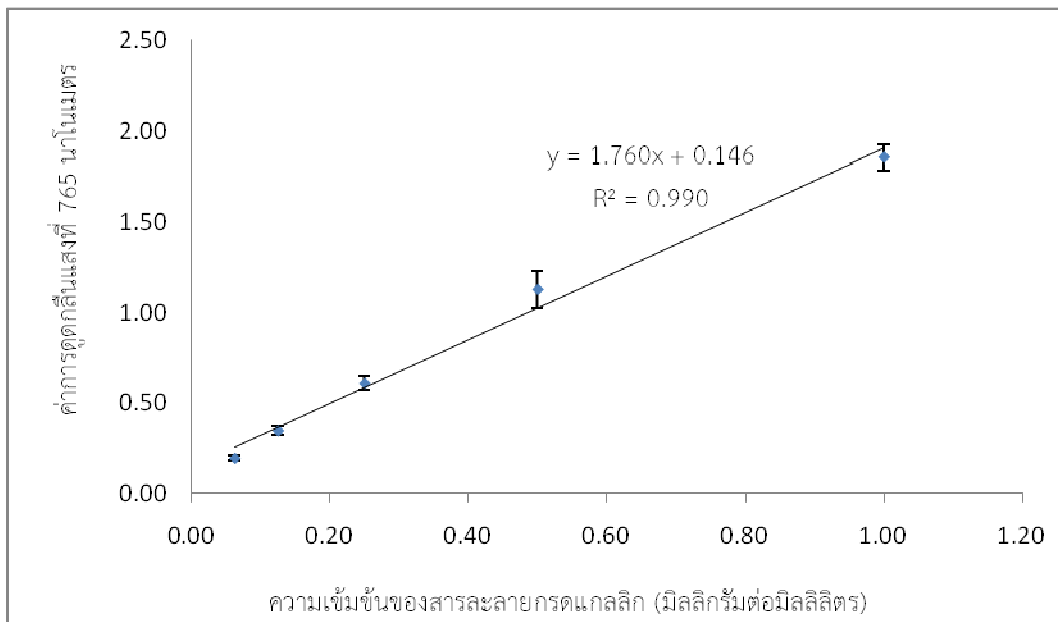
3.2 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด (ตารางที่ 3-2) โดยใช้ความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 251.26 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบเสม็ดแดง ใบขำมะเลียง ใบผักหวาน เมล็ดพญาดาบหัก และใบผักหนาม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 231.33 ± 0.026 , 161.19 ± 0.004 , 24.13 ± 0.002 , 4.44 ± 0.001 และ -21.41 ± 0.002 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดพืชคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (รูปที่ 3-1) สมการเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 1.760X + 0.146$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.990

ตารางที่ 3-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดพืช

พืช	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด)
ใบจิก	251.26±0.005
ใบเสม็ดแดง	231.33±0.026
ใบชามะเลียง	161.19±0.004
ใบผักหวาน	24.13±0.002
เมล็ดพญาตาบหัก	4.44±0.001
ใบผักหนาม	-21.41±0.002

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3-1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดพืช

3.3 การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

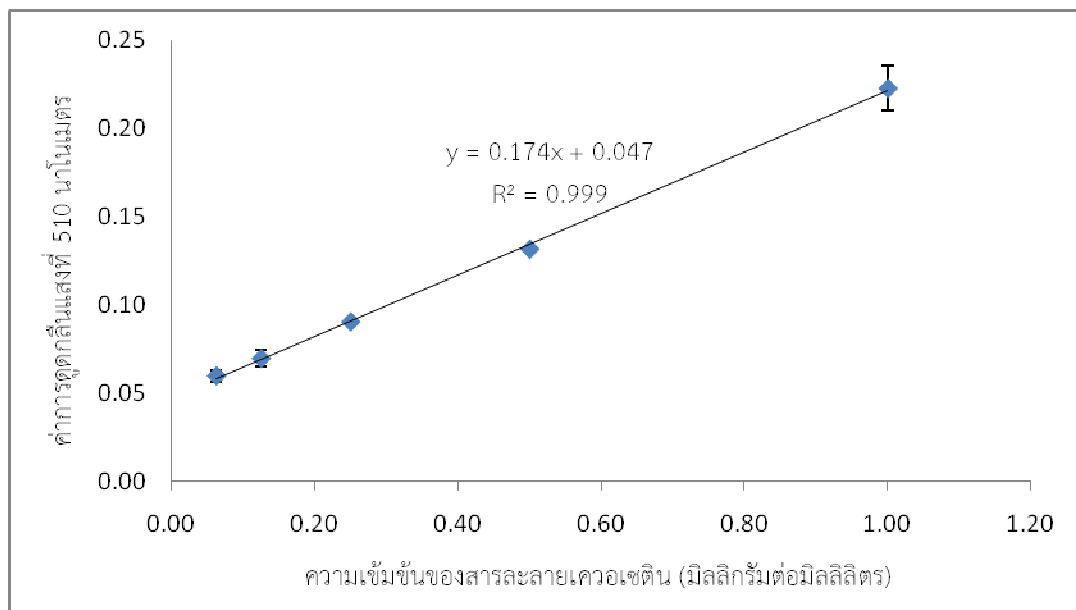
การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ของผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด (ตารางที่ 3-3) พบว่า ใบชามะเลียงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 234.23±0.013 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบจิก ใบเสม็ดแดง ใบผักหวาน เมล็ดพญาตาบหัก มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 146.74±0.023, 131.72±0.006, 61.75±0.006, 54.66±0.008 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ ซึ่งการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืชคำนวณได้จากสารมาตรฐานของ

สารละลายเคอร์เซติน (รูปที่ 3-2) สมการกราฟเส้นตรงที่ได้คือ $y = 0.174x + 0.047$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999

ตารางที่ 3-3 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืช

พืช	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด)
ใบจิก	146.74±0.023
ใบเสมีดแดง	131.72±0.006
ใบขำมะเลียง	234.23±0.013
ใบผักหวาน	61.75±0.006
เมล็ดพญาตาบหัก	54.66±0.008
ใบผักหนาม	-2.66±0.0050

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



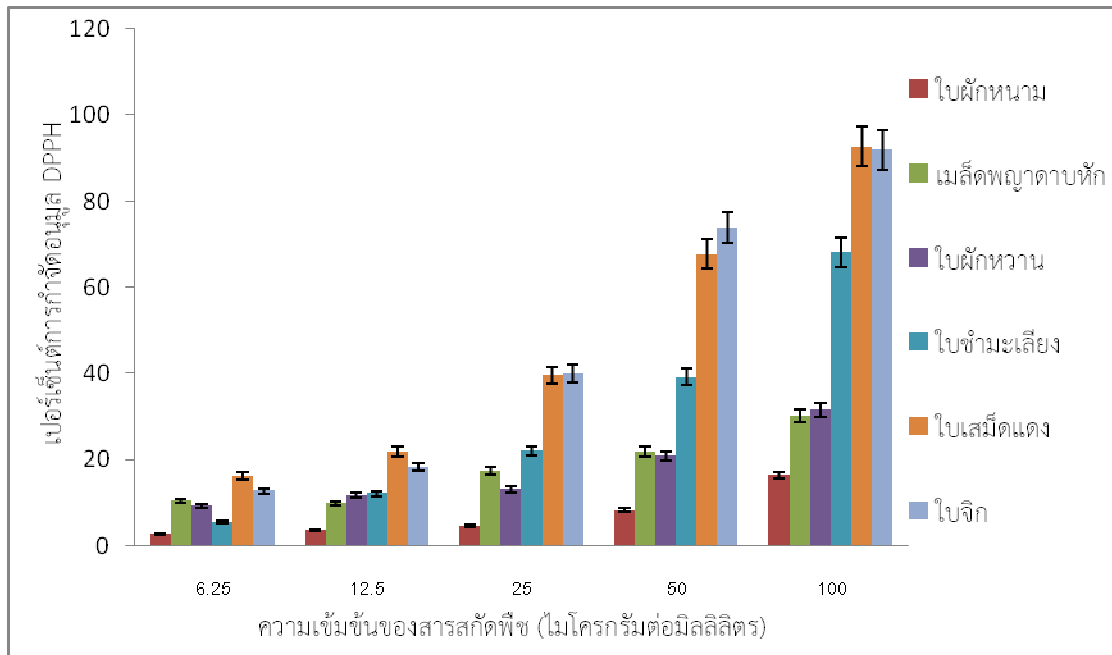
รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืช

3.4 การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด โดยจะนำสารสกัดผักพื้นบ้านมา 0.01 กรัมละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นต่างๆ

ดังนี้ 6.25 12.5 25 50 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3-3) พบว่าฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของ สารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้พบว่าที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบจิก และใบเสม็ดแดง มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด สามารถยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ 91.90 และ 92.70% ตามลำดับ รองลงมาคือ ใบขำมะเลียง ใบผักหวาน เมล็ดพญาตาบหัก และใบผักหนาม ตามลำดับ ทั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดผักพื้นบ้าน โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.991 (รูปที่ 3-8) และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดผักพื้นบ้าน มีค่า R^2 เท่ากับ 0.576 (รูปที่ 3-9)

ส่วนค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด (ตารางที่ 3-4) พบว่า ใบจิกมีค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 41.83 ± 5.702 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใบเสม็ดแดงมีค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 41.70 ± 3.746 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ ใบขำมะเลียง ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาตาบหักและใบผักหนาม ซึ่งมีค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 70.31 ± 4.075 , 176.46 ± 32.102 , 187.40 ± 10.044 , 333.51 ± 52.460 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี (ตารางที่ 3-4 และรูปที่ 3-4) และค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายบีเอชที (ตารางที่ 3-4 และรูปที่ 3-5) ที่ถูกใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิงมีค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 10.74 ± 0.334 และ 23.10 ± 0.986 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติ พบว่า ใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบขำมะเลียง ให้ค่า IC_{50} ไม่แตกต่างกับวิตามินซีและบีเอชทีที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

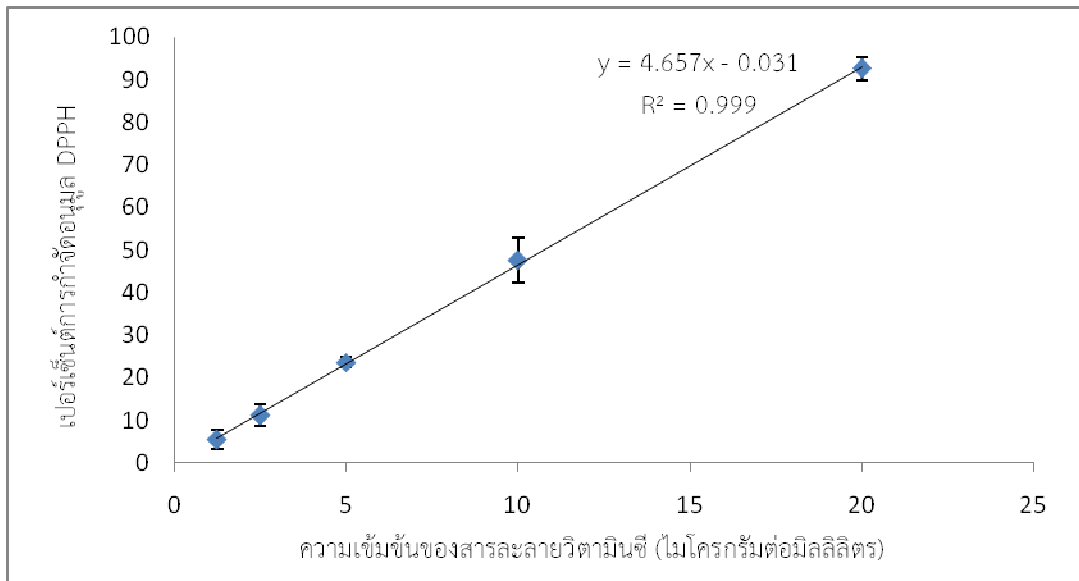


รูปที่ 3-3 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช

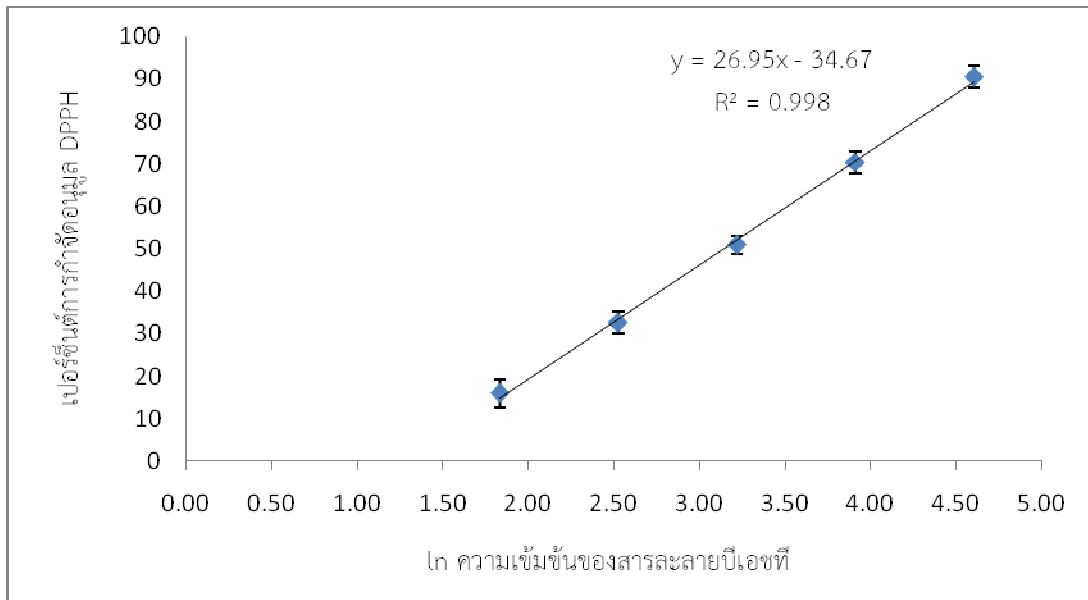
ตารางที่ 3-4 ค่า IC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด สารต้านอนุมูลอิสระอ้างอิง วิตามินซีและบีเอชที

สารมาตรฐาน/สารสกัดตัวอย่าง	IC ₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)
วิตามินซี	10.74±0.334
บีเอชที	23.10±0.986
ใบจิก	41.87±5.702
ใบเสม็ดแดง	41.70±3.746
ใบขำมะเสียด	70.31±4.075
ใบผักหวาน	176.46±32.102
เมล็ัดพญาดาบหัก	187.40±10.044
ใบผักหนาม	333.51±52.460

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ



รูปที่ 3-4 การหาค่า IC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายวิตามินซี

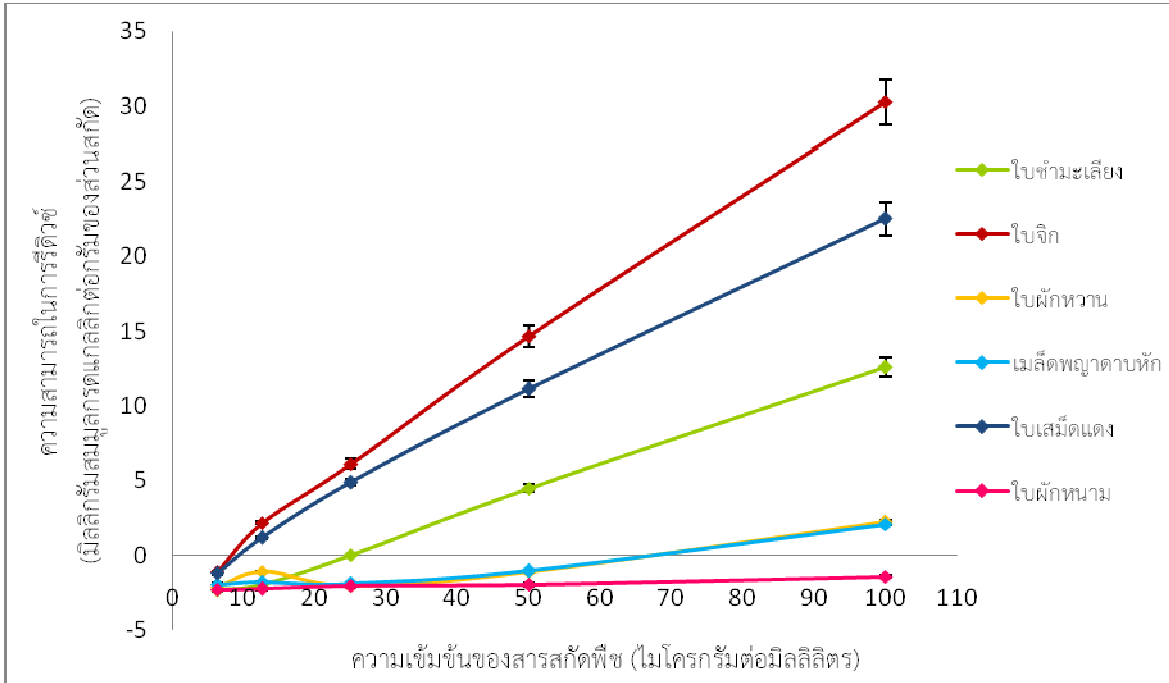


รูปที่ 3-5 การหาค่า IC₅₀ ของการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารละลายบีเอชที

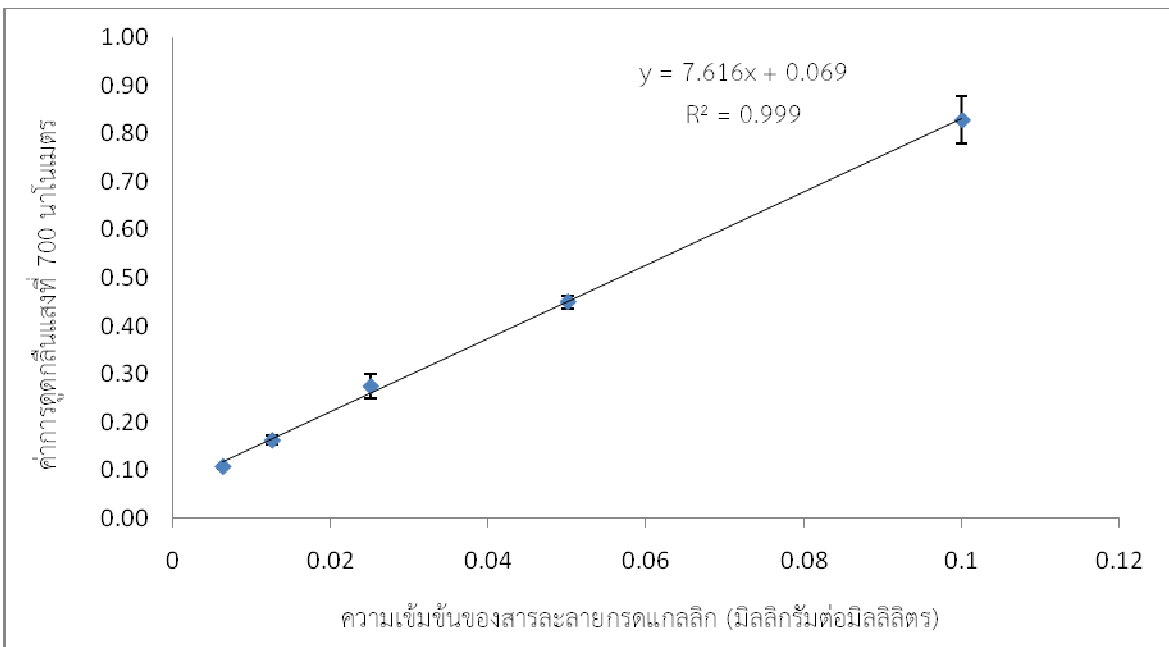
3.5 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด โดยเลือกความเข้มข้นที่ 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3-6) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดพืชเพิ่มขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบข่ามะเสียมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ส่วนเมล็ดพญาตาบหัก ใบผักหวานและใบ

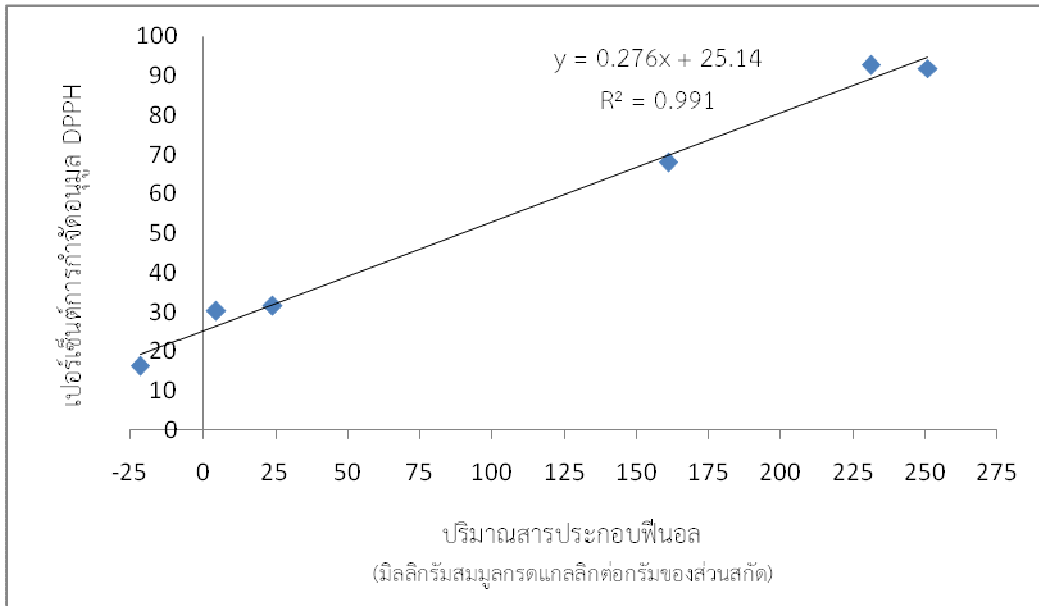
ผักหนาม มีความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย การหาความสามารถในการรีดิวซ์ของส่วนสกัดพืช คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานในการรีดิวซ์ของสารละลายกรดแกลลิก (รูปที่ 3-7) สมการกราฟเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 7.616x + 0.069$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999



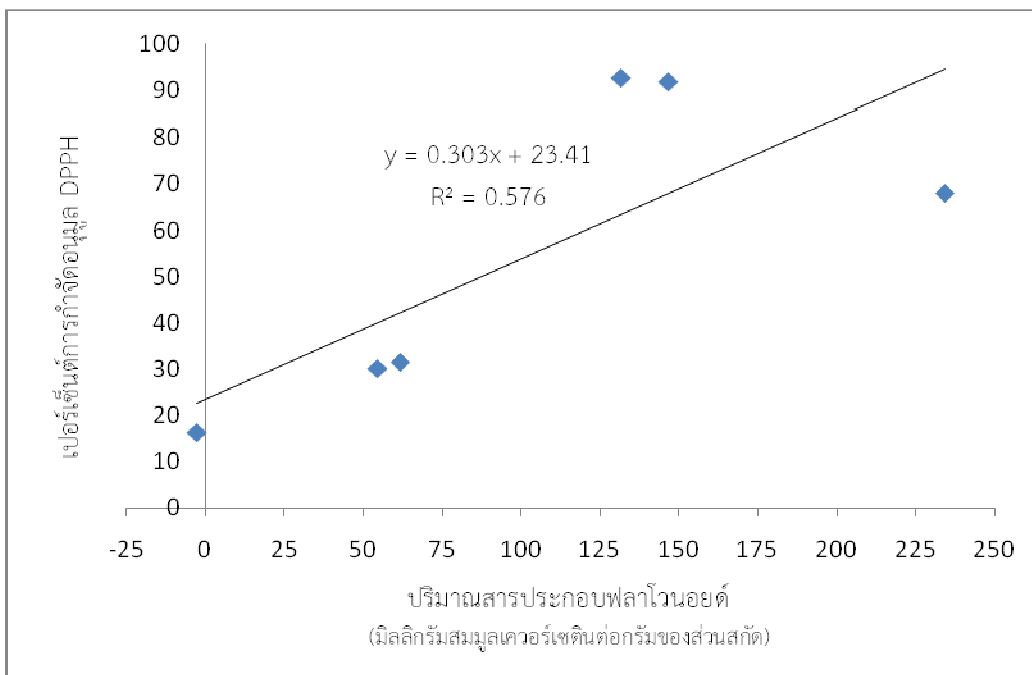
รูปที่ 3-6 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 3-7 กราฟมาตรฐานในการรีดิวซ์ของสารละลายกรดแกลลิก



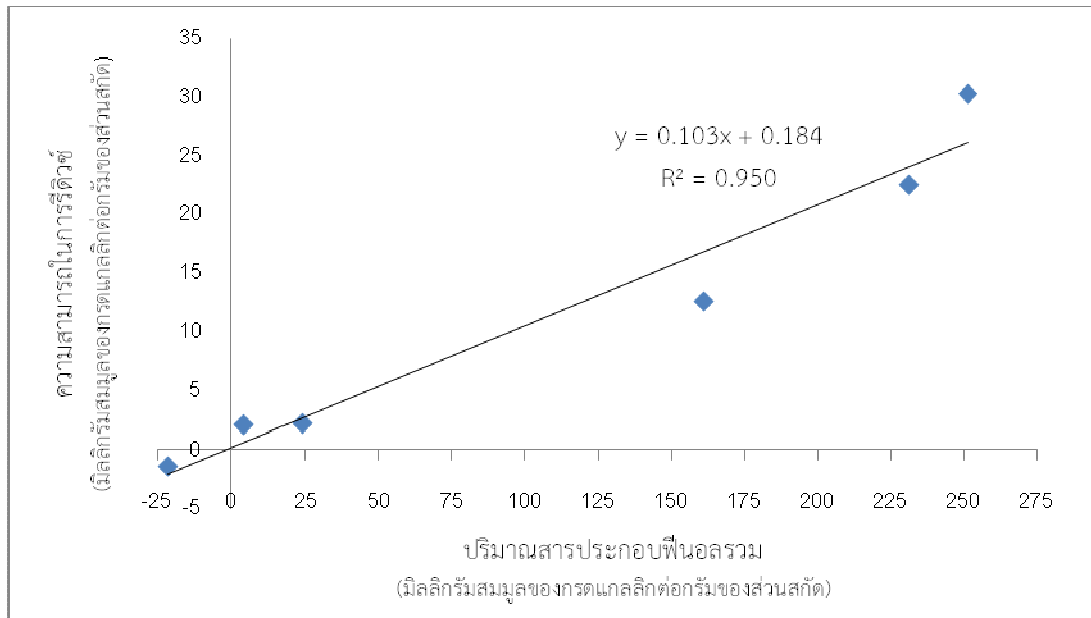
รูปที่ 3-8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช



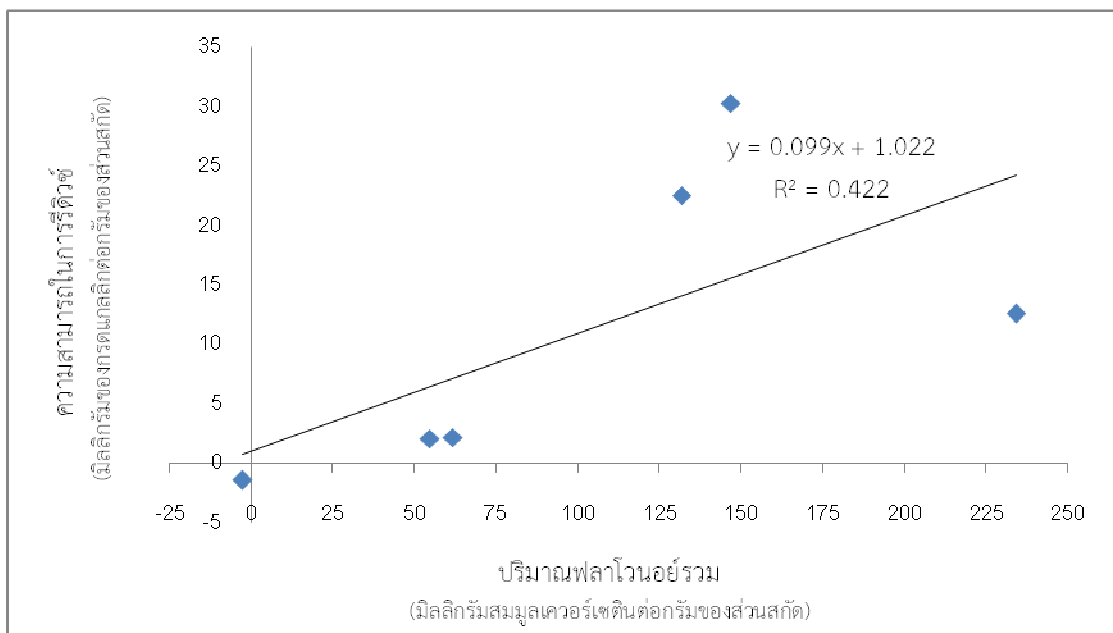
รูปที่ 3-9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช

จากการทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอล กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

อนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี โดยมีค่า $R^2 = 0.991$ (รูปที่ 3-8) ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ได้น้อย โดยมีค่า $R^2 = 0.576$ (รูปที่ 3-9)



รูปที่ 3-10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืช



รูปที่ 3-11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืช

จากการทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอล กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์เป็นอย่างดี โดยมีค่า $R^2 = 0.950$ (รูปที่ 3-10) ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้น้อยกว่า โดยมีค่า $R^2 = 0.422$ (รูปที่ 3-11)

3.6 การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตต์ไดอิน

การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตต์ไดอินของสารสกัดพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดสามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้ โดยพบว่าทุกส่วนสกัดมีค่าคอนจูเกตต์ไดอินลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุมที่เวลา 0 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 0.000495 และ 0.000591 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตต์ไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช ตามลำดับ) โดยเมื่อความเข้มข้นของพืชมากขึ้น และเวลาที่บ่มสารสกัดของผักพื้นบ้านไว้นานขึ้นจะสามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินลง โดยพืชที่สามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้มากที่สุดคือ ใบข่ามะเสียง รองลงมาคือ เมล็ดพญาดาบหัก ใบสันดานบ้าน ใบเสม็ดแดง ใบจิก และ ใบผักหวาน

ตารางที่ 3-5 ค่าคอนจูเกตต์ไดอินคอนจูเกตต์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

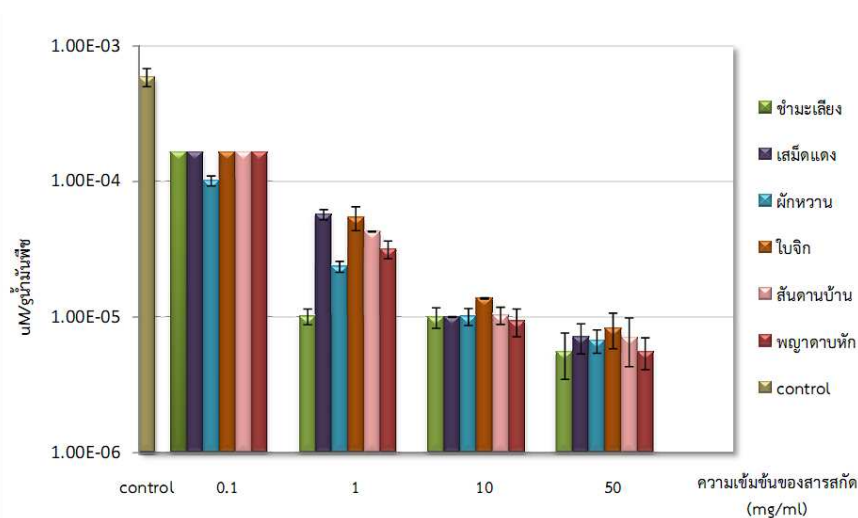
ส่วนสกัดพืช	ไมโครโมลาร์คอนจูเกตต์ไดอินต่อกรัมของน้ำมันพืช	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	$0.000495 \pm 8.98 \times 10^{-05}$	$0.000591 \pm 8.98 \times 10^{-05}$
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	0.000165 ± 0.0000	0.000165 ± 0.0000
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	$2.50 \times 10^{-05} \pm 4.67 \times 10^{-06}$	$3.16 \times 10^{-05} \pm 4.67 \times 10^{-06}$
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	$6.26 \times 10^{-06} \pm 2.15 \times 10^{-06}$	$9.30 \times 10^{-06} \pm 2.15 \times 10^{-06}$
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	$3.48 \times 10^{-06} \pm 1.46 \times 10^{-06}$	$5.55 \times 10^{-06} \pm 1.46 \times 10^{-06}$
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	$8.90 \times 10^{-05} \pm 8.49 \times 10^{-06}$	$0.000101 \pm 8.49 \times 10^{-06}$
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	$2.04 \times 10^{-05} \pm 2.19 \times 10^{-06}$	$2.35 \times 10^{-05} \pm 2.19 \times 10^{-06}$
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	$8.07 \times 10^{-06} \pm 1.44 \times 10^{-06}$	$1.01 \times 10^{-05} \pm 1.44 \times 10^{-06}$
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	$4.87 \times 10^{-06} \pm 1.3 \times 10^{-06}$	$6.71 \times 10^{-06} \pm 1.3 \times 10^{-06}$
ใบเสม็ดแดง 0.1 mg/ml	$1.65 \times 10^{-04} \pm 0.0000$	$1.65 \times 10^{-04} \pm 0.0000$
ใบเสม็ดแดง 1 mg/ml	$6.39 \times 10^{-05} \pm 4.88 \times 10^{-06}$	$5.70 \times 10^{-05} \pm 4.88 \times 10^{-06}$

ไบโสมีดแดง 10 mg/ml	$1.01 \times 10^{-05} \pm 7.07 \times 10^{-08}$	$1.00 \times 10^{-05} \pm 7.07 \times 10^{-08}$
ไบโสมีดแดง 50 mg/ml	$4.59 \times 10^{-06} \pm 1.79 \times 10^{-06}$	$7.12 \times 10^{-06} \pm 1.79 \times 10^{-06}$
ไบจิก 0.1 mg/ml	0.000165±0.0000	0.000165±0.0000
ไบจิก 1 mg/ml	$6.94 \times 10^{-05} \pm 1.08 \times 10^{-05}$	$5.41 \times 10^{-05} \pm 1.08 \times 10^{-05}$
ไบจิก 10 mg/ml	$1.37 \times 10^{-05} \pm 1.41 \times 10^{-07}$	$1.39 \times 10^{-05} \pm 1.41 \times 10^{-07}$
ไบจิก 50 mg/ml	$4.82 \times 10^{-06} \pm 2.43 \times 10^{-06}$	$8.25 \times 10^{-06} \pm 2.43 \times 10^{-06}$
ไบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	0.000165±0.0000	0.000165±0.0000
ไบสันดานบ้าน 1 mg/ml	$4.21 \times 10^{-05} \pm 3.54 \times 10^{-07}$	$4.26 \times 10^{-05} \pm 3.54 \times 10^{-07}$
ไบสันดานบ้าน 10 mg/ml	$8.19 \times 10^{-06} \pm 1.49 \times 10^{-06}$	$1.03 \times 10^{-05} \pm 1.49 \times 10^{-06}$
ไบสันดานบ้าน 50 mg/ml	$3.15 \times 10^{-06} \pm 2.76 \times 10^{-06}$	$7.06 \times 10^{-06} \pm 2.76 \times 10^{-06}$
ไบขำมะเลียง 0.1 mg/ml	0.000165±0.0000	0.000165±0.0000
ไบขำมะเลียง 1 mg/ml	$8.19 \times 10^{-06} \pm 1.35 \times 10^{-06}$	$1.01 \times 10^{-05} \pm 1.35 \times 10^{-06}$
ไบขำมะเลียง 10 mg/ml	$7.55 \times 10^{-06} \pm 1.71 \times 10^{-06}$	$9.97 \times 10^{-06} \pm 1.71 \times 10^{-06}$
ไบขำมะเลียง 50 mg/ml	$2.61 \times 10^{-06} \pm 2.07 \times 10^{-06}$	$5.54 \times 10^{-06} \pm 2.07 \times 10^{-06}$

ตารางที่ 3-6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งคอนจูเกตต์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

ส่วนสกัดพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งคอนจูเกตต์ได้อิน	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0	0
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	66.66667	72.08122
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	94.94949	92.79188
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	98.73535	98.25719
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	99.29697	98.80541
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	82.0202	82.91032
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	95.87879	96.02369
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	98.3697	98.29103
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	99.01616	98.86464
ไบโสมีดแดง 0.1 mg/ml	66.66667	72.08122
ไบโสมีดแดง 1 mg/ml	87.09091	90.35533
ไบโสมีดแดง 10 mg/ml	97.9596	98.30795
ไบโสมีดแดง 50 mg/ml	99.07273	98.79526
ไบจิก 0.1 mg/ml	66.66667	72.08122
ไบจิก 1 mg/ml	85.9798	90.84602
ไบจิก 10 mg/ml	97.23232	97.64805
ไบจิก 50 mg/ml	99.02626	98.60406

ใบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	66.66667	72.08122
ใบสันดานบ้าน 1 mg/ml	91.49495	92.79188
ใบสันดานบ้าน 10 mg/ml	98.34545	98.25719
ใบสันดานบ้าน 50 mg/ml	99.36364	98.80541
ใบขำมะเลียง 0.1 mg/ml	66.66667	72.08122
ใบขำมะเลียง 1 mg/ml	98.34545	98.29103
ใบขำมะเลียง 10 mg/ml	98.47475	98.31303
ใบขำมะเลียง 50 mg/ml	99.47273	99.06261



รูปที่ 3-12 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลใน

3.7 การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

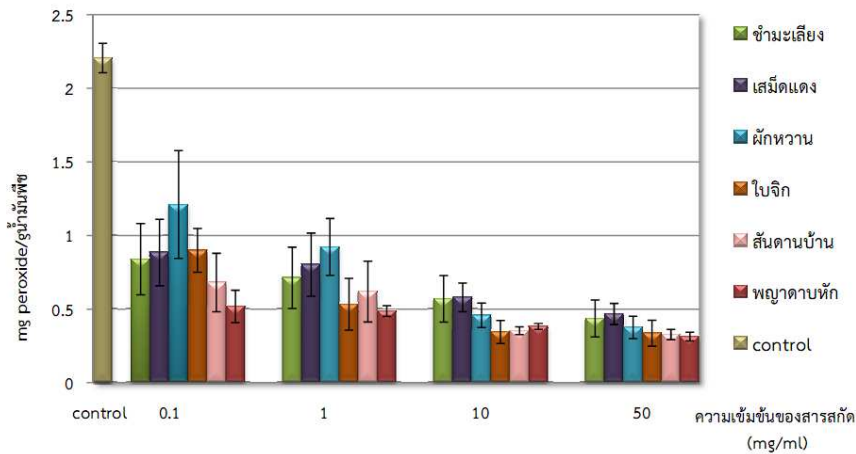
การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ของสารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจากน้ำมันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ไม่ผสมสารสกัดจากผักพื้นบ้าน (กลุ่มควบคุมที่เวลา 0 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 0.740363 และ 2.20452 มิลลิกรัมเปอร์ออกไซด์ต่อกรัมของน้ำมันพืช ตามลำดับ) โดยที่ 0 ชั่วโมง พืชที่ทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ลดลงมากที่สุดคือ ใบจิก สันดานบ้าน และที่ 72 ชั่วโมงคือ ใบจิก สันดานบ้าน พญาดาบหัก

ตารางที่ 3-7 ค่าเปอร์ออกไซด์เปอร์ออกไซด์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

ส่วนสกัดพืช	มิลลิกรัมเปอร์ออกไซด์ต่อกรัมของน้ำมันพืช	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0.7404±1.0353	2.2045±1.0353
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	0.6733±0.1097	0.5183±0.1097
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	0.4352±0.0367	0.4871±0.0367
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	0.4110±0.0209	0.3814±0.0209
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	0.2697±0.0296	0.3116±0.0296
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	0.6928±0.3656	1.2098±0.3656
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	0.6493±0.1929	0.9220±0.1929
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	0.3385±0.0836	0.4567±0.0836
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	0.2661±0.0770	0.3750±0.0770
ใบเสมีดแดง 0.1 mg/ml	0.5646±0.2258	0.8839±0.2258
ใบเสมีดแดง 1 mg/ml	0.4990±0.2142	0.8019±0.2142
ใบเสมีดแดง 10 mg/ml	0.4413±0.0976	0.5792±0.0976
ใบเสมีดแดง 50 mg/ml	0.3629±0.0728	0.4658±0.0728
ใบจิก 0.1 mg/ml	0.6881±0.1485	0.8981±0.1485
ใบจิก 1 mg/ml	0.2818±0.1766	0.5316±0.1766
ใบจิก 10 mg/ml	0.2321±0.0792	0.3440±0.0792
ใบจิก 50 mg/ml	0.2091±0.0892	0.3354±0.0892
ใบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	0.3992±0.1985	0.6800±0.1986
ใบสันดานบ้าน 1 mg/ml	0.3266±0.2067	0.6189±0.2067
ใบสันดานบ้าน 10 mg/ml	0.3143±0.0262	0.3514±0.0262
ใบสันดานบ้าน 50 mg/ml	0.2766±0.0348	0.3258±0.0348
ใบขำมะเลียง 0.1 mg/ml	0.4967±0.2418	0.8386±0.2418
ใบขำมะเลียง 1 mg/ml	0.4172±0.2083	0.7118±0.2083
ใบขำมะเลียง 10 mg/ml	0.3459±0.1580	0.5693±0.1580
ใบขำมะเลียง 50 mg/ml	0.2575±0.1262	0.4360±0.1262

ตารางที่ 3-8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

ส่วนสกัดพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปอร์ออกไซด์	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0	0
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	9.052451	76.49044
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	41.21559	77.90367
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	44.49263	82.69808
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	63.56652	85.86325
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	6.430359	45.12366
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	12.30059	58.17569
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	54.27878	79.28469
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	64.05669	82.99016
ใบเสม็ดแดง 0.1 mg/ml	23.74362	59.903
ใบเสม็ดแดง 1 mg/ml	32.5982	63.62512
ใบเสม็ดแดง 10 mg/ml	40.39681	73.72462
ใบเสม็ดแดง 50 mg/ml	50.98634	78.8704
ใบจิก 0.1 mg/ml	7.064778	59.26041
ใบจิก 1 mg/ml	61.93273	75.88631
ใบจิก 10 mg/ml	68.65551	84.39445
ใบจิก 50 mg/ml	71.75088	84.78792
ใบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	46.07848	69.15615
ใบสันดานบ้าน 1 mg/ml	55.88772	71.92682
ใบสันดานบ้าน 10 mg/ml	57.54461	84.06046
ใบสันดานบ้าน 50 mg/ml	62.64657	85.22307
ใบขำมะเลียง 0.1 mg/ml	32.91534	61.95927
ใบขำมะเลียง 1 mg/ml	43.64494	67.71217
ใบขำมะเลียง 10 mg/ml	53.2736	74.17492
ใบขำมะเลียง 50 mg/ml	65.21922	80.2243



รูปที่ 3-13 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าเปอร์ออกไซด์

3.8 การวิเคราะห์ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

การวิเคราะห์ค่าทีบาร์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งส่วนใหญ่ก็คือมาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งจะออกซิไดซ์น้ำมันทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน โดยผู้วิจัยได้วิเคราะห์ค่าทีบาร์จากน้ำมันพืชที่ผสมกับส่วนสกัดของพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทำให้ค่าทีบาร์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม เท่ากับ ไมโครโมลาร์ของ MDA ต่อกรัมของน้ำมัน) โดยที่ 0 ชั่วโมงใบจิกและสันดานบ้าน ยับยั้งการเกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ดีที่สุด และที่ 72 ชั่วโมง สันดานบ้านและขำมะเลียงยับยั้งการเกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 3-9 ค่าทีบาร์ TBARS ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

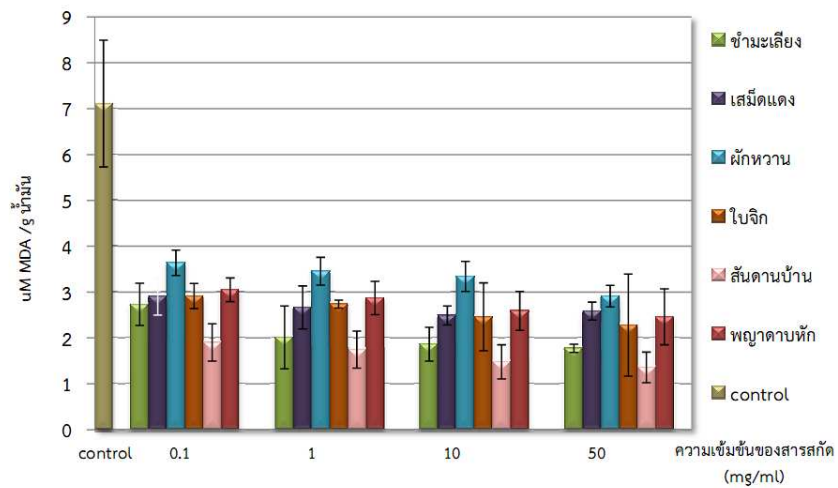
ส่วนสกัดพืช	ไมโครโมลาร์ของ MDA ต่อกรัมของน้ำมันพืช	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	5.156±1.380272	7.108±1.380272
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	3.0475±0.258165	2.6824±0.258165
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	2.8688±0.362675	2.3559±0.362675
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	2.5893±0.424405	1.9891±0.424405
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	2.4581±0.608465	1.5976±0.608465
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	4.0273±0.277115	3.6354±0.277115
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	3.8804±0.302642	3.4524±0.302642
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	3.8008±0.326188	3.3395±0.326188
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	3.2399±0.233557	2.9096±0.233557
ใบเสม็ดแดง 0.1 mg/ml	3.4798±0.406869	2.9044±0.406869
ใบเสม็ดแดง 1 mg/ml	3.3266±0.468388	2.6642±0.468388

ไบเซมิตแดง 10 mg/ml	2.7833±0.208526	2.4884±0.208526
ไบเซมิตแดง 50 mg/ml	2.5838±0.196151	2.3064±0.196151
ไบจิก 0.1 mg/ml	3.3012±0.275418	2.9117±0.275418
ไบจิก 1 mg/ml	2.8573±0.086267	2.7353±0.086267
ไบจิก 10 mg/ml	1.4121±0.739704	2.4582±0.739704
ไบจิก 50 mg/ml	0.7089±1.110935	2.28±1.110935
ไบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	2.4735±0.405455	1.9001±0.405455
ไบสันดานบ้าน 1 mg/ml	2.3146±0.403546	1.7439±0.403546
ไบสันดานบ้าน 10 mg/ml	2.0033±0.371231	1.4783±0.371231
ไบสันดานบ้าน 50 mg/ml	1.8299±0.334179	1.3573±0.334179
ไบซำมะเลียง 0.1 mg/ml	3.3818±0.460892	2.73±0.460892
ไบซำมะเลียง 1 mg/ml	2.9786±0.685186	2.0096±0.685186
ไบซำมะเลียง 10 mg/ml	2.3842±0.367837	1.864±0.367837
ไบซำมะเลียง 50 mg/ml	1.9005±0.090156	1.773±0.090156

ตารางที่ 3-10 เปอร์เซนต์การยับยั้ง TBARS ของน้ำมันพืชจากส่วนสกัดของผักพื้นบ้านแต่ละชนิด

ส่วนสกัดพืช	เปอร์เซนต์การยับยั้ง TBARS	
	0 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0	0
เมล็ดพญาดาบหัก 0.1 mg/ml	40.8941	40.8941
เมล็ดพญาดาบหัก 1 mg/ml	44.35997	44.35997
เมล็ดพญาดาบหัก 10 mg/ml	49.78084	49.78084
เมล็ดพญาดาบหัก 50 mg/ml	52.32545	52.32545
ใบผักหวานบ้าน 0.1 mg/ml	29.49185	29.49185
ใบผักหวานบ้าน 1 mg/ml	33.04112	33.04112
ใบผักหวานบ้าน 10 mg/ml	35.2308	35.2308
ใบผักหวานบ้าน 50 mg/ml	43.56866	43.56866
ไบเซมิตแดง 0.1 mg/ml	43.66951	43.66951
ไบเซมิตแดง 1 mg/ml	48.32816	48.32816
ไบเซมิตแดง 10 mg/ml	51.73778	51.73778
ไบเซมิตแดง 50 mg/ml	55.26765	55.26765
ไบจิก 0.1 mg/ml	43.52793	43.52793
ไบจิก 1 mg/ml	46.94919	46.94919
ไบจิก 10 mg/ml	52.32351	52.32351
ไบจิก 50 mg/ml	55.77967	55.77967
ไบสันดานบ้าน 0.1 mg/ml	63.14779	63.14779

ใบสันดานบ้าน 1 mg/ml	66.17727	66.17727
ใบสันดานบ้าน 10 mg/ml	71.32855	71.32855
ใบสันดานบ้าน 50 mg/ml	73.67533	73.67533
ใบชำมะเลียง 0.1 mg/ml	47.05198	47.05198
ใบชำมะเลียง 1 mg/ml	61.02405	61.02405
ใบชำมะเลียง 10 mg/ml	63.84794	63.84794
ใบชำมะเลียง 50 mg/ml	65.61288	65.61288



รูปที่ 3-14 ผลของสารสกัดผักพื้นบ้านที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าปริมาณทีบาร์

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

4.1 อภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษาทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสารสกัดน้ำผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ใบจิก ใบชามะเลียง ใบเสม็ดแดง (เม็ก) ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาตาบหัก (ราชดัด) และใบผักหนาม โดยทำการทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH และทำการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และฟลาโวนอยด์รวม

การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH นั้น DPPH ถูกใช้เป็นสารทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจาก DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูล อนุมูล DPPH เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีสีม่วง และเมื่อมีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูล DPPH จะได้เป็นสาร diphenylpicrylhydrazyl (DPPH:H) ที่เป็นสารละลายสีเหลืองที่ไม่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระอีกต่อไป (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550) ในการทดลองนี้ใช้สารสกัดพืชในช่วงความเข้มข้น 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ดังรายงานของ (ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549) กล่าวว่า กลไกการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลต่อการต้านอนุมูล DPPH เกิดจากสารประกอบฟีนอลให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH ทำให้อนุมูล DPPH ไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป ส่วนสารประกอบฟีนอลจะกลายเป็น phenoxy radical แล้ว phenoxy radical 2 โมเลกุลจะจับกันเองทำให้ phenoxy radical ไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป และทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหยุดลง และจากผลการทดลองพบว่า ใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบชามะเลียงมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ ผักหวาน พญาตาบหักและผักหนาม จากงานวิจัยของ (Sofidiya et al., 2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ของพืชสมุนไพรในวงศ์ Sapindaceae 6 ชนิด พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH อยู่ระหว่าง 33.8-99.2% ทั้งนี้จากการทดสอบสถิติพบว่า ใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบชามะเลียง มีค่า IC_{50} ไม่แตกต่างกับวิตามินซีและบีเอชที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นอกจากนี้พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูล

DPPH เป็นอย่างดี โดยมีค่า $R^2 = 0.991$ ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH น้อย มีค่า $R^2 = 0.576$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดพืชน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบ

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารตัวอย่างโดยเป็นการทดสอบความสามารถของสารตัวอย่างในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} /Ferric cyanide ไปเป็นรูป Fe^{2+} /Ferrous cyanide และติดตามปริมาณ Fe^{2+} โดยการเกิด Perls Prussian blue ที่ 700 นาโนเมตร (Senevirathne et al., 2006) ซึ่งจากการทดลองนี้เลือกใช้ความเข้มข้นที่ 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบข่ามะเลียง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าผักพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี ดังรายงานของ (Hussin, 2009) พบว่าส่วนสกัดน้ำของใบ ลำต้น และเปลือกของจิกสวน (*Barringtonia racemosa*) ซึ่งอยู่วงศ์เดียวกับจิก มีศักยภาพในการรีดิวซ์สูงและจากงานวิจัยของ (Lavanya, Voravuthikunchai และ Towatana, 2012) แสดงให้เห็นว่า *Rhodomyrtus tomentosa* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Myrtaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับเสม็ดแดงมีความสามารถในการรีดิวซ์โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} โดยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถสูงกว่ากรดแกลลิก และ ellagic acid 2.7 เท่าและ 3.0 เท่า ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพญาตาบหัก ใบผักหวานบ้าน และใบผักหนามมีความสามารถในการรีดิวซ์เพียงเล็กน้อย ซึ่งจากการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์เป็นอย่างดี โดย $R^2 = 0.950$ ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์ได้น้อยกว่า โดยมีค่า $R^2 = 0.422$ แสดงให้เห็นว่าการที่พืชที่นำมาทดสอบมีความสามารถในการรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์เพียงอย่างเดียว

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก พบว่าใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 251.26 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูล

ของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ เสม็ดแดง ขำมะเลียง ผักหวาน และพญาดาบหัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 231.33 ± 0.026 , 161.19 ± 0.004 , 24.13 ± 0.002 , 4.44 ± 0.001 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ และจากการคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซตินซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า ใบขำมะเลียงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 234.23 ± 0.0131 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบจิก ใบเสม็ดแดง ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาดาบหัก มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 146.74 ± 0.023 , 131.72 ± 0.006 , 61.75 ± 0.006 , 54.66 ± 0.008 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ ส่วนใบผักหวานนั้นจากการทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่ำมากหรืออาจกล่าวได้ว่าไม่มีสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ จากงานวิจัยของ Hussin (2009) ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากส่วนของใบ ลำต้น และเปลือกของจิกสวน (*Barringtonia racemosa*) ซึ่งอยู่วงศ์เดียวกับจิก พบว่ามี gallic acid, naringin, flavonoids รวมทั้ง ferulic acid, rutin, kaempferol และ luteolin เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมที่ตรวจพบน่าจะมีสารดังกล่าวอยู่ด้วย

ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ระหว่างออกซิเจนกับลิพิด (lipid) ณ ตำแหน่งพันธะคู่ ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ทำให้เกิดสารที่ให้กลิ่นและรสไม่ดีที่เรียกว่า การหืน (rancidity) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) เพราะอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจะกระตุ้นโมเลกุลของกรดไขมันที่เหลือให้เกิดปฏิกิริยาต่อไป

ในการศึกษานี้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในสารสกัดน้ำผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด จากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ใบจิก ใบขำมะเลียง ใบเสม็ดแดง (เม็ก) ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาดาบหัก (ราชดัด) และใบสันดานบ้าน โดยทำการทดสอบค่าคอนจูเกตต์ไดอิน เปอร์ออกไซด์ และ TBARS

ผู้วิจัยได้ทำการหาค่าคอนจูเกตต์ไดอินจะใช้เป็นดัชนีชี้วัดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยา เนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกดึงไฮโดรเจนอะตอมออกจากหมู่เมทิลีน ทำให้เกิดอัลคิลเรดิคอลลขึ้น หลังจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นคอนจูเกตต์ไดอิน ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เสถียร จากการ

ทดสอบพบว่า สารสกัดน้ำของผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดทำให้ค่าคอนจูเกตต์ไดอินลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดน้ำของผักพื้นบ้าน โดยพืชที่สามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอินได้มากที่สุดคือ ชำมะเลียง รองลงมาคือ พญาดาบหัก สันดานบ้าน เสม็ดแดง ใบจิก และ ผักหวาน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การหาค่าคอนจูเกตต์ไดอินจะเป็นขั้นตอนการเริ่มเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ซึ่งไม่แข็งแรง ว่องไวต่อปฏิกิริยา โดยเริ่มต้นที่คาร์บอนที่ตำแหน่งพันธะคู่สูญเสียไฮโดรเจนอะตอม ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยแสง รังสี โลหะ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน (L[•]) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเป็นอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวซึ่งว่องไวต่อปฏิกิริยาการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจึงใช้ค่าคอนจูเกตต์ไดอินเป็นดัชนีชี้วัดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาของลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจากน้ำมันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองที่ได้แสดงลักษณะเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดน้ำของผักพื้นบ้าน โดยพืชที่ทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ลดลงมากที่สุดคือ ผักหวาน รองลงมาคือ ใบจิก สันดานบ้าน ชำมะเลียง เสม็ดแดง และ พญาดาบหัก ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อขั้นตอนการเริ่มอนุมูลถูกยับยั้ง ค่าเปอร์ออกไซด์ก็ลดลงตามไปด้วย แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดของพืชตัวอย่างน่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเปอร์ออกไซด์ เช่นเดียวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟีนอลในพืชต่างๆ ส่วนใหญ่ที่เป็นแบบ chain breaking คือกำจัดอนุมูล peroxy[•] ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ โดยการใช้ไฮโดรเจนอะตอมทำให้เกิดอนุมูลที่เสถียรขึ้น(Yao et al, 2004) เป็นการยับยั้งการเข้าทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งพันธะคู่ที่เกิดเป็น peroxy radical (LOO[•]) แล้วเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระมาก โดย peroxy radical จะทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (LOOH) เกิดปฏิกิริยาไฮคลิดเปอร์ออกไซด์แล้วเกิดปฏิกิริยาต่อได้เป็นโบโซคลิกเปอร์ออกไซด์ มีโครงสร้างเป็นแอนโดเปอร์ออกไซด์ซึ่งสลายตัวต่อไปเป็น malonaldehyde (MDA)

ค่า TBARS วัดเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร ของสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพูที่เกิดจากสารประกอบอัลดีไฮด์ที่สำคัญคือ malondialdehyde (MDA) ทำปฏิกิริยากับ TBA

(thiobarbituric acid) (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) โดยพืชที่ยับยั้งการเกิดมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ดีที่สุดคือ พญาดาบหัก รองลงมาคือ ชำมะเลียง สันดานบ้าน ใบจิก เสม็ดแดง และ ผักหวาน จาก วิธีนี้เป็น การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดทดสอบ โดยใช้น้ำมันพืชมาทำ ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้เป็นสารมาลอน ไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทูริกในสภาวะกรดสาร MDA จะทำ ปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acidreactive substances) ดังภาพ 10 เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ลง ไป จะทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (โอภา วัชระคุปต์ และ คณะ, 2550)

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดจากโครงการพัฒนาป่า ชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ใบจิก ใบชำมะเลียง ใบเสม็ดแดง (เม็ก) ใบ ผักหวานบ้าน เมล็ดพญาดาบหัก (ราชดัด) และใบสันดานบ้าน พบว่า ทุกส่วนสกัดทำให้ค่าคอนจูเกตต์ไดอิน เปอร์ออกไซด์ และ TBARS ลดลง แสดงว่าส่วนสกัดผักพื้นบ้านมีฤทธิ์ในการยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ คอนจูเกตต์ไดอินเป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิเมื่อกิดคอนจูเกตต์ไดอินน้อยลงการเกิดเปอร์ออกไซด์ก็น้อยลง มีผล ทำให้ลดการเกิดผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (MDA) ได้

4.2 สรุปผลการวิจัย

1. ผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดในช่วงความเข้มข้น 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบชำมะเลียงมีค่า IC_{50} เท่ากับ 41.83 ± 5.702 , 41.70 ± 3.746 และ 70.31 ± 4.075 ตามลำดับ รองลงมาคือ ผักหวานบ้าน พญาดาบหักและผักหนาม ซึ่งมีค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 176.46 ± 32.102 , 187.40 ± 10.044 , 333.51 ± 52.460 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายวิตามินซีและ สารละลายบีเอชที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.74 ± 0.334 และ 23.10 ± 0.986 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติ พบว่าค่า IC_{50} ของใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบชำมะเลียงมีค่าไม่แตกต่างกับค่า

IC₅₀ของวิตามินซีและบีเอชที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทั้งนี้ฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เป็นผลมาจากการมีสารประกอบฟีนอลชนิดต่างๆเป็นองค์ประกอบ

2. ผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดในช่วงความเข้มข้น 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสามารถในการรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใบจิก ใบเสม็ดแดง และใบข่ามะเลียง ซึ่งให้มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี ส่วนเมล็ดพญาดาบหัก ใบผักหวานบ้านและใบผักหนามมีความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งความสามารถในการรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกับฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH

3. ใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 251.26 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบเสม็ดแดง ใบข่ามะเลียง ใบผักหวานบ้าน และเมล็ดพญาดาบหัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 231.33 ± 0.026 , 161.19 ± 0.004 , 24.13 ± 0.002 , 4.44 ± 0.001 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

4. ใบข่ามะเลียงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 234.23 ± 0.0131 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบจิก ใบเสม็ดแดง ใบผักหวานบ้าน เมล็ดพญาดาบหักมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 146.74 ± 0.023 , 131.72 ± 0.006 , 61.75 ± 0.006 , 54.66 ± 0.008 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

5. สารสกัดน้ำของผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดในช่วงความเข้มข้น 0.1, 1, 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ในลักษณะที่ เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดผักพื้นบ้านเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าแต่ละความเข้มข้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปว่า สามารถใช้สารสกัดพืชในปริมาณน้อยก็สามารถลดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันลงได้

6. การวิเคราะห์ค่าคอนจูเกตต์ไดอีน ของสารสกัดผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดสามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอีนได้ โดยพบว่าทุกส่วนสกัดมีค่าคอนจูเกตต์ไดอีน ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุมที่เวลา 0 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 0.000495 และ 0.000591 ไมโครโมลาร์คอนจูเกตต์ไดอีนต่อกรัมของน้ำมันพืช ตามลำดับ) โดยเมื่อความเข้มข้นของพืชมากขึ้น และเวลาที่บ่มสารสกัดของผักพื้นบ้านไว้นานขึ้นจะสามารถลดการเกิดคอนจูเกตต์ไดอีนลง โดยพืชที่สามารถลดการเกิดคอนจู

เกณฑ์ได้อินได้มากที่สุดคือ ชำมะเลียง รองลงมาคือ พญาดาบหัก สันดานบ้าน เสม็ดแดง ใบจิก และ ผักหวาน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

7. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ของสารสกัด ผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยา ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจากน้ำมันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่ไม่ผสมสารสกัดจากผักพื้นบ้าน (กลุ่มควบคุมที่เวลา 0 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 0.740363 และ 2.20452 มิลลิกรัมเปอร์ออกไซด์ต่อกรัมของ น้ำมันพืช ตามลำดับ) โดยพืชที่ทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์ลดลงมากที่สุดคือ ผักหวาน รองลงมาคือ ใบจิก สันดานบ้าน ชำมะเลียง เสม็ดแดง และ พญาดาบหัก ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

8. การวิเคราะห์ค่าทีบาร์เป็นการวัดจากผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิของลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งส่วนใหญ่ก็คือมา ลอนไดออลดีไฮด์ ซึ่งจะออกซิไดซ์น้ำมันทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน โดยผู้วิจัยได้วิเคราะห์ค่าทีบาร์จากน้ำมันพืชที่ ผสมกับส่วนสกัดของพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากผักพื้นบ้านทำให้ค่าทีบาร์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่มควบคุม เท่ากับ ไมโครโมลาร์ของ MDA ต่อกรัมของน้ำมัน) โดยพืชที่ ยับยั้งการเกิดมาลอนไดออลดีไฮด์ได้ดีที่สุดคือ พญาดาบหัก รองลงมาคือ ชำมะเลียง สันดานบ้าน ใบจิก เสม็ดแดง และ ผักหวาน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการ 2556A10803048

ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ฤทธิ์แอนต็อกซิแดนท์และฤทธิ์ยับยั้งลิวติเปอร้ออกซิเดชันของส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดจาก

โครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน / ผู้วิจัย ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2555 ถึงวันที่ 31 สิงหาคม 2556

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี

ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2555 ถึงวันที่ 31 กันยายน 2556

รายจ่าย

หมวด	รายจ่ายสะสม จากรายงาน ครั้งก่อน	ค่าใช้จ่าย งวดปัจจุบัน	รวมรายจ่าย สะสมจนถึง งวดปัจจุบัน	งบประมาณ รวมทั้งโครงการ	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	30,000.00	50,000.00	80,000.00	80,000.00	0.00
2. ค่าจ้าง	45,600.00	22,800.00	68,400.00	68,400.00	0.00
3. ค่าวัสดุ	73,369.46	147,453.69	220,823.15	220,460.00	-363.15
4. ค่าใช้สอย	3,000.00	74,000.00	77,000.00	77,000.00	0.00
5. อุดหนุนสถาบัน	-	49,540.00	49,540.00	49,540.00	0.00
รวม	151,969.46	343,793.69	495,763.15	495,400.00	-363.15


จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 247,700 บาท เมื่อ 30 พฤศจิกายน 2555

งวดที่ 2 198,160 บาท เมื่อ 16 สิงหาคม 2556

รวม 445,860 บาท



หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

เจ้าหน้าที่การเงินโครงการงานวิจัย

บรรณานุกรม

- กมล สวัสดิ์มงคล. (2553). ผักหวานกับการเป็นพิษในการบริโภค. กองวิจัยทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- เกศศิณี ตรีภูทิวากร และ วันเพ็ญ ศักดิ์สิทธิ์พิทักษ์. (2543). ศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทย. วารสารอาหาร. ปีที่ 30. ฉบับที่ 2: 164-176.
- แก้ว กังสดาลอำไพ. (2546). พิษวิทยาทางอาหารและโภชนาการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท มาฉลองคุณซีเอสบี จำกัด.
- คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. (2555). ตำราคู่มือการประชุมปฏิบัติการเรื่องเทคนิคในการตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนีภาวะเครียดออกซิเดชัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท นพบุรีการพิมพ์ จำกัด: เชียงใหม่.
- คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. (2555). ตำราคู่มือการประชุมปฏิบัติการเรื่องเทคนิคในการตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนีภาวะเครียดออกซิเดชัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท นพบุรีการพิมพ์ จำกัด: เชียงใหม่.
- ณรงค์ มูลคำ. (2553). ปลุกผักพื้นบ้าน อาหาร-ยาต้านโรค. บริษัท แซทโพร่ พรินต์ติ้ง จำกัด: กรุงเทพมหานคร.
- ด้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพร 13 ชนิด. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
- ธนาวัฒน์ เพียงศักดิ์, เบญจวรรณ สิงพงษ์, กัญญา เกิดศิริ และภูติเกิดศิริ. 2012. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชท้องถิ่น. ปริญญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.
- ปรานอม ธรรมศิริ. 2555. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยอดและยอดแห้ง. งานวิจัยจากสารนิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา เล่มที่ 1.
- ปริญานูช อินทร์รอด. 2551. ฤทธิ์ออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นแว้วหอมและว่านสาวหลง. ปริญญานิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

- พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์, อุบล ชาล่อน และปิติ ธูจิตต์. (2551). ตำราชีวเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 5. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2542). ผักพื้นบ้านภาคกลาง. องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก : กรุงเทพมหานคร
- ภูมิพิชญ์ สุชาวรรณ. (ม.ป.ป.). พืชสมุนไพรใช้เป็นยา เล่ม 2. โรงพิมพ์ทิพย์วิสุทธิ: กรุงเทพมหานคร.
- ไมตรี สุทธิจิตต์. (2555). ความรู้พื้นฐานของออกซิซัน. ใน วรพล เองวานิช. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. บริษัท สมาร์ท โคตติง แอนด์ เซอร์วิส:เชียงใหม่. หน้า 3-13.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ฉบับที่ 82: 76-88.
- รัตติญา บุญใบ. 2552. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดจากใบขลุ่ย. ปริญญาณินท์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ลลิตา ธีระสิริ. (2543). ผักพื้นบ้านต้านโรค. (พิมพ์ครั้งที่1). รวมพรรณ: กรุงเทพมหานคร.
- ลัญจกร จันทร์อุตม และจิตบรรจง ตั้งปอง. (2554). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพร 13 ชนิด. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช. ปีที่ 30. ฉบับที่ 1: 1-11.
- วินัย ตะห์ลัน. (2550). เอกสารประกอบการบรรยาย “โภชนาการพื้นฐานเพื่อการมีสุขภาพสมบูรณ์สูงสุด”.
- ศศิธร อุทธรี่. 2549. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดเอทานอลของพืชบางชนิดในวงศ์ Zingiberaceae. ปริญญาณินท์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุธิพงศ์ ถิ่นเขาน้อย. (2553). พืชอาหารต้านโรค. พิมพ์ครั้งที่ 1. นีออน บুক มีเดีย: กรุงเทพมหานคร.
- อุไร จิรมงคลการ. (2547). ผักพื้นบ้าน เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน): กรุงเทพมหานคร.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง จันทนา บุญรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.

- Bursal E and Koksal E. (2010). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). Food Research International. 44: 2217-2221.
- Gülen H, Çetinkaya C, Kadioğlu M, Kesici M, Cansev A and Eriş A. (2008), Peroxidase Activity and Lipid Peroxidation in Strawberry (*Fragaria X ananassa*) Plants Under Low Temperature. Journal of Environmental Sciences 2(6): 95-100.
- Hussin NM. (2009). Biological activities of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae) and the quantitative analysis of phenolic acid and flavonoids present in the various bioactive extracts of the species. Master of Science Thesis, the School of Graduate Studies, Universiti Putra Malaysia.
- Juntachote T, Berghofer E, Siebenhandl S, Bauer F (2007). Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. Food Chemistry. 100: 129-135.
- Kim DO, Jeong SW and Lee CY. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry. 81: 321-326.
- Lavanya G, Voravuthikunchai SP and Towatana NH. (2012). Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: A Potent Natural Antioxidant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012: 1-8.
- Manimegalai S and Rakimuthu G. (2012). Phytochemical screening of stem of *Couroupita guianensis*. International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research. 11: 4434.
- Manimegalai S and Rakimuthu G. (2012). Phytochemical screening of stem of *Couroupita guianensis*. International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research. 11: 4434.
- Peteros NP and Uy MM. (2010). Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 407-414.

- Peteros NP and Uy MM. (2010). Antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of four Philippine medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 407-414.
- Rao AS, Reddy SG, Babu PP and Reddy AR. (2010). The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extract from Njavara rice bran. BMC Complementary and Alternative Medicine. 10: 4.
- Senevirathne M, Kim SH, Siriwardhana N, Ha JH, Lee KW and Jeon YJ. (2006). Antioxidant Potential of *Ecklonia cava* on Reactive Oxygen species scavenging, Metal Chelating, Reducing Power and Lipid Peroxidation Inhibition. International of Journal of Food Science and Technology. 12: 27-38.
- Sofidiya MO, Jimoh FO, Aliero AA, Afolayan AJ, Odukoya OA and Familoni OB. (2012). Evaluation of antioxidant and Antibacterial properties of six Sapindaceae members. Journal of Medicinal Plants Research. 1: 154-160.
- Wetwitayaklung P, Charoenteeraboon J, Limmatvapirat C and Phaechamud T. (2012). Antioxidant Activities of Some Thai and Exotic Fruits Cultivated in Thailand. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 1: 12-20.
- Zuta PC, Simpson BK, Zhao X, and Leclerc L. (2005). The effect of α -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. Food Chemistry. 10: 129-135.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

งานวิจัยที่ได้ตีพิมพ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชกินได้บางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด
(มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

Antioxidant effect of some edible plants from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province

กรรณิการ์ เทพมงคล, กรกนก รุ่งเรืองบุรณะกุล และ ชัชวิน เพชรเลิศ

Kannika Thepmongkon, Kornkanok Rungreungburanakul and Chatchawin Petchlert

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

โทร 0-3810-3151 โทรสาร 0-3839-3495 E-mail: chatchaw@buu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาส่วนสกัดน้ำของพืชกินได้ 6 ชนิด ได้แก่ จิก เสมีดแดง (เม็ก) ชำมะเลียง ผักหวานบ้าน ภูเขาตาบก (ราชดัด) และผักหนามในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ซึ่งในการทดสอบจะใช้ส่วนของใบยกเว้นภูเขาตาบกที่จะใช้ส่วนของเมล็ด โดยทำการตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ ตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โดยวิธีทำให้เกิดสี รวมทั้งหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ใบจิกมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 30.27 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด จากการตรวจวัดเชิงคุณภาพแสดงให้เห็นว่าภูเขาตาบก ใบจิก ผักหวาน เสมีดแดง และชำมะเลียง มีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ และยังมีพบสารประกอบฟลาโวนอยด์และแทนนินในเสมีดแดง รวมทั้งฟลาโวนฟลาโวนอลและแซนโทนในพืชทุกชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด คือ 251.26 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด และชำมะเลียงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ 234.23 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่า ผักพื้นบ้านกินได้ที่นำมาวิจัยจากโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ดมีความสามารถในการรีดิวซ์และยังเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีที่สำคัญอีกด้วย

คำสำคัญ: การทดสอบเชิงคุณภาพโดยวิธีทำให้เกิดสี/พืชกินได้/สารพฤกษเคมี/ความสามารถในการรีดิวซ์/สารประกอบฟีนอลรวม/สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

Abstract

Water extract from six kinds of edible plants including *Barrington augusta* Kurz. (Jig), *Syzygium gratum* (Wight) S.N. Mitra var. *gratum* (Mek), *Lepisanthes fruticosa* (Roxb.) Leenh. (Luna nut), *Sauropus amabilis* Airy Shaw (Pak-wan Tree), *Brucea javanica* (L.) Merr. (Pyadabhak), and *Lasia spinosa* (L.) Thwait from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. For this experiment, the leaves of all plants were used except the seeds of Pyadabhak. The antioxidant capacity and phytochemicals were investigated by reducing power; colorimetric assays; total phenolic contents and total flavonoid contents. The results demonstrated that Jig showed the highest reducing power (30.27 mg gallic acid equivalent/mg extract). For the colorimetric assay, Jig, Luna nut, Pak-wan Tree and Mek contained various polyphenols. Flavonoids and tannins were also found in Mek. In addition, flavones, flavonol and xanthone were encountered in all edible plants. High total phenolic contents of plants extracts of all leaves were observed especially in Jig (251.66 gallic acid equivalent/mg extract). Total flavonoid contents of plants extracts of all leaves were also found particularly in Luna nut (234.23 mg quercetin equivalent/mg extract). This research can

be implied that some Thai edible plants from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project have remarkable antioxidant activity and can be used as a good source of phytochemicals.

Keyword: Colorimetric qualitative assays/Edible plants /Phytochemicals/Reducing power/Total phenolic content/Total flavonoid content

1. บทนำ

การศึกษาวิจัยเพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ถือเป็นสิ่งสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหาสารจากธรรมชาติมาใช้บำบัดรักษาหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคได้นั้นน่าจะมี ความสำคัญมากกว่า จากสภาวะอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดขึ้น ในปัจจุบัน มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระและภาวะเครียด ออกซิเดชัน ได้แก่ โรคมะเร็ง เบาหวาน โรคหัวใจขาดเลือด หรือกล้ามเนื้อหัวใจตาย เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็น อย่างยิ่งที่จะต้องหาหนทางหลีกเลี่ยงและป้องกันมิให้เกิดโรค เหล่านั้นขึ้น

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นซึ่งมีความ หลากหลายของพืชมากที่สุด โดยเฉพาะในแถบภาคตะวันออกเฉียง ของประเทศถือได้ว่ามีความหลากหลายของระบบนิเวศน์และ พันธุ์ไม้ต่างๆอย่างอุดมสมบูรณ์ จึงเป็นแหล่งสำคัญของพันธุ์ พืชนานาชนิด จิก เสมีดแดง (เม็ก) ชำมะเลียง ผักหวานบ้าน พญาตาบหัก (ราชคัต) และผักหนามเองก็จัดเป็นพืชกินได้ที่ ยังสามารถพบได้ในแถบนี้ โดยจิก มีสรรพคุณคือ ใบ จะใช้ สมานแผล แก้ท้องเสียต้น แก้ปวดศีรษะ เลือดออกตามไรฟัน รากเป็นยาระบายอ่อนๆ เมล็ด แก้ไอ แก้ไข้ตัวร้อน (หมอบ ฆาบ้าน, 1994: ออนไลน์) เสมีดแดง หรือ เม็ก หรือ เสมีดขุ่น สามารถใช้เป็นยาขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบ ขับลม หาก รับประทานในปริมาณมาก สามารถใช้เป็นยาขับพยาธิได้ (ลลิตา ธีระสิริ, 2543) สำหรับชำมะเลียงผลใช้แก้โรคท้องเสียใน เด็ก รากเป็นยาแก้ไข้ แก้ร้อนใน (ชำมะเลียง, Wikipedia, 2555: ออนไลน์) ส่วนผักหวานบ้าน จะใช้รากฝนทาแก้คางทูม มีสรรพคุณระงับความร้อน ถอนพิษไข้ซ้ำ ไข้กลับ เนื่องจาก รับประทานของแสลง (เพ็ญนภาพัทธย์เจริญ, 2542) พญาตาบหัก หรือ ราชคัตมีสรรพคุณโดยผลแห้งบารุงน้ำดี แก้ ไข้และแก้บิด ส่วนเมล็ดจะยับยั้งการเจริญของมาลาเรียชนิด ฟัลซิพารัม และเชื้อบิดในหลอดทดลอง แต่พบความเป็นพิษ สูง (www.likemax.com, 2013: ออนไลน์) และผักหนาม มี สรรพคุณลำต้น มีรสเผ็ดขม ไซ้ขับปัสสาวะ แก้ไข้ กระหายน้ำ

ไอ ขับเสมหะ ปัสสาวะเหลืองหรือแดง ผิวหนังเน่าเปื่อยเป็น หนอง (หมอบฆาบ้าน, 1980: ออนไลน์)

แต่ปัจจุบันยังขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มารองรับถึง การนำพืชกินได้ทั้ง 6 ชนิดมาใช้ในการศึกษาหรือการทดสอบ ฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอยู่มาก จึงทำให้ผู้วิจัย สนใจศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวของพืชกินได้ โดยตรวจสอบเชิง คุณภาพของสารโพลีฟีนอลต่างๆ หาความสามารถในการ รัดิคัล รวมไปถึงหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวน อยด์รวม เพื่อนำมาใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วย สนับสนุนการบริโภคหรือเพื่อการอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชสืบ ต่อไป นอกจากนี้ยังนำไปสู่การใช้อาหารเป็นยาเพื่อรักษาโรค หรือรูปของผลิตภัณฑ์เสริมต่างๆที่ได้จากสารสกัดธรรมชาติ โดยเฉพาะจากพืชที่พบได้ในท้องถิ่นของเราเอง

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชกินได้ 6 ชนิด

นำพืชพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดได้แก่ จิก (*Barrington augusta* Kurz.) เสมีดแดง (*Syzygium gratum* (Wight) S.N. Mitra var. *gratum*) ชำมะเลียง (*Lepisanthes fruticosa* (Roxb.) Leenh.) ผักหวานบ้าน (*Sauropus amabilis* Airy Shaw พญาตาบหัก (*Brucea javanica* (L.) Merr.) และผักหนาม (*Lasia spinosa* (L.) Thwait.) ล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้น เล็กๆ หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งและบั่นให้ละเอียด แบ่งพืช มาต้มในอัตราส่วน 1:10 กรองด้วยผ้าขาวบางแยกส่วนกาก และส่วนน้ำ นำส่วนน้ำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็น เวลา 5 นาที กรองส่วนใสด้วยกรวยบุชเนอร์ จากนั้นนำไป สกัดเอาน้ำออกด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator นำ สารที่ได้แช่ในตู้ -80°C ก่อนนำไป Freeze dye เก็บส่วนสกัด ที่ได้ที่ -20°Cจนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2.2 การตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิด ต่างๆโดยวิธีการทำให้เกิดสี (Colorimetric qualitative assays)

เป็นการทดลองโดยนำสารเคมีชนิดต่างๆ มาทำปฏิกิริยา กับสารตัวอย่าง และวัดสีที่เกิดขึ้นหลังจากการเกิดปฏิกิริยานั้น ซึ่งจะทำกรทดสอบ 7 วิธี ดังนี้ 1.การทดสอบด้วยน้ำยาเฟอริคคลอไรด์ (FeCl₃) โดยนำสารละลายตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร เติมเฟอริคคลอไรด์ความเข้มข้น 1% ลงไปสองถึงสามหยด 2. การทดสอบปฏิกิริยากับไซยานิดินส์ (Cyanidins reaction) หรือเรียกว่า Shinoda test ทำโดยนำสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติมผงแมกนีเซียม 0.1 กรัม หยดกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 10 หยด สังเกตสีส้มแดงที่เกิดขึ้น จากนั้นเติมน้ำ 1 มิลลิลิตรและออกทิลแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร เขย่าและทิ้งให้

แยกชั้น สังเกตสี 3. การทดสอบของพีว (Pew test) นำสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติมผงสังกะสี 0.5 กรัม และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มอล 2 หยด เขย่าให้เข้ากันประมาณ 1 นาที แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 หยด 4. การทดสอบปฏิกิริยากับต่าง นำสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 9.5-10.5% ที่ละลาย สังเกตสี 5. การทดสอบความเป็นกรดต่าง นำสารตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มอล หนึ่งหยด ค่อยๆเติมสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 9.5-10% ที่ละลาย 6. การทดสอบลิโคแอนโซไซยานิน นำสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มอล 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างอิงไอน้ำ 7. การทดสอบด้วยเจลาติน นำสารตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำยาเจลาตินเข้มข้น 0.5-1% สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น

2.3 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์

ดัดแปลงจาก Rao et al. (2010) นำตัวอย่างพืช ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2 โมลาร์, pH 6.6) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 1% โปแทสเซียมเพอร์ลิกไซยาไนด์ ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มที่อุณหภูมิ 50°C ด้วยตุ๋นควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติม 10% กรดไฮโดรคลอโรอะซิติก ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และเก็บสารละลายส่วนบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.1% เพอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน

2.4 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ดัดแปลงจากปรียานุช อินทร์รอด (2551) ปิเปตน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร ผสมกับส่วนสกัดพืช ปริมาตร 0.125 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu 125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย 7% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายลงในไมโครเพลท ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่า

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน

2.5 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

ดัดแปลงจาก Kim et al. (2003) ปิเปตสารสกัดพืช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม 5% โซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ($AlCl_3$) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.2 มิลลิลิตร เพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท โดยใช้สารละลายเคอร์เซตินเป็นสารมาตรฐาน

3. ผลและอภิปรายผล

3.1 การตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิดต่าง ๆ โดยวิธีการทำให้เกิดสี

จากการหาค่าประกอบทางเคมีเบื้องต้นของฟลาโวนอยด์ สารประกอบโพลีฟีนอลและแทนนินของสารสกัดผักพื้นบ้าน ทั้ง 6 ชนิด คือพญาตาบหักผักหนาม ใบจิก ผักหวาน เสม็ดแดง และชามะเลียง พบว่า พญาตาบหัก ใบจิก ผักหวาน เสม็ดแดง และชามะเลียง มีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากให้ผลบวกกับการทดสอบด้วยเพอร์ริกคลอไรด์ และยังพบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในเสม็ดแดง เนื่องจากให้ผลบวกกับ Shinoda test และ Pew test นอกจากนี้ยังพบว่า พืชทั้ง 6 ชนิดให้ผลบวกกับการทดสอบปฏิกิริยากับต่าง ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามี flavones, flavonol, xanthone เป็นองค์ประกอบ และจากการทดสอบด้วยเจลาติน พบสารละลายแทนนินในเสม็ดแดง แต่จากการทดลองเบื้องต้นนี้ไม่พบแอนโซไซยานินและลิโคแอนโซไซยานิน เนื่องจากพืชทั้ง 6 ชนิดให้ผลลบกับการทดสอบความเป็นกรดต่างและการทดสอบลิโคแอนโซไซยานิน ตามลำดับ ดังนั้นจากการทดสอบเบื้องต้นนี้ทำให้ทราบว่าพืชกินได้บางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรีมีสารพฤกษเคมีที่สำคัญหลายชนิด ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

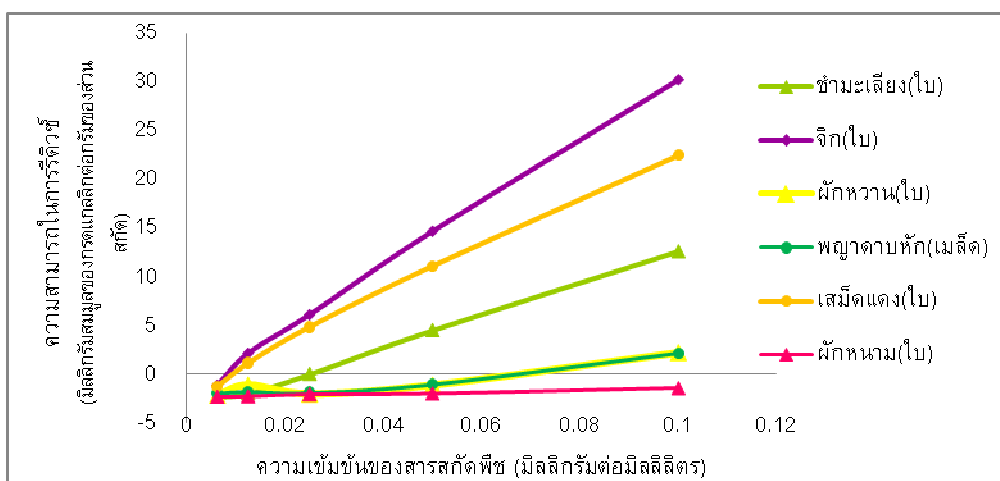
ตารางที่ 1 การตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลต่างๆ จากสารสกัดพืชกินได้บางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

วิธีทดสอบ	ชนิดของพืช						
	Control	พญา ดาบหัก	ผัก หนาม	ใบจิก	ผัก หวาน	เสม็ดแดง	ข่ามะเสียง
1. ทดสอบด้วยน้ำยา เพอริกคลอไรด์ (FeCl ₃)	สีเหลือง	+ สีเขียว	-	สีดำและมี ตะกอนสีน้ำ เงินดำ	+ สีเขียว อ่อน	+ สีเขียวอมดำ	+ สีเขียวแก่
2. Shinoda test	ใสไม่มีสี	-	-	-	-	สีแดง	-
3. Pew test	ใสไม่มีสี	-	-	-	-	+ สีแดง	-
4. ทดสอบปฏิกิริยา กับด่าง	ใสไม่มีสี	+ สีเหลือง	+ สีเหลือง	++ สีเหลืองเข้ม	+ สีเหลือง	++ สีเหลืองเข้ม	++ สีเหลืองเข้ม
5. ทดสอบความเป็นกรดต่าง	ใสไม่มีสี	-	-	-	-	-	-
6. Leucoanthocyanidin	ใสไม่มีสี	-	-	-	-	-	-
7. ทดสอบด้วยเจลาติน	ใสไม่มีสี	-	-	-	-	+ ตะกอน	-

3.2. ความสามารถในการรีดิวซ์

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนของสารสกัดพืชทั้ง 6 ชนิด โดยเลือกความเข้มข้นที่ 0.00625-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 1) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดพืชเพิ่มขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ ใบจิก เสม็ดแดง และข่ามะเสียง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่าพืชพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี จากงานวิจัยของ Lavanya et al. (2012) พบว่า *Rhodomyrtus tomentosa* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Myrtaceae

เช่นเดียวกับเสม็ดแดงมีความสามารถในการรีดิวซ์โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถรีดิวซ์ Fe³⁺ เป็น Fe²⁺ โดยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความสามารถสูงกว่ากรดแกลลิกและ ellagic acid 2.7 เท่า และ 3.0 เท่า ตามลำดับ ส่วนพญาดาบหัก ผักหวานและผักหนามมีความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย การหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืช คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานในการรีดิวซ์ของสารละลายกรดแกลลิก สมการกราฟเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 7.616x + 0.069$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999



รูปที่ 1 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดพืชกินได้ที่มีความเข้มข้นต่างๆ

3.3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของพืชทั้ง 6 ชนิด (ตารางที่ 2) พบว่า ใบจิกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด เท่ากับ 251.26 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ เสม็ดแดง ชำมะเลียง ผักหวาน และพญาตาบหัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 231.33 ± 0.026 , 161.19 ± 0.004 , 24.13 ± 0.002 , 4.44 ± 0.001 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ การหาปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดพืชคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกสมการเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 1.760X + 0.146$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.990

พืช	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด)
ใบจิก	251.26 ± 0.005	146.74 ± 0.023
ใบเสม็ดแดง	231.33 ± 0.026	131.72 ± 0.006
ใบชำมะเลียง	161.19 ± 0.004	234.23 ± 0.013
ใบผักหวาน	24.13 ± 0.002	61.75 ± 0.006
เมล็ดพญาตาบหัก	4.44 ± 0.001	54.66 ± 0.008
ใบผักหนาม	-21.41 ± 0.0021	-2.66 ± 0.0050

ส่วนการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ พบว่า ชำมะเลียงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 234.23 ± 0.0131 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ใบจิก เสม็ดแดง ผักหวาน พญาตาบหัก มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 146.74 ± 0.023 , 131.72 ± 0.006 , 61.75 ± 0.006 , 54.66 ± 0.008 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืชคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอร์เซติน สมการกราฟเส้นตรงที่ได้คือ $y = 0.174x + 0.047$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

จากการทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอล กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์เป็นอย่างดี โดยมีค่า $R^2 = 0.950$ (รูปที่ 2) ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบความสัมพันธ์กับความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+}

ได้น้อยกว่า โดยมีค่า $R^2 = 0.422$ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แสดงให้เห็นว่า การที่พืชที่นำมาทดสอบมีความสามารถในการรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากการมีสารประกอบฟีนอลหลาย ๆ ชนิดเป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

4. บทสรุป

ส่วนสกัดน้ำของผักพื้นบ้านที่กินได้ในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ทั้ง 6 ชนิดมีศักยภาพในการรีดิวซ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งใบจิก ซึ่งความสามารถในการรีดิวซ์เรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ ใบจิก>เสม็ดแดง>ชำมะเลียง>พญาตาบหัก>ผักหวาน>ผักหนาม นอกจากนี้จากการตรวจสอบเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ แสดงให้เห็นว่า พญาตาบหัก ใบจิก ผักหวาน เสม็ดแดง และชำมะเลียง มีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากให้ผลบวกกับการทดสอบด้วยเฟอริกคลอไรด์ และยังพบสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในเสม็ดแดง เนื่องจากให้ผลบวกกับการทดสอบปฏิกิริยากับไซยานิดินส์และการทดสอบของฟิวและพบว่าพืชทั้ง 6 ชนิดให้ผลบวกกับการทดสอบปฏิกิริยากับต่างๆ แสดงว่ามีฟลาโวนฟลาโวนอล และแซนโทนเป็นองค์ประกอบ และพบสารละลายแทนนินในเสม็ดแดงจากการทดสอบด้วยเจลาติน ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมที่พบในพืชทั้ง 6 ชนิด โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ ใบจิก>เสม็ดแดง>ชำมะเลียง>ผักหวาน>พญาตาบหัก>ผักหนามและปริมาณฟลาโวนอยด์ ชำมะเลียง>ใบจิก>เสม็ดแดง>ผักหวาน>พญาตาบหัก>ผักหนาม

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ

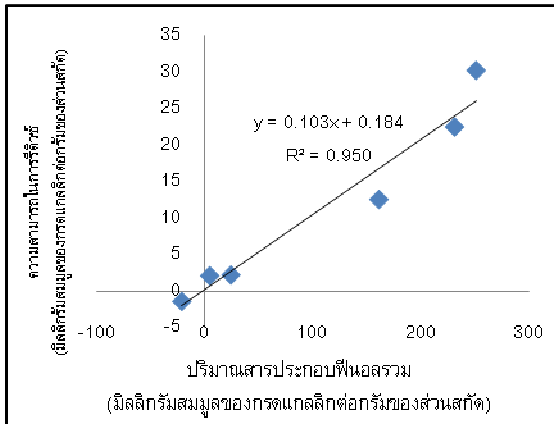
หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ตามมติคณะรัฐมนตรี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 และ โครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์พืชที่ใช้ในการทำวิจัยทั้ง 6 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

จิก : ผักพื้นบ้านดอกงามจากป่าหิมพานต์. (1994). Retrieved January 16, 2013, from <http://www.doctor.or.th/article/detail/3429>.



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของพืชพื้นบ้านที่กินได้ในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี

ข้ามะเลียง. (2012). Retrieved January 16, 2013, from <http://th.wikipedia.org/wiki/ข้ามะเลียง>.

ปริญานูช อินทร์รอด. (2551). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจาก ต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง. ปรินญาณินพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2542). ผักพื้นบ้านภาคกลาง. กรุงเทพฯ: องค์การส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ.

ไมตรี สุทธิจิตต์ และคณะ. (2555). ตำราคู่มือการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคนิคในการตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และ ดัชนีภาวะเครียดออกซิเดชัน (พิมพ์ครั้งที่ 1). เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยาร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย.

ลลิตา ธีระสิริ. (2543). ผักพื้นบ้านต้านโรค. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: รวมทรงศรน์.

สมุนไพรมะเร็ง เรื่อง พญาตาบหัก. (2013). Retrieved January 16, 2013, from <http://www.likemax.com/archive/herb/พญาตาบหัก>.

หนาดใหญ่และผักหนาม. (1980). Retrieved January 16, 2013, from <http://www.doctor.or.th/article/detail/4996>.

Kim, D.O., Jeong, S.W. and Lee et al. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. 81, 321-326.

Lavanya, G., Voravuthikunchai, S.P. and Towatana, N.H. (2012). Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: A Potent Natural Antioxidant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, 1-8.

Rao A. S., Reddy S. G., Babu P.P. and Reddy A. R. (2010). The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extract from Njavara rice bran. *BCM Complementary and Alternative Medicine*. 10, 1-9.