



ASTC 2017

งานประชุมวิชาการ



ACADEMIC SCIENCE & TECHNOLOGY CONFERENCE

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0
SCIENCE AND TECHNOLOGY AS A KEY DRIVER TOWARDS THAILAND 4.0

25 พฤษภาคม 2560

ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร

รายนามคณะกรรมการการจัดงานประชุมวิชาการ

ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มารุจ ลิ้มปะวัฒน์

คณะกรรมการอำนวยการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา มัทธอนทวี

ศาสตราจารย์เกียรติคุณ นพ.วรชัย ศิริกุลชยานนท์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ม.ล.กุลธร เกษมสันต์

ดร.ศิริวรรณ ตันตระวานิชย์

อาจารย์พรทิพย์ ตันติวงศ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.รุ่งสวรรค์ วรรณสุทธิ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิ่นณัฏฐ์ ถกลภักดิ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทรงพลธนฤทธ์ มฤครัฐอินแปลง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชญอร ไหมสุทธิสกุล

รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพันธ์ ยี่มมัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธเนศ พงศ์ธีรตัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทศนัย ชุ่มวัฒน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศิริวรรณ วาสุกรี

ดร.ชัชวาลย์ ช่างทำ

ดร.ศิรินันท์ ตริ่มงคลทิพย์

ดร.สิริภัทร ชมพัฒพงษ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จันทร์เพ็ญ ชัยมงคล

รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข

ดร.นพรัตน์ ไวโรจนะ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา อัมพู

ดร.อณนภา สุขลิ้ม

ดร.ราชาวดี ยอดเศรณี

รองศาสตราจารย์ ดร.นิตติยา ปภาพจน์

ดร.อวภาส ฉันทศาสตร์ศรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ชรพูล เกติวิชัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุสรา ศรีสรवल

ดร.พีรพงษ์ พรวงค์ทอง

ดร.คมกฤษณ์ แสงเงิน

อาจารย์ภาสุรี ฤทธิเลิศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิรนาถ บุญคง

ดร.ทิพวรรณ จูประจบ

ฝ่ายงบประมาณและหาทุนสนับสนุน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มารุจ ลิ้มปะวัฒน์

ดร.ณัฐมล จินดาพรรณ

อาจารย์ปิยนุสรณ์ น้อยด้วง

อาจารย์วีณา โชติช่วง

ดร.สิริภัทร ชมพัฒพงษ์

อาจารย์ทีศากร ดำรงพุมิเดชา

อาจารย์สุวดี อีสรายูพร

นางสาวพรรณปพร โภคัง

อาจารย์กรรณิการ์ แก้วกิม

อาจารย์สุภา ศิรินาม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รัชณี ไสยประจง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

นางวารุณี จันทพึ่ง

นางเบ็ญจมาศ นามณรงค์

นางวิไลลักษณ์ พงษ์แพทย์

ดร.สุธารทิพย์ เรืองประภาวุฒิ

ดร.สุรณัฐ พงษ์หาญพจน์

ดร.พีรพงษ์ พรวงค์ทอง

ฝ่ายลงทะเบียนและประเมินผล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิรนาถ บุญคง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วันเพ็ญ วสุพงษ์พันธ์

อาจารย์นารีรัตน์ สิงห์ทวีศักดิ์

อาจารย์พิมพ์พิมล เอนกธีระกุล

อาจารย์ไพรัตน์ โชควิบูลย์กิจ

นางสาวอัมพร สุขศิริวัฒน์โรจน์

นางสาวเสาวนีย์ ศรีรักษา

นายศุภกมลวัฒน์ สีสัน

อาจารย์มนสิชา ขวัญเอกพันธ์

อาจารย์ยุพา คงพริก

ดร.สุกัญญา ชัยพงษ์

อาจารย์เยาวรัตน์ วงศ์ศรีสกุลแก้ว

อาจารย์ตติภรณ์ ภัทรานุรักษ์โยธิน

ดร.สุพิชชา วัฒนประเสริฐ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์

ฝ่ายลงทะเบียนและประเมินผล (ต่อ)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุณี ทวีสกุลวัชร
อาจารย์ณัฐพงษ์ วัฒนศิริพงษ์
อาจารย์วิริยาภรณ์ กล่อมสังข์เจริญ

ดร.ราชาวดี ยอดเศรณี
ดร.ธเนศ โสภณนิตีประเสริฐ
อาจารย์วรัญญา ชมภูพล

ฝ่ายสถานที่-โสตทัศนอุปกรณ์ และสวัสดิการ-จัดเลี้ยง

อาจารย์เอื้ออารี กัลวาทานนท์
อาจารย์สรัญญา ชมฉัยยา
อาจารย์สมภพ อยู่เอ
อาจารย์ศลิษา เปลี่ยนดี
อาจารย์เอก บำรุงศรี
อาจารย์นิธิพันธ์ บุญเพิ่ม
อาจารย์รสริน ทักษิณ
อาจารย์สมิง จำปาศรี
นายพงศกร สุขแสงแก้ว

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประยูรศักดิ์ เป็ลื่องผล
อาจารย์ดิเรก พนิตสุภาภม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วรรตมา เกษรสิทธิ์
อาจารย์สุนันทา คชสาร
อาจารย์วัฒนา อัจฉริยะโพธา
อาจารย์เบญจางค์ อัจฉริยะโพธา
อาจารย์ภาสุรี ฤทธิเลิศ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานันท์ กาญจนภูมิ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารยา มุ่งชานาญกิจ

ฝ่ายประชาสัมพันธ์และจัดทำเว็บไซต์

ดร.สมฤดี ไทพนาชัย
อาจารย์จรรยา แหยมเจริญ
อาจารย์ธนาภรณ์ รอดชีวิต
อาจารย์เวทิต ทองจันทร์
นายชลักร์ แสงศิริรัตน
นายจักรพันธ์ รักษธรรมบุญ
นายสัญญาชัย จันทร์ศรี
อาจารย์แสงนภา จำปาสุรี
อาจารย์สุรติวดี ทังมั่งมี
ดร.บุญพริกา ทองคอนพุ่ม

นางสาวเนตรชนก คงเพชร
อาจารย์สุธีรา พึ่งสวัสดิ์
อาจารย์อุมา รัตนเทพี
อาจารย์วรวิทย์ จิตรรงค์
ดร.มานะชัย ไต่ชูติ
อาจารย์ปิ่นณรัตน์ วงศ์พัฒนานิภาส
อาจารย์ชวลิต โควีระวงศ์
อาจารย์พิษณุ แก้วตะพาน
อาจารย์เอกรินทร์ บดีรัฐ
อาจารย์สุวิชา ธงพานิช

ฝ่ายพิธีการ-ต้อนรับ และดำเนินการภายในงาน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุภาพร พงษ์มณี
ดร.นลินี สุดเศวต
ดร.อังคณา ใจเหิม
ดร.ประกายทิพย์ พิชัย
อาจารย์ปัทมา ศรขาว
อาจารย์พุทธิดา ชัยสวัสดิ์
อาจารย์เอมอร ชัยประทีป
อาจารย์ณกันต์วัลย์ วิศิกศรี
ดร.ลลิตา ศิริพัฒนานนท์
นางสาวพรรณมลพร โภคัง

อาจารย์วิภาพรรณ ชนะภักดิ์
อาจารย์ภาสินี สงวนสิทธิ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิชชุดา สังข์แก้ว
ดร.มยุรี ศรีกุลวงศ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิสา พักตร์วิไล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ณพัชร บัวฉุน
ดร.ณัฐพงศ์ จันจุฬา
อาจารย์รัชกฤษ ปัทมโสภาสกุล
อาจารย์พรกมล ทวยเจริญ

ฝ่ายวิชาการ

ดร.ณัฐริกา ศิลาลาย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ
ดร.วนิดา เลิศพิพัฒนานนท์

ดร.ทิพวรรณ จูประจบ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณิต ทองพิสิฐสมบัติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ บรรเทิง ศิลปสกุลสุข

ฝ่ายวิชาการ (ต่อ)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พรชัย เปรมไกรสร
อาจารย์ศดาบุ สุวรรณโสภณ
อาจารย์สุทธิเกียรติ ชลลาภ
อาจารย์ดารณี พลวิเศษ
อาจารย์ธีรพงษ์ อนันตรังสี
นางสาวชนากานต์ พ่วงเงิน
นายสมเกียรติ ชินครุย์
ดร.สิริภัทร ชมพัฒน์พงษ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรวิมลวิชัย บุญพิสุทธินันท์
ดร.รุ่งนภา ศรานูชิต
ดร.ไฉน น้อยแสง
ดร.สุรัชย์ เตชะเอ้อย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลลภ พรหมทอง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวดี เจริญวัฒนะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมจิตร ถนอมวงศ์วัฒนะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์
ดร.บุญทริกา ทองดอนพุ่ม
ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา
รองศาสตราจารย์ ดร.เดชาวุธ นิตยสุทธิ
อาจารย์วรุณช ปลีหจินดา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อัญชลี ชุ่มบัวทอง
ดร.มธุรส อ่อนไทย
รองศาสตราจารย์ ดร.นิตติยา ปภาพจน์
รองศาสตราจารย์ ดวงพร หัชชะวนิช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงษ์ พิณีจกลาง
ดร.อิทธิพงษ์ เขมะเพชร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.น้ำฝน อัสวเมธิน

รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธาสิณี นิลแสง
ดร.เทวารักษ์ ปานกลาง
ดร.เยาวภา แสงพยับ
ดร.นพรัตน์ ไวโรจนะ
รองศาสตราจารย์ ดร.ศรีน้อย ชุ่มคำ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา อัมพข
ดร.ณัฐพงศ์ จันจุฬา
ดร.คมกฤษณ์ แสงเงิน
ดร.สุภณิดา พัฒธร
ดร.อัมมภา สุขลิม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วัฒนา แซ่โหลว
ดร.กัญญา อนันตสมบุรณ์
รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา จันทร์ประเสริฐ
รองศาสตราจารย์ ดร.กานดา ว่องไวลิขิต
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรจิรา อารักษ์สกุลวงศ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศิริวรรณ วาสุกรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทศนัย ชุ่มวัฒนะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพงษ์ ชินศรี
ดร.ธนาธร ทะนานทอง
อาจารย์วีรวัฒน์ เหลี่ยมมณี
รองศาสตราจารย์ ดร.กฤดาภัทร สีหารี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นवलพรรณ ลอว์สัน
ดร.ปลายมีน อำนวยชีวะ
ดร.ศักดิ์ชาย ตั้งประเสริฐ
รองศาสตราจารย์ ดร.นพวรรณ ชันญพานิช
ดร.รัตติยา เจริญศักดิ์

ผลของควมามีขั้วของตัวทำละลายต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบต้นหมี กำจายและพิกุล Effect of Solvent Polarity on Antioxidant Capacity of Extracts from *Gonocaryum lobbianum*, *Caesalpinia decapetala* and *Mimusops elengi* Leaves

พรชัย เปรมไกรสร^{1*} และวันเพ็ญ วสุพงษ์พันธ์¹
Pornchai Premkaisorn^{1*} and Wanpen Wasupongpun¹

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

*ผู้ประสานงานหลัก อีเมล: pompre2001@yahoo.com

บทคัดย่อ

สมุนไพรเป็นจำนวนมากถูกนำมาใช้ประโยชน์ เช่น ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อการป้องกันโรคต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชโดยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) radical scavenging และประเมินปริมาณสารหมู่ฟีนอลโดยวิธี FCR (Folin-Ciocalteu reagent) สารตัวอย่างถูกสกัดด้วยการใช้ระบบตัวทำละลายต่างกัน 6 ชนิด ได้แก่ น้ำ, acetone, MeOH, EtOAc, 50%(v/v) acetone และ 80%(v/v) MeOH เพื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบพืชสมุนไพรอบแห้งจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ต้นหมี (*Gonocaryum lobbianum*) กำจาย (*Caesalpinia decapetala*) และพิกุล (*Mimusops elengi*) พบว่าความแรงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายในสารสกัดต้นหมีเรียงลำดับได้ ดังนี้ 50%(v/v) acetone > 80%(v/v) MeOH > MeOH ≈ น้ำ > acetone > EtOAc ส่วนสารสกัดของกำจายคือ 50%(v/v) acetone ≈ 80%(v/v) MeOH ≈ MeOH > acetone > EtOAc > น้ำ และพิกุล เท่ากับ 50%(v/v) acetone ≈ 80%(v/v) MeOH ≈ น้ำ ≈ MeOH ≈ acetone > EtOAc ($p < 0.05$) ส่วนฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารหมู่ฟีนอลของสารสกัดจากต้นหมี ($r = -0.78, p > 0.1$) กำจาย ($r = -0.74, p > 0.1$) และพิกุล ($r = -0.72, p > 0.1$) มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง งานวิจัยนี้เสนอว่าในระบบตัวทำละลายผสมโดยเฉพาะเมื่อมีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม ได้แก่ 80%(v/v) MeOH หรือ 50%(v/v) acetone มีแนวโน้มที่จะสกัดสารออกฤทธิ์ในพืช 3 ชนิดนี้ได้มีประสิทธิภาพมากกว่าระบบตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว

คำสำคัญ: สมุนไพร สารต้านอนุมูลอิสระ ควมามีขั้ว การสกัดด้วยตัวทำละลาย

Abstract

Several herbs have been used as an antioxidant for prevention of certain diseases. This work aim to evaluate antioxidant activity of plants by using DPPH radical scavenging method and the phenolic content was evaluated by Folin-Ciocalteu reagent. Three selected samples, *Gonocaryum lobbianum*, *Caesalpinia decapetala* and *Mimusops elengi* dried leaves, were extracted antioxidant compounds by six solvent systems: water, acetone, MeOH, EtOAc, 50%(v/v) acetone and 80%(v/v) MeOH. The results showed that the highest antioxidant activity of *Gonocaryum lobbianum* follows as: 50% acetone > 80%(v/v) MeOH > MeOH ≈ water > acetone > EtOAc. *Caesalpinia decapetala* gave the lowering order of one by 50%(v/v) acetone ≈ 80%(v/v) MeOH ≈ MeOH > acetone > EtOAc > water. Recession for last one of *Mimusops elengi* was 50%(v/v) acetone ≈ 80%(v/v) MeOH ≈ water ≈ MeOH ≈ acetone > EtOAc ($p < 0.05$). The antioxidant activity and phenolic content for *Gonocaryum lobbianum* ($r = -0.78, p > 0.1$), *Caesalpinia decapetala* ($r = -0.74, p > 0.1$), and *Mimusops elengi* ($r = -0.72, p > 0.1$) have had moderate correlation. The study showed that the binary solvent system with a portion of water was added, e.g. 80%(v/v) MeOH or 50%(v/v) acetone, of three herbs, it could be considered superior to a mono-solvent system.

Keywords: herb, antioxidant, polarity, solvent extraction

บทนำ

การเติบโตขึ้นของสมุนไพรในที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก นำไปสู่การศึกษาหาแหล่งพืชใหม่ๆที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในอดีตมีการใช้รากและใบของต้นต้นหมี่ในการรักษาโรคผิวหนัง เปลือกใช้รักษาโรคกระเพาะ (Chuakul *et al.* 2000) รากของกำกายใช้เป็นยาขับระดู (Medplant online) ดอกแห้งพิกุลใช้บำรุงหัวใจ รักษาโรคเจ็บคอ รักษาอาการปวดกล้ามเนื้อ เปลือกใช้ทำความสะอาดในช่องปากรักษาโรคเหงือกอักเสบ ลำต้น (ส่วนที่เชื่อว่าติดเชื้อโดย fungus) ใช้บำรุงหัวใจ บำรุงตับ บำรุงปอด และใช้เป็นยาบำรุงสตรีตั้งครรภ์ (Chuakul *et al.* 2000)

มีการศึกษาผลและเมล็ดของพิกุล (*Mimusops elengi*) พบสารสำคัญ ได้แก่ quercitol, dihydroquercetin และ quercetin (Misra and Mitra 1967) ต่อมาจากหลักฐาน HPLC พบว่ามีปริมาณสาร gallic acid สูงมากในผลที่สกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่าง MeOH, acetone และน้ำในอัตราส่วน 35 : 35 : 30 (Boonyuen, 2007) และสารสกัดของผลโดยใช้ MeOH ผสมน้ำพบสารหมู่ฟีนอล ที่ยับยั้งอนุมูลอิสระในแบบต่างๆ ดังนี้ DPPH radical scavenging, superoxide radical, hydroxyl radical และ hydrogen peroxide (Kumar *et al.* 2007) ต่อมา มีการแยกสาร ergoflavin จาก pigment ของ endophytic fungus ที่เจริญเติบโตบนส่วนใบและพบฤทธิ์การต้านมะเร็งที่ดี (Deshmukh *et al.* 2009) จากการศึกษากำกาย (*Caesalpinia decapetala*) หรือเล็บแมว (cat's claw) พบความสามารถลดการเกิด B16/F10 lung tumor colony ในหนูทดลอง C57BL/6J ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดการกระตุ้น macrophage โดยสามารถเกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากสมุนไพรนี้ได้ (Groom *et al.* 2007) โดยสอดคล้องกับการทดสอบการยับยั้งเซลล์ EBV-EA in Raji ที่ได้รับการกระตุ้นจากตัวกระตุ้นเนื้องอก TPA (32 pM) โดยพบว่าสามารถยับยั้งได้มากกว่าร้อยละ 90 และมีศักยภาพที่จะใช้เป็นสารต้านมะเร็งได้ (cancer chemopreventive agents) (Kapadia *et al.* 2002)

โดยปกติในการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัด โดยตัวทำละลายจะไปละลายสารออกฤทธิ์ออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืชที่ศึกษา ดังนั้น ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายจะมีผลต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น แม้ว่า Wasupongpun, W. *et al.* (2010) ได้รายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของพืชทั้งสามชนิดโดยใช้ 80%(v/v) MeOH เป็นตัวทำละลายแล้วนั้น อย่างไรก็ตาม ในงานดังกล่าวยังไม่ได้ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่จะสกัดสารออกฤทธิ์ออกมาได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จะได้ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันทั้งที่เป็นแบบเดี่ยวและแบบผสม ได้แก่ น้ำ, 80%(v/v) MeOH, 50%(v/v) acetone, acetone และ ethyl acetate (EtOAc) เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm (Brand-Williams *et al.* 1995) จากใบพืชที่กล่าวข้างต้น ส่วนปริมาณสารหมู่ฟีนอลใช้ Folin-Ciocalteu reagent วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm (Javanmardi *et al.* 2003) และงานวิจัยนี้ยังได้หาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารหมู่ฟีนอลด้วย

วิธีการทดลอง

1. วัสดุและวิธีการทดลอง

พืชสมุนไพรทั้งหมดนำมาจากอุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา ในเดือน สค. - ตค. 2552 DPPH radical (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) จัดหาจาก Aldrich Folin - Ciocalteu reagent และ gallic acid จัดหาจาก Fluka Sodium carbonate และ ascorbic acid จัดหาจาก Reidel - dettaen and Polskie Odczynki Chemiczne S.A. Methanol (เกรดอุตสาหกรรม) กลั่นที่ 66-67 °C ก่อนนำมาใช้งาน acetone จัดหาจาก VolChem

2. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลสารตัวอย่างนำมาวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในค่าเฉลี่ย $EC_{50} \pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean \pm standard error) โดยเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows (ver 10.0.1) และทำการวิเคราะห์โดยใช้ One-way analysis of variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range testing เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชนิดของตัวทำละลาย และใช้การวิเคราะห์แบบถดถอย (regression analyses) หา correlation ระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) และค่าปริมาณสารหมู่ฟีนอล (phenolic compound values, GAE) ที่ระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

3. การเตรียมสารตัวอย่าง

นำใบพืชสดมาบดละเอียดและอบแห้งที่ 50-55 °C นาน 10 ชม. และเก็บในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องก่อนนำมาใช้งาน

4. การเตรียมสารสกัด

ชั่งสารตัวอย่างหนัก 1 g นำมาละลายใน 20 ml ของ 80%(v/v) MeOH นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง กรองสารละลายและนำสารละลายไปปรับปริมาตรเป็น 25 ml ด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับข้างต้น สารสกัดที่ได้จะถูกใช้ไปเพื่อหาปริมาณ

เข้มข้นที่เหมาะสมก่อนนำไปใช้งาน ทำการทดลองซ้ำเปลี่ยนตัวทำละลายเป็น น้ำ, MeOH, acetone, 50%(v/v) acetone และ EtOAc ตามลำดับ

5. การหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH free radical scavenging

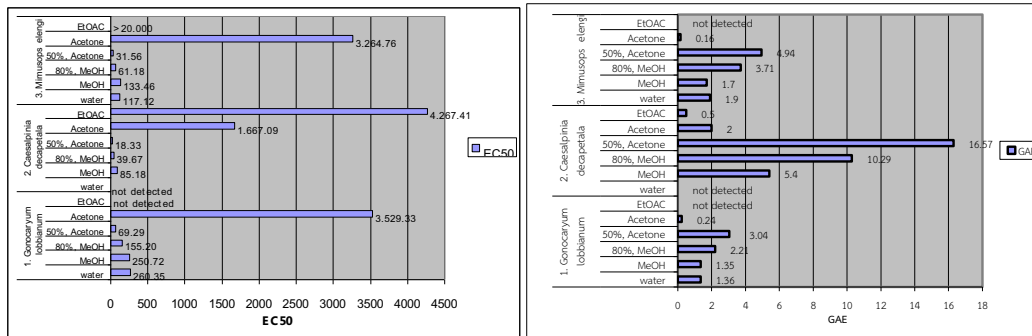
เตรียมสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยใช้ 80% (v/v) MeOH นำสารตัวอย่างมาผสมกับสารละลาย 200 μ M, DPPH ใน ethanol ด้วยอัตราส่วน 1 : 1 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm ด้วย spectrophotometer ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารอ้างอิง การฟอกสีของสารละลาย DPPH รายงานในค่า EC₅₀ โดยเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบที่ใช้ในการฟอกสีสารละลาย DPPH ร้อยละ 50 (Wasupongpun and Premkaisorn 2010)

6. การหาปริมาณสารหมู่ฟีนอล

นำสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม 2 ml ผสมกับ Folin – Ciocalteu reagent (Javanmardi *et al.* 2003) น้ำกลั่นและ 7.5%(w/v) Na₂CO₃ อย่างละ 0.40, 3.60 และ 4.00 ml ตามลำดับ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชม. กรองสารละลายด้วย microfibre filter glass (Whatmann Cat. No. 1822 090) อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm และใช้สาร gallic acid เป็นสารมาตรฐาน แล้วรายงานปริมาณสารหมู่ฟีนอลในรูปค่า mg of gallic acid equivalent (GAE)/100 mg สารตัวอย่างแห้ง

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

ในการสกัดสารออกฤทธิ์จากส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ลำต้น ผล เปลือก จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารเหล่านั้นออกมา ตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษานี้จะใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำ, 80%(v/v) MeOH, MeOH, 50%(v/v) acetone, acetone และ EtOAc ในการสกัดสาร สาร polyphenol เป็นสารที่พบสำคัญในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยมีการศึกษาผลของควมมีชีวิตของตัวทำละลายในการสกัดสารเหล่านี้ (Turkmen *et al.* 2006; Pérez-Jiménez *et al.* 2009) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีตัวทำละลายหรือวิธีมาตรฐานในการสกัดสารเหล่านี้ โดยปกติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะมีส่วนโครงสร้างที่เป็นแบบ lypophillic คือชอบละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย ซึ่งตัวทำละลายชนิดนี้จะสกัดสารออกมาได้ดี อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่าค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC₅₀) ของต้นหมี ก่าจาย และพิกุลมีค่าที่ดีที่สุด ใน 50% (v/v) acetone คือ เท่ากับ 69.29, 18.33 และ 31.56 μ g/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณสารหมู่ฟีนอล (GAE) เท่ากับ 3.04, 16.57 และ 4.94 mg, gallic acid/100 mg, สารตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC₅₀) และค่าปริมาณสารหมู่ฟีนอล (GAE) ของพืชที่ศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC₅₀) และค่าปริมาณสารหมู่ฟีนอล (GAE) ของพืชที่ศึกษาในตัวอย่างละลายชนิดต่างๆ

พืช	ตัวทำละลาย	EC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	GAE (mg, gallic acid/ 100 mg สารตัวอย่างแห้ง)
1. ดันหมี	น้ำ	260.35 \pm 1.95 ^a	1.36 \pm 0.02 ^a
	MeOH	250.72 \pm 3.46 ^a	1.35 \pm 0.03 ^a
	80% MeOH	155.20 \pm 1.79 ^b	2.21 \pm 0.05 ^b
	50% acetone	69.29 \pm 1.35 ^c	3.04 \pm 0.32 ^c
	acetone	3,529.33 \pm 65.71 ^d	0.24 \pm 0.03 ^d
	EtOAc	> 20,000 ^e	not detected ^d
2. กำจาย	น้ำ	not detected ^{a, *}	not detected ^a
	MeOH	85.18 \pm 4.02 ^b	5.40 \pm 0.03 ^b
	80% MeOH	39.67 \pm 0.64 ^b	10.29 \pm 0.05 ^c
	50% acetone	18.33 \pm 0.15 ^b	16.57 \pm 0.10 ^d
	acetone	1,667.09 \pm 5.50 ^c	2.00 \pm 0.05 ^e
	EtOAc	4,267.41 \pm 67.68 ^d	0.50 \pm 0.02 ^f
3. พิกุล	น้ำ	117.12 \pm 0.62 ^a	1.90 \pm 0.01 ^a
	MeOH	133.46 \pm 1.37 ^a	1.71 \pm 0.04 ^b
	80% MeOH	61.18 \pm 0.92 ^a	3.71 \pm 0.03 ^c
	50% acetone	31.56 \pm 0.23 ^a	4.94 \pm 0.05 ^d
	acetone	3,264.76 \pm 86.21 ^b	0.16 \pm 0.02 ^e
	EtOAc	not detected ^{c, **}	not detected ^f

ค่า EC₅₀ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean \pm SE) ในการทดลอง 3 ซ้ำในหน่วย $\mu\text{g/ml}$, ค่า GAE แสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในหน่วย mg, gallic acid/100 mg, สารตัวอย่างแห้ง, * ความหนืดสูงมาก, ** มีสีอื่นแทรกซ้อนไม่เหมาะสมต่อการวัด ค่า ส่วนตัวอักษรตัวทำละลายในคอลัมน์เดียวกันจะแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p < 0.05$

ส่วนค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของดันหมีในตัวทำละลายเรียงลำดับจากฤทธิ์มากไปน้อยได้ ดังนี้ 50%(v/v) acetone > 80%(v/v) MeOH > MeOH > น้ำ > acetone และ EtOAc โดย น้ำ และ MeOH มีค่าที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ส่วน 50%(v/v) acetone, 80%(v/v) MeOH, acetone และ EtOAc มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) (ตาราง 1) กำจายสามารถเรียงลำดับความแรงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนี้ 50%(v/v) acetone > 80%(v/v) MeOH > MeOH > acetone > EtOAc > น้ำ อย่างไรก็ตาม ในกรณีนี้หากใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะเกิดสารละลายที่มีความหนืดสูงมากและไม่สามารถกรอง residual ด้วยกระดาษกรองได้ ซึ่งเชื่อว่าสารละลายอาจมีส่วนผสมของ soluble-polysaccharides ที่ละลายในน้ำได้ ส่วนตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ 50%(v/v) acetone, 80%(v/v) MeOH และ MeOH ไม่พบความแตกต่างของสารออกฤทธิ์ ($p > 0.05$) ขณะที่ น้ำ, acetone และ EtOAc มีค่าแตกต่างกัน ($p < 0.05$) ส่วนพิกุลเรียงลำดับจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากไปน้อยได้ ดังนี้ 50%(v/v) acetone > 80%(v/v) MeOH > น้ำ > MeOH > acetone > EtOAc พบว่าตัวทำละลาย 50%(v/v) acetone, 80%(v/v) MeOH, น้ำ และ MeOH มีค่าที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) การทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าเกี่ยวกับการสกัดสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระใน *Morinda citrifolia* โดย 40%(v/v) ethanol จะมีฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับ MeOH หรือ ethanol เพียงชนิดเดียว แม้ว่าหากใช้ ethanol จะสกัดสาร flavonoid ได้มากที่สุดก็ตาม (Thoo *et al.* 2010) และสอดคล้องกับสารสกัดสับประรดและฝรั่งด้วย 90%(v/v) acetone และสารสกัดกล้วย *pisang mas* ด้วย 90% (v/v) ethanol จะแสดงฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ได้มากที่สุดเช่นกัน (Alothman *et al.* 2009) สารสกัดชาดำ (black tea) และชาเมต (mate tea) ด้วย 50%(v/v) acetone และ 80%(v/v) acetone จะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดเช่นกัน (Turkmen *et al.* 2006)) จะเห็นได้ว่าตัวทำละลายผสมสองชนิดโดยเฉพาะตัวหากมีน้ำผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกันร่วมอยู่ด้วย เช่น

80%(v/v) MeOH หรือ 50%(v/v) acetone จะมีแนวโน้มที่จะสกัดสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว

4. สรุป

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชที่ศึกษา ได้แก่ ต้นหมี่ กำจาย พิกุล ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และพบว่าตัวทำละลายชนิดเดียวไม่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระออกมาได้ดีที่สุด ในขณะที่ตัวทำละลายผสมสองชนิดโดยเฉพาะหากตัวทำละลายผสมนั้นมีน้ำผสมอยู่ด้วยและละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้นั้น ได้แก่ 80%(v/v) MeOH หรือ 50%(v/v) acetone จะมีแนวโน้มที่จะสกัดสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว

5. เอกสารอ้างอิง

- Alothman, M., Bhat, R. and Karim, A.A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chem.*, 115:785-788.
- Bhuyan, R. and Saikai, C.N. (2005). Isolation of colour components from native dye-bearing plants in northeastern India. *Bioresour Technol.*, 96(3):363-372.
- Boonyuen, C. (2007). Development of an electrochemical method for the qualitative and quantitative determination of the total antioxidant in the fruit of *Mimusops elengi* Linn. extract. Master of Science. *Thesis in Analytical Chemistry*. Graduate School. Silpakon University.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical methods to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel – Wissenschaft and Technologie Und – Technologie/Food Science and Technology*, 28(1):25-30.
- Chuakul, W., et al. Faculty of Pharmacy. Mahidol University. (2000). *Encyclopedia of Herbal Plants*. Vol 4: Kokya E-San. Bangkok. Mahidol Foundation.
- Deshmukh, S.K., Mishra, P.D., Kulkarni-Almeida, A., Verekar, S., Sahoo, M.R., Peryasamy, G., Goswami, H., Khanna, A. and Balakrishnan, A. (2009). Anti-inflammatory and anticancer activity of ergoflavin isolated from an endophytic fungus. *Chem. Biodivers*, 6(5):784-789.
- Groom, S.N., Johns, T. and Oldfield, P.R. (2007). The potency of immunomodulatory herbs may be primary dependent upon macrophage activation. *J. Med. Food*, 10(1):73-79.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem.*, 83:547-550.
- Kapadia, G.J., Azuine, M.A., Tokuda, H., Hang, E., Mukainaka, T., Nishino, H. and Sridhar, R. 2002. Inhibitory effect of herbal remedies on 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate-promoted Epstein-Barr virus early antigen activation. *Pharmacol Res*. 45(3):213-220.
- Kumar, D., Kumar, S. and Arora, O.P. (2007). Evaluation of the antioxidant, phenolic and flavonoid contents of *Mimusops elengi* Linn. fruits. *Research & Reviews in Biosciences*, 1(1):42-46.
- Misra, G. and Mitra, C.R. (1967). Constituents of fruit and seed of *Mimusops elengi*. *Phytochemistry*, 6(3):453.
- Pérez-Jiménez, J. and Saura-Calixto, F. (2009). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.*, 39:791-800.
- The Service Center for Medicinal Plant Information. Pharm Database (Medplant online). Faculty of Pharmacy. Mahidol University. (Online). Retrieved November 20, 2008, from:
<http://www.medplant.mahidol.ac.th>
- Thoo, Y.Y., Ho, S.K., Liang, J.Y., Ho, C.W. and Tan, C.P. (2010). Effect of binary solvent system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem.*, 120(1):290-295.

- Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y.S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chem.*, 99:835–841.
- Wasupongpun, W. and Premkaisorn, P. (2010). Evaluation of antioxidant activity of eleven Thai medicinal herbs, *SWU Sci. J.*, 26(1):29-38.