ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชวงศ์ Myrtaceae ในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง

Antioxidant Activity from Myrtaceae at Kuan Kreng Peatlands

แน่งน้อย แสงเสน่ห์[1] ปวีณา ปรวัฒน์กุล[1] และ ญานิศา เทพช่วย[1]
[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
เลขที่ 1 หมู่ 4 ตำบลท่างิ้ว อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช โทรศัพท์: 075-377443 E-mail: saengsane@yahoo.co.th

บทคัดย่อ

ป่าพรุควนเคร็ง เป็นป่าพรุขนาดใหญ่แห่งหนึ่งของภาคใต้ ซึ่งถูกทำลายโดยไฟป่าหลายครั้งติดต่อกัน จากการสำรวจพื้นที่ป่าพรุควนเคร็งพบพืชในวงศ์ Myrtaceae ที่มีสรรพคุณที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางยา ได้แก่ เสม็ดชุน (*Melaleuca cajeputi*) เสม็ดขาว (*Malaleuca leucadendra*) หว้า (*Syzygium cumini* L.) และโทะ (*Rhodomyrtus tomentasa* (Ait.) Hassk) งานวิจัยนี้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากการทดลองพบว่าสารสกัดที่มีค่ายับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ที่ดีที่สุดคือ ใบหว้า (IC_{50} = 27.60 มิลลิกรัม/ลิตร) รองลงมาคือ ใบเสม็ดขาว (IC_{50} = 46.40 มิลลิกรัม/ลิตร) ใบเสม็ดชุน (IC_{50} = 62.42 มิลลิกรัม/ลิตร) และใบโทะ (IC_{50} = 75.90 มิลลิกรัม/ลิตร) ตามลำดับ และสารประกอบฟีนอลรวมในสารสกัดจากใบหว้าพบมากที่สุดคือ 11.786 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/100 กรัมพืช รองลงมาคือ ใบเสม็ดชุน ใบเสม็ดขาว และใบโทะ มีสารประกอบฟีนอลรวม เท่ากับ 3.306, 2.858 และ 0.358 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/100 กรัมพืช ตามลำดับ

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ ป่าพรุควนเคร็ง พืชวงศ์ Myrtaceae

Abstract

Kuan Kreng peatlands located in the southern of Thailand have been destroyed by fire several times. After being burnt, some plants are still found in this area including Myrtaceae which have free radical scavenging and medicinal activity: *Melaleuca cajeputi*, *Malaleuca leucadendra*, *Syzygium cumini* L. and *Rhodomyrtus tomentasa* (Ait.) Hassk. The aims of this study were to determine the antioxidant activities of Myrtaceae by using DPPH assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and the total phenolic content. The results indicated that the highest antioxidant activity obtained by DPPH assay was exhibited by methanol extract of the leaves of *Syzygiumcumini* (IC_{50} = 27.60 mg/L), followed by the antioxidant activities of *Malaleuca leucadendra* (IC_{50} = 46.40 mg/L), *Melaleuca cajeputi* (IC_{50} = 62.42 mg/L) and *Rhodomyrtus tomentasa* (Ait.) Hassk. (IC_{50} = 75.90 mg/L) respectively. The total phenolic compounds of *Syzygium cumini* L. was at the highest level (11.786 mg gallic acid/100 g DW) followed by the total phenolic compounds of *Malaleuca leucadendra* (3.306 mg gallic acid/100 g DW), *Melaleuca cajeputi* (2.858 mg gallic acid/100 g DW) and *Rhodomyrtus* (0.358 mg gallic acid/100 g DW) respectively.

Keywords: Antioxidant, Kuan Kreng peatlands, Myrtaceae

1. บทนำ

ป่าพรุควนเคร็งเป็นพรุขนาดใหญ่แห่งหนึ่งของภาคใต้ มีพื้นที่รวมทั้งหมดประมาณ 223,320 ไร่ ครอบคลุมพื้นที่เขตรอยต่อของ 3 จังหวัด คือ จังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา ลักษณะพืชพรรณในป่าพรุดั้งเดิมจะมีไม้จำพวกหว้า เตียว ตะเคียน จิก เสม็ด และไม้พื้นล่างจำพวก กระจูด กก ย่านลิเภา เป็นต้น หลังจากเกิดไฟไหม้ป่าพรุหลายครั้งติดต่อกันพรรณไม้ดั้งเดิมถูกทดแทนด้วยไม้เสม็ดซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเปรี้ยว ชุมชนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ป่าพรุและชายขอบ พึ่งพาอาศัยป่าพรุในการดำรงชีวิตมาแต่อดีตเป็นทั้งแหล่งทำมาหากิน แหล่งอาหารและแหล่งยารักษาโรค [1] จากการสำรวจพื้นที่พบพืชในวงศ์ Myrtaceae เช่น เสม็ดขาว (*Melaleuca cajeputi*) เสม็ดชุน (*Syzygium gratum*) หว้า (*Syzygium cumini* L.) โทะ (*Rhodomyrtus tomentasa* (Ait.) Hassk) โดยทั่วไปมีการนำมาใช้ประโยชน์จากเนื้อไม้ในการทำเฟอร์นิเจอร์และสิ่งก่อสร้าง และประโยชน์ในการใช้เป็นอาหารและยารักษาโรค เช่น เสม็ดขาวนำส่วนผลแห้งทำพริกไทยดำ ใบนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่าน้ำมันเขียว หรือน้ำมันเสม็ด มีกลิ่นคล้ายการบูร มีรสขม ใช้ทาแก้เคล็ด เมื่อยปวด รับประทานแก้จุกเสียด ท้องขึ้น ลมชัก ขับเหงื่อ เมื่อนำใบและเปลือกตำรวมกันใช้พอกแผลที่กลัดหนองจะช่วยดูดหนองให้แห้ง ทาฆ่าหมัด เหา และไล่ยุง หว้า ส่วนผลของหว้า มีรสเปรี้ยวฝาด นำมาบริโภคได้ ส่วนยอดอ่อนจะมีรสเปรี้ยวอมฝาดนำมาลวกรับประทานกับน้ำพริกได้ เปลือกต้มน้ำดื่มแก้บิด อมแก้ปากเปื่อย ผลดิบแก้ท้องเสีย ผลสุกรับประทานได้ใช้ทำเครื่องดื่ม เมล็ด ลดน้ำตาลในเลือด แก้ท้องเสีย ถอนพิษ ใบหว้าลดน้ำตาลในเลือด และสามารถนำมากลั่นเป็นน้ำมันหอมระเหยได้ โทะ มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากลูกโทะ นอกเหนือจากการทำเป็นไวน์ผลไม้แล้ว ยังจะสามารถแปรรูปเป็นแยมลูกโทะหรือผลไม้กวนลูกโทะ เป็นต้น

เนื่องจากในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ทุกชนิดมีกระบวนการควบคุมอนุมูลอิสระเพื่อรักษาสมดุลของอนุอิสระภายในร่างกาย เรียกสารที่ทำหน้าที่ในกระบวนการกำจัดอนุมูลอิสระว่า สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของอนุมูลอิสระในสภาวะที่มีปริมาณอนุมูลอิสระมากกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งอนุมูลอิสระได้ จะส่งผลให้อนุมูลอิสระไปทำลายเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย [2] การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกอาจจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการควบคุมการ

ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แต่สารต้านอนุมูลอิสระที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการทางเคมีจะมีข้อจำกัดในการใช้งานและความปลอดภัยในการบริโภคทำให้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรไทย ซึ่งสามารถนำประยุกต์ใช้ในทางเภสัชวิทยา การแพทย์ ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม และอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อลดการนำเข้าสารสังเคราะห์จากต่างประเทศ อีกทั้งเป็นการส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรธรรมชาติของไทยที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ แหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ คือสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ที่พบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็น ฝัก ใบ เมล็ด เปลือก ราก [3] สารประกอบฟีนอลอาจมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น การเป็นตัวรีดิวซ์ ตัวจับโลหะ จากการศึกษาพบว่าการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงจะมีส่วนในการช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและมะเร็งได้ [4]

ในการวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidation) ด้วยวิธี DPPH assay จากส่วนใบของพืชในวงศ์ Myrtaceae 4 ชนิด คือเสม็ดขาว (*Melaleuca cajeputi*) เสม็ดชุน (*Syzygium gratum*) หว้า (*Syzygium cumini* L.) โทๆ (*Rhodomyrtus tomentasa* (Ait.) Hassk) ซึ่งเป็นพืชหลักในป่าพรุควนเคร็ง และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent [5]

2. วัตถุประสงค์

เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชวงศ์ Myrtaceace จากป่าพรุควนเคร็ง ด้วยวิธี DPPH และหาปริมาณฟีนอลรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent

3. วิธีดำเนินงาน

3.1 การสำรวจพืช

ลงพื้นที่ป่าพรุควนเคร็งเพื่อสำรวจพืชในวงศ์ Myrtaceae ที่จะนำมาวิจัยแล้วเก็บตัวอย่างพืชของใบเสม็ดขาวใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทๆที่สำรวจได้มาศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

3.2 การเตรียมสารสกัดพืช

นำส่วนใบแก่ของพืชตัวอย่างแต่ละชนิดมาล้างทำความสะอาดแล้วนำมาผึ่งลมให้แห้งพอหมาดๆ จากนั้นนำมาปั่นให้เป็นชิ้นเล็กด้วยเครื่องปั่น แล้วชั่งน้ำหนักพืชตัวอย่าง 500 กรัม นำไปสกัดด้วยเมทานอล ปริมาตร 450 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และเก็บสารละลายที่ได้จาก ใบโทๆ ใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน และใบหว้า ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในส่วนของสารสกัดใบโทๆนำมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนอีกครั้งเนื่องจากสารสกัดมีน้ำปนเยอะไม่สามารถระเหยออกได้หมด แล้วนำไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารที่มีความเข้มข้นหนืด (crude) นำสารสกัดทั้ง 4 ตัวอย่าง มาชั่งและบันทึกน้ำหนัก และเก็บสารที่ได้ไว้ในบีกเกอร์หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์

3.3 การวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (ปรับปรุงตามวิธีของ Blois) [6]

3.3.1 การทำกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

1. ปิเปตสารละลายกรดแอสคอร์บิก 10 มิลลิกรัม/ลิตร ในปริมาตรต่างๆ ดังนี้คือ 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 5.00 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล จะได้ สารละลายกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 มิลลิกรัม/ลิตร

2. ปิเปตสารละลายกรดแอสคอร์บิก (จากข้อ 1) มา 3.00 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย DPPH 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้น นำไปตั้งไว้ในที่มืดจับเวลาจนกระทั่ง DPPH ทำปฏิกิริยากับ Ascorbic acid สังเกตสีของสารละลายจากสีม่วงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง บันทึกเวลา แล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก

3.3.2 การหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทๆโดยวิธี DPPH Assay

1. นำสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทๆที่มีความเข้มข้นหนืดไปชั่งน้ำหนัก 0.005 กรัม นำมาละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล แล้วเตรียมสารละลายเจือจาง 5 ความเข้มข้นจะได้สารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทๆที่มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 มิลลิกรัม/ลิตร

2. ปิเปตสารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 3.00 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติม DPPH 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

3.3.3 การคำนวณความสามารถฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. หาค่า 50% Inhibitory concentration (IC_{50} = ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์, มิลลิกรัมต่อลิตร)

2. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง

3. หาค่า IC_{50} จากกราฟที่แสดงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

4. ใช้ค่า IC_{50} ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทๆกับสารมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก

3.4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent

3.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิก 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในปริมาตรต่างๆ ดังนี้ 1.00, 1.50, 2.50, 3.75 และ 5.00 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบ 5.00 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล

2. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิก (จากข้อ1.) มาความเข้มข้นละ 1.00 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตรหุ้มอะลูมิเนียมฟอยด์ จะได้สารละลายแกลลิกที่มีความเข้มข้นดังนี้คือ 6, 8, 10, 20 และ 30 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร

4. เติมน้ำ 60 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที

5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 15% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

6. เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตรแล้วเก็บในที่มืด 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

7. นำสารละลายที่ได้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

8. นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของกรดแกลลิก

3.4.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทะ

1. ปิเปตสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทะปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent 3.00 มิลลิลิตร เติมน้ำ 60 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต 15 % ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำสารที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

2. หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

4. ผลการศึกษา

4.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยสังเกตความสามารถในการจับ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง [7] สารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และไม่มีสารสกัดใดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้แรงเท่ากับกรดแอสคอร์บิก ซึ่งเป็น positive control ซึ่งจะรายงานเป็นความเข้มข้นของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง Inhibitory Concentration at fifty percent (IC_{50}) ผลแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่าง ด้วยวิธี DPPH radical assay

ตัวอย่างพืช	สมการ	R^2	IC_{50} (mg/L)
ใบเสม็ดขาว	y = 0.8006x + 12.853	0.9956	46.40
ใบเสม็ดชุน	y = 0.5814x + 13.735	0.9931	62.42
ใบหว้า	y = 0.553x + 34.738	0.9922	27.60
ใบโทะ	y = 0.6024x + 4.2771	0.9964	75.90

จากตารางที่ 1 จากการคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ เปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิก โดยรายงานสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง Inhibitory Concentration at fifty percent (IC_{50}) พบว่าใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 46.40, 62.42, 27.60 และ 75.90 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิก ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.96 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดจาก ใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ แต่เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างสารสกัดจากพืชตัวอย่าง พบว่าสารสกัดจากผลใบหว้ามีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ถัดมาคือใบเสม็ดขาวใบเสม็ดชุน และใบโทะ ตามลำดับ

4.2 ศึกษาปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ

สารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH จึงนำมาหาปริมาณฟีนอลรวมจาก linear regression equation ของ calibration curve (y = 0.0056x + 0.007, R^2 = 0.9970) ผลการศึกษา แสดงดังตารางที่ 2

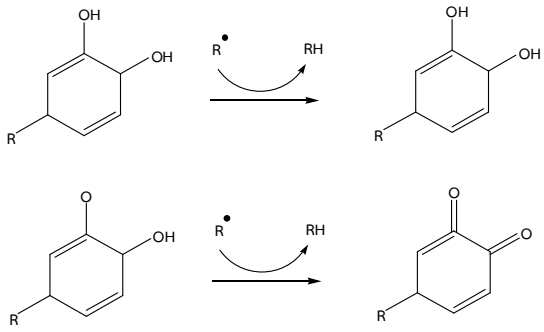
ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมดในสารสกัดหยาบ ของใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ

ตัวอย่างพืช	ปริมาณฟีนอลรวม (มิลลิกรัม GAE/ 100 กรัมพืช)
ใบเสม็ดขาว	2.858
ใบเสม็ดชุน	3.036
ใบหว้า	11.786
ใบโทะ	0.358

จากการหาปริมาณฟีนอลรวมจากสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้า และใบโทะ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในใบหว้าสูงที่สุดคือสารสกัดจากใบหว้า 11.786 มิลลิกรัม GAE/100 กรัมพืช รองลงมาคือในใบเสม็ดชุน ใบเสม็ดขาว และใบโทะ พบในปริมาณ 3.036, 2.858 และ 0.358 มิลลิกรัม GAE/100 กรัมพืช ตามลำดับ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลรวม

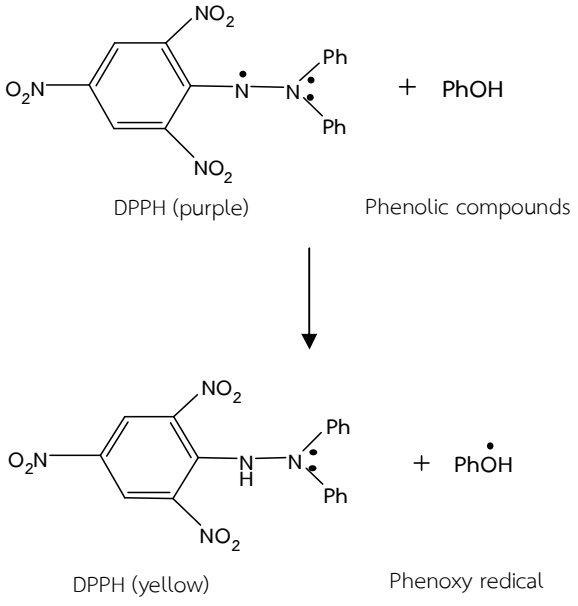
สารจำพวกฟีนอล (phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชตัวอย่าง ของสารกลุ่มนี้ได้แก่ สารจำพวก flavonoids ที่มี catechol เป็นองค์ประกอบ stilbenes, tannins ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxy group โดยมากเป็นสารที่มี ขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวก alcohol ได้ดี กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในรูปที่ 1 คือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไปแต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป [8]



รูปที่ 1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล

สำหรับกลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล (รูปที่ 2) เกิดจากการ ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล โดยที่อนุมูลอิสระ DPPH ในสารละลายจะมีสีม่วง เมื่อสารจำพวกฟีนอลให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่มีเป็นอนุมูลอิสระต่อไป ซึ่งจะเห็นเป็นสีเหลืองนวล (ขั้นที่ 1) ส่วน phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจบกันทำให้ปฏิกริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหมดไป (ขั้นที่ 2) [9]

ขั้นที่ 1



ขั้นที่ 2

รูปที่ 2 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีความสัมพันธ์กันแบบแปรผันตรง คือสารสกัดจากใบหว้าที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดจะมีปริมาณ ฟีนอลรวมสูงสุดเช่นกัน สำหรับสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน และใบโทัะ ก็ให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกัน และสำหรับสารสกัดจากใบโทัะพบปริมาณฟีนอลรวมน้อยอาจจะเนื่องจากต้องสกัดในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนซ้ำซึ่งอาจจะสกัดสารกลุ่มฟีนอลออกมาได้น้อยกว่าสกัดตัวทำละลายเมทานอลซึ่งมีขั้วสูงกว่า

5. สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay ของสารสกัดจากใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุน ใบหว้าและใบโทัะ สรุปได้ว่า สารสกัดที่มีการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ดีที่สุดคือ สารสกัดจากใบหว้า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.60 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (IC_{50} = 1.96 มิลลิกรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ ใบเสม็ดขาว ใบเสม็ดชุนและใบโทัะ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 46.40, 62.42 และ 75.90 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยทำปฏิกิริยากับ Folin Ciocalteu reagent แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดจากใบหว้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมากที่สุด 11.786 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/100 กรัมพืช ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบหว้าเป็นแหล่งสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่สำคัญคาดว่าน่าจะนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไปได้

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย และขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราชที่เอื้อเฟื้อให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการทางเคมี และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

7. การอ้างอิง

[1] ปิติวงษ์ ตันติโชดก และคณะ, "การศึกษาลำดับความสำคัญของปัญหาและความต้องการของประชาชนเพื่อการวิจัยและพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง". งานวิจัย, มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, 2547.

[2] Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M., "Oxidants antioxidants, and the degenerative disease of aging", Proc. Natl Acad. Sci. USA. 90: 7915-7922, 1993.

[3] Pratt, D.E., Hudson FJB, "Natural antioxidants not exploited", Amsterdam Elsevier Food antioxidants, 171-192, 1990.

[4] Hansson A, Zelada JC, Noriega HP, “Reevaluation of risks with the use of Ficus insipida Willd. Latex as a traditional anthelmintic”, Amazon. J. Ethnopharmacol, 98: 251-257, 2005.

[5] Shui, G. and L.P. Leong. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chemistry, 76, 69-75, 2002.

[6] Blois, M. S., “Antioxidant determination by the use of stable free radical”, Nature, 26: 1199-1200, 1958.

[7] Chen, Y., Wang, M. F., Rosen, R. T. and Ho, C. T., “2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging active components from Polygonum multiforum Thunb”, Amazon. J. Ethnopharmacol, J. Nat. Prod., 47: 2226-2228, 1999.

[8] Pietta, P. G., “Flavonoids as antioxidants”, J. Nat. Prod., 63: 1035-1042, 2000.

[9] Amic, D., Davidovic, D., Beslo, D. and Trinajstic, N., “Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids”, Croatia Chemica Acta., 76: 55-61, 2003.