รายงานการวิจัย

การประเมินศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระในพืชป่าที่บริโภคได้

Evaluation of Antioxidant Potential in Wild Edible Plants

นางสาววริพัสย์ อารีกุล

นางสาวนราพร พรหมไกรวร

RCH
QK
98.5
ว 329ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....131063
วัน,เดือน,ปี..21 พ.ค. 2557

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2551

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

b.12596814
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ดร.ยุพร พืชกมุทร ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ผศ.ดร.พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล ผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงานวิจัย ตลอดจน ช่วยตรวจสอบแก้ไขรายงานวิจัยฉบับนี้ให้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชป่าสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ ศ.ดร.สุธรรม อารีกุล และ คณะ ที่กรุณาคัดเลือกและทำการตรวจสอบลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตัวอย่างพืชทั้งหมด รวมถึง เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกฝ่าย ที่อำนวยความสะดวกในการดำเนินงานและใช้เครื่องมือสำหรับงานวิจัยครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ: การประเมินศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระในพืชป่าที่บริโภคได้

Evaluation of Antioxidant Potential in Wild Edible Plants

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 234,300 บาท

ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551

รายชื่อผู้ดำเนินการวิจัย นางสาววริพัสย์ อารีกุลและนางสาวนราพร พรหมไกรวร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โทรศัพท์/โทรสาร: 02-329-8526, 02-329-8527

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืชด้วยเอทานอลจำนวน 30 ตัวอย่าง เพื่อค้นหาพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC) วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin – Ciocalteau reagent ส่วนความสามารถในการต้านออกซิเดชันทดสอบด้วย 4 วิธี คือ วิธี DPPH (DPPH free radical scavenging assay) วิธี TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) วิธี FRAP (ferric reducing/antioxidant power) และวิธี TBARS (thiobarbutyric acid reactive substances) จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดพืชมีความแปรผันของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันมาก โดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ส่วนของพืช และวิธีทดสอบ เมื่อพิจารณาสารสกัดพืชสดทั้งหมด พบว่า สารสกัดจากดอกติ้วเกลี้ยงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ส่วนสารสกัดใบก่อข้าวมีค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธี DPPH สูงสุด และสารสกัดจากใบมันปลามีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC และ FRAP สูงสุด ยกเว้นวิธี TBARS ที่พบว่า สารสกัดลำต้น/ใบหญ้าแหลมนกไส้มีค่า TBARS สูงสุด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความสัมพันธ์ในระดับสูง โดยมีค่า 0.935 และ 0.871 ตามลำดับ (p<0.01) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับวิธี TEAC และ TBARS ชี้ให้เห็นว่า นอกเหนือจากสารประกอบโพลีฟีนอลแล้ว ยังมีสารประกอบอื่นๆ ที่มีบทบาทในการต้านออกซิเดชันเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, TEAC และ FRAP มีความสัมพันธ์กันในช่วงกว้าง (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.322-0.961) แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับวิธี TBARS จากความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสำคัญในสารสกัดพืชมีศักยภาพในการรีดิวซ์โลหะ และการทำลายอนุมูลอิสระมากกว่าการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาได้คัดเลือกพืชจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เมี่ยงป่า ก่อข้าว มันปลา ทะโล้ และส้มปี้ ซึ่งพืชทั้งหมดนี้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง จึงสามารถใช้เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันและสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติได้

Abstract

The total phenolic content and antioxidant capacities of 30 ethanolic plant extracts were examined for screening plants with high antioxidant capacities. Total phenolic content (TPC) was measured by Folin – Ciocalteau reagent method while four different assays; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay were applied to determine their antioxidant capacities. The plant extracts showed large variations in TPC and antioxidant capacities on different plant species, plant parts antioxidant assays. Among fresh plant extracts, the extract of flower of *Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume showed highest TPC while that of leaves of *Castanopsis inermis* (Lindl. ex Wall.) Benth & Hook. f., showed highest DPPH value. The extract of leaves of *Glochidion sphaerogymum* (Müll. Arg.) Kurz showed highest TEAC and FRAP values except TBARS. The highest TBARS was observed in the extract of stems/leaves of *Biden bipinnata*, L.

The high correlation coefficient (r) between TPC-DPPH and TPC-FRAP (0.935 and 0.871) except TEAC and TBARS indicated that not only polyphenol but also other active compounds were responsible for antioxidant capacities. However, the three antioxidant assays (DPPH, TEAC and FRAP) showed a good correlation (0.322-0.961) but found no correlative with TBARS. These correlations indicated that active compounds in plant extracts showed much better potential for chelating agent and free radical scavenging than break chain reactions.

From our results, the 5 selected plant; *Camellia sinensis* (L.) Kuntze var. *assamica* (J. Masters) Kitam., *Castanopsis inermis* (Lindl. ex Wall.) Benth & Hook. f., *Glochidion sphaerogymum* (Müll. Arg.), *Schima wallichii* (D.C.) Korth. and *Vaccinium sprengelli* (D. Don) Sleum possed high antioxidant activities and thus could be potential rich sources of natural antioxidants and total phenolic content.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....I
บทคัดย่อ.....II
สารบัญ.....IV
สารบัญตาราง.....VI
สารบัญภาพ.....VII
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย.....VIII
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 บทนำ.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 พืชป่า.....3
2.2 ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน.....15
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน.....26

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 37
3.1 วัตถุดิบ.....37
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์.....39
3.3 สถานที่ดำเนินงาน.....39
3.4 วิธีการทดลอง.....39

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....43
4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน
ด้วยวิธีต่างๆ.....43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลของส่วนของพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่มีต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ.....56
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ที่พบในสารสกัดพืช.....59

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....64
5.1 สรุปผลการทดลอง.....64
5.2 ข้อเสนอแนะ.....65

บรรณานุกรม.....67

ภาคผนวก.....80
ภาคผนวก ก.....81
ภาคผนวก ข.....85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชชนิดต่างๆ	25
3.1	ตัวอย่างพืช	37
4.1	การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	44
4.2	การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH	47
4.3	การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$	51
4.4	การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด	53
4.5	การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน	55
4.6	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างพืชป่าบางชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้	14
2.2	โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	17
2.3	ลักษณะโครงสร้างที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์	18
2.4	กรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักแบบไฮดรอกซีเบนโซอิกและแบบไฮดรอกซีซินนามิก	18
2.5	การทำลายอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ ด้วยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนจากสารต้านออกซิเดชัน	20
2.6	การทำลายอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ ของสารต้านออกซิเดชัน	21
2.7	การรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} - TPTZ ของสารต้านออกซิเดชัน	22
2.8	การเกิดปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) และกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA)	24
4.1	จำนวนชนิดพืชแยกตามกลุ่มของปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่พบและส่วนที่ใช้ในการวิเคราะห์	57
ก1	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.003x	81
ก2	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.007x	81
ก3	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.0051x	82
ก4	ความสัมพันธ์ระหว่าง % antioxidant activity กับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.8358x	82
ก5	ความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับปริมาณสารสกัดก่อข้าว ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 258.68x	83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

คำย่อ	คำอธิบาย
% AOA	เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน
% inhibition	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน
% MC	เปอร์เซ็นต์ความชื้น
A	ค่าการดูดกลืนแสง
$A_{control}$	ค่าการดูดกลืนแสงของรีเอเจนต์ทดสอบ
A_{sample}	ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง
ABTS	2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
$ABTS^{\bullet+}$	ABTS radical cation
DPPH	DPPH free radical scavenging assay
$DPPH^{\bullet}$	2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl radical
EC_{50}	Effective concentration
$1/EC_{50}$	ส่วนกลับของค่า EC_{50}
FRAP	Ferric reducing/antioxidant power
Fe^{3+}	เฟอริก
Fe^{2+}	เฟอรัส
g wet basis	กรัม(น้ำหนักเปียก)
g dry basis	กรัม (น้ำหนักแห้ง)
m	ค่าความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน
MDA	มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde)
mg GAE	มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก
mg TE	มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox
r	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
TBARS	Thiobarbutyric acid reactive substances
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TPC	Total phenolic content
TPTZ	2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ	คำอธิบาย
TPC	Total phenolic content
TPTZ	2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติกำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจาก การใช้สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ในปริมาณที่สูงเกินมาตรฐาน จะเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ (Castenmiller และ คณะ, 2002; Kaur และ Kapoor, 2001) ในขณะที่สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติโดยเฉพาะจากพืชนั้น มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน เพราะมีสารพฤกษเคมี (phytochemicals) หลายชนิดเป็นองค์ประกอบ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงกว่าสารสังเคราะห์ นอกจากนี้ สารพฤกษเคมียังมีบทบาทสำคัญในการลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่นๆที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ โดยสารพฤกษเคมี เช่น เบตา-แคโรทีน (β-carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และกลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) เป็นต้น จะเข้ากำจัดหรือขัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ (Castenmiller และ คณะ, 2002; Kaur และ Kapoor, 2001) ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้เกิดการค้นคว้าและพัฒนาสารต้านออกซิเดชันจากพืชหลากหลายสายพันธุ์ทั่วโลก ทั้งพืชอาหาร พืชสมุนไพร เครื่องเทศและผลไม้ต่างๆ อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืช ย่อมแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์และชนิดของพืช ส่วนที่ใช้วิเคราะห์ ชนิดและปริมาณสารพฤกษเคมีที่พบ รวมไปถึง ปัจจัยด้านการเพาะปลูก ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ อายุการเก็บเกี่ยว ตลอดจน การเตรียมตัวอย่าง การทำแห้ง การเลือกใช้ตัวทำละลาย วิธีการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเลือกใช้ตัวทำละลาย เนื่องจากความสามารถในการละลายของสารพฤกษเคมีแต่ละชนิดในพืชแตกต่างกันไปตามความมีขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ จึงส่งผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (Witzell และ คณะ, 2003; Liyana-Pathirana และ Shahidi, 2005)

การศึกษาเกี่ยวกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันในพืชของประเทศไทยนั้นยังจำกัดอยู่ในกลุ่มของพืชพื้นบ้านที่บริโภคทั่วไป จึงทำให้ขาดโอกาสที่จะพัฒนาพืชเศรษฐกิจตัวใหม่ ทั้งที่ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของทรัพยากรทางชีวภาพ (biological diversity resources) และประชากรในภูมิภาคต่างๆก็มีความคุ้นเคยและใช้ประโยชน์จากพืชต่างๆมาเป็นเวลานาน ทั้งการบริโภคและสรรพคุณทางยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งชาวเขาทางภาคเหนือของไทยที่นำพืชป่าหลายชนิดมาใช้ แต่ยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชป่าและพืชพื้นบ้านบางชนิด จะทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นในการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชเหล่านี้ ทั้งยังอาจทำให้ได้พืชที่มีศักยภาพสูง ที่มีความเหมาะสมในการพัฒนาให้เป็นพืชเศรษฐกิจในด้านต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริมสุขภาพ (functional food) การแพทย์ และโภชนาการ เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ของสารสกัดพืช

1.2.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันแต่ละวิธีที่ศึกษา

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (DPPH free radical scavenging assay) วิธี TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) วิธี FRAP (ferric reducing/antioxidant power) และ วิธี TBARS (thiobarbutyric acid reactive substances) ของสารสกัดพืชสดจำนวน 30 ตัวอย่าง เพื่อคัดเลือกพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงจำนวน 5 ชนิด โดยนำข้อมูลที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 พืชป่า

พืชป่า หมายถึง พืชใดๆ ที่ขึ้นอยู่ในป่าธรรมชาติหรือป่าปลูก ที่ผู้คนท้องถิ่นได้นำมาใช้ประโยชน์เพื่อการยังชีพ แต่มีพืชบางชนิดซึ่งเป็นส่วนน้อยแต่เดิมเป็นพืชปลูก ต่อมาได้กระจายพันธุ์เข้าไปในป่ากลายเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ในธรรมชาติในป่า และถูกนำมาใช้ประโยชน์โดยไม่ได้ปลูกขึ้นเองก็ถูกรวมไว้เป็นพืชป่าด้วย (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก) จากการวิจัยด้านพฤกษศาสตร์พบว่าชาวเขา หรือกลุ่มชนตามท้องถิ่นนั้นๆ ได้นำพืชป่าจำนวนมากมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ แตกต่างกันออกไป ทั้งการบริโภคเป็นอาหาร เครื่องเทศ เครื่องดื่ม การสร้างที่อยู่อาศัย ใช้เป็นเครื่องนุ่งห่ม และการใช้เป็นยารักษาโรค แม้กระทั่งเป็นสมุนไพรเพื่อบำรุงร่างกาย (ปริทรรศน์ ไตรสนธิ และ คณะ, 2545) อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์นั้นยังทำกันน้อย ข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่พบจึงยังไม่ครอบคลุมทุกด้าน ในพืชป่าบางชนิดจึงพบเพียงการใช้ประโยชน์ของชาวเขาเท่านั้น สำหรับข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับชื่อและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ รวมถึง สรรพคุณและการใช้ประโยชน์ของพืชป่าที่ใช้ในงานวิจัย มีดังนี้

2.1.1 ผักเผ็ด (*Acmella oleraceae* (L.) R.K. Jansen วงศ์ COMPOSITAE)

ผักเผ็ด สามารถใช้เป็นเครื่องเทศเพื่อเพิ่มรสเผ็ด โดยผสมกับผักอื่นๆ ทำแกงแค หรือแกงอื่นๆ และยังใช้เป็นยากลางบ้านในการแก้พิษ แก้ไข้ในเด็ก ส่วนชาวเขาเผ่ากระเหรี่ยงใช้ใบสดเคี้ยวอมแก้ปวดฟัน และ ต้มกินแก้ปวดท้อง (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

สาร spilanthol ในช่อดอกและก้านช่อดอก มีฤทธิ์เป็นยาชา สามารถนำมาใช้อุดฟัน และแก้ปวดฟันได้ (อุไร จิรมงคลการ, 2547) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ

2.1.2 ผักเหี้ย (*Artemisia vulgaris* L. วงศ์ ASTERACEAE)

ผักเหี้ย ใช้เป็นยากลางบ้านในการรักษาโรคลม ขับเสมหะ แก้ไอ หืด และไข้ต่างๆ ส่วนชาวเขาเผ่ามูเซอและอีก้อ ใช้ทั้งต้นตำพอกแก้ผื่นคันตามผิวหนัง หรือนำมาอังด้วยไอน้ำเพื่อสูดกลิ่นรักษาอาการปวดท้อง ปวดหัว เป็นหวัด คัดจมูก ชาวเขาเผ่าม้งใช้ต้มกับไก่หรือผสมพืชอื่นกินเป็นยาบำรุงกำลัง ในประเทศจีนและแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใช้ใบและดอกเป็นยาเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร ระงับประสาท และขับพยาธิ ในอินเดียรักษาโรครูมาติก ส่วนจีนใช้เป็นยาแก้อาการตกเลือดและท้องร่วง (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

ผักเหี่ยมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย *Plasmodium falciparum* (Hernandes และ คณะ, 1990) ไวรัส เชื้อรา แบคทีเรีย และอะมีบา มีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลาง ยับยั้งการทำงานของกล้ามเนื้อลาย คลายกล้ามเนื้อเรียบ ลดการอักเสบ และยับยั้งการกลายพันธุ์ แต่ก่อให้เกิดการแพ้และเป็นสารก่อมะเร็ง องค์ประกอบทางเคมีที่พบ ได้แก่ aesculetin, aesculin, borneol, umbellulone คูมาริน เคอร์คูมิน อัลฟา-อะไมริน (α-amyrin) เบตา-อะไมริน (β-amyrin) ไซมีน (cymene) เจอรานิออล (geraniol) กรดกลูตามิก (glutamic acid) เบตา-ซิโตสเตอรอล (β-sitosterol) และสติกมาสเตอรอล (stigmasterol) เป็นต้น (นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ, 2539)

2.1.3 สะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss. var. *siamensis* Valeton วงศ์ MELIACEAE)

โดยทั่วไป นิยมกินยอดอ่อนและดอกอ่อนด้วยการต้มเป็นอาหาร และยังสามารถใช้ทุกส่วนของสะเดาเป็นยากลางบ้าน โดยใช้รากแก้พิษงูกัด โรคผิวหนัง แก้ไข้ เปลือกใช้ยาเจริญอาหาร กระพี้แก้ไข้ตัวร้อน แก่นใช้ขับเสมหะ เป็นต้น ส่วนชาวเขาโดยเฉพาะกระเหรี่ยงและไทยใหญ่กินยอดอ่อนและดอกอ่อนเป็นผักสด หรือ ผักจิ้ม และนำเปลือกมาต้มน้ำอาบเพื่อแก้โรคผิวหนัง นอกจากนี้ ในต่างประเทศใช้ส่วนต่างๆของสะเดาเป็นยาฆ่าเชื้อ ยาขับพยาธิ ขับปัสสาวะ ถ่ายท้อง แก้โรคตับ และโรคผิวหนัง (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ (2543ก) รายงานว่า สะเดามีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส เชื้อรา ยีสต์ แบคทีเรีย มาเลเรีย พยาธิ ลดการอักเสบ ลดไข้ แก้ปวด ขับปัสสาวะ สมานแผล รักษาแผลในช่องปาก แผลในกระเพาะอาหาร ช่วยลดระดับน้ำตาลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด และเพิ่มภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยมีองค์ประกอบทางเคมีสำคัญหลายชนิด ได้แก่ astragalin, azadirachta, limocinin, เบตา-ซิโตสเตอรอล คูมาริน ฟลาโวโนน กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) รูทิน(rutin) คาทิชิน ((+)-catechin) ไลซีน (lysine) กรดเสตียริก (stearic acid) และวาลีน (valine) เป็นต้น

Sithisarn และ คณะ (2007) รายงานว่า สารสกัดน้ำจากใบสะเดาจากจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย ได้แก่ ราชบุรี ร้อยเอ็ด นครปฐม มหาสารคาม อ่างทอง จันทบุรี ลำปาง ลพบุรี ปราจีนบุรี นครศรีธรรมราช สงขลา และเพชรบูรณ์ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแบบการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยมีสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ เคอวซีติน (quercetin) เป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ

2.1.4 ผักปลัง (*Basella alba* L. วงศ์ BASELLACEAE)

ผักปลังที่พบโดยทั่วไป สามารถแบ่งตามลักษณะใบออกเป็น 3 แบบ คือ ใบเป็นรูปไข่เกือบกลม สีเขียวจัด ใบเป็นรูปหัวใจ สีเขียวจัด และ ใบเป็นรูปไข่เกือบกลม แต่มีลำต้นและใบเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีแดง สำหรับผักปลังที่มีใบเป็นสีเขียว มักเรียกว่า ผักปลังหรือผักปลังขาว ส่วนผักปลังที่มีลำต้นและใบเป็นสีแดง เรียกว่า ผักปลังแดง (*B. rubra* L.) โดยใช้ยอดและใบอ่อน กินเป็นผักสด หรือ ใช้ใบอ่อนและดอกใส่แกงต่างๆ รวมถึงใช้เป็นยากลางบ้านแก้ผื่นคัน กลากเกลื้อน ฝีอักเสบ โรคเรื้อน หรือใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ ส่วนชาวเขาทุกเผ่าใช้ใบ กินเป็นผักสด เผ่าม้งใช้ยอดต้มกินกับไก่เพื่อเป็นยาบำรุงกำลัง เผ่าอีก้อและไทยใหญ่ใช้ใบรักษาแผลสด หรือคั้นน้ำทาแก้ปวดเมื่อย ใช้ทั้งต้นต้มน้ำดื่มเป็นยาแก้ไอ และเป็นยาบำรุงกำลังสตรีหลังคลอดบุตร ในจีนใช้ใบเป็นยาระบายอ่อนๆ หรือคั้นน้ำทาแก้บวมอักเสบ ส่วนประเทศอื่นๆเช่น มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ประเทศในแถบเอเชียใต้ เป็นต้น จะใช้เป็นผักสด และปรุงอาหารต่างๆ (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

คุณค่าทางโภชนาการของยอดผักปลัง 100 กรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 6390 IU วิตามินซี 29-166 IU แคลเซียม 16-117 มิลลิกรัม และ เหล็ก 1.2-3.1 มิลลิกรัม (Siemonsma และ Piluek, 1994) นอกจากนี้ นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ (2542) รายงานว่า ผักปลังมีฤทธิ์กดระบบประสาทส่วนกลาง และยังพบองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ melatonin แคโรทีน เคอวซีติน และวิตามินเค

ด้านการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการต้านออกซิเดชัน Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า ผักปลังมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดย มีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.48 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 15.5 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 6.2 มิลลิกรัมสมมูลย์ของรูทินต่อกรัม (น้ำหนัก)

2.1.5 เสี้ยวดอกขาว (*Bauhinia bracteata* (Garham ex Benth.) Baker วงศ์ CAESALPINACEAE)

เปลือกลำต้นหรือเถาของเสี้ยวดอกขาว สามารถนำมาใช้ทาแก้ผื่นคัน หรือต้มน้ำดื่มบำรุงโลหิต ฟอกโลหิต แก้น้ำเหลืองเสีย แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ส่วนชาวไทยใหญ่ใช้ลำต้นหรือกิ่งแก่ตำใส่น้ำดื่มทำให้น้ำมีรสหวาน ชุ่มคอคล้ายมะขามป้อม (สุธรรม อารีกุล และ อำนวย อ่อนละมูล, 2521) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.6 หญ้าแหลมนกไส้ (*Bidens bipinnata* L. วงศ์ ASTERACEAE)

ยอดอ่อนของหญ้าแหลมนกไส้ นำมากินเป็นผักสด หรือผักจิ้ม และสามารถใช้ทั้งต้นตำพอกบาดแผลเพื่อแก้พิษสัตว์ต่อย งูกัด รักษาบาดแผล และต้มน้ำดื่มแก้ท้องร่วง (ก่องกานดา ชยามฤต, 2528) ส่วนชาวเขาเผ่าเย้าและเผ่าอื่นๆ กินใบอ่อนและยอดอ่อนเป็นผักจิ้มหรือปรุงใส่แกง นำทั้งต้นต้มน้ำใช้เป็นยาแก้ปวด หรือ ตำพอกบาดแผลเพื่อห้ามเลือด และดูดหนองในแผลเปื่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผลพุพอง หรือดูดน้ำเหลืองเสียจากฝี ในฟิลิปปินส์ใช้น้ำต้มใบขณะยังอุ่น หยอดแก้ตาเจ็บ หูเจ็บ และใช้เป็นยาห้ามเลือด (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

สารสกัดจากดอกและใบหญ้าแหลมนกไส้มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย โดยพบองค์ประกอบสำคัญเป็นสารในกลุ่มอะเซททิลีน (acetylenes) จำนวน 9 ชนิด ซึ่งสาร phenyl-hepta-1,3,5-trine มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย แบคทีเรีย และยีสต์ อีกทั้งยังเป็นพิษต่อหนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* (de Padua และ คณะ, 1999)

2.1.7 ปีนนกไส้ (*Bidens pilosa* Linn. วงศ์ ASTERACEAE)

ปีนนกไส้เป็นยากลางบ้าน โดยใช้รากต้มน้ำดื่มแก้หวัด และใช้ใบตำพอกบาดแผลเพื่อห้ามเลือด สมานแผล คั้นน้ำหยอดตาแก้ตาเจ็บ หรือใช้ทั้งต้นต้มน้ำดื่มแก้ไอ จุกเสียด ปวดท้อง ชาวเขาเผ่าเย้าใช้ยอดอ่อนและใบเป็นผักจิ้ม หรือ ปรุงใส่แกงกินเป็นยาแก้ปวดกล้ามเนื้อ ส่วนเผ่าม้ง กระเหรี่ยงและลีซอ ใช้ทั้งต้นตำพอกบาดแผลสดเพื่อห้ามเลือด หรือบริเวณที่มีการปวดกล้ามเนื้อ หรือ ต้มน้ำดื่มแก้ไข้หวัดและไข้อื่นๆ รวมทั้งอาการเจ็บปวดในร่างกาย ในต่างประเทศนิยมใช้ใบอ่อนหรือยอดอ่อนกินเป็นผักสด และใช้น้ำต้มหรือน้ำคั้นจากใบบรรเทาอาการปวด แก้ไข้ แก้ไอ แก้โรคเบาหวาน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

องค์ประกอบสำคัญที่พบในปีนนกไส้ ได้แก่ สารในกลุ่ม acetylenes ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย รวมถึงสารไฟโตสเตอรอล (phytosterol เช่น เบตา-ซิโตสเตอรอล) ไตรเทอร์ปีน (triterpene เช่น friedelin friedelan-3β-ol) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เป็นต้น ในส่วนใบพบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ออโรน (aurones) และชาลโคน (chalcones) ซึ่งมีฤทธิ์ระงับการอักเสบ จึงช่วยในการรักษาแผล ลดการอักเสบจากโรคต่างๆ และช่วยรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียในลำไส้ (de Padua และ คณะ, 1999) ส่วนองค์ประกอบอื่นๆที่พบในปีนนกไส้ ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก quercetin-3-*O*-rutinoside, 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, jacein (Chiang และ คณะ, 2004) นอกจากนี้ ยังพบ caryphyllene และ τ-cadinene ในน้ำมันหอมระเหยจากดอกและใบอีกด้วย (Deba และ คณะ, 2007)

Deba และ คณะ (2007) รายงานว่า สารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากดอกหรือใบของปีนนกไส้ มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี โดยสารสกัดน้ำจากดอกของปีนนกไส้มีฤทธิ์ทำลายอนุมูลได้ดีที่สุด รวมถึงสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันที่วิเคราะห์ด้วยวิธีฟอกสีของ β-carotene และยังมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.8 เมี่ยงป่า (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze var. *assamica* (J. Masters) Kitam. วงศ์ THEACAE)

ใบเมี่ยงป่าสดหรือแห้ง สามารถชงกับน้ำดื่มเป็นชาได้ หรือ นำใบสดไปนึ่ง ใช้เคี้ยวแก้กระหายน้ำ แก้ง่วงนอน ทำให้ชุ่มคอ กระตุ้นหัวใจ แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วงและขับปัสสาวะ นอกจากนี้ ใบสดยังช่วยสมานแผล ทั้งแผลสด แผลจากน้ำร้อนลวกหรือไฟไหม้ สำหรับชาวเขาพบการใช้ประโยชน์แบบเดียวกัน โดยใช้ใบตากแห้งชงดื่มเป็นชา หรือเอาใบไปนึ่งใช้เคี้ยวกินแทนหมาก และเพาะปลูกเพื่อขาย (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

ใบเมี่ยงที่นำมาเป็นชาเขียว พบสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มคาทิชินและอนุพันธ์หลายชนิด ประกอบด้วย อิพิแกลโลคาทิชินแกลเลท ((-)-Epigallocatechin 3-gallate) อิพิแกลโลคาทิชิน ((-)-Epigallocatechin) อิพิคาทิชินแกลเลท ((-)-Epicatechin 3-gallate) อิพิคาทิชิน ((-)-Epicatechin) และคาทิชิน ((+)-catechin) (Yamamoto และ คณะ, 1997) ชาเมี่ยงจึงมีสารต้านออกซิเดชันสูงกว่าชา (van der Vossen และ Wessel, 2000) อย่างไรก็ตาม รายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเมี่ยงป่านั้นมีอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับชา

2.1.9 ก่อข้าว (*Castanopsis inermis* (Lindl. ex Wall.) Benth & Hook. F. วงศ์ FAGACEAE)

ชาวเขาทุกเผ่าใช้ยอดอ่อนของก่อข้าวกินเป็นผักจิ้มหรือใส่แกงต่างๆ สามารถนำไปตากแห้งเพื่อใช้ชงดื่มแทนชา นำผลมากินเนื้อในดิบหรือคั่วกิน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.10 หญ้าข้าวใหม่ (*Conyza sumatrensis* (Retz.) Walker วงศ์ ASTERACEAE)

ชาวเขาแทบทุกเผ่า เช่น กระเหรี่ยง มูเซอ เย้า ปะหล่อง จีนฮ่อ ใช้ต้นอ่อน ใบอ่อนและยอดอ่อนกินเป็นอาหารประเภทผัก ไทยใหญ่ใช้ราก ต้นและใบต้มอาบ ทำยาแก้ขาง แก้ซางในเด็ก ม้งใช้ใบตำพอกแก้ผด ผื่น คัน และโรคผิวหนัง ใช้อมแก้ปวดฟัน โรคเหงือก และปากเปื่อย (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

องค์ประกอบที่พบในหญ้าข้าวใหม่ โดยเฉพาะ lachonophyllum lactone และ osthol มีคุณสมบัติไล่หอยทะเล (Lemmens และ Bunyapraphatsara, 2003) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* และจากรายงานของ Chai และ คณะ (2008) พบว่า ในหญ้าข้าวใหม่มีฟลาโวนอยด์หลายชนิดเป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ รูทิน เดอวซีติน ลูเทอีน (luteolin) quercetin-3-*O*-glycosides และ scutellrin เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.11 หญ้าดอกปลิว (*Crassocephalum crepidioides* (Benth) S. Moore วงศ์ COMPOSITAE)

ชาวเขาใช้ยอดอ่อนเป็นผักสด ผักจิ้ม หรือปรุงผสมกับผักอื่นในแกง แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

2.1.12 ติ้วเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume วงศ์ CLUSIACEAE)

โดยทั่วไป กินยอดและใบอ่อนของติ้วเกลี้ยงเป็นผัก นอกจากนี้ ยังใช้ใบบดผสมกับน้ำมะพร้าวแก้โรคผิวหนังได้อีกด้วย ส่วนชาวเขากินยอดอ่อนเป็นผักสด ผักจิ้ม หรือปรุงเป็นแกงต่างๆ เผ่ามูเซอใช้รากต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลัง แก้อ่อนเพลีย แก้ภาวะโลหิตจาง ซีดผอม (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

แซนโทน เป็นองค์ประกอบสำคัญที่มักพบในส่วนต่างๆ ของติ้วเกลี้ยง เช่น ในเปลือกพบแซนโทนและไตรเทอร์พีนอยด์ (Hao Dieu Nguyen และ Harrison, 1998) ส่วนรากประกอบด้วยแซนโทนและอนุพันธ์ คือ cochinchinones A-D (Mahabusarakam และ คณะ, 2006) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.13 ติ้วขาว (*Cratoxylum formosum* (Jack) Dyer วงศ์ CLUSIACEAE)

โดยทั่วไป กินยอดและใบอ่อนของติ้วขาวเป็นผัก ด้านการใช้เป็นยากลางบ้านพบว่ายางจากเปลือกใช้แก้โรคหิดตามง่ามนิ้วมือ ส่วนใบนำมาบดผสมกับน้ำมะพร้าวใช้แก้โรคผิวหนัง ชาวเขาทุกเผ่าใช้ใบอ่อนและยอดอ่อนที่มีรสเปรี้ยวกินเป็นผักสด ผักจิ้ม กระเหรี่ยงใช้ใบเคี้ยวกินแก้ท้องเสีย กระเหรี่ยง มูเซอและพม่าใช้ใบหรือทั้งต้น ตำพอกเป็นยาฆ่าเชื้อ ห้ามเลือดในแผลสด อมแก้ปวดฟัน เคี้ยวกินหรือต้มน้ำดื่มแก้ปวดภายในร่างกาย วิงเวียนศีรษะ เป็นลม หน้ามืด หรือเลือดคั่งภายในร่างกาย แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

พัลลภา รัตนวราภรณ์ และ สุรางค์ พรพงษ์ (2543) รายงานว่า องค์ประกอบสำคัญที่พบในใบได้แก่ แอนทราควิโนน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และ สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ 1,2-dihydroxyphenyl ต่อมา Boonnak และ คณะ (2006) ได้แยกแซนโทนและแอนทราควิโนน จำนวน 10 ชนิด จากรากและเปลือกของติ้วขาว คือ pruniflorone A-J ส่วน Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า ติ้วขาวมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี โดยมีค่า EC_{50} ต่ำที่สุดในกลุ่มผักและสมุนไพร เท่ากับ 0.23 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) อีกทั้งยังเป็นพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดในกลุ่มพืชพื้นบ้านที่ทดสอบอีกด้วย โดยมีค่าเท่ากับ 63.4 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และ 25.5 มิลลิกรัมสมมูลย์ของรูทินต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และจากรายงานของ Maisuthisakul และ คณะ (2007b) พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านออกซิเดชันสำคัญของติ้วขาว ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก กรดไดคาเฟโอลิลควินิก (dicaffeoylquinic acid) และ อนุพันธ์ของกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) อีก 2 ชนิด ซึ่งสารสกัดเอทานอลจากติ้วขาว มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และ $ABTS^{\cdot+}$ สูงกว่าสารมาตรฐาน α-tocopherol และ butylated hydroxytoluene (BHT)

2.1.14 เครือคำ (*Cuscuta australis* R. Br. วงศ์ CUSCUTACEAE)

ชาวเขาพวกพม่าใช้ทั้งต้นต้มน้ำดื่มแก้ปวดหลัง (Anderson, 1993) แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.15 ผักกาดนกเขา (*Emilia sonchifolia* (L.) DC วงศ์ ASTERACEAE)

โดยทั่วไป ใบและยอดอ่อนของผักกาดนกเขาใช้กินเป็นผักสด และยังสามารถใช้ทุกส่วนเป็นยากลางบ้านได้อีกด้วย โดยใช้รากผสมกับน้ำตาลเมาดื่มแก้ท้องเสีย ปวดหลัง ปวดเอว หรือคั้นน้ำจากใบหยอดหูหรือตา ใช้ทั้งต้นตำพอกบาดแผลสดหรือแผลเรื้อรัง ส่วนชาวเขาทุกเผ่าใช้ต้นอ่อนที่ยังไม่ออกดอกกินเป็นผักสด ใบแก่นำมาลวกกิน หรือปรุงใส่แกง ในประเทศตะวันออกเฉียงใต้จะกินเป็นผักเช่นเดียวกัน อีกทั้งยังใช้เป็นยากลางบ้าน แก้บวมและแผลเปื่อย คั้นน้ำหยอดแก้ปวดตา ปวดหู และต้มน้ำดื่มแก้ไอ แก้ไข้และแก้ท้องเดิน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

ผักกาดนกเขามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย และต้านไวรัสโรคเริม herpes simplex virus HSV II, ยับยั้งเอนไซม์กลูตาเมท-ไพรูเวท ทรานซามิเนส (glutamate-pyruvate transaminase) และลดการบีบตัวของลำไส้เล็ก ส่วนองค์ประกอบทางเคมีที่พบ ได้แก่ รูทิน เคอวซีติน เบตา-ซิโตสเตอรอล กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) doronine, hexacosan-1-ol, hyperoside, simiaral และ trifolin เป็นต้น (นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ, 2543ข)

2.1.16 เดื่อหว้า (*Ficus acuriculata* Lour. วงศ์ MORACEAE)

โดยทั่วไป นิยมกินผลสุกของเดื่อหว้า ส่วนชาวเขาเผ่ามูเซอใช้ยอดอ่อนกินเป็นผักสด และกินผลสุกเช่นเดียวกัน ในอินเดีย มาเลเซียและอินโดนีเซียใช้ผลสุกกินเป็นผลไม้สด นำมาทำเป็นน้ำผลไม้หรือแยม เวียดนามใช้ผลดิบกินกับสลัด ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.17 มันปลา (*Glochidion sphaerogymum* (Müll. Arg.) Kurz วงศ์ EUPHORBIACEAE)

ชาวเขาจะกินผลสุก นำยอดอ่อนมากินเป็นผักสดหรือใส่แกง ส่วนจีนฮ่อและม้งใช้เปลือกลำต้นต้มน้ำอมแก้ปวดฟัน ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

2.1.18 ไคร้น้ำ (*Homonoia riparia* Lour. วงศ์ EUPHOBIACEAE)

ไคร้น้ำ ใช้เป็นยากลางบ้าน แก้ปัสสาวะพิการ รักษามาเลเรีย และโรคผิวหนัง ส่วนชาวเขาเผ่ากระเหรี่ยง ไทยใหญ่ และพม่ากินใบและยอดอ่อนเป็นผักสด หรือใส่แกง น้ำคั้นจากใบใช้ทาแก้กลากเกลื้อนและโรคผิวหนัง ในฟิลิปปินส์กินใบเป็นผักเช่นเดียวกัน ลาวใช้น้ำต้มจากใบแก้ผื่นคันตามผิวหนัง ในกัมพูชาใช้กิ่งและใบเป็นยาระบาย และใช้น้ำคั้นจากเนื้อไม้แก้โรคมาเลเรียและโรคหิด (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

สารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์จากไคร้น้ำมีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบ ยางจากลำต้นมีสารพิษ crepitin ส่วนในเปลือกมีสารพิษไซยาไนด์ (cyanide) ส่วนต่างๆของไคร้น้ำมีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง โดยในเปลือกพบไซยาจินิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) นอกจากนี้ยังพบสารอื่นๆ ได้แก่ กรดแกลลิก quercetin-3-o-β-D-glucosyl (1-6) o-α-L- rhamnoside และ taraxerol (ลีนา ผู้พัฒนพงศ์, 2530)

2.1.19 บอนจีน (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau วงศ์ ALISMATACEAE)

โดยทั่วไป ใช้ยอดอ่อน ก้านดอกและช่อดอก กินเป็นผักสด ผักลวก หรือทำแกงส้ม ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่าจะใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่ในอินโดเซีย ชวาตะวันตก และมาเลเซีย กินใบอ่อนพร้อมก้านใบ และดอกอ่อนที่ยังไม่บานเป็นผักเช่นเดียวกัน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

Siemonsma และ Piluek (1994) รายงานว่า ในส่วนที่กินได้ของบอนจีน 100 กรัม มีวิตามินเอ 5,000 IU และวิตามินบี 10 IU แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.20 ผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr. วงศ์ SCROPHULARIACEAE)

โดยทั่วไป กินผักแขยงทั้งต้นเป็นผักสด หรือใส่แกงอ่อม แกงเลียง สามารถนำมาใช้เป็นยากลางบ้านโดยใช้น้ำคั้นจากต้นทาแก้คัน กลากเกลื้อน ฝี อาการบวม กินเป็นยาระบาย ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่าใช้ทั้งต้นกินเป็นผักสด ผักจิ้มหรือใส่แกงเป็นเครื่องเทศ อีก้อ มูเซอ ม้ง และลีซอคั้นน้ำจากใบทาบาดแผลหรือตำพอกบาดแผลเป็นยาห้ามเลือด ฆ่าเชื้อ และสมานแผล ทั้งต้นใช้ต้มน้ำดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นยาแก้ไข้ ในมาเลเซียและอินโดนีเซีย น้ำคั้นจากใบใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ ล้างบาดแผล และน้ำต้มจากต้นเป็นยาแก้ไข้ (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

น้ำมันหอมระเหยของผักแขยงจะมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* เทียบเท่าการใช้ streotomycin และ chloramphenicol และสามารถยับยั้งโรคพืช โดยมีองค์ประกอบสำคัญ คือ กรดคลอโรจีนิก กรดคาเฟอิก เทอร์ปีน (terpenes) ลิโมนีน (δ-limonene) δ–perilladehyde, nevadensin (van Valkenburg และ Bunyaprapatsara, 2001) ส่วน Bui และ คณะ (2004) รายงานว่า สามารถแยก 8-oxygenated flavonoids ได้จากส่วนเหนือดินของผักแขยงในประเทศเวียดนาม

Sribusarakum และ คณะ (2004) รายงานว่า สารสกัดเมทานอลและน้ำมันหอมระเหยจากผักแขยง มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน รวมถึงการทำลายอนุมูลไนตริกออกไซด์ (NO) โดยยูจีนอลและเทอร์พินีน (γ-terpinene) เป็นสารต้านออกซิเดชันสำคัญที่พบในผักแขยง

2.1.21 กะออม (*Limnophila geoffrayi* Bonati วงศ์ SCROPHULARIACEAE)

โดยทั่วไป กะออมทั้งต้นกินเป็นผักสด หรือ ใช้เป็นเครื่องแต่งรสในอาหารต่างๆ สามารถเป็นยากลางบ้านในการลดไข้ ขับเสมหะ ช่วยขับน้ำนม และใช้ถอนพิษ (Saralamp และ Chuakul, 2000)

น้ำมันหอมระเหยของกะออม มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ดี สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Aspergillus niger* เทียบเท่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย หรือไทมอล (thymol) หรือวัตถุกันเสีย Bronidox องค์ประกอบสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยอยู่ในกลุ่มของโมโน และเซควิเทอร์ปีน (mono-, sesquiterpenes) รวมถึง ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ได้แก่ ลิโมนีน δ-pulegone และ perillaldehyde เป็นต้น (Thongdon และ Inprakhon, 2009)

Suksamrarn และ คณะ (2003) รายงานว่า สารสกัดคลอโรฟอร์มจากส่วนเหนือดินของกะออมมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันและมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีเช่นกัน อีกทั้งยัง สามารถแยกฟลาโวน 2 ชนิด ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ nevadensin และ isothymusin

2.1.22 สะเรียมดง (*Melicope pteleifolia* (Champ.ex Benth.) Hartley วงศ์ RUTACEAE)

ชาวเขาแทบทุกเผ่าใช้ยอดอ่อนกินเป็นผักสด และปรุงกับผักอื่นๆ ในเวียดนามใช้รากต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงร่างกาย เจริญอาหารและแก้ประจำเดือนมาผิดปกติ น้ำคั้นจากใบเป็นยาฆ่าเชื้อบาดแผล แก้แผลเปื่อย ตุ่มพุพอง และแก้โรคหิด (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข) และองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสะเรียมดง ได้แก่ คูมาริน เทอร์ปีน ควิโนลีน (quinolene) chromenes, dichromene (Lemmens และ Bunyaprapatsara, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.23 มะระขี้นก (*Momordica charantia* L. วงศ์ CUCURBITACEAE)

โดยทั่วไป ใช้ยอดอ่อนและผลแก่ก่อนสุกกินเป็นผักสด และสามารถใช้เป็นยากลางบ้านในการดับพิษร้อน แก้บิด ริดสีดวงทวาร เป็นยาคุมธาตุและบำรุงธาตุ เป็นยาระบายอ่อนๆ แก้หอบหืด แก้ไข้ ส่วนชาวเขาโดยทั่วไปจะใช้ยอดอ่อนและผลแก่ก่อนสุกกินเป็นผักทั้งสด ลวกหรือปรุงใส่แกง มูเซอและม้งใช้ใบแก่กินสดหรือต้มกินเป็นยาขับพยาธิ ในหลายประเทศใช้ผลอ่อนกินเป็นผัก และใช้เป็นยาพื้นบ้านโดยใช้น้ำต้มจากราก ลำต้น ใบ และผลเป็นยาแก้ไข้หรือยาระบายอ่อนๆ น้ำคั้นใช้ทาแก้โรคผิวหนัง อินโดนีเซียใช้เป็นยาเจริญอาหาร ยาฟอกโลหิต ยาระบายอ่อนๆ แก้โรคตับและแก้น้ำดี ในอินเดียและปอร์โตริโกใช้แก้โรคเบาหวาน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข (2546) รายงานคุณค่าทางโภชนาการของมะระขี้นก ดังนี้ มีเหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชตระกูลแตงอื่นๆและยังพบว่า ยอดมะระขี้นกมีดัชนีแอนติออกซิแดนซ์เท่ากับ 6.28 สูงกว่าผล (1.72) ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า สารสกัดมะระขี้นกมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง ยับยั้งไวรัส และการก่อกลายพันธุ์ องค์ประกอบทางเคมีที่พบ ได้แก่ อะลานีน (alanine) อาร์จีนีน (arginine) แอสพาราจีน (asparagines) กรดแอสพาติก (aspartic acid) เบตา-ซิโตสเตอรอล rubixanthin, squalene และ V-insulin เป็นต้น (นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ, 2542)

Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า มะระขี้นกมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีโดย มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.59 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 50.9 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 21.6 มิลลิกรัมสมมูลย์ของรูทินต่อกรัม (น้ำหนัก) ในปีต่อมา Kobula และ Sirimornpun (2008) พบว่า สารสกัดน้ำจากส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ ลำต้น และผลของมะระขี้นก มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยสารสกัดน้ำจากใบมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด ส่วนสารสกัดจากผลดิบสามารถทำลายอนุมูลไฮดรอกซิล และฟอกสีของ β-carotene ได้ดี รวมถึงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด โดยสารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในมะระขี้นก ได้แก่ กรดแกลลิก กรดแทนนิก คาทิชิน กรดคาเฟอิก กรดเฟอรูลิก กรดเบนโซอิก และกรดคูมาริก

2.1.24 ผักฮ้านน้ำ (*Mosia dianthera* (Buch-Ham. ex Roxb.) Maxim. วงศ์ LABIATAE)

โดยทั่วไป ใช้ยอดอ่อนเป็นเครื่องเทศใส่ในแกงต่างๆ ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่าใช้ยอดอ่อนเป็นเครื่องเทศเช่นเดียวกัน ปะหล่องใช้ทั้งต้นต้มอาบให้เด็กที่หายไข้ใหม่ๆ เพื่อช่วยฟื้นไข้ ส่วนกะเหรี่ยง ใส่ใบตากแห้งลงในข้าวเปลือกเพื่อป้องกันเชื้อรา ในประเทศจีนใช้น้ำต้มจากทั้งต้นเป็นยาทาแก้โรคผิวหนังบางชนิด หรือ ดื่มเป็นยาแก้ลมและแก้ปวดศีรษะ แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.25 ส้มสุก (*Saraca indica* L. วงศ์ CAESALPINACEAE)

โดยทั่วไป ส้มสุก ถือว่าเป็นไม้พุทธบูชา แต่บางแห่งใช้ดอกตูมซึ่งมีรสเปรี้ยวทำแกงส้ม ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่า กินใบอ่อนและดอกอ่อนเป็นผัก ในประเทศแถบอินโดจีนและคาบสมุทรมาเลย์ กินยอดอ่อนและดอกอ่อนเป็นผักเช่นเดียวกัน (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ค)

สารสกัดจากเปลือกส้มสุกมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสเอดส์ หรือ HIV-1 (Sasef และ คณะ, 1998) แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.1.26 ทะโล้ (*Schima wallichii* (D.C.) Korth. วงศ์ THEACEAE)

ทะโล้ เป็นยากลางบ้าน โดยใช้ดอกแห้งชงน้ำแทนชาให้สตรีหรือสตรีหลังคลอดดื่มแก้โรคเกี่ยวกับมดลูก แก้โรคขัดเบา ใช้เปลือกตำพอกแผล นอกจากนี้ยังพบว่า เปลือกทะโล้ใช้เบื่อปลาและกำจัดเหา ส่วนชาวเขาเผ่าจีนฮ่อใช้ใบอ่อนตากแห้งชงแทนชา ช่วยทำให้ชุ่มคอ แก้กระหายน้ำ กะเหรี่ยงใช้ยอดอ่อนแช่น้ำดื่มแก้อาการปวดเมื่อย เนื่องจากอาการไข้ ใช้เปลือกลำต้นคั้นน้ำดื่มแก้ไอ แก้ไข้ ปะหล่องใช้ยอดอ่อนคลุกเกลือกินเป็นยาแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ส่วนม้งและเย้าใช้ใบอมหรือเคี้ยวกินเป็นยาแก้ปวดฟัน แก้แผลในปาก เหงือกเป็นหนอง ต้มน้ำดื่มแก้อาการปวดภายในร่างกาย แก้ท้องร่วง ท้องเดิน และม้ามโต ในหลายประเทศใช้ดอกเป็นยากลางบ้านแก้ปัสสาวะผิดปกติ ปัสสาวะติดขัด และมดลูกอักเสบ (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ค)

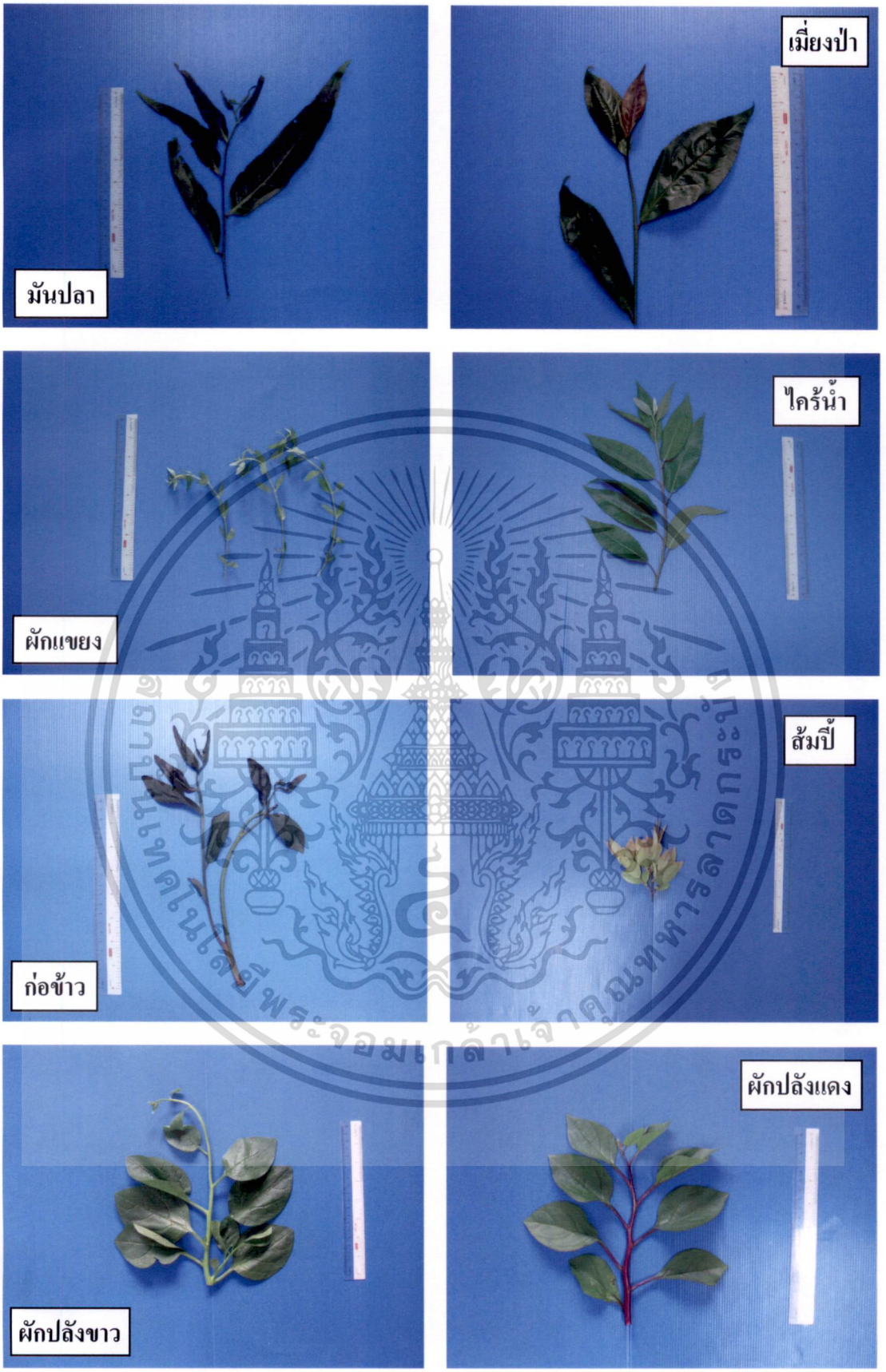
สารสกัดหยาบจากใบและผลของทะโล้ ประกอบด้วย ซาโปนินที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Epidermophyton floccosum, Crosporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophytes* (พรพิพัฒน์ ณ พัทลุง และ คณะ, 2529) ส่วนดอกทะโล้มีรายงานว่าพบแทนนิน คือ คือ schimawalin A และ B (Yoshida และ คณะ, 1991) แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.1.27 ขี้เหล็ก (*Senna siamea* (Lam.) Irwin & Barneby วงศ์ LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)

โดยทั่วไป ดอกอ่อนและใบอ่อนใช้ปรุงอาหาร และใช้เป็นยากลางบ้าน แก้ไข้ แก้เหน็บชา แก้โรคเกี่ยวกับธาตุ แก้กระษัย ขับโลหิตเสีย เป็นต้น ส่วนชาวเขาโดยทั่วไปใช้ดอกอ่อนต้มให้สุกกินเป็นผักจิ้ม หรือปรุงใส่แกง ในประเทศแถบอินโดจีนกินใบอ่อนและผลอ่อนเป็นผัก สามารถใช้เป็นยาระบาย ขับพยาธิลำไส้ กัมพูชาใช้น้ำต้มจากแก่นแก้โรคหิด พม่าใช้ดอกเป็นยาบำรุงร่างกายและเป็นยาระบาย (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ค)

แอนทราควิโนน ที่พบในขี้เหล็กมีฤทธิ์เป็นยาระบาย และสามารถนำมาใช้แก้โรคผิวหนังและโรคขี้กลาก ส่วนองค์ประกอบเคมีสำคัญอื่นๆ ได้แก่ เบตา-อะไมริน อะพิจีนิน ไดแอนโทรน (dianthrone) cassiachrome, cerotic acid, chrysophanic acid, siaminine A, B และ C เป็นต้น (นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างพืชป่าบางชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านออกซิเดชันที่พบในใบขี้เหล็กหลายชนิด ได้แก่ เบตา-แคโรทีน แซนโทฟิลล์ วิตามินซี วิตามินอี แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก แต่จัดเป็นพืชที่มีดัชนีแอนติออกซิแดนซ์ต่ำ คือ 2.63 (นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข, 2546)

2.1.28 หนามเป้า (*Smilax ovalifolia* Roxb. *syn. Smilax macrophylla* Roxb. วงศ์ SMILACACEAE)

หนามเป้าเป็นยากลางบ้าน ใช้เป็นยาดับพิษ แก้เส้นเอ็นพิการ ฟอกเลือด และแก้กามโรค ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่า กินใบอ่อน ยอดอ่อนเป็นผักสด ผักจิ้มหรือปรุงใส่แกง ม้ง กระเหรี่ยง มูเซอ ลีซอและเย้า ใช้เหง้า ใบ หรือทั้งต้นตำเป็นยาพอก หรือ คั้นน้ำทาแก้ผื่นคัน ตุ่มพุพอง โรคผิวหนัง ใช้ต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลังแก้ปวดภายในร่างกาย อาหารไม่ย่อย ใช้เป็นยาขับนิ่ว ขับปัสสาวะ แก้ตกเลือด และแก้กามโรค (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ค)

นันทวัน บุณยะประภัศร และ คณะ (2541) รายงานว่า สารสกัดจากเหง้ามีฤทธิ์ในการลดปริมาณกรดยูริคในเลือด เพิ่มการขับกรดยูริคทางปัสสาวะ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการขับปัสสาวะ และยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.1.29 ส้มปี้ (*Vaccinium sprengelii* (D.Don) Sleum วงศ์ ERICACEAE)

ชาวเขาเผ่าไทยใหญ่ เย้า ปะหล่อง มูเซอ กระเหรี่ยงและจีนย่อกินใบอ่อนและยอดอ่อนเป็นอาหารประเภทผัก ทั้งกินสด เป็นผักจิ้ม เครื่องเคียงหรือใส่แกง อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ค)

2.2 ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

2.2.1 ความหมาย

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) หมายถึง สารที่มีสมบัติในการยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอื่น (Mosby's Medical Dictionary, 2009) โดยสารต้านออกซิเดชันที่ดีนั้น ต้องสามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี แม้ใช้ในปริมาณน้อยหรือที่ความเข้มข้นต่ำก็ตาม (Halliwell และ Gutteridge, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 กลไกการต้านออกซิเดชัน

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้น จะเกี่ยวข้องโดยตรงกับอนุมูลอิสระ และสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาทั้งกลุ่มที่มีออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive nitrogen species, RNS) โดยก่อให้เกิดภาวะที่เซลล์หรือร่างกายถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) ทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุล และเป็นสาเหตุของโรคร้ายแรงต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ โรคเกี่ยวกับระบบประสาท และโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เป็นต้น (Conerlli, 2009) โดยทั่วไปแล้ว สารต้านออกซิเดชันจะให้อิเลคตรอน (e^-) หรือไฮโดรเจนอะตอม ($H^{\cdot}$) แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้นเพื่อทำลายอนุมูลอิสระ หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชัน (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ แคโรทีนอยด์ วิตามินซี วิตามินอี สารประกอบฟีนอลิกต่างๆ ทั้งในกลุ่มของโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ในปัจจุบัน สมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก จึงทำให้เกิดการศึกษาสารต้านออกซิเดชันชนิดใหม่ รวมถึงกลไกการต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มนี้อย่างกว้างขวาง โดยกลไกการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกนั้น มีกลไกสำคัญ 3 ประการ ดังนี้ (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545; โอภา วัชระคุปต์, 2549)

1) เป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอม ($H^{\cdot}$) แก่อนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลลิพิดอัลคอกซิล (lipid alkoxyl) และเปอร์ออกซิล (peroxyl) เป็นต้น จึงหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไขมัน ดังปฏิกิริยาที่ (1) และ (2) นอกจากนี้อนุมูลของสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดขึ้น สามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นๆได้อีกด้วย จึงช่วยลดจำนวนอนุมูลอิสระลงถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาที่ (3) และ (4) (Bravo, 1998)

$$ROO^{\cdot} + PPH \rightarrow ROOH + PP^{\cdot} \quad (1)$$

$$RO^{\cdot} + PPH \rightarrow ROH + PP^{\cdot} \quad (2)$$

$$ROO^{\cdot} + PP^{\cdot} \rightarrow ROOPP \quad (3)$$

$$RO^{\cdot} + PP^{\cdot} \rightarrow ROPP \quad (4)$$

2) เป็นสารคีเลทโลหะ โดยสามารถจับกับไอออนของโลหะ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเร่งการเกิดอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาลูกโซ่ เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น

3) สามารถรีดิวซ์อนุมูล α-tocopheroxyl ให้กลับเป็น α-tocopherol ที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้อีกครั้ง

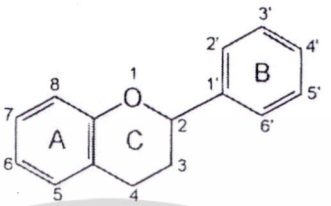
อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลที่พบในโครงสร้าง รวมทั้ง การมีหมู่แทนที่ต่างๆ เช่น หมู่เมทอกซี ($-OCH_3$) การจับกับน้ำตาล เป็นต้น ซึ่งมีรายงานการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ที่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อย่างยิ่ง ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิก (Shahidi และ Naczk, 1995; Rice-Evans และคณะ, 1996; Heim และ คณะ, 2002; Cai และ คณะ, 2006)

ฟลาโวนอยด์ มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบฟีนิลเบนโซไพโรน (2-phenylbenzopyrone) (C_6-C_3-C_6) ประกอบด้วยวงแหวน 2 วง เชื่อมกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา: Pietta (2000)

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลบนโครงสร้างหลัก โดยพบว่า โครงสร้างที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันแบ่งออกเป็น 3 แบบ (Cai และ คณะ, 2006) ได้แก่

1) โครงสร้างแบบ *othro*-diphenolic หรือ catechol (ตำแหน่ง 3' และ 4' ที่วง B)

โครงสร้างแบบ *othro*-diphenolic หรือ catechol เป็นโครงสร้างที่มีบทบาทมากที่สุดในการต้านออกซิเดชัน ทั้งการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระและการคีเลทโลหะ โดยพบว่า การลดจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลบนวง B จะทำให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลง

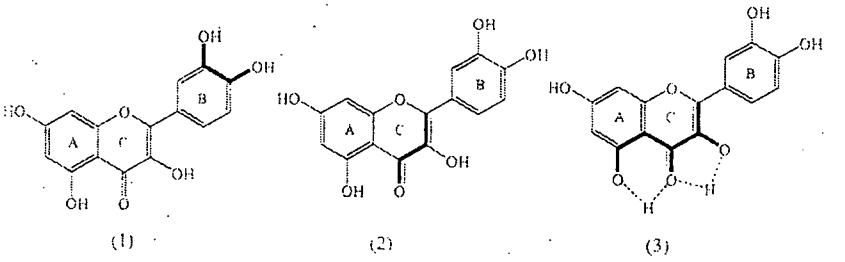
2) พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกท (conjugate) กับ 4-oxo

มีพันธะคู่ในวง C ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกท (conjugate) กับ 4-oxo จะช่วยเพิ่มความเสถียรแก่อนุมูลฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิล (flavonoid phenoxyl) ภายหลังให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ เนื่องจากอิเลคตรอนสามารถเคลื่อนย้ายได้ทั่วทั้งโครงสร้าง

3) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C_3 และ C_5 ในวง C

สารในกลุ่มฟลาโวนอลและฟลาวานอล จะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C_3 ทำให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าฟลาโวนและฟลาโวโนน เนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล โครงสร้างจึงมีลักษณะแบนราบในระนาบเดียวกัน ส่งผลให้การเคลื่อนย้ายของอิเลคตรอนผ่านพันธะคู่ (π-bond) เกิดได้ดีขึ้น จึงช่วยเพิ่มความเสถียรให้แก่อนุมูลของฟลาโวนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
131063

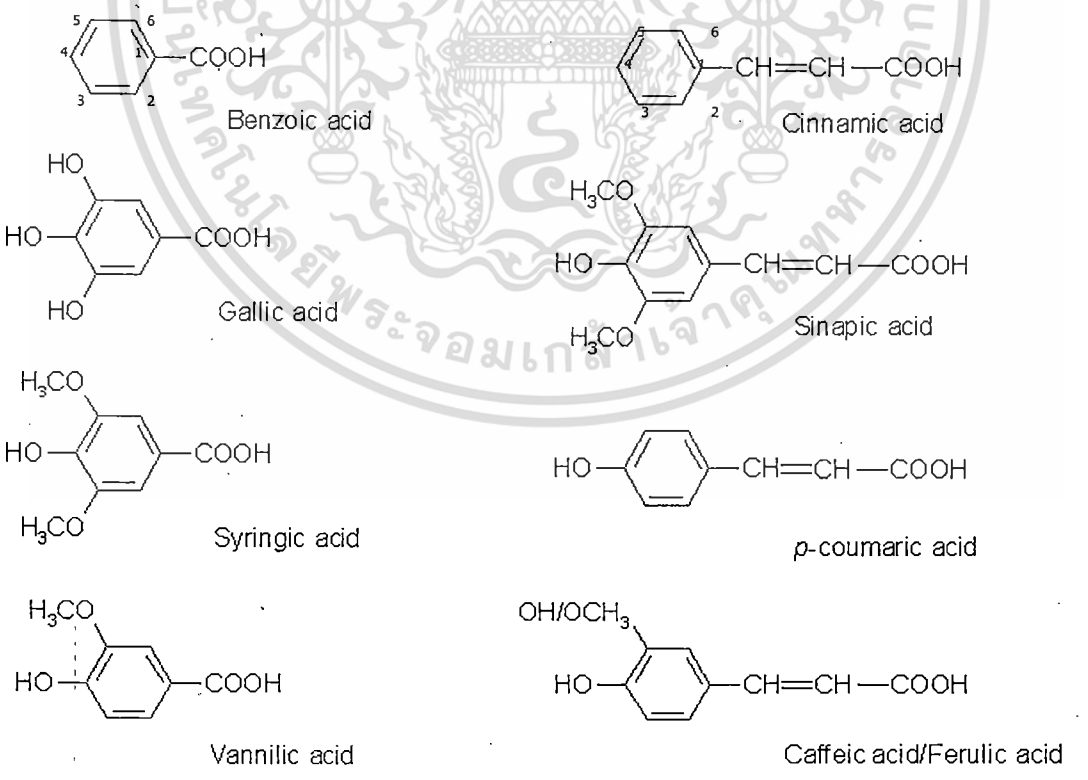


ภาพที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์

(1) โครงสร้างแบบ *othro*-diphenolic หรือ catechol, (2) พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกท (conjugate) กับหมู่ 4-oxo, (3) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C_3 และ C_5

ที่มา: โอภา วัชระคุปต์ (2549)

ส่วนความสามารถในการต้านออกซิเดชันของกรดฟีนอลิก ไม่เพียงแต่จะขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลที่พบในโครงสร้างแล้ว ยังขึ้นอยู่กับ โครงสร้างหลักของกรดฟีนอลิกอีกด้วย โดยพบว่า โครงสร้างแบบกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า โครงสร้างแบบไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) เนื่องจาก การแทรกหมู่เอททิลีน (-CH=CH-) ระหว่างวงฟีนิลกับหมู่คาร์บอกซิลิก ช่วยเพิ่มความเสถียรให้แก่อนุมูลของฟลาโวนอยด์ เนื่องจากอิเลคตรอนสามารถเคลื่อนที่แบบเรโซแนนซ์ได้ (โอภา วัชระคุปต์, 2549) โดยกรดฟีนอลิกชนิดต่างๆสามารถแสดงได้ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 กรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักแบบไฮดรอกซีเบนโซอิก และแบบไฮดรอกซีซินนามิก

ที่มา : ดัดแปลงจาก Marshall และ คณะ (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกลุ่มของกรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักแบบไฮดรอกซีเบนโซอิก พบว่า การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลทำให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้น โดยกรดแกลลิก ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ (3,4,5-OH) มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด นอกจากนี้ การมีหมู่เมทอกซีในโครงสร้าง ยังช่วยเพิ่มความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมและการทำลายอนุมูลอิสระ (Cai และ คณะ, 2006)

ส่วนกรดฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักแบบไฮดรอกซีซินนามิกนั้น พบว่า กรดฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียว และการมีหมู่เมทอกซีในโครงสร้างจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านออกซิชันให้สูงขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามพบว่า การมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง *para-* (4-OH) จะมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าตำแหน่งอื่นๆ โดยพบว่า กรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric acid) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า *m-* (2-OH) หรือ *o*-coumaric acid (3-OH) เนื่องจาก สามารถให้ไฮโดรเจนได้ดีกว่าตำแหน่งอื่นๆ นอกจากนี้ ยังพบว่า การมีหมู่แทนที่ที่มีคุณสมบัติเป็นหมู่ให้อิเลคตรอน เช่น หมู่อัลคิล หรือ เมทอกซี ที่ตำแหน่ง *othro-* (3-OH) ช่วยเพิ่มความคงตัวของอนุมูล aryloxyl ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของไขมันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

2.2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

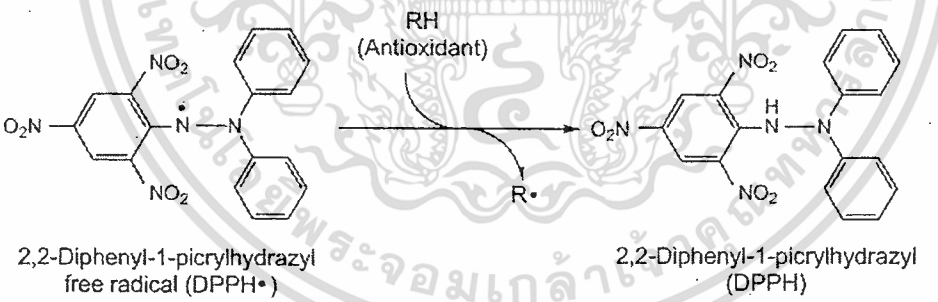
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งการวัดปริมาณอนุมูลอิสระและสารที่มีความไวสูง เช่น H_2O_2, O_3, $ONOO^-$ โดยตรงด้วยเทคนิคอีพีอาร์สเปคโตรสโคปี (electron paramagnetic resonance spectroscopy, EPR) การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายตามธรรมชาติ การวัดปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระ การวัดผลผลิตที่เกิดจากการที่สารชีวโมเลกุลสำคัญในร่างกายถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระ หรือการวัดความสามารถโดยรวมในการต้านออกซิเดชัน (โอภา วัชระคุปต์, 2549) ถึงแม้ว่า การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันจะทำได้หลายแบบ แต่ยังไม่มีวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่เหมาะสม หรือ เป็นวิธีมาตรฐานในการบ่งชี้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่างๆ จึงจำเป็นต้องใช้วิธีวิเคราะห์หลายๆ วิธีร่วมกัน (Huang และ คณะ, 2005)

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารจากธรรมชาติแบบ *In vitro* นั้นเป็นการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยรวม โดยสามารถทำการวิเคราะห์ได้หลายวิธี และวิธีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีรายละเอียดดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH· (DPPH free radical scavenging assay)

วิธี DPPH เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารจากธรรมชาติ (Moon และ Shibamoto, 2009) อนุมูล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH·) มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมีสีม่วง และคงตัวดี ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้เป็นการบ่งชี้ถึงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ โดยวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูล DPPH· ผ่านการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน (electron transfer) ร่วมกับการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen atom transfer) โดยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนจากสารต้านออกซิเดชันให้แก่อนุมูล DPPH· ทำให้สูญเสียสมบัติการเป็นอนุมูลอิสระ (ภาพที่ 2.5) สารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงของอนุมูล DPPH· เป็นไม่มีสีของสารประกอบ DPPH ซึ่งการลดลงของสีม่วงหรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ภายหลังการทำปฏิกิริยา 30 นาที จะบ่งบอกความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันต่างๆได้ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันอาจแสดงในรูปของค่า EC_{50} (effective concentration) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณตัวอย่าง (มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)) ที่ใช้ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH· ให้ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ วิธีนี้เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง สะดวก และรวดเร็ว สามารถทดสอบได้ทั้งสารต้านออกซิเดชันที่ละลายน้ำและละลายในไขมัน (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008)



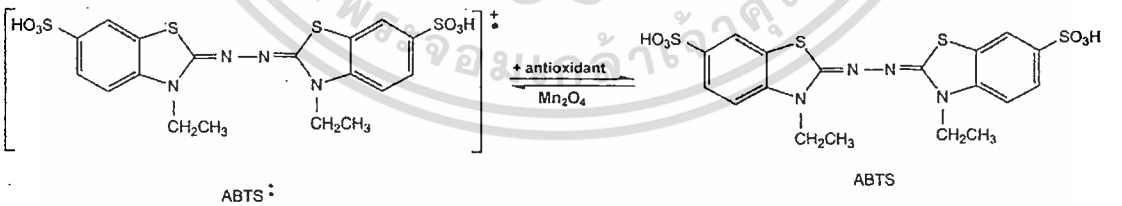
ภาพที่ 2.5 การทำลายอนุมูล DPPH· ด้วยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนจากสารต้านออกซิเดชัน
ที่มา : Moon และ Shibamoto (2009)

วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ อนุมูล DPPH· เป็นอนุมูลที่สังเคราะห์ขึ้น จึงไม่สามารถบอกถึงความไวของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูลที่พบในเซลล์หรือร่างกายตามธรรมชาติได้ ส่วนสารต้านออกซิเดชันที่สามารถทำลายอนุมูลเปอร์ออกซิลได้ดี จะทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH· ได้ช้ากว่าที่ควรจะเป็น ส่งผลให้ค่าที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง นอกจากนี้ อาจเกิดการรบกวนการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยสารประกอบหลายชนิดสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน เช่น แคโรทีนอยด์ เป็นต้น (Prior และ คณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.2 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

วิธี TEAC หรือ วิธี ABTS เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารจากธรรมชาติ เพื่อบ่งชี้ถึงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง ในเริ่มแรกนั้น การวิเคราะห์ด้วยวิธี TEAC อาศัยปฏิกิริยาระหว่างเมทไมโอโกลบิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในการออกซิไดซ์ 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ให้เป็นอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ (Miller และคณะ, 1993) ต่อมามีการปรับปรุงวิธีนี้โดยใช้สารเคมีในการออกซิไดซ์อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ เช่น แมงกานีสไดออกไซด์ (Mn_2O_4) และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) เป็นต้น จึงทำให้มีความสะดวก รวดเร็วในการเตรียมสารละลายมากขึ้น และสามารถวัดการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้โดยตรง (Prior และ คณะ, 2005) สารต้านออกซิเดชันจะทำลายอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ผ่านกลไกการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน (ภาพที่ 2.6) ส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวของอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ เป็นไม่มีสีของสารประกอบ ABTS จึงสามารถวัดการลดลงของสีเขียว หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรภายหลังการทำปฏิกิริยา 6 นาที ซึ่งความสามารถในการต้านออกซิเดชันแสดงในรูป Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว สามารถทนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ในช่วงกว้าง อีกทั้งอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทดสอบสารต้านออกซิเดชันได้ทั้งกลุ่มที่ละลายน้ำและกลุ่มที่ละลายไขมัน แต่โดยทั่วไปจะใช้น้ำในการเตรียมสารละลาย จึงนิยมนำมาใช้ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มที่ละลายในน้ำมากกว่า (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008)



ภาพที่ 2.6 การทำลายอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ของสารต้านออกซิเดชัน
ที่มา : ดัดแปลงจาก Huang และ คณะ (2005)

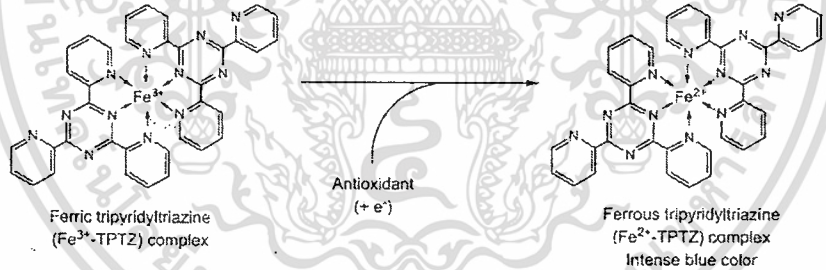
วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ เกิดจากการสังเคราะห์ขึ้นเช่นเดียวกับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ จึงไม่พบตามธรรมชาติ ทำให้ไม่สามารถบอกถึงความไวของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูลที่พบในเซลล์หรือร่างกายได้ และยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดจะเข้าทำปฏิกิริยาได้ช้า ซึ่งการอ่านค่า TEAC ที่เวลา 6 นาที อาจก่อนถึงจุดยุติของปฏิกิริยา ส่งผลให้มีความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการต้านออกซิเดชันต่ำกว่าความเป็นจริง นอกจากนี้ สารที่มีค่าความต่างศักย์ต่ำกว่า 0.68 โวลต์ สามารถรีดิวซ์อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ ได้เช่นเดียวกับสารต้านออกซิเดชัน (Prior และ คณะ, 2005)

2.2.3.3 ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด ferric reducing antioxidant capacity (FRAP) assay

วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรง และไม่มีอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องในปฏิกิริยา แต่จะแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์โลหะของสารต้านออกซิเดชัน (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008) การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเกิดจากการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน (electron transfer) จากสารต้านออกซิเดชันในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+}-TPTZ (สีเหลืองส้ม) เป็น Fe^{2+}-TPTZ (สีน้ำเงิน) ในสภาวะที่เป็นกรด ดังภาพที่ 2.7 ซึ่งการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินนี้ สามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 593 นาโนเมตร ภายหลังการทำปฏิกิริยา 8 นาที ความสามารถในการต้านออกซิเดชันอาจเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox สารต้านออกซิเดชันอื่นๆ หรือสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต วิธีนี้จึงจัดว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ใช้เวลาในการทดสอบน้อย และนิยมนำมาใช้ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มที่ละลายในน้ำเช่นเดียวกับวิธี TEAC (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008)



ภาพที่ 2.7 การรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+}- TPTZ ของสารต้านออกซิเดชัน
ที่มา : Moon และ Shibamoto (2009)

วิธีนี้มีข้อจำกัด เนื่องจาก เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ ซึ่งอาจไม่สัมพันธ์กับกลไกที่พบในร่างกาย รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการทดสอบนั้น มีความแตกต่างจากสภาวะในร่างกายอีกด้วย นอกจากนี้ยังไม่สามารถใช้วิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่อาศัยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม เช่น กลูตาไทโอน (glutathione) เป็นต้น และยังพบว่า สารที่มีค่าความต่างศักย์ต่ำกว่า 0.77 โวลต์สามารถรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ ได้เช่นเดียวกับสารต้านออกซิเดชัน อีกทั้งสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น กรดคาเฟอิก กรดแทนนิก และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดเฟอรูลิก เป็นต้น จะเข้าทำปฏิกิริยาได้ช้า ส่งผลให้ค่าที่วิเคราะห์ได้จึงมีค่าต่ำกว่าเป็นจริง (Prior และ คณะ, 2005)

2.2.3.4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Reagent

วิธีนี้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนต์ Folin Ciocalteau (phosphomolybdic–phosphotungstic acid) กับไทโรซีน ซึ่งมีหมู่ฟีนอลในโครงสร้าง (Folin และ Ciocalteau, 1927) ในเวลาต่อมา Singleton และ คณะ (1999) ได้ประยุกต์วิธีนี้ในการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ จากนั้นได้ใช้หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารจากธรรมชาติรวมถึงพืชชนิดต่างๆ อย่างแพร่หลาย (Prior และ คณะ, 2005; Tabart และ คณะ, 2009) เนื่องจาก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง มักมีความสัมพันธ์ที่ดีกับความสามารถในการต้านออกซิเดชัน อีกทั้ง สารประกอบฟีนอลิก ก็เป็นสารประกอบสำคัญที่พบได้ในทุกส่วนของพืช โดยวิธีนี้เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันโดยตรง เช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์อื่นๆ ทั้งวิธี DPPH วิธี TEAC และ วิธี FRAP เป็นต้น การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดนั้น อาศัยการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากหมู่ฟีนอลิก (phenolic group) เพื่อรีดิวซ์โมลิบเดต (molydates) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของรีเอเจนต์ Folin Ciocalteau ในสภาวะที่เป็นเบส ดังปฏิกิริยา (Prior และ คณะ, 2005)

$$Mo(VI) + e^- \longrightarrow Mo(V)$$

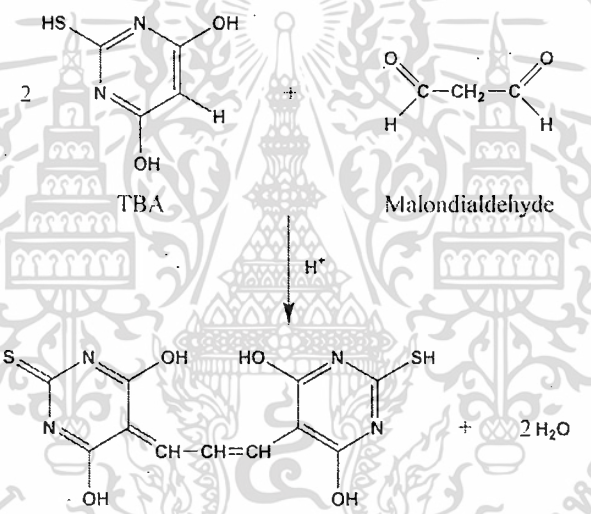
ปฏิกิริยาการรีดิวซ์โมลิบเดต ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่สามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และนำไปคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก หรือ สารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ แต่มีข้อจำกัด คือ สารกลุ่มอื่นๆที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก สามารถรีดิวซ์รีเอเจนต์ Folin Ciocalteau ได้ ทั้งในกลุ่มของน้ำตาล กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ หรือโลหะทรานซิชันที่ไวต่อการทำปฏิกิริยา ยกตัวอย่างเช่น อะดีนีน (adenine) อะลานีน (alanine) อะนีลีน (aniline) กรดอะมิโน กรดเบนโซอิก อีดีทีเอ ฟรุคโตส กรดยูริก ไฮดราซีน โพแทสเซียมไนไตรท์ เป็นต้น นอกจากนี้ ยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดจะมีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ Folin Ciocalteau ได้แตกต่างกัน (Huang และ คณะ, 2005)

2.2.3.5 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS)

วิธีนี้นิยมใช้ในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน ทั้งในสารต้านออกซิเดชันจากพืชต่างๆ รวมไปถึงองค์ประกอบของพืช (Moon และ Shibamoto, 2009) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondiadehyde, MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตในขั้นสุดท้ายของการเกิดออกซิเดชันของไขมันกับกรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbutyric acid, TBA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีชมพู เรียกว่า Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS) ที่สามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร การต้านออกซิเดชันของไขมันเป็นผลจากกลไกหลายกลไกร่วมกัน เช่น การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านออกซิเดชันไปยังอนุมูลเปอร์ออกซิล หรือ อัลคอกซิล เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไขมัน จากนั้นปฏิกิริยาระหว่าง MDA ที่เกิดขึ้นกับ TBA จะใช้ทดสอบปริมาณการออกซิเดชันของไขมัน (ภาพที่ 2.8) ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน อาจแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (% antioxidant activity, AOA) หรือ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% inhibition) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น BHT วิตามินเอ หรือ วิตามินซี เป็นต้น วิธีนี้นิยมใช้วัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจาก ไขมันเป็นชีวโมเลกุลที่มีโครงสร้างทางเคมีที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (โอภา วัชระคุปต์, 2549)



ภาพที่ 2.8 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) และกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA)
ที่มา : Antolovich และ คณะ (2001)

วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ เป็นวิธีที่ไม่เฉพาะเจาะจงกับผลผลิตทั้งหมดที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน อีกทั้ง กรดไทโอบาร์บิทูริกยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เช่น น้ำตาล เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีได้เช่นเดียวกัน (Antolovich และ คณะ, 2001) จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้มีเจาะจงมากยิ่งขึ้น โดยวิเคราะห์ร่วมกับการวัดแสงฟลูออเรสเซนส์ หรือ เครื่อง LC-MS

ตัวอย่างวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้วิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันจากพืชชนิดต่างๆ และองค์ประกอบสำคัญที่พบ สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชชนิดต่างๆ

พืชที่ทดสอบ	จำนวนตัวอย่าง	วิธีทดสอบ	สารประกอบที่พบ
พืชสมุนไพรของอินเดีย	133	ABTS, DPPH, FRAP	กรดฟีนอลิก แทนนิน ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ลิกนิน เคอร์คูมินอยด์
พืชสมุนไพร	70	FRAP, DPPH, ABTS	สารประกอบฟีนอลิก
ผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้	11	DPPH, TBA	สารประกอบโพลีฟีนอล
ผัก	43	β-carotene/linoleic aicd	สารประกอบโพลีฟีนอล
ข้าวฟ่างสายพันธุ์ต่างๆ	50	ABTS	โปรแอนโทไซยานิดิน ฟลาโวนอล ดีออกซีแอนโทไซยานิดิน
พืชสมุนไพรของจีน	112	ABTS	สารประกอบฟีนอลิก
พืชจากประเทศโบลีเวีย	54	DPPH	สารประกอบฟีนอลิก
พืชสมุนไพรของจีน	68	FRAP, DPPH	สารประกอบฟีนอลิก
ผักสลัดของเกาหลี	13	DPPH	สารประกอบฟีนอลิก
พืชสมุนไพร	45	FRAP	สารประกอบฟีนอลิก
พืชจากประเทศอาร์เจนตินา	41	FRAP	สารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: ดัดแปลงจาก Moon และ Shibamoto (2009)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชต่างๆ (ตารางที่ 2.1) พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน มีความเกี่ยวข้องกับสารประกอบฟีนอลิกที่พบ และวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างวิเคราะห์ต่างๆ เพื่อช่วยให้เข้าใจกลไกการต้านออกซิเดชัน ตลอดจน คุณสมบัติบางประการของสารต้านออกซิเดชันที่พบในตัวอย่าง

2.2.3.6 ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ต่างๆ

Huang และ คณะ (2005) รายงานว่า วิธีวิเคราะห์ที่ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนในการต้านออกซิเดชัน มีความสัมพันธ์กันอย่างมากในเชิงเส้นตรง โดยพบความสัมพันธ์ในระดับสูงระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP, TEAC หรือ DPPH และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.99 เนื่องจาก กลไกที่ใช้ในการทดสอบเกี่ยวข้องกับความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันเหมือนกัน สอดคล้องกับรายงานของ Pérez-Jiménez และ คณะ (2008) ที่พบว่า การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างด้วยวิธีที่ใช้กลไกแบบเดียวกัน จะให้แนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน นอกเหนือจาก ความแตกต่างของกลไกการต้านออกซิเดชันของวิธีวิเคราะห์แต่ละวิธีแล้ว ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์นั้นยังแตกต่างกันออกไปตามตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ โดย Wong และ คณะ (2006) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดน้ำจากพืชอาหาร 25 ชนิดในประเทศสิงค์โปร์ ด้วยวิธี DPPH, FRAP และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าวิธี DPPH และวิธี FRAP มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง (มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9495) แต่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีความสัมพันธ์กับวิธีวิเคราะห์ทั้งสองในระดับปานกลาง และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.5480-0.5656 แสดงว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชอาหารทั้ง 25 ชนิดนี้ มีบทบาทในการต้านออกซิเดชันร่วมกับสารประกอบอื่นๆที่พบในพืช

ส่วน Surveswaran และ คณะ (2007) พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC, DPPH และ FRAP ของพืชสมุนไพรในประเทศอินเดียจำนวน 133 ชนิด มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง (มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วง 0.8810-0.9866) และวิธี TEAC มีความสัมพันธ์กับวิธี DPPH มากที่สุด แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีนี้ มีความเหมาะสมในการใช้วิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพรทั้ง 133 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีความสัมพันธ์กับวิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธี ในระดับสูงเช่นกัน (มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วง 0.8941-0.9690) ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกจึงเป็นกลุ่มสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพรทั้ง 133 ชนิด ในขณะที่ Yawadio Nsimba และ คณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดผักโขมและข้าวคีนัวด้วยวิธี DPPH, FRAP และ β-carotene พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของเมล็ดผักโขมและข้าวคีนัว มีแนวโน้มที่แตกต่างกันไปในวิธีวิเคราะห์แต่ละวิธี อีกทั้งยังพบความสัมพันธ์ในระดับต่ำระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับวิธี DPPH (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.4526) ส่วนวิธีอื่นๆมีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง (มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วง 0.6951-0.6993) แสดงว่า สารต้านออกซิเดชันสำคัญของเมล็ดผักโขมและข้าวคีนัวเป็นสารกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน จึงต้องเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีกลไกแตกต่างกันอย่างน้อย 2 วิธี โดยนิยมใช้วิธีที่มีการทำลายอนุมูลอิสระ หรือ ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน เช่น TEAC, FRAP หรือ DPPH ร่วมกับวิธีที่ใช้วิเคราะห์การต้านออกซิเดชันของไขมัน เช่น TBARS หรือวิธีฟอกสีของ β -carotene เป็นต้น (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008; Moon และ Shibamoto, 2009)

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

2.3.1 สายพันธุ์ของพืช

ในปัจจุบัน พบรายงานการศึกษาวิจัยถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ตลอดจน ความสัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆ ของพืชหลากหลายสายพันธุ์ทั่วโลกอย่างกว้างขวาง ทั้งในกลุ่มของพืชสมุนไพร พืชอาหาร เครื่องเทศ หรือ ผลไม้ โดยพบว่า พืชแต่ละสายพันธุ์จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันออกไป เช่น Mantle และ คณะ (2000) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพรพื้นเมืองในประเทศอังกฤษ จำนวน 41 ชนิด ด้วยวิธี ABTS และ Superoxide dismutase (SOD) พบว่า สารสกัดเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของ

เอกสารนี้ถือเป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การนำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cranesbill (*Geranium pratensis*) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมา คือ herb bennet (*Geum urbanum*), heartsease (*Viola tricolor*) และ sorrell (*Rumex acetosa*) ตามลำดับ

Zheng และ Wang (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพร 39 ชนิด ที่ใช้เป็นยารักษาโรคและประกอบอาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า สมุนไพรที่ใช้ในการประกอบอาหารมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC สูงกว่าสมุนไพรที่ใช้เป็นยารักษาโรค โดย mexican oregano (*Poliomintha longiflora*) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก แสดงว่า สมุนไพรเหล่านั้นเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูง และการบริโภคสมุนไพรอย่างเหมาะสมจะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ ต่อมา Wojdyło และ คณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและสารประกอบฟีนอลิกของพืชสมุนไพร 32 ชนิดในประเทศโปแลนด์ พบว่า สารสกัด *Echinacea purpurea* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ส่วนสารสกัดของ *Epilobium hirsutum* สามารถทำลายอนุมูลอิสระ ABTS และ DPPH ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับวิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีในเชิงบวก ชี้ให้เห็นว่าพืชสมุนไพรของโปแลนด์เป็นแหล่งสำคัญของสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดรวมทั้งฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ดี และเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

สำหรับในประเทศแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น อินเดีย จีน เป็นต้น ก็พบงานวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เป็นจำนวนมากเช่นกัน โดยในประเทศญี่ปุ่น Katsube และคณะ (2004) ได้ประเมินความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชอาหารจำนวน 52 ชนิด พบว่า akamegashiwa (*Mallotus japonicus*), japanese privet (*Ligustrum japonicum*) ชาเขียว และผล astringent persimmon มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มของพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงมีความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีในเชิงบวก โดยปริมาณฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับวิธี DPPH สูงที่สุด แสดงว่า ปริมาณฟีนอลิกสามารถใช้ทำนายความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในพืชทั้ง 52 ชนิดนี้ได้ ส่วนในประเทศอินเดีย ก็นำพืชสมุนไพรพื้นบ้านมาศึกษาเช่นกัน โดย Surveswaran และ คณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชสมุนไพรพื้นเมืองจำนวน 133 ชนิด พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช แต่พืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงในวิธีใดวิธีหนึ่งมีแนวโน้มที่จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีอื่นๆ สูงเช่นเดียวกัน อีกทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบนั้น มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก แสดงว่า สารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบที่สามารถต้านออกซิเดชันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Li และ คณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน และปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดของพืชสมุนไพรจีน 45 ชนิด พบว่า *Sargentodoxa cuneata Rehd.* Et Wils, *Fraxinus rhynchophylla* Hance, *Paeonia lactiflora* Pall, *Paeonia suffruticosa* Andr และ *Scutellaria baicalensis* Ceorgi เป็นพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง สามารถใช้เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่า การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS มีความสัมพันธ์กับวิธี FRAP ในเชิงบวก แสดงให้เห็นว่า สารต้านออกซิเดชันที่พบในพืชสมุนไพรเหล่านี้ มีทั้งความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและการรีดิวซ์ ส่วนสารประกอบฟีนอลิกที่พบก็มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชัน เนื่องจาก มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก ในปีเดียวกัน Liu และ คณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชสมุนไพรจีน จำนวน 68 ชนิด โดยพบพืชจำนวน 6 ชนิด คือ chinese white olive, เปลือก pricklyash, ผล villous amomun กานพลู โป๊ยกั๊ก และ ดอกลีลาวดี ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูง อีกทั้งยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชกลุ่มนี้ได้

ในประเทศไทยนั้น Maisuthisakul และ คณะ (2007a) ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในพืชพื้นบ้านของไทย 26 ชนิด โดยแบ่งพืชที่ทำการวิเคราะห์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ผลไม้ ผักและสมุนไพร หมากและเครื่องเคียง พบว่า เมล็ดของมะเม่า (*Antidesma velutinum* Tulas.) มะเกี๋ยง (*Cleistocalyx operculatus var. paniala* (Roxb.)) และชมพู่น้ำ (*Eugenia siamensis* Craib.) กับพืชในกลุ่มหมากและเครื่องเคียง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง และสามารถทำลายอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ดี ส่วนผักและสมุนไพรชนิดต่างๆ กลับมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในพืช มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.83 และ 0.79 ตามลำดับ

2.3.2 ส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์

โดยทั่วไป ส่วนต่างๆ ของพืชมีลักษณะที่แตกต่างกัน ทั้งด้านโครงสร้าง และสารประกอบที่พบ รวมถึง หน้าที่ในกระบวนการต่างๆ เช่น การสังเคราะห์แสง การลำเลียงน้ำ เป็นต้น จึงทำให้เซลล์พืชสร้างสารประกอบต่างๆ ที่แตกต่างกันออกไป (Oksman-Caldentey และ Inzé, 2004) จากลักษณะดังกล่าวย่อมส่งผลให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของส่วนต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์แตกต่างกันตามไปด้วย โดย Llobera และ Cañellas (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้านออกซิเดชันของลำต้นและกากองุ่นแดงพันธุ์ Manto Negro (*Vitis vinifera*) พบว่า ส่วนลำต้นมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าส่วนของกากองุ่น และมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระสูงกว่าฝรั่ง แอปเปิ้ล และแอปพริคอตอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า กากองุ่นและลำต้นมีปริมาณเส้นใยอาหารสูงถึง 74.5 และ 77.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จึงสามารถนำมาใช้เป็น ใยอาหารประเภท antioxidant dietary fiber ได้

Silva และ คณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชพื้นเมือง 15 สายพันธุ์ที่พบในแถบลุ่มน้ำอะเมซอน พบว่า สารสกัดจากใบของ *Byrsonima crassifolia* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ORAC และ ABTS สูงที่สุด โดยสารสกัดจากใบมีแนวโน้มว่า มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าส่วนอื่นๆ อย่างไรก็ตาม พบว่าใบและเปลือกของ *Byrsonima crassifolia*, *Inga edulis*, *Davilla kunthii* และ *Cecropia palmata* มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ดีเช่นกัน ต่อมา Barreira และ คณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากส่วนต่างๆได้แก่ ส่วนดอก ใบ เปลือก และผลของเกาลัด (chestnut) พบว่า ส่วนดอกและใบของเกาลัดมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี และส่วนใบยังมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด ส่วนเปลือกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด อีกทั้งยังมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี β-carotene และ TBARS รวมถึงฤทธิ์ป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดงได้ดีที่สุด ในขณะที่ส่วนผลเกาลัดพบความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่ำที่สุดในทุกวิธี นอกจากนี้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์มีส่วนเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เช่นเดียวกับรายงานของ Kobula และ Sirimornpun (2008) พบว่าส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ ลำต้น และผลของ มะระขี้นกมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยส่วนใบมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด ส่วนผลดิบของมะระขี้นกสามารถทำลายอนุมูล ไฮดรอกซิล และฟอกสีของ β-carotene ได้ดี รวมถึงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด

Froehlicher และ คณะ (2009) ได้ศึกษาชนิดสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันจากส่วนต่างๆ ได้แก่ ผลสด (ส่วนสีแดงและส่วนสีเหลือง) ผลแห้ง ดอกตูม และช่อดอกของ hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) พบว่า ความสามารถ ในการต้านออกซิเดชันในแต่ละส่วนของ hawthorn มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณโปรแอนโทไซยานิดิน และปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบ โดยผลสดส่วนสีแดงมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และโปรแอนโทไซยานิดินสูง ส่วนดอกตูม และช่อดอก พบว่ามีความสามารถในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โปรแอนโทไซยานิดินและฟลาโวนอยด์สูง ในขณะที่ส่วนผลทั้งสดและแห้งพบว่า มีความสามารถในการต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเดชันต่ำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โปรแอนโทไซยานิดินและฟลาโวนอยด์ต่ำ และผลสดส่วนสีเหลืองจะมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันต่ำที่สุด

2.3.3 การทำแห้ง

นอกเหนือจาก ความแตกต่างด้านสายพันธุ์และส่วนต่างๆของพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมถึง สภาพการเพาะปลูกแล้ว ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างต่างๆ ทั้งการทำแห้ง การลดขนาดพืช การเลือกใช้ตัวทำละลาย และวิธีการสกัด ล้วนแต่เป็นขั้นตอนที่ก่อให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชได้อีกด้วย

กระบวนการทำแห้ง เป็นกระบวนการแปรรูปที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาของพืชสมุนไพรต่างๆ เพื่อลดการเสื่อมเสียในพืชสด รวมถึงการลดปริมาตรและน้ำหนักของพืชเพื่อให้สะดวกต่อการขนส่งและเก็บรักษา แต่กระบวนการทำแห้ง ก็เป็นกระบวนการหนึ่งที่ทำให้เกิดการสลายตัว ตลอดจน เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีของสารสำคัญที่พบในพืชได้เช่นกัน (Capecka และ คณะ, 2005) โดยทั่วไป อุณหภูมิในการทำแห้งอยู่ระหว่าง 50 - 60 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และนิยมใช้ระยะเวลาในการทำแห้งให้น้อยที่สุด เพื่อรักษาคุณภาพขององค์ประกอบต่างๆในพืชไว้ให้ได้มากที่สุด การทำแห้งมีผลโดยตรงต่อลักษณะทางกายภาพของพืช ทำให้โครงสร้างของเซลล์พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงไป โดยเซลล์พืชจะหดตัวลง มีลักษณะแข็งและเปราะ เมื่อบดเป็นผงแล้วจะมีขนาดสม่ำเสมอ ทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปสกัดสารภายในผงพืชได้ดี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีสกัดและตัวทำละลายที่ใช้ (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008) อย่างไรก็ตาม พบว่า การทำแห้งเป็นสาเหตุของการลดลงขององค์ประกอบต่างๆ รวมถึงก่อให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการต้านออกซิเดชันในพืชหลายชนิด โดย Capecka และ คณะ (2005) รายงานว่า เปเปอร์มินต์ เลมอนบาล์ม และออริกาโน ที่ผ่านการทำแห้งในอากาศที่อุณหภูมิระหว่าง 25 - 32 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 10 วัน มีปริมาณกรดเอสคอร์บิค และแคโรทีนอยด์ลดลง อีกทั้งยังมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ส่วน Garau และ คณะ (2007) ได้ศึกษาการทำแห้งส้มด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 30 - 90 องศาเซลเซียส พบว่า การทำแห้งส้มที่อุณหภูมิสูงถึง 80 และ 90 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิต่ำ 30 และ 40 องศาเซลเซียส แต่ใช้ระยะเวลาในการทำแห้งนาน ส่งผลให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลง ส่วนการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสนั้น มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับส้มสด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Katsube และ คณะ (2009) ที่รายงานว่า เมื่อทำแห้งใบหม่อนด้วยอุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบ รวมถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) ถึงแม้ว่า การทำแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียสก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อองค์ประกอบ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชน้อยกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิอื่นๆ แต่ก็พบรายงานการลดลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต้านออกซิเดชันของพืชที่ผ่านการทำแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เช่น สมุนไพรลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) (Lim และ Murtijaya, 2007) หรือ ใบของพืชตระกูลขิง 4 ชนิด ได้แก่ ข่าด่าง (*Alpinia zerumbet*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) *Etlingera elatior* และ *Kaempferia galangal* อีกด้วย (Chan และ คณะ, 2009) โดยมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของสารพฤกษเคมี อันเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ในช่วงเริ่มต้นของการทำแห้ง หรือ เกิดจากความร้อนที่ได้รับในระหว่างการทำแห้ง (Lim และ Murtijaya, 2007)

นอกจากนี้ ยังพบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบบางชนิด รวมถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชันภายหลังการทำแห้งในพืชบางชนิดอีกด้วย โดย Al-Farsi และ คณะ (2005) รายงานว่า การทำแห้งอินทผลัมด้วยแสงแดด ทำให้มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกรดฟีนอลิกเพิ่มขึ้น รวมถึง มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจาก เมื่อได้รับความร้อนในระหว่างการทำแห้ง ทำให้เกิดการสลายตัวของแทนนิน และการสลายพันธะระหว่างกรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric acid) กับลิกนิน หรือ พันธะระหว่างกรดเฟอรูลิก กับอะราบิโนสไซแลน เกิดเป็นกรดฟีนอลิกอิสระ (free phenolic acid) หลายชนิด รวมไปถึงการสลายตัวของกรดฟีนอลิกที่อยู่ในโครงสร้าง (bound phenolic acid) ส่วน Wojdyło และ คณะ (2009) รายงานว่า สตอเบอร์รี่มีปริมาณโปรแอนโทไซยานิดิน และคาทิชินเพิ่มขึ้นภายหลังการทำแห้ง เนื่องจากการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกจากเมทริกซ์ในระหว่างการทำแห้ง ส่งผลให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

การเพิ่มขึ้นของความสามารถในการต้านออกซิเดชันภายหลังการทำแห้ง ไม่เพียงแต่เป็นผลจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นจากการสลายตัวขององค์ประกอบในผนังเซลล์ เช่น แทนนิน ลิกนิน เป็นต้น ยังเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด ให้ทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้น รวมไปถึง การเกิดสารประกอบชนิดใหม่ ที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากกว่าสารพฤกษเคมีที่มีอยู่เดิม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารตัวกลางจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Millard reaction products) ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีในการต้านออกซิเดชันด้วยการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ (Manzocco และ คณะ, 2001)

2.3.4 การลดขนาดพืช

การลดขนาดพืชก่อนการสกัด เป็นกระบวนการสำคัญที่ส่งผลให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้นในระหว่างการลดขนาดพืช และการสัมผัสกับอากาศ ทำให้เกิดการสลายตัวและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของผงพืช ซึ่งเป็นสาเหตุให้สูญเสียความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ อย่างไรก็ตาม การลดขนาดพืชเป็นการทำลายผนังเซลล์ของพืช จึงมีส่วนสำคัญในการปลดปล่อยสารต้านออกซิเดชัน ที่อยู่ในเมทริกซ์ของ เซลล์พืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมทั้งยังช่วยลดระยะทางในการออกมาสู่พื้นที่ผิวสัมผัส ทำให้ตัวทำละลายสามารถละลายองค์ประกอบต่างๆได้ง่ายขึ้น (Pérez-Jiménez และ คณะ, 2008)

สำหรับพืชสดนิยมลดขนาดด้วยการหั่นหรือปั่นรวมกับตัวทำละลาย ส่วนพืชแห้งจะถูกบดแล้วร่อนผ่านตระแกรงเพื่อให้มีขนาดสม่ำเสมอ โดยในระหว่างการลดขนาดพืชจะต้องระวังความร้อนที่เกิดขึ้น เพื่อป้องกันการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของสารต้านออกซิเดชัน

2.3.5 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดพืชนั้นมีหลายชนิด เช่น น้ำ เอทานอล เมทานอล หรือ สารละลายผสมของน้ำกับเอทานอล รวมถึง ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอะซีเทต เป็นต้น โดยความสามารถในการละลายของสารสำคัญแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไปตามความมีขั้วของตัวทำละลาย ในเบื้องต้น มักใช้สารละลายเอทานอลหรือเมทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆในการสกัด เนื่องจาก สามารถละลายได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว จึงสกัดสารสำคัญในพืชได้หลายกลุ่ม (Pietta และ คณะ, 1998) โดย Suzuki และ คณะ (2002) รายงานว่าการใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ 40 - 80 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพ ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกดีกว่าการใช้น้ำ เอทานอล หรือ เมทานอลเพียงอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mukhopadhyay และ คณะ (2006) ที่พบว่า การใช้น้ำในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้สูงขึ้น

ตัวทำละลายมีผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชชนิดต่างๆ โดย Kaur และ Kapoor (2002) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของผักในภูมิภาคอาเซียนจำนวน 36 ชนิด พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี β-carotene ของสารสกัดเอาทานอล 80 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงกว่าสารสกัดน้ำ โดยสามารถแบ่งผักที่วิเคราะห์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ผักที่สามารถต้านออกซิเดชันได้สูง กลาง และต่ำ ซึ่งสารสกัดจากขมิ้น (tumeric) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ส่วนสารสกัดจากใบมินต์ (*Mentha spicata*) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด กลุ่มของผักที่สามารถต้านออกซิเดชันได้ดี ได้แก่ ขมิ้น แครอทม่วง ใบมินต์ ลูกซัด (fenugreek) anola และ kachnar เป็นต้น ต่อมา Cai และ คณะ (2004) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชสมุนไพรจีน 112 ชนิดที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง โดยเปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยน้ำและเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดเมทานอลมีแนวโน้มที่จะมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าสารสกัดน้ำ และยังพบว่า สารประกอบ ฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในเชิงบวก แสดงว่า สารประกอบ ฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพรเหล่านี้

จากรายงานของ Pilarski และ คณะ (2006) พบว่า สารสกัดเอทานอลของ *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดน้ำ ส่วน Tabart และคณะ (2007) พบว่า การผสมเอทานอล 38.4 เปอร์เซ็นต์ลงในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4 ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบ black currant ให้สูงขึ้น คล้ายคลึงกับรายงานของ Chan และ คณะ (2009) ที่พบว่า สารสกัดเมทานอลและสารสกัดเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ จากใบขมิ้นชัน (*C. longa*) และใบ *E. elatior* ก็มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า สารสกัดเอทิลอะซีเตตและสารสกัดไดคลอโรมีเทน

อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า สารสกัดน้ำของพืชบางชนิดมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดี โดย Ferreira และ คณะ (2006) พบว่า สารสกัดน้ำจากพืชสมุนไพรพื้นเมืองของโปรตุเกส 10 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase และมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ β-carotene สูงกว่าสารสกัดเอทานอล และน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ ยังพบว่าสารสกัดน้ำของ *Hypericum undulatum* ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยังยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ได้สูงถึง 82 เปอร์เซ็นต์ แต่สารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ได้จาก *Sanguisorba minor* มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ส่วน Tahawa และ คณะ (2007) พบว่า สารสกัดน้ำจากพืชอาหาร 51 ชนิดของประเทศจอร์แดนมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS และ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้ *Arbutus andrachne*, *Hypericum triquertrifolium* และ *Rosmarinus officinalis* เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันได้ สอดคล้องกับที่พบในสมุนไพร *Aspalathus linearis* ที่ใช้ทำชาสมุนไพร rooibos (Joubert และ คณะ, 2004) และสมุนไพรลูกใต้ใบ (Lim และ Murtijaya, 2007) ที่มีรายงานว่า สารสกัดน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดเอทานอล

2.3.6 วิธีการสกัด

การสกัดสารจากพืชสามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด การทนต่อความร้อนของสาร ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยวิธีที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ การต้ม (decoction) การย่อย (digestion) หรือ การแช่ (infusion) ซึ่งมีความสะดวก รวดเร็ว แต่สารสกัดที่ได้จะเน่าเสียได้ง่าย อีกทั้งการสกัดแบบนี้มักใช้ความร้อนร่วมด้วย จึงเหมาะสำหรับสารต้านออกซิเดชันที่ทนต่อความร้อน หรือ เป็นสารที่ละลายออกมาได้ดีที่อุณหภูมิสูง เช่น สารประกอบฟีนอลิกในชาอู่หลง (Su และ คณะ, 2007) เป็นต้น

มาเซอเรชัน (marceration) เป็นการหมักพืชกับตัวทำละลายในภาชนะปิด เป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับความนิยม เนื่องจาก ใช้ตัวทำละลายน้อย และไม่ใช้ความร้อนจึงเหมาะต่อการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่วิธีการสกัดนี้มักจะไม่สมบรูณ์ เนื่องจาก เมื่อสารในพืชละลายออกมาจนถึงระดับหนึ่ง จะเกิดสมดุลระหว่างองค์ประกอบภายในพืช กับตัวทำละลายที่ใช้สกัด ทำให้อัตราเร็วในการสกัดลดลง (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพอร์โคเลชัน (percolation) เป็นการสกัดโดยปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงพืชอย่างช้าๆ ด้วยเครื่องมือเพอร์โคเลเตอร์ (percolator) ในระหว่างการเคลื่อนที่ ตัวทำละลายจะละลายองค์ประกอบจากพืชออกมา จึงสกัดสารได้อย่างสมบรูณ์ และไม่มีการใช้ความร้อน แต่มีข้อเสีย คือ ใช้เวลาในการสกัดนาน และสิ้นเปลืองตัวทำละลาย (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) ใช้หลักการในการสกัดเช่นเดียวกับเพอร์โคเลชัน แต่มีการใช้ความร้อนร่วมด้วย โดยใช้ซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด บรรจุด้วยตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนตัวทำละลายจะระเหยแล้วกลั่นตัวลงในทิมเบอร์ (thimble) ที่มีผงพืชบรรจุอยู่ วิธีนี้ใช้ตัวทำละลายน้อย ไม่สิ้นเปลือง แต่เหมาะสำหรับการสกัดสารที่ทนต่อความร้อน (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

วิธีการสกัดและขั้นตอนต่างๆในการสกัด ย่อมส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดย Vogel และ คณะ (2005) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันและองค์ประกอบเคมีของ Haplopappus 4 ชนิด ที่สกัดด้วยวิธีต่างกัน 3 วิธี คือ การแช่ (infusion) การสกัดด้วยเมทานอล และแยกจากเรซิน ไปทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สารสกัดเมทานอลของ *Haplopappus multifolius* จะมีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน และทำลายอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ

ส่วน บดินทร์ เตชะรัตนไกร และ คณะ (2550) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด คือ หญ้าคา (*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.) หญ้าลิ้นงู (*Hedyotis corymbosa* Lamk.) หญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) และหญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon aristatus* Miq.) โดยใช้วิธีแช่ (infusion) ที่อุณหภูมิ 70 - 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 - 60 นาที พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดสูงขึ้น ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณกรดแอสคอร์บิคของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดลดลง ซึ่งตรงข้ามกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดจากหญ้าหนวดแมว มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด แต่สารสกัดจากหญ้าลิ้นงูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด

Tabart และ คณะ (2007) ได้ทำการวิเคราะห์หาขั้นตอนสกัดที่เหมาะสมต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านออกซิเดชันจากใบและยอดอ่อนของ black currant พบว่า การสกัดใบของ black currant ด้วยอะซีโตน 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณ เอทานอลของในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ใช้สกัดใบ black currant พบว่า การสกัดด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 3 มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ส่วนการเติมเอทานอล 38.4 เปอร์เซ็นต์ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4 ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้ดีขึ้น

2.3.7 สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่พบในพืชชนิดต่างๆ ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก โดย Zheng และ Wang (2001) รายงานว่า mexican oregano (*Poliomintha longiflora*) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีองค์ประกอบสำคัญ คือ กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก ลูเทอีน อะพิจีนีน crisimaritin และ rutoside เป็นต้น ต่อมาในปี 2004 Cai และ คณะ รายงานว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพืชสมุนไพรจีนขึ้นอยู่กับกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบ ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมาริน ลิกนิน ควิโนน สทีลบีน และเคอร์คูมินอยด์ โดยพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดสามอันดับแรก ได้แก่ *Rhus chinensis* Mill. มีแกลโลแทนนิน และกรดแกลลิกเป็นองค์ประกอบส่วน *Acacia catechu* (L.) Willd. มีแทนนิน คาทิชิน และ อิพิคาทิชินเป็นองค์ประกอบ และ *Punica granatum* L. มีเอลลาจิแทนนิน (ellagitannins) เคอวซีติน กรดแกลลิก และกรดคลอโรจีนิกเป็นองค์ประกอบ

ต่อมา Surveswaran และ คณะ (2007) ได้รายงานว่า พบกลุ่มของสารประกอบ ฟีนอลิกในพืชสมุนไพรในอินเดีย ประกอบด้วย แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เคอร์คูมินอยด์ คูมาริน ลิกนิน และควินีน คล้ายคลึงกับรายงานของ Cai และ คณะ (2004) โดยพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ได้แก่ *Terminalia chebula* Retz. มีเอลลาจิแทนนิน แกลโลแทนนิน กรดเอลลาจิก กรดเชบูริก (chebulic acid) และ กรดแกลลิก ส่วน Wojdyło และ คณะ (2007) พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชสมุนไพรจากโปแลนด์ ขึ้นอยู่กับปริมาณกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบ โดยพืชสมุนไพรที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง ได้แก่ *Epilobium hirsutum* มีองค์ประกอบของกรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดคูมาริก และ เคอวซีติน ส่วน *Syzygium aromaticum* ประกอบด้วย เคอวซีติน และ *Echinacea purpurea* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด โดยพบกรดคาเฟอิก กรดคูมาริก กรดเฟอรูลิก เคอวซีติน และกรดนีโอคลอโรจีนิก (neochlorogenic acid) เป็นองค์ประกอบสำคัญ ต่อมา Kobula และ Sirimornpun (2008) พบว่าส่วนต่างๆของมะระขี้นก ได้แก่ ใบ ลำต้น ผลดิบและผลสุก มีปริมาณกรดแกลลิก กรดแทนนิก คาทิชิน กรดคาเฟอิก กรดคูมาลิก กรดเฟอรูลิก และกรดเบนโซอิกแตกต่างกัน ส่งผลให้ส่วนต่างๆของมะระขี้นก มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันออกไป

นอกจากเหนือจากกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังพบรายงานความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มอื่นๆ โดย Choi และ คณะ (2000) รายงานว่า เจอรานิออล เทอร์พีนีน (γ-terpinene) และ terpinolene ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี ส่วน Chanwitheesuk และ คณะ (2005) พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบเคมีหลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินอี แคโรทีนอยด์ แซนโทฟิลล์ แทนนินมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชพื้นบ้านของไทยทั้ง 43 ชนิด แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบเหล่านี้ ล้วนมีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชัน

ในปีเดียวกัน Keawpradub และ คณะ (2005) พบว่า palmatine, jatrorrhizine และ berberine ซึ่งเป็นแอลคาลอยด์ในกลุ่มไอโซควิโนลีน (isoquinoline) ในขมิ้นเครือ 3 ชนิด (*Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeanum* และ *Fibraurea tinctoria*) มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันและแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7 ต่อมา Thaipong และ คณะ (2006) พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของฝรั่ง 4 ชนิดมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดแอสคอร์บิคและสารประกอบฟีนอลิกในเชิงบวก หรือ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.61-0.92 และระหว่าง 0.81-0.97 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า กรดแอสคอร์บิคและสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันของฝรั่ง ส่วน Wu และ คณะ (2007) รายงานว่า คูมาริน 4 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบของ *Cortex Fraxini* ได้แก่ esculin, esculetin, fraxin และ fraxetin มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันดีกว่าหรือใกล้เคียงกับคาทิชิน เคอวซีติน กรดแอสคอร์บิค Trolox และ BHT เช่นเดียวกับรายงาน Dini และ คณะ (2009) ที่พบว่า ซาโปนินที่แยกได้จากมันฝรั่งหวาน (*Ipomoea batatas*) มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับกรดแอสคอร์บิค

ดังนั้น ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชต่างๆ จะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์และชนิดของพืช ส่วนที่นำมาทำการวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณขององค์ประกอบต่างๆที่พบในพืชแต่ละชนิด รวมไปถึง ภูมิประเทศ สภาพการเพาะปลูก อายุเก็บเกี่ยว ตลอดจน การทำแห้ง การเตรียมตัวอย่าง และวิธีการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทดลองจำนวน 30 ชนิด จาก 20 วงศ์ สามารถแบ่งตามส่วนของพืชออกเป็นส่วนดอก 5 ตัวอย่าง ส่วนใบ 15 ตัวอย่าง และส่วนลำต้น/ใบ 10 ตัวอย่าง โดยได้รับจากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 22 ชนิด และจังหวัดสกลนคร จำนวน 8 ชนิด รายชื่อพืชทั้งหมดเรียงลำดับตามชื่อวิทยาศาสตร์ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพืช

ลำดับ	ชื่อ	ส่วนที่ใช้	ชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มา
1	ผักเผ็ด	ใบ	*Acmella oleraceae* (L.) R.K. Jansen	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
2	ผักเหี่ย	ลำต้น/ใบ	*Artemisia vulgaris* L.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
3	สะเดา	ดอก	*Azadirachta indica* A. Juss. Var. *siamensis* Valeton	สกลนคร
4	ผักปลังขาว	ใบ	*Basella alba* L.	สกลนคร
5	ผักปลังแดง	ใบ	*Basella rubra* L.	สกลนคร
6	เสี้ยวดอกขาว	ดอก	*Bauhinia bracteata* L.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
7	หญ้าแหลมนกไส้	ลำต้น/ใบ	*Bidens bipinnata* , L.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
8	ปืนนกไส้	ลำต้น/ใบ	*Bidens pilosa* Linn.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
9	เมี่ยงป่า	ใบ	*Camellia sinensis* (L.) Kuntze var. *assamica* (J. Masters) Kitam.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
10	ก่อข้าว	ใบ	*Castanopsis inermis* (Lindl. ex Wall.) Benth & Hook. f.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
11	หญ้าข้าวใหม่	ลำต้น/ใบ	*Conyza sumatrensis* (Retz.) Walker	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
12	หญ้าดอกปลิว	ลำต้น/ใบ	*Crassocephalum crepidioides* (Benth) S. Moore	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
13	ติ้วเกลี้ยง	ดอก	*Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
14	ติ้วขาว	ใบ	*Cratoxylum formosum* (Jack) Dyer	สกลนคร
15	เครือคำ	ลำต้น/ใบ	*Cuscuta australis* R. Br.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
16	ผักกาดนก	ลำต้น/ใบ	*Emilia sonchifolia* (L.) DC	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
17	เดื่อหว้า	ใบ	*Ficus acuriculata* Lour.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
18	มันปลา	ใบ	*Glochidion sphaerogymum* (Müll. Arg.) Kurz	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
19	ไคร้น้ำ	ใบ	*Homonoia riparia Lour.*	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
20	บอนจีน	ดอก	*Limnocharis flava (L.) Buchenau*	สกลนคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อ	ส่วนที่ใช้	ชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่มา
21	กะออม	ใบ	*Limnophila geoffrayi* Bonati	สกลนคร
22	ผักแขยง	ลำต้น/ใบ	*Limnophila aromatica* Merr.	สกลนคร
23	สะเรียมดง	ใบ	*Melicope pteleifolia* (Champ.ex Benth.) Hartley	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
24	มะระขี้นก	ลำต้น/ใบ	*Momordica charantia L.*	สกลนคร
25	ผักฮ้านน้ำ	ลำต้น/ใบ	*Mosia dianthera* (Buch-Ham. ex Roxb.) Maxim.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
26	ส้มสุก	ใบ	*Saraca indica* L.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
27	ทะโล้	ใบ	*Schima wallichii* (D.C.) Korth.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
28	ขี้เหล็ก	ดอก	*Senna siamea* (Lam.) Irwin & Barneby	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
29	หน่ามเป้า	ใบ	*Smilax macrophylla* Roxb.	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง
30	ส้มปี้	ใบ	*Vaccinium sprengelii* (D.Don) Sleum	สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง

3.1.2 สารเคมี

- กรดแกลลิก (Fluka, ประเทศเยอรมัน)
- กรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- กรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid) (Merck, ประเทศเยอรมัน)
- กรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid) (Merck, ประเทศเยอรมัน)
- กรดไฮโดรคลอริก (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Carlo, ประเทศอิตาลี)
- เอทานอล (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- เอทิลอะซีเตต (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- เฮกเซน (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl radical (DPPH) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine (TPTZ) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- Folin – Ciocalteau reagent (Carlo, ประเทศอิตาลี)
- Iron (III) chloride hydrate (Fisher, ประเทศอังกฤษ)
- Tween 40 (Merck, ประเทศเยอรมัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องชั่ง (4 ตำแหน่ง) (Sartorius TE 214, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องชั่ง (2 ตำแหน่ง) (Mettler Toledo PE 3000, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- ตู้อบลมร้อน (Memmert UFB 400, ประเทศเยอรมัน)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert WB 29, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Beckman coulter, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- ออโตปิเปต (Eppendorf, ประเทศเยอรมัน)
- 96 well microtiter plate (Sero-Wel, Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ)
- Microtiter Plate Reader (Multimode Detector DTX 880, Beckman coulter, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การคัดเลือกพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง

3.4.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืชสดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง นำพืชไปตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นด้วยเครื่องปั่นแห้ง การสกัดตัวอย่างตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Pilarski และ คณะ (2006) โดยชั่งตัวอย่างพืช 10 กรัม ผสมกับเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10) ปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นนาน 1 นาที ให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

3.4.2.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin - Ciocalteu reagent method ของ Singleton และคณะ (1999)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท จากนั้นเติมรีเอเจนต์ Folin Ciocalteau 12.5 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 10 เปอร์เซ็นต์ 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microtiter plate reader)

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

3.4.2.2 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay ที่ดัดแปลงมาจาก Brand-Williams และคณะ (1995)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 ระดับ ปิเปตสารสกัดปริมาตร 70 ไมโครลิตรลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) 210 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างไปคำนวณหา %inhibition ดังสมการ

$$\%\text{inhibition} = (1 - A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

โดย %inhibition หมายถึง ความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ

$A_{control}$ หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

จากนั้นนำค่า %inhibition เขียนกราฟความสัมพันธ์กับปริมาณสารสกัดตัวอย่างเพื่อหาสมการความสัมพันธ์และจุดตัดแกน Y ที่ 50 จะได้ค่า EC_{50} (effective concentration) แล้วคำนวณหาส่วนกลับของค่า EC_{50} ($1/EC_{50}$)

3.4.2.3 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ ตามวิธีของ Zhou และ Yu (2004)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย $ABTS^{+}$ (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์) 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ไปคำนวณหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

3.4.2.4 ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) ของ Benzie และ Strain (1999)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย FRAP 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ไปคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

3.4.2.5 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS) ที่ดัดแปลงมาจาก McDonald และ Hultin (1987)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมอิมัลชันของกรดไขมันลิโนเลอิก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย TCA–TBA–HCl 2 มิลลิลิตร ต้มจนเดือดเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นปิเปตสารละลาย 300 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity, AOA) ด้วยสมการ

$$\%AOA = (1 - A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

จากนั้นนำค่า %AOA ไปคำนวณหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

3.4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.4.3.1 การวิเคราะห์ความแตกต่าง

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และคำนวณค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นคัดเลือกพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงสุด 5 ลำดับแรกในทุกวิธีวิเคราะห์ มาศึกษาผลของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ชนิด โดยเปรียบเทียบกันระหว่างพืชสดและแห้งในหัวข้อ 3.4. 4 ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

นำผลการทดลองที่ได้จากแต่ละวิธี มาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ด้วยโปรแกรม SPSS version 11.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

สารสกัดเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของพืชสดจำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC) และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, TEAC, FRAP และ TBARS โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด จะแสดงค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในขณะที่ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC, FRAP และ TBARS จะแสดงค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ส่วนวิธี DPPH จะคำนวณหาค่า EC_{50} (effective concentration) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณตัวอย่าง (มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)) ที่ใช้ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จำนวน 11.7 ไมโครกรัม หรือ 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้น แล้วแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันในรูปส่วนกลับของค่า EC_{50} ($1/EC_{50}$)

4.1.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocalteau อาศัยการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนของสารประกอบฟีนอลิกเข้าทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ Folin Ciocalteau ในสภาวะที่เป็นเบส ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชสดทั้ง 30 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชสดมีค่าอยู่ระหว่าง 5.997-710.6 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้แบ่งสารสกัดพืชออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4.1) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกต่ำ (มีค่าน้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกรัม(น้ำหนักแห้ง)) และเป็นกลุ่มที่มีจำนวนสารสกัดพืชมากที่สุด คือ 19 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกปานกลาง (50-100 มิลลิกรัมต่อกรัม(น้ำหนักแห้ง)) โดยมีจำนวนทั้งสิ้น 2 ตัวอย่าง คือ ใบไคร้น้ำและดอกสะเดา

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกสูง (100-200 มิลลิกรัมต่อกรัม(น้ำหนักแห้ง)) มีจำนวนทั้งสิ้น 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบหนามเป้า ใบส้มสุก ใบเมี่ยงป่า และใบส้มปี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชตามปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

TPC	สารสกัดพืช
<50 [19]	หญ้าดอกปลิว (5.997), มะระขี้นก (6.878), ผักกาดนกเขา (7.017), กะออม (8.566), ผักเผ็ด (9.244), ปีนนกไส้ (9.824), ผักฮ้านน้ำ (12.38), บอนจีน (12.93), ผักปลังขาว (13.87), ผักเหี่ย (14.05), หญ้าข้าวใหม่ (15.11), ผักปลังแดง (18.91), เสี้ยวดอกขาว (26.43), หญ้าแหลมนกไส้ (27.21), ขี้เหล็ก (31.04), เครือคำ (31.42), สะเรียมดง (45.39), ผักแขยง (48.66), เดื่อหว้า (49.03)
50-100 [2]	ไคร้น้ำ (56.75), สะเดา (69.33)
100-200 [4]	หนามเป้า (106.4), ส้มสุก (117.1), เมี่ยงป่า (132.7), ส้มปี้ (172.4)
>200 [5]	ก่อข้าว (242.7), มันปลา (298.1), ทะโล้ (308.4), ติ้วขาว (469.1), ติ้วเกลี้ยง (710.6)

หมายเหตุ ตัวเลขใน ( ) แสดงค่า TPC ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)
ตัวเลขใน [ ] แสดงจำนวนสารสกัดพืชที่พบ

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงมาก (มีค่ามากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อกรัม(น้ำหนักแห้ง)) โดยพบสารสกัดพืชจำนวน 5 ตัวอย่าง สามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ ดอกติ้วเกลี้ยง ใบติ้วขาว ใบทะโล้ ใบมันปลา และใบก่อข้าว

สารสกัดจากส่วนดอกติ้วเกลี้ยง มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยมีค่าเท่ากับ 710.6 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) อย่างไรก็ตามไม่พบรายงานที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชชนิดนี้

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดดอกติ้วเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume) มีค่าสูงที่สุด (710.6 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) ส่วนพืชสกุลเดียวกัน ได้แก่ ติ้วขาว (*C. formosum* (Jack) Dyer) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงเช่นกัน (469.1 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) และพบอีกว่า พืชสกุล Basella ได้แก่ ยอดอ่อน/ใบของผักปลังขาว (*B. alba* L.) และผักปลังแดง (*B. rubra* L.) ก็มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกัน คือ 15.5 และ 18.91 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ เช่นเดียวกับในสกุล Bidens ได้แก่ หญ้าแหลมนกไส้ (*B. bipinnata* , L.) และปีนนกไส้ (*B. pilosa* Linn.) สกุล Limnophila ได้แก่ กะออม (*L. geoffrayi* Bonati) และผักแขยง (*L. aromatica* Merr.) ที่มีปริมาณฟีนอลิกอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า พืชต่างสายพันธุ์จะมีปริมาณฟีนอลิกที่ใกล้เคียงกันหรือแตกต่างกันก็ได้ แต่พืชที่อยู่ในสกุลเดียวกันย่อมมีแนวโน้มที่จะมีปริมาณฟีนอลิกใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดติ้วขาวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 469.1 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในติ้วขาวได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และ สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ 1,2-dihydroxyphenyl (พัลลภา รัตนวราภรณ์ และ สุรางค์ พรพงษ์, 2543) อย่างไรก็ตาม Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า ยอดอ่อน/ใบของติ้วขาว มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 63.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าผลการทดลองอย่างมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความแตกต่างของวิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้ โดยการทดลองนี้ใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสในการสกัด ซึ่ง Suzuki และ คณะ (2002) รายงานว่า การสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 40-80 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกให้สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ หรือ เอทานอล หรือ เมทานอลเป็นตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ การให้ความร้อนในระหว่างการสกัดนั้น ยังส่งผลให้ประสิทธิภาพของการสกัดเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน เนื่องจาก ความร้อนจะทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนนุ่ม ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกจากเนื้อเยื่อพืชได้มากขึ้น (Katalinic และ คณะ, 2007)

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดกระโดนมีค่า 449.3 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้) ในขณะที่ Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 54.5 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในการทดลองนี้มาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกันดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ ปริมาณฟีนอลิกที่แตกต่างกันยังอาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อม พื้นที่เพาะปลูก ตลอดจน อายุการเก็บเกี่ยว (Witzell และ คณะ, 2003) อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากยอดอ่อน/ใบของผักปลังขาวในการทดลองครั้งนี้ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 15.5 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และมีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานโดย Maisuthisakul และ คณะ (2007a) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.87 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)

ในทางกลับกัน พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชที่ทำการทดลองในครั้งนี้มีค่าต่ำกว่ารายงานอื่นๆ เช่น สารสกัดจากมะระขี้นก (ทั้งต้น/ราก) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 6.878 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) แต่ Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า ยอดอ่อน/ใบของมะระขี้นกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงถึง 50.9 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองนี้ใช้ทั้งต้นและรากในการศึกษา จึงอาจมีความแตกต่างกันระหว่างส่วนของพืช รวมทั้งการให้ความร้อนในการสกัดอาจส่งผลให้สารสำคัญที่ไวต่อความร้อนสูญเสียไปบางส่วนได้ ส่วนรายงานของ Kubola และ Siriamornpun (2008) พบว่า สารสกัดจากใบมะระขี้นกด้วยน้ำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงถึง 474 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) แสดงว่า น้ำอาจเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูง และเหมาะสมสำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบมะระขี้นก นอกจากนี้ ยังอาจมีสาเหตุจากความแตกต่างของของสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก สถานที่เพาะปลูก อายุการเก็บเกี่ยว อีกด้วย เช่น มะกอกที่เพาะปลูกในสถานที่ที่แตกต่างกัน (Vinha และ คณะ, 2005) และใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และยอดอ่อนของ *Quercus resinosa* (Rocha-Guzmán และ คณะ, 2009) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกัน

ส่วนสารสกัดดอกสะเดาสด มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 69.33 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าที่รายงานโดย Maisuthisakul และ คณะ (2008) เพียงเล็กน้อย คือ 40.3 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) แสดงว่า สะเดาจัดเป็นพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกปานกลาง โดยประกอบด้วย กรดแกลลิก คาทิชิน เคอวซีติน รูทิน และ rhynchosin-glucoside (Siddiqui และ คณะ, 1992; Nair และ คณะ, 1997) นอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิกที่พบในส่วนดอกแล้ว ใบสะเดาจากจังหวัดต่างๆของไทยก็มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบเช่นกัน (Sithisarn และ คณะ, 2007)

ในพืชอื่นๆ อีกหลายชนิดที่ใช้ในการทดลองนี้ ก็มีรายงานเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ เช่น สารสกัดปีนนกไส้มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 9.824 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดย Chiang และคณะ (2004) รายงานสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น quercetin 3-*O*-rutinoside, 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, jacein กรดคลอโรจีนิก รวมทั้ง ฟลาโวนอยด์และฟลาโวนไกลโคไซด์ ในสารสกัดหญ้าข้าวไหม่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 15.11 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) และมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของฟลาโวนอยด์หลายชนิดเป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ รูทิน เคอวซีติน ลูเทอีน quercetin-3-*O*-glycosides และ scutellrin เป็นต้น (Chai และ คณะ, 2008)

ในสารสกัดผักแขยงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด คือ 48.66 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยมีฟลาโวนหลายชนิด และ 8-oxygenated flavonoids เป็นองค์ประกอบสำคัญ (Bui และ คณะ, 2004) ส่วนกะออมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 8.566 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่ง Suksamrarn และ คณะ (2003) รายงานสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวน 2 ชนิดเป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ nevadensin และ isothymusin

จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่างประกอบกัน ทั้งสายพันธุ์ของพืช ชนิดและปริมาณสารพฤกษเคมี วิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้ นอกจากนี้วิธีการวิเคราะห์ก็มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น สารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดจะมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน รวมถึง สารที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกก็อาจสามารถทำปฏิกิริยานี้ได้เช่นกัน (Huang และ คณะ, 2005) และเมื่อพิจารณากลุ่มพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกรัม(น้ำหนักแห้ง) จะมีพืชจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ติ้วเกลี้ยง ติ้วขาว ทะโล้ หนามเป้า ส้มสุก เมี่ยงป่า ก่อข้าว มันปลา และส้มปี้ ที่สามารถใช้เป็นแหล่งที่ดีของสารประกอบฟีนอลิกที่พบตามธรรมชาติได้ และผลการทดลองยังสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่แสดงให้เห็นว่า ทั้งติ้วขาวและติ้วเกลี้ยง ล้วนเป็นพืชที่สามารถใช้เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อาศัยการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนร่วมกับ การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านออกซิเดชันให้แก่อนุมูล DPPH· ทำให้สูญเสียสมบัติการเป็นอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืชด้วยวิธี DPPH ค่า EC_{50} (effective concentration) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณตัวอย่าง (มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)) ที่ใช้ในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จำนวน 11.7 ไมโครกรัม หรือ 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้น และแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันในรูปส่วนกลับของค่า EC_{50} ($1/EC_{50}$) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดพืชสดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่าง 0.0748-13.64 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$ เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้แบ่งสารสกัดพืชออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4.2) ดังนี้

ตารางที่ 4.2 การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชสดตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

DPPH	สารสกัดพืช
<1 [16]	สะเรียมดง (0.0748), มะระขี้นก (0.0781), ผักปลังขาว (0.0924), ผักกาดนกเขา (0.1199), หญ้าดอกปลิว (0.1582), ผักแผ็ด (0.1597), กะออม (0.1943), ผักเหี่ย (0.1983), ปืนนกไส้ (0.2192), ผักปลังแดง (0.2297), ผักฮ้านน้ำ (0.2920), หญ้าข้าวใหม่ (0.4615), บอนจีน (0.4885), ขี้เหล็ก (0.5721), สะเดา (0.5861), ไคร้น้ำ (0.9234)
1-5 [8]	ติ้วเกลี้ยง (1.092), เครือคำ (1.092), เสี้ยวดอกขาว (1.132), เดื่อหว้า (1.304), หญ้าแหลมนกไส้ (1.341), ผักแขยง (1.608), ส้มปี้ (1.900), หนามเป้า (4.067)
5-10 [3]	เมี่ยงป่า (6.006), ติ้วขาว (6.675), ส้มสุก (7.610)
>10 [3]	ทะโล้ (10.63) , มันปลา (12.45), ก่อข้าว (13.64)

หมายเหตุ ตัวเลขใน () แสดงค่า $1/EC_{50}$ ในหน่วยมิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$
ตัวเลขใน [ ] แสดงจำนวนสารสกัดพืชที่พบ

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำ (มีค่าน้อยกว่า 1 มิลลิกรัม(น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$) และเป็นกลุ่มที่มีจำนวนสารสกัดพืชมากที่สุด คือ 16 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ปานกลาง (1-5 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) $^{-1}$) โดยมีจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 8 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูง (5-10 มิลลิกรัม(น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$) มีจำนวนทั้งสิ้น 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบเมี่ยงป่า ใบติ้วขาวและใบส้มสุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงมาก (มีค่ามากกว่า 10 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) $^{-1}$) โดยพบสารสกัดพืชสดเพียง 3 ตัวอย่าง และเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ใบทะโล้ ใบมันปลา และใบก่อข้าว

จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดก่อข้าว มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด รวมทั้งมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในกลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงมากเช่นกัน ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรม ไม่พบการศึกษาสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในพืชชนิดนี้

ผลของสกุลพืชต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ให้ผลคล้ายคลึงกับสารประกอบฟีนอลิก เช่น ผักปลังขาว (*B. alba* L.) และผักปลังแดง (*B. rubra* L.) ที่จัดเป็นพืชที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ต่ำเหมือนกัน อย่างไรก็ตามพบว่า สารสกัดจากพืชในอีก 3 สกุล ได้แก่ สกุล Bidens (หญ้าแหลมนกไส้และปืนนกไส้) สกุล Cratoxylum (ติ้วขาวและติ้วเกลี้ยง) และสกุล Limnophila (กะออมและผักแขยง) มีแนวโน้มในการทำลายอนุมูลอิสระแตกต่างออกไป โดยความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของพืชแต่ละชนิดจัดอยู่คนละกลุ่มกัน แสดงให้เห็นว่า พืชจะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันออกไปตามสายพันธุ์ แต่ในพืชบางสกุลอาจมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันไปในทิศทางเดียวกันได้ ดังที่พบในพืชสกุล Basella

ผลการวิเคราะห์สามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดติ้วขาว พบว่า มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 6.675 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$ หรือคิดเป็นค่า EC_{50} เท่ากับ 0.1498 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่รายงานโดย Maisuthisakul และ คณะ (2007b) คือ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.23 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) และในรายงานนี้ยังระบุสารต้านออกซิเดชันสำคัญที่พบในติ้วขาว คือ กรดคลอโรจีนิก กรดไดคาเฟโอลิลควินิก และอนุพันธ์ของกรดเฟอรูลิกอีก 2 ชนิดด้วย ผลการทดลองนี้จึงยืนยันให้เห็นว่า ติ้วขาวเป็นพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดี

อย่างไรก็ดี ความแตกต่างของวิธีสกัดและตัวทำละลายที่ใช้ อาจส่งผลต่อความสามารถของสารสกัดพืชในการทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยการใช้สารละลายเอทานอลทำให้สกัดสารพฤกษเคมีในพืช ได้ครอบคลุมทั้งกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้ว (Pietta และ คณะ, 1998) ส่วนการให้ความร้อนจะเพิ่มอัตราการแพร่และความสามารถในการละลายของสารพฤกษเคมีและช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการสกัดอีกด้วย (Cacace และ Mazza, 2002) ดังนั้น วิธีสกัดและตัวทำละลายที่ใช้ จึงอาจส่งผลให้สกัดสารพฤกษเคมีได้มากขึ้น ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น หรือมีค่า EC_{50} น้อย นอกจากนี้ ยังอาจเป็นผลจากความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ที่ใช้ในการทดลองมีความแตกต่างกัน ซึ่งถ้าปริมาณอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ค่าที่คำนวณได้จะแตกต่างกันด้วยเช่นกัน โดยการทดลองนี้คำนวณค่า EC_{50} จากปริมาณพืชที่ใช้ในการทำลายอนุมูล DPPH จำนวน 11.7 ไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในทางตรงกันข้าม ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดพืชบางชนิดที่นำมาศึกษามีค่าสูงกว่าค่าที่รายงานไว้ เช่น สารสกัดยอดอ่อน/ใบผักปลังขาวมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH คือ 0.0924 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$ หรือคิดเป็นค่า EC_{50} เท่ากับ 10.82 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) แต่ Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานค่า EC_{50} ไว้เท่ากับ 1.48 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในการทดลองนี้มาก อาจเกิดจากปัจจัยต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆ เช่น สภาพแวดล้อม การเพาะปลูก และอายุการเก็บเกี่ยว (Witzell และ คณะ, 2003) และการให้ความร้อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด ยังอาจทำลายสารต้านออกซิเดชันที่ไวต่อความร้อนด้วยเช่นกัน (บดินทร์ เตชะรัตนไกร และ คณะ, 2550)

ส่วนความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดมะระขี้นก (ทั้งต้น/ราก) คำนวณค่า EC_{50} ได้เท่ากับ 12.81 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในขณะที่ Maisuthisakul และ คณะ (2007a) รายงานว่า ยอดอ่อน/ใบของมะระขี้นกมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.59 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) และ นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข (2546) รายงานเช่นกันว่า ยอดอ่อนมะระขี้นก มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าส่วนผล ชี้ให้เห็นว่า นอกเหนือจากปัจจัยด้านวิธีการสกัด และ การเพาะปลูกดังที่กล่าวมาแล้วนั้น การใช้ส่วนของพืชที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน อาจส่งผลต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน ดังที่พบว่า ใบอ่อนของ *Q. resinosa* มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าส่วนอื่นๆ (Rocha-Guzmán และ คณะ, 2009) อย่างไรก็ตาม ทุกส่วนของมะระขี้นกทั้งใบ ลำต้น และผล ล้วนมีความสามารถในการทำลายอนุมูล DPPH ทั้งสิ้น (Kubola และ Siriamornpun, 2008)

ในพืชอื่นๆอีกหลายชนิด ก็พบรายงานความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH แต่ค่าที่ใช้รายงานมีความแตกต่างกันจึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากคำนวณในหน่วยที่แตกต่างกัน และความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนเกี่ยวกับความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของพืชต่างๆ เช่น สารสกัดผักแขยง มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH 1.608 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$ และพบรายงานค่า IC_{50} เท่ากับ 133 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Sribusarakum และ คณะ, 2004) เช่นเดียวกับสารสกัดปีนนกไส้ (0.2192 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$) ซึ่ง Deba และ คณะ (2007) ได้รายงานว่า สารสกัดน้ำจากใบปีนนกไส้มีค่า IC_{50} เท่ากับ 61 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดกะออม (0.1943 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$) แต่สาร isothymusin ที่แยกได้จากกะออมมีค่า IC_{50} 7.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Suksamrarn และ คณะ, 2003) ซึ่งการรายงานในรูปของความเข้มข้นของการทำลายอนุมูล DPPH ที่แตกต่างกันนี้ ทำให้ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองนี้ อีกทั้งยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างอีก ไม่ว่าจะเป็นวิธีการสกัด และ รายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น จากผลการทดลองพบว่า ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่างประกอบกัน ทั้งสายพันธุ์ของพืช ชนิดและปริมาณสารพฤกษเคมี วิธีการสกัด และ ตัวทำละลายที่ใช้ อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อจำกัด คือ อนุมูล DPPH$^{\cdot}$ เป็นอนุมูลที่สังเคราะห์ขึ้น จึงไม่สามารถบอกถึงความไวของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูลที่พบในเซลล์ หรือ ร่างกายได้ รวมทั้งสารต้านออกซิเดชันที่ทำลายอนุมูลเปอร์ออกซิลได้ดี จะทำปฏิกิริยาได้ช้ากว่าที่ควรจะเป็น และสารประกอบหลายชนิดสามารถดูดกลืนแสงช่วงเดียวกับที่ทำการทดสอบ เช่น แคโรทีนอยด์ (Prior และ คณะ, 2005) และเมื่อพิจารณาพืชที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่า 10 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$ มีสารสกัดพืชจำนวน 6 ชนิด ประกอบด้วย เมี่ยงป่า ติ้วขาว ส้มสุก ทะโล้ มันปลาและก่อข้าวที่สามารถใช้เป็นแหล่งสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้ และผลการทดลองยังมีความสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่แสดงให้เห็นว่า สารสกัดติ้วขาวเป็นพืชที่สามารถใช้เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่ดีจากธรรมชาติได้

4.1.3 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายเช่นเดียวกับวิธี DPPH แต่วิธีนี้ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากสารต้านออกซิเดชันเพื่อรีดิวซ์อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ แทนที่จะเป็นการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดพืชสดมีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 4.570-852.2 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้แบ่งสารสกัดพืชออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4.3) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ ต่ำ (มีค่า TEAC น้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) โดยเป็นกลุ่มที่จำนวนสารสกัดพืชมากที่สุด คือ 21 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ ปานกลาง (มีค่า TEAC ในช่วง 50-100 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) มีจำนวนทั้งสิ้น 3 ตัวอย่าง คือ ใบไคร้น้ำ ใบส้มสุกและใบติ้วขาว

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$สูง (มีค่า TEAC ในช่วง 100-500 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) โดยมีจำนวนทั้งสิ้น 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบหนามเป้า ใบเมี่ยงป่าและใบส้มปี้

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ สูงมาก (มีค่า TEAC มากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) โดยพบตัวอย่างทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบทะโล้ ใบก่อข้าว และใบมันปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชสดตามความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$

TEAC	สารสกัดพืช
<50 [21]	ผักกาดนกเขา (2.450), ผักเผ็ด (2.840), สะเรียมดง (3.760) กะออม (3.940), ผักปลังขาว(4.320), มะระขี้นก (5.090), ผักเหี่ย (5.690), ผักปลังแดง (6.190), เสี้ยวดอกขาว (11.53), ปีนนกไส้ (14.77), บอนจีน (16.38), หญ้าข้าวใหม่ (17.47), เครือคำ(17.95), ผักฮ้านน้ำ (18.41), หญ้าดอกปลิว (19.09), ผักแขยง (22.49), หญ้าแหลมนกไส้ (22.60), เดื่อหว้า (27.79), ขี้เหล็ก (27.84), สะเดา (37.45), ติ้วเกลี้ยง (47.84)
50-100 [3]	ไคร้น้ำ (55.02), ส้มสุก (78.63), ติ้วขาว (98.22)
100-500 [3]	หนามเป้า (131.2), เมี่ยงป่า (298.9), ส้มปี้ (366.0)
>500 [3]	ทะโล้ (678.2), ก่อข้าว (793.4), มันปลา (852.2)

หมายเหตุ ตัวเลขใน ( ) แสดงค่า TEAC ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)
ตัวเลขใน [ ] แสดงจำนวนสารสกัดพืชที่พบ

ผลการวิเคราะห์ค่า TEAC ของสารสกัดพืชทั้งหมด พบว่า สารสกัดมันปลามีค่า TEAC สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มสารสกัดพืชสด (ตารางที่ 4.3) และในการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ก็มีค่าในกลุ่มสูงเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจาก วิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธี เป็นวิธีที่ทำลายอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน แต่แตกต่างกันที่การใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน หรือ ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านออกซิเดชันดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารต้านออกซิเดชันที่พบในพืชชนิดนี้มีแนวโน้มการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี

พืชในสกุลเดียวกันอาจมีค่า TEAC ที่ใกล้เคียงกัน หรือ แตกต่างกันก็ได้ โดยพืชในสกุล Basella (ผักปลังขาวและผักปลังแดง) สกุล Bidens (หญ้าแหลมนกไส้และปีนนกไส้) และสกุล Limnophila (กะออมและผักแขยง) มีค่า TEAC อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ยกเว้น พืชในสกุล Cratoxylum (ติ้วเกลี้ยง และติ้วขาว) มีค่า TEAC อยู่ในกลุ่มที่แตกต่างกัน ดังนั้น การใช้สายพันธุ์ของพืช ในการบ่งบอกความสามารถในการต้านออกซิเดชันนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

สารสกัดจากใบติ้วขาวมีค่า TEAC เท่ากับ 98.22 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ส่วน Maisuthisakul และ คณะ (2007b) รายงานไว้ เท่ากับ 668.3 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)ในใบ/ยอดอ่อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของวิธีการสกัด ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงในการสกัดในการทดลองนี้อาจทำลายสารต้านออกซิเดชันที่ไวต่อความร้อนได้ รวมถึงความแตกต่างของความแก่อ่อนในพืชก็อาจมีผลต่อปริมาณและชนิดของสารพฤกษเคมีที่พบได้เช่นกัน (Rocha-Guzmán และ คณะ, 2009) โดยสารต้านออกซิเดชันสำคัญของติ้วขาว คือ กรดคลอโรจีนิก กรดไดคาเฟโอลิลควินิก และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุพันธ์ของกรดเฟอรูลิกอีก 2 ชนิด (Maisuthisakul และ คณะ, 2007b) จากผลการทดลองแสดงว่าติ้วขาวเป็นพืชที่สามารถต้านออกซิเดชันได้ดี

อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ จะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญหลายๆ ปัจจัยประกอบกัน ทั้งสายพันธุ์ของพืช ชนิดและปริมาณสารพฤกษเคมี วิธีการสกัด และ ตัวทำละลายที่ใช้ นอกจากนี้ วิธีนี้ยังมีข้อจำกัด คือ อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ เป็นอนุมูลสังเคราะห์เช่นเดียวกับอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ จึงอาจไม่สามารถใช้บอกถึงความไวของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูลที่พบในเซลล์หรือร่างกายได้ และสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดจะเข้าทำปฏิกิริยาได้ช้า ค่าที่วิเคราะห์ได้จึงต่ำกว่าความเป็นจริง อีกทั้งสารอื่นๆที่มีค่าความต่างศักย์ต่ำกว่า 0.68 โวลต์ สามารถรีดิวซ์อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ ได้เช่นกัน (Prior และ คณะ, 2005) และเมื่อพิจารณาพืชที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ สูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) พบพืชจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ หนามเป้า เมี่ยงป่า ส้มปี้ ทะโล้ ก่อข้าว และมันปลาที่สามารถใช้เป็นแหล่งสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้

4.1.4 ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด

การวัดความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP เป็นการแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์โลหะ โดยใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากสารต้านออกซิเดชันเพื่อรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+}-TPTZ จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดพืชสดมีค่า FRAP อยู่ระหว่าง 4.570-472.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้แบ่งสารสกัดพืชออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4.4) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดต่ำ (มีค่า FRAP น้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) และเป็นกลุ่มที่มีจำนวนสารสกัดพืชมากที่สุด คือ 20 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดปานกลาง (มีค่า FRAP ในช่วง 50-120 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) โดยมีจำนวนทั้งสิ้น 3 ตัวอย่าง คือ ลำต้น/ใบผักแขยง ใบหนามเป้าและดอกติ้วเกลี้ยง

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดสูง (มีค่า FRAP ในช่วง 120-250 มิลลิกรัม ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) พบตัวอย่างสารสกัดพืชเพียง 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบส้มสุกและใบมันปลา

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดสูงมาก (มีค่า FRAP มากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) พบตัวอย่างพืชทั้งสิ้น 5 ตัวอย่าง เรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้ดังนี้ ใบส้มปี้ ใบติ้วขาว ใบทะโล้ ใบก่อข้าว และใบมันปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชสดตามความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด

FRAP	สารสกัดพืช
<50 **[20]**	มะระขี้นก (4.570), กะออม (5.160), ผักปลังขาว (5.660), หญ้าดอกปลิว (5.800), ผักปลังแดง (8.260), สะเรียมดง (8.670), ผักเผ็ด (8.920), ผักกาดนกเขา (8.960), บอนจีน (11.06), ปีนนกไส้ (13.22), ผักฮ้านน้ำ (13.53), ผักเหี่ย (15.85), หญ้าข้าวใหม่ (16.38), เสี้ยวดอกขาว (22.02), หญ้าแหลมนกไส้ (26.11), สะเดา (27.20), ขี้เหล็ก (28.58), ไคร้น้ำ (35.11), เครือคำ (37.63), เดื่อหว้า (45.51)
50-120 **[3]**	ผักแขยง (54.39), หนามเป๋า (96.17), ติ้วเกลี้ยง (116.7)
120-250 **[2]**	ส้มสุก (147.9), เมี่ยงป่า (177.6)
>250 **[5]**	ส้มปี้ (257.1), ติ้วขาว (261.8), ทะโล้ (393.9), ก่อข้าว (400.8), มันปลา (472.4)

หมายเหตุ ตัวเลขใน ( ) แสดงค่า FRAP ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)
ตัวเลขใน [ ] แสดงจำนวนสารสกัดพืชที่พบ

จากผลการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดจากมันปลาสดมีค่า FRAP สูงที่สุด (472.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) และมีค่าสูงสุดเช่นเดียวกับวิธี TEAC ที่เป็นการวิเคราะห์ความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ จึงแสดงให้เห็นว่า สารต้านออกซิเดชันในมันปลาไม่เพียงแต่มีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระได้ดี แต่ยังมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดีอีกด้วย

เมื่อพิจารณาพืชในสกุลเดียวกันทั้ง 4 สกุลที่ทดสอบ พบว่า อาจมีค่า FRAP ในกลุ่มเดียวกันหรือต่างกันก็ได้ (ตารางที่ 4.4) เช่น กลุ่มที่มีค่า FRAP อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่ สกุล Basella (ผักปลังขาว และผักปลังแดง) สกุล Bidens (หญ้าแหลมนกไส้และปีนนกไส้) และสกุล Cratoxylum (ใบติ้วเกลี้ยงและใบติ้วขาว) ส่วนกลุ่มที่มีค่า FRAP แตกต่างกัน ได้แก่ พืชสกุล Limnophila (กะออมและผักแขยง) ดังนั้น ชนิดและส่วนของพืช จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยการรีดิวซ์โลหะ ให้มีความเหมือนหรือต่างกันออกไป

ผลการวิเคราะห์สามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดของสารสกัดพืชที่ทำการทดลองครั้งนี้ พบรายงานในรูปอื่นๆ เช่น คำนวนในรูปของสมมูลย์เฟอร์รัส (ferrous) หรือน้ำหนักพืชสด เป็นต้น จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า สารสกัดมะระขี้นก มีค่า FRAP เท่ากับ 4.570 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ส่วน Kubola และ Siriamornpun (2008) รายงานไว้ 433 มิลลิโมลาร์ (เฟอร์รัส) ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ในใบมะระขี้นก ซึ่งผลการทดลองนี้ ไม่สามารถเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันได้ เนื่องจาก การใช้สารมาตรฐานคนละชนิดกัน และการแสดงผลในหน่วยที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะน้ำหนักสดและแห้ง ล้วนส่งผลต่อค่าที่วิเคราะห์ได้

ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่างประกอบกัน ทั้งสายพันธุ์ของพืช ปริมาณสารพฤกษเคมี วิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ กลไกการทดสอบอาจไม่สัมพันธ์กับกลไกที่พบในร่างกาย และไม่สามารถใช้วิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันที่อาศัยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมได้ เช่น กลูตาไทโอน (glutathione) เป็นต้น อีกทั้งสารที่มีค่าความต่างศักย์ต่ำกว่า 0.77 โวลต์ สามารถรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+}-TPTZ ได้เช่นกัน อีกทั้ง สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด จะเข้าทำปฏิกิริยาได้ช้า ค่าที่วิเคราะห์ได้จึงต่ำกว่าความเป็นจริง (Prior และ คณะ, 2005) และเมื่อพิจารณาพืชที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดสูงกว่า 120 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) พบพืชจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ส้มสุก เมี่ยงป่า ส้มปี้ ติ้วขาว ทะโล้ ก่อข้าว และมันปลาที่สามารถใช้เป็นแหล่งสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติได้

4.1.5 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS เป็นการใช้หลายกลไก เช่น การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม จากสารต้านออกซิเดชันไปยังอนุมูลเปอร์ออกซิล หรือ อัลคอกซิล เป็นต้น เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไขมัน จากนั้นวัดปริมาณสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondiadehyde, MDA) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ด้วยการทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbutyric acid, TBA) ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพู-แดงของ Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS) โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันนี้ แสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant activity, AOA) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดพืชสด มีค่า TBARS อยู่ระหว่าง 0.7530-40.25 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้แบ่งสารสกัดพืชออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4.5) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ต้านออกซิเดชันของไขมันต่ำ (มีค่า TBARS น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) มีจำนวนทั้งหมด 13 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ต้านออกซิเดชันของไขมันปานกลาง (มีค่า TBARS ในช่วง 5-10 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) เป็นกลุ่มที่มีจำนวนทั้งสิ้น 10 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ต้านออกซิเดชันของไขมันสูง (มีค่า TBARS ในช่วง 10-40 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) มีจำนวนทั้งสิ้น 6 ตัวอย่าง คือ ดอกสะเดา ลำต้น/ใบผักแขยง ลำต้น/ใบปืนนกไส้ ลำต้น/ใบผักฮ้านน้ำ ลำต้น/ใบหญ้าดอกปลิว และลำต้น/ใบเครือคำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การแบ่งกลุ่มสารสกัดพืชสดตามความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน

TBARS	สารสกัดพืช
<5 [13]	ขี้เหล็ก (0.7530), มะระขี้นก (2.406), เดื่อหว้า (2.440), กะออม (2.561), สะเรียมดง (2.858), หญ้าข้าวใหม่ (3.066), หนามเป้า (3.276), ก่อข้าว (3.684), ติ้วขาว (3.717), ทะโล้ (4.054), เสี้ยวดอกขาว(4.067), มันปลา (4.139), ส้มปี้ (4.318)
5-10 [10]	เมี่ยงป่า (5.115), ติ้วเกลี้ยง (5.675), ไคร้น้ำ (5.773), ผักเผ็ด (6.410), ผักเหี่ย (6.567), ผักปลังขาว (6.579), ผักกาดนกเขา (7.476), บอนจีน (7.542), ผักปลังแดง (7.559), ส้มสุก (9.457),
10-40 [6]	สะเดา (10.54), ผักแขยง (10.97), ปีนนกไส้ (11.37), ผักฮ้านน้ำ(12.01), หญ้าดอกปลิว (14.09), เครือคำ(20.08),
>40 [1]	หญ้าแหลมนกไส้ (40.25)

หมายเหตุ ตัวเลขใน ( ) แสดงค่า TBARS ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)
ตัวเลขใน [ ] แสดงจำนวนสารสกัดพืชที่พบ

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่การต้านออกซิเดชันของไขมันสูงมาก (มีค่า TBARS มากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) โดบพบตัวอย่างเพียงตัวอย่างเดียว คือ ลำต้น/ใบหญ้าแหลมนกไส้

เมื่อเปรียบเทียบพืชสกุลต่างๆ พบว่า พืชในสกุล Basella (ผักปลังขาวและผักปลังแดง) มีค่า TBARS ใกล้เคียงกัน คือ 6.579 และ 7.559 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ แต่พืชในสกุลอื่นๆ ได้แก่ พืชสกุล Bidens (หญ้าแหลมนกไส้และปีนนกไส้) พืชสกุล Cratoxylum (ติ้วเกลี้ยงและติ้วขาว) และ พืชสกุล Limnophila (กะออมและผักแขยง) กลับมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันอยู่กลุ่มที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.5) แสดงให้เห็นว่า พืชต่างสายพันธุ์ย่อมมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันที่ต่างกัน ส่วนพืชสกุลเดียวกันอาจมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเหมือนหรือต่างกันก็ได้

ในพืชอื่นๆอีกหลายชนิด มีรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมัน แต่ค่าที่รายงานไว้ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้โดยตรง เนื่องจาก หน่วยที่ใช้คำนวณและระบบอิมัลชันของไขมันมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ยังสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของไขมันของพืชที่ทำการทดสอบได้ โดยผักแขยงสามารถต้านออกซิเดชันของไขมันในเซลล์สมองของหนูทดลอง (Sribusarakum และ คณะ, 2004) จึงน่าจะสนับสนุนว่า ผักแขยงสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันทั้งในอาหารและสิ่งมีชีวิตได้ สำหรับสารสกัดปีนนกไส้มีค่า TBARS เท่ากับ 11.37 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) จัดอยู่ในกลุ่มที่ต้านออกซิเดชันของไขมันปานกลาง สอดคล้องกับสารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเดชันของไขมันด้วยเช่นกัน (Deba และ คณะ, 2007) แสดงว่า ปีนนกไส้มีองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้วในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันได้

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดพืชนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่างประกอบกัน ทั้งสายพันธุ์ของพืช ปริมาณสารพฤกษเคมี วิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้ แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ เป็นวิธีที่ไม่เฉพาะเจาะจงกับผลผลิตทั้งหมดที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน อีกทั้ง สารอื่นๆในพืชอาจทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกได้เช่นกัน (Antolovich และ คณะ, 2001) และพบพืชจำนวน 7 ชนิด ที่สามารถต้านออกซิเดชันของไขมันได้สูงกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ได้แก่ สะเดา ผักแขยง ปีนนกไส้ ผักฮ้านน้ำ หญ้าดอกปลิว และหญ้าแหลมนกไส้

4.2 ผลของส่วนของพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่มีต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

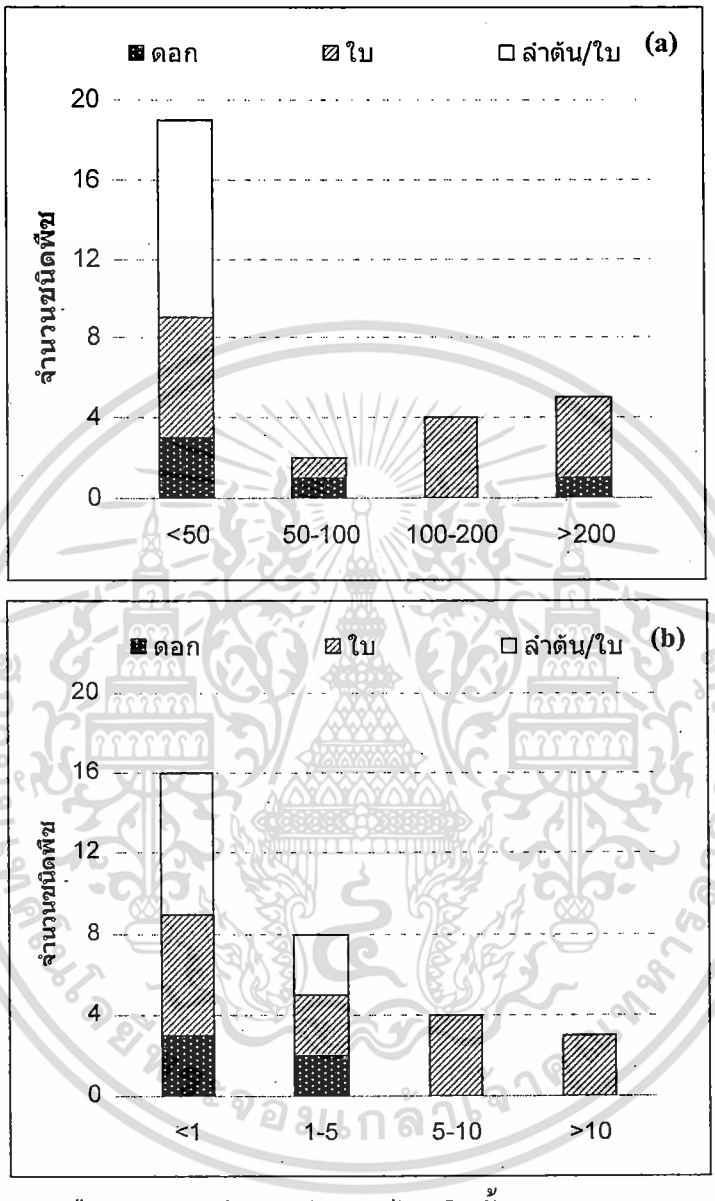
เมื่อนำสารสกัดพืช มาจำแนกตามส่วนของพืชที่ใช้ สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ดอก 5 ตัวอย่าง ใบ 15 ตัวอย่าง และลำต้น/ใบ 10 ตัวอย่าง การวิเคราะห์ผลของส่วนของพืชที่มีต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันในแต่ละวิธีทดสอบ ผลการทดลองแสดงได้ดังภาพที่ 4.1

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแยกตามส่วนต่างๆของพืชที่นำมาวิเคราะห์ พบว่า ในส่วนใบของพืชจะมีความผันแปรของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในทุกระดับของการจัดแบ่งกลุ่ม ตั้งแต่กลุ่มที่มีค่าต่ำถึงกลุ่มที่มีค่าสูงมาก และเมื่อพิจารณาจากส่วนลำต้น/ใบ พบว่า จะมีแนวโน้มมีค่าอยู่ในกลุ่มที่มีค่าต่ำเพียงอย่างเดียว แสดงว่า ในส่วนของลำต้น/ใบ อาจมีแนวโน้มว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าในส่วนของใบเพียงอย่างเดียว แต่ในส่วนดอกนั้น มีจำนวนตัวอย่างพืชที่วิเคราะห์เพียง 5 ชนิด และพบสารสกัดดอกติ้วเกลี้ยงเพียงชนิดเดียวที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง)) ดังนั้น จึงอาจไม่เป็นตัวแทนในการบ่งบอกความน่าจะเป็นของปริมาณฟีนอลิกในส่วนของดอก ดังแสดงในภาพที่ 4.1a

ส่วนความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, TEAC และ FRAP ก็ให้ผลที่คล้ายคลึงกันกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ภาพที่ 4.1b-d) กล่าวคือ มีความผันแปรสูง โดยส่วนใบมีความผันแปรของค่าที่วิเคราะห์ได้ ตั้งแต่กลุ่มที่มีค่าต่ำถึงกลุ่มที่มีค่าสูงมาก ในขณะที่ส่วนลำต้น/ใบมีแนวโน้มอยู่ในกลุ่มที่มีค่าต่ำหรือปานกลาง แต่ส่วนของดอกมีความแตกต่างจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอย่างชัดเจน โดยมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันทั้ง 3 วิธีอยู่ในกลุ่มที่มีค่าต่ำหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่มีค่าปานกลางเท่านั้น แสดงว่า สารพฤกษเคมีในส่วนของสารสกัดดอกจะมี ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ หรือรีดิวซ์โลหะได้ไม่ดี



ภาพที่ 4.1 จำนวนชนิดพืชแยกตามกลุ่มของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่พบและส่วนที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดย

(a) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง))

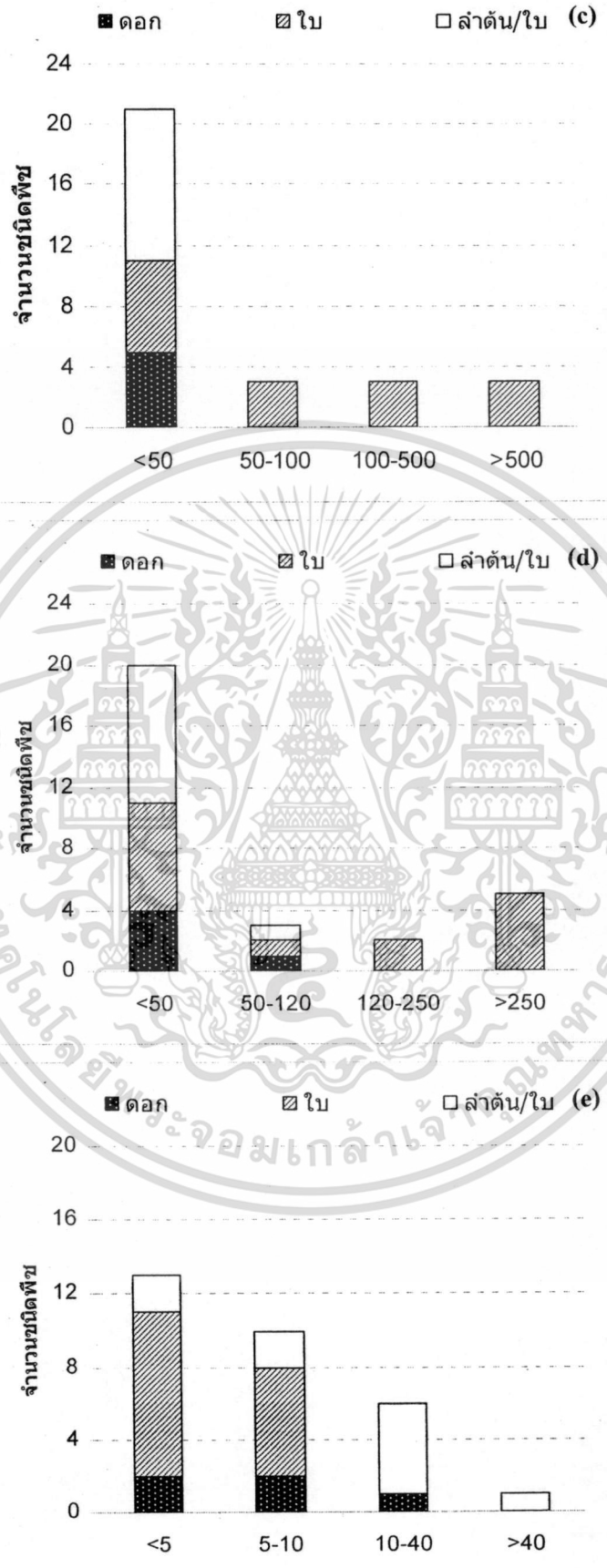
(b) วิธี DPPH (ส่วนกลับของค่า EC_{50}; มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง)$^{-1}$)

(c) วิธี TEAC (มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง))

(d) วิธี FRAP (มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง))

(e) วิธี TBARS (มิลลิกรัมสมมูลย์ของ Trolox ต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของวิธี TBARS ให้ผลที่แตกต่างจากวิธีวิเคราะห์อื่นๆ (ภาพที่ 4.1e) โดยพบว่า ส่วนลำต้น/ใบมีความผันแปรมากที่สุด รองลงมาคือ ส่วนดอก และส่วนใบ เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า สารพฤกษเคมีในส่วนลำต้น/ใบและส่วนดอก มีแนวโน้มที่จะต้านออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่าส่วนใบ อาจเนื่องมาจาก สารพฤกษเคมีกลุ่มนี้มีความเหมาะสมต่อการเข้าทำปฏิกิริยาต่อการทดสอบด้วยวิธีมากกว่าวิธีอื่นๆ ที่มีกลไกต่างกัน

จากผลวิเคราะห์โดยการใช้ส่วนของพืช ได้แก่ ดอก ใบ และลำต้น/ใบ พบว่า ส่วนใบของพืชเป็นส่วนที่อาจมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ สูงกว่าส่วนอื่นๆ ของพืช ทั้งนี้เนื่องจาก ใบประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ที่ทำหน้าที่สำคัญในการสังเคราะห์แสง จึงต้องมีสารพฤกษเคมีอื่นๆ ทำหน้าที่ในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของคลอโรฟิลล์ ดังนั้น ส่วนใบจึงมีการสะสมสารประกอบฟีนอลิกไว้ในปริมาณมาก (Masuda และคณะ, 1999; Silva และ คณะ, 2007) อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถทำนายได้อย่างชัดเจนว่า ส่วนใดของพืชจะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากหรือน้อยเพียงใด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการชีวสังเคราะห์ของพืชที่มีความแตกต่างกัน รวมถึง ความสามารถของพืชแต่ละชนิดในการสะสมสารพฤกษเคมีต่างๆ ทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมี และส่วนที่ทำการสะสมไว้ (Pietta, 2000; Silva และ คณะ, 2007; Matkowski, 2008) นอกจากนี้ จำนวนของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ยังมีจำนวนน้อยเกินไปจึงไม่สามารถใช้เป็นตัวแทนของพืชทุกชนิดได้

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ที่พบในสารสกัดพืช

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และค่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้ง 4 วิธี ในสารสกัดพืช 30 ตัวอย่าง พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง -0.034 ถึง 0.935 (ตารางที่ 4.6)

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ต่อความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในวิธี DPPH และ FRAP มีความสัมพันธ์กันดี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) (ตารางที่ 4.6) โดยมีค่า 0.935 และ 0.871 ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับวิธี TEAC และ TBARS แสดงว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในพืชมีความสัมพันธ์กันดีกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ FRAP สอดคล้องกับ Maisuthisakul และ คณะ (2007a) ที่รายงานว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในพืชพื้นบ้านของไทยจำนวน 26 ชนิด มีความสัมพันธ์ที่ดีกับวิธี DPPH โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ

	TPC	DPPH	TEAC	FRAP	TBARS
TPC	1				
DPPH	0.935**	1			
TEAC	0.187	0.322*	1		
FRAP	0.871**	0.961**	0.503**	1	
TBARS	0.212	0.243	-0.034	0.155	1

หมายเหตุ ** หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.01$)

* หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

นอกจากนี้ นันท์นภัส เติมวงศ์ (2551) รายงานแนวโน้มความสัมพันธ์ในระดับสูงมากระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP ในผักและผลไม้จำนวน 10 ชนิด ($r = 0.994$) ส่วน Wojdyło และ คณะ (2007) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชในวงศ์ Labiatae จะมีความสัมพันธ์ในระดับสูงถึงสูงมาก กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, TEAC และ FRAP ($r = 0.8352$-0.9263) เช่นกัน

ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และค่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละวิธีนั้น มีแนวโน้มแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ที่ดี ถึงความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชได้ ทั้งนี้เนื่องมาจาก ชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชแต่ละสายพันธุ์ ย่อมมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน จึงมีความจำเพาะต่อการทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่แตกต่างกันตามไปด้วย (Tabart และ คณะ, 2009) นอกจากนี้ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันยังขึ้นอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่แทนที่ต่างๆ ในตำแหน่งต่างๆ ที่พบบนโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิด โดยเฉพาะ การมีโครงสร้างแบบ catechol หรือ *O*-diphenolic ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์สูงขึ้น ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการทำลายอนุมูลอิสระและการคีเลทโลหะ (Frankel และ คณะ, 1995; Pietta, 2000) อีกทั้งการเพิ่มหรือลดจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งต่างๆ บนโครงสร้าง หรือการมีหมู่แทนที่หมู่อื่นๆ เช่น หมู่เมททิล (CH_3) หรือ การจับกับน้ำตาล ล้วนส่งผลกระทบต่อความสามารถ ในการต้านออกซิเดชัน ทั้งต่อความสามารถในการให้ไฮโดรเจน หรือ ความคงตัวของอนุมูลสารประกอบฟีนอลิกภายหลังทำปฏิกิริยา (Seeram และ Nair, 2002) ดังนั้น พืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูง จึงไม่จำเป็นต้องมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงตามไปด้วย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พบ

นอกจากนี้ ในพืชยังมีสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก และมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ดี เป็นองค์ประกอบอีกด้วย เช่น แคโรทีนอยด์ วิตามินอี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินซี อนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ แอลคาลอยด์ (Larson, 1988) น้ำมันหอมระเหย (Javanmardi และ คณะ, 2003) แซนโทฟิลล์ (Chanwitheesuk และ คณะ, 2005) คูมาริน (Yu และ คณะ, 2005) ซาโปนิน (Dini และ คณะ, 2009) เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืช จึงเป็นความสามารถร่วมกันระหว่างสารต้านออกซิเดชันต่างๆ ที่พบในพืชทั้งกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกและกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก

ถึงแม้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กับ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชที่พบในการศึกษาครั้งนี้ มีความแตกต่างกันเป็นอย่างมาก แต่จากความสัมพันธ์ที่พบนี้ แสดงให้เห็นว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดจากพืช เป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทในการต้านออกซิเดชันของพืช โดยแสดงสมบัติการทำลายอนุมูลอิสระที่ดีและมีสมบัติการรีดิวซ์โลหะที่ดีอีกด้วย

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง แต่ละวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืช พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของทุกวิธีวิเคราะห์ ยกเว้นวิธี TBARS มีค่าอยู่ระหว่าง 0.322-0.961 และในทุกวิธีวิเคราะห์ก็มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) ในการทดลองครั้งนี้พบว่า วิธี DPPH กับวิธี FRAP มีความสัมพันธ์กันในระดับสูงและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงที่สุด คือ 0.961 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wong และ คณะ (2006) ที่พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันทั้งสองวิธีของพืชอาหาร 25 ชนิดในประเทศสิงคโปร์มีความสัมพันธ์กันในระดับสูงมาก (r=0.9495) ในขณะที่ Surveswaran และ คณะ (2007) ก็รายงานเช่นเดียวกันในพืชสมุนไพรในประเทศอินเดียจำนวน 133 ชนิด (r=0.8810) ความสัมพันธ์ที่สูงระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีนี้ เนื่องมาจาก กลไกที่ใช้ในการทดสอบมีความคล้ายคลึงกัน โดยวิธี DPPH สารต้านออกซิเดชันใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนร่วมกับการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมเพื่อทำลายอนุมูลอิสระ ส่วนวิธี FRAP แสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์โลหะผ่านการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน เพื่อรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+}-TPTZ (Prior และ คณะ, 2005) นอกจากนี้ การสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองนี้จะทำให้ได้สารที่มีขั้ว และวิธีการทั้งสองสามารถใช้ในการทดสอบสารที่มีขั้ว แต่วิธี DPPH สามารถทดสอบสารต้านออกซิเดชันได้ทั้งกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ดังนั้น สารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัดพืช จึงมีแนวโน้มเป็นกลุ่มที่มีขั้วที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระและรีดิวซ์โลหะได้ดี

สำหรับวิธี DPPH กับวิธี TEAC กลับพบความสัมพันธ์ในระดับต่ำ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.322 ซึ่งขัดแย้งกับ Surveswaran และ คณะ (2007) ที่รายงานว่า ในพืชสมุนไพรอินเดียจำนวน 133 ชนิด มีความสัมพันธ์กันในระดับสูงมาก (r=0.9866) แต่ความสัมพันธ์ที่พบระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีนี้ เป็นผลจากความคล้ายคลึงของกลไกที่ใช้ในการทดสอบ โดยวิธี DPPH ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนร่วมกับการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม เพื่อทำลายอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ส่วนวิธี TEAC ก็ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากสารต้านออกซิเดชันเพื่อรีดิวซ์อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ เช่นกัน (Prior และ คณะ, 2005) อีกทั้ง วิธี TEAC นิยมนำมาใช้ทดสอบสารต้านออกซิเดชันที่มีขั้วหรือละลายน้ำได้ดี

ส่วนวิธี FRAP กับวิธี TEAC มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.503 แต่ Li และคณะ (2008) พบว่า การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชสมุนไพรจีน 45 ชนิดด้วยวิธีทั้งสองนี้ มีความสัมพันธ์กันในระดับสูงมาก ($r=0.9669$) ความสัมพันธ์ที่พบนี้อาจเนื่องจากทั้งสองวิธีใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนในการทดสอบและนิยมใช้ในการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มที่มีขั้ว (Prior และ คณะ, 2005) ดังนั้น สารต้านออกซิเดชันในพืชเป็นสารกลุ่มที่มีขั้ว และสามารถรีดิวซ์โลหะได้ดี

จากตารางที่ 4.6 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สารประกอบฟีนอลิกที่ละลายได้ดีในไขมัน จะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS และ β-carotene ที่ดี (Chun และ คณะ, 2005) สอดคล้องกับ Frankel และ คณะ (1995) พบว่า สารต้านออกซิเดชันที่มีขั้วต่ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่าสารที่มีขั้วสูง จากรายงานทั้งสองแสดงให้เห็นว่า สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของไขมันได้ดีเป็นสารมีขั้วต่ำหรือละลายได้ดีในไขมัน แต่สารสกัดพืชในการทดลองนี้ใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ดังนั้น สารพฤกษเคมีที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วจึงละลายออกมาได้ดีกว่า ส่วนสารพฤกษเคมีที่มีขั้วต่ำหรือไม่มีขั้วถูกสกัดออกมาได้น้อย ทำให้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กับ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน

นอกจากนี้ ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการอื่นๆ มีความสัมพันธ์อยู่ระหว่าง -0.034 ถึง 0.243 ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของกลไกที่ใช้ในการทดสอบ และกลุ่มของสารที่เข้าทำปฏิกิริยาด้วยวิธี TBARS อาศัยกลไกหลายอย่างๆ ร่วมกัน เช่นการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านออกซิเดชันให้แก่อนุมูลเปอร์ออกซิล หรือ อัลคอกซิล ในการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของไขมัน สารที่เข้าทำปฏิกิริยาได้ดีจึงเป็นสารที่มีขั้วต่ำหรือไม่มีขั้ว (Antolovich และ คณะ, 2001) ถึงแม้ว่า สารต้านออกซิเดชันสามารถใช้การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมเพื่อทำลายอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ ได้เช่นกัน แต่สารต้านออกซิเดชันที่สามารถทำลายอนุมูลเปอร์ออกซิลได้ดี จะทำปฏิกิริยากับอนุมูล $DPPH^{\cdot}$ ได้ช้า (Prior และ คณะ, 2005) ส่วนวิธี FRAP และ TEAC ใช้การเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน จึงอาจทำให้ความสามารถของสารพฤกษเคมีที่เข้าทำปฏิกิริยามีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ในสารสกัดพืชบางชนิด เช่น ก่อข้าวจัดอยู่ในกลุ่มที่มี FRAP และ TEAC สูงก็สามารถต้านการออกซิเดชันของไขมันได้สูงเช่นกัน ดังนั้น ความสอดคล้องของผลการวิเคราะห์จึงขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารสำคัญที่สกัดได้ และชนิดของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น จากผลการทดลองพบว่า สารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัดพืช เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระที่ดี โดยเฉพาะ อนุมูล DPPH และ ABTS อีกทั้งยังสามารถรีดิวซ์โลหะได้ดีด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม สารต้านออกซิเดชันที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของไขมันที่ดีนั้น อาจเป็นสารคนละกลุ่มกับสารต้านออกซิเดชันที่มีสามารถทำลายอนุมูลอิสระ หรือ รีดิวซ์โลหะได้ดี ทำให้สารสกัดพืชที่มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันไขมันที่ดี อาจไม่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอื่นๆ ดังนั้น ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืช จึงเป็นความสามารถร่วมกันระหว่างสารประกอบต่างๆที่พบในพืช ทั้งในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก และกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สารสกัดเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของพืชจำนวน 30 ตัวอย่าง มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC) และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, TEAC, FRAP และ TBARS แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ส่วนของพืช และวิธีทดสอบ โดย สารสกัดพืช ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าระหว่าง 5.997-710.6 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ส่วนความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี DPPH มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0748-13.64 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) และมีค่า TEAC, FRAP และ TBARS อยู่ระหว่าง 2.450-852.2, 4.570-472.4 และ 0.7530-40.25 มิลลิกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งพืชออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ต่ำ ปานกลาง สูง และ สูงมาก พบว่า พืชส่วนใหญ่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่ำ แต่สารสกัดพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ อยู่ในกลุ่มที่สูงมาก ได้แก่

- กลุ่มที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงมาก มีจำนวน 5 ชนิด คือ ก่อข้าว มันปลา ทะโล้ ติ้วขาว และดอกติ้วเกลี้ยง
- กลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงมาก มีจำนวน 3 ชนิด คือทะโล้ มันปลา และก่อข้าว
- กลุ่มที่ทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ หรือ มีค่า TEAC สูงมาก จำนวน 3 ชนิด คือทะโล้ ก่อข้าวและมันปลา
- กลุ่มที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด หรือ มีค่า FRAP สูงมาก มีจำนวน 5 ชนิด คือ ส้มปี้ ติ้วขาว ทะโล้ ก่อข้าวและมันปลา
- กลุ่มที่สามารถต้านออกซิเดชันของไขมัน หรือ มีค่า TBARS สูงมาก มีจำนวน 1 ชนิด คือ หญ้าแหลมนกไส้

เมื่อแบ่งสารสกัดพืชตามส่วนของพืช ได้แก่ ดอก ใบ และลำต้น/ใบ พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชจะมีความผันแปรสูงมาก แต่ในส่วนของลำตัน/ใบ อาจมีแนวโน้มว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าในส่วนของใบเพียงอย่างเดียว ส่วนของดอกนั้นมีจำนวนตัวอย่างพืชจำกัด จึงไม่สามารถบ่งบอกแนวโน้มได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการชีวสังเคราะห์ของแต่ละชนิดพืช รวมถึง ความสามารถในการสะสม ทั้งในแง่ของชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และปริมาณของสารพฤกษเคมี และส่วนของพืชที่ทำการสะสมไว้ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน พบว่า มีความสัมพันธ์กันดีกับวิธี DPPH และ FRAP มีค่า 0.935 และ 0.871 ตามลำดับ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดพืชจึงเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทในการต้านออกซิเดชัน โดยมีฤทธิ์ที่ดีในการรีดิวซ์โลหะ และทำลายอนุมูลอิสระ และพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กันในช่วงกว้าง (มีค่าอยู่ระหว่าง 0.322-0.961) ยกเว้นวิธี TBARS ซึ่งสารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัดพืช เป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระที่ดีและสามารถรีดิวซ์โลหะได้ดีด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า พืชที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันไขมันที่ดี อาจไม่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยกลไกอื่นๆ

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่า พืชทั้ง 5 ชนิดที่คัดเลือก สามารถใช้เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่ดีได้ ทั้งความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ การรีดิวซ์โลหะ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน รวมถึง ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูง อย่างไรก็ตาม ควรศึกษาแนวทางการแยกสารต้านออกซิเดชันของพืชทั้ง 5 ชนิดนี้ รวมถึงความเป็นพิษ การออกฤทธิ์ด้านเภสัชวิทยา หรือ ด้านอื่นๆ รวมทั้งปริมาณและสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ เพื่อนำไปใช้ประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ ทั้งในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ตลอดจน การพัฒนาให้เป็นพืชเศรษฐกิจต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การนำพืชมาใช้ในการทดสอบ ต้องตรวจสอบชื่อ ชนิด หรือพันธุ์พืชให้ถูกต้องชัดเจนจากผู้เชี่ยวชาญ เนื่องจาก พืชบางชนิดมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่คล้ายกัน รวมถึง มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น อาจทำให้เกิดความสับสนได้ อีกทั้งต้องเลือกใช้ส่วนต่างๆของพืชให้เหมาะสม เนื่องจาก องค์ประกอบในแต่ละส่วนมีชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีแตกต่างกันออกไป

5.2.2 การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ควรเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีกลไกแตกต่างกันในการเปรียบเทียบกัน เนื่องจาก สารพฤกษเคมีแต่ละชนิดมีความไว และกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาต่อการทดสอบในวิธีวิเคราะห์แต่ละวิธีแตกต่างกัน การเลือกวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกันทำให้ทราบถึงสมบัติที่แตกต่างกัน เช่น ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ความสามารถในการรีดิวซ์ หรือ ความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.3 การนำสารต้านออกซิเดชันจากพืชไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ จำเป็นต้องศึกษาความเป็นพิษ การออกฤทธิ์ด้านต่างๆ และปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ ตลอดจน สภาวะที่เหมาะสมในการออกฤทธิ์ เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากสารต้านออกซิเดชันที่พบในพืชให้ได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ก่องกานดา ชยามฤต. 2528. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 4.** ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้. ชุติมาการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 290-515 หน้า.

นันทวัน บุญยประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2539. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (1).** สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 895 หน้า.

นันทวัน บุญยประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2541. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (2).** สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 640 หน้า.

นันทวัน บุญยประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2542. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (3).** สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 823 หน้า.

นันทวัน บุญยประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2543ก. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (4).** สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 740 หน้า.

นันทวัน บุญยประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2543ข. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (5).** สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 508 หน้า.

นันท์นภัส เติมวงศ์. 2551. **ความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีโนลิกส์กับความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระในพืช.** ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 8(2): 114-124.

นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข. 2546. **แอนติออกซิแดนซ์ : สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย.** นพบุรีการพิมพ์. เชียงใหม่. 218 หน้า.

บดินทร์ เตชะรัตนไกร, สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ และ กัลยา เลาหสงคราม. 2550. **ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของน้ำสกัดจากสมุนไพร.** [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก : http://www.scisoc.or.th/stt/33/sec_g/paper/stt33_G_G0028.pdf (วันที่ 15 พฤศจิกายน 2551)

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2548. **ฟังชันนัลฟูดส์ : อาหารเพื่อสุขภาพ.** วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม. 4 (2) : 43 -50.

ปริทรรศน์ ไตรสนธิ, พิทยา สรวมศิริ, นุชนารถ จงเลขา, ชูศรี ไตรสนธิ, เกรียงศักดิ์ ไชยโรจน์, กฤษณา ภูตะคาม, ญาณี พงศ์ไพบูลย์, ไพโรจน์ วิริยารี และ พรสวรรค์ ดิษยบุตร. 2545. **การใช้**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์พืชสมุนไพรในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 311 หน้า

พรพิพัฒน์ ณ พัทลุง, นวลจิรา ภัทรรังรอง และ พิเชษฐ์ วิริยะจิตรา. 2529. **ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร.** [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/pdf/1986/19860060.pdf (วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2552)

พัลลภา รัตนวราภรณ์ และ สุรางค์ พรพงษ์. 2543.**การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบติ้วแดง** [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th /medplantdatabase/ pdf/ 2000/ 20000082.pdf (วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2552)

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร.** สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2530. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 5.** ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้. ชุติมาการพิมพ์. กรุงเทพฯ. หน้า 516-731.

วงศ์สถิต ฉั่วสกุล, อุบลวรรณ บุญเปล่ง และพัชราวดี พรรณเนตร. 2550. **ชื่อท้องถิ่นของพรรณไม้ไทย (8).** ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยากรสุขภาพ. 2(1): 1-8.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. **บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ.** วารสารอาหาร. 32(4): 245-253.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ก. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๑.** มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 978 หน้า.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ข. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๒.** มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 920 หน้า.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ค. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๓.** มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.กรุงเทพฯ. 886 หน้า.

สุธรรม อารีกุล และ อำนวย อ่อนละมูล. 2521. **พืชอาหารและยาของชาวเขา ณ ดอยอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่.** รายงานประจำปี มูลนิธิโครงการหลวง. 150 หน้า

โอภา วัชระคุปต์. (บรรณาธิการ.) 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** พี.เอส.พริ้นท์. นนทบุรี. 190 หน้า.

อุไร จิรมงคลการ. 2547. **ผักพื้นบ้าน 1.** บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 224 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abu Baker, M.F., Mohamed, M., Rahmat, A. and Fry, J. 2009. Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*). **Food Chemistry.** 113: 479-483.

Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M. and Shahidi, F. 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53: 7592-7599.

Anderson, E.F. 1993. Plants and people of the golden triangle : Ethnobotany of the hill tribes of Northern Thailand. Dioscorides Press. Portland. Oregon. 279 pp.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mcdonald, S. and Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. **The Royal Society of Chemistry.** 127: 183-193.

Barreira, J.C.M., Ferreira, I.C.F.R., Oliveira, M.B.P.P. and Pereira, J.A. 2008. Antioxidant activites of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. **Food Chemistry.** 107: 1106-1113.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assays: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology.** 299: 15-27.

Boonnak, N., Karalai, C., Chantrapromma, S., Ponglimanont, C., Fun, H.-K., Kanjana-Opas., A. and Laphookhieo, S. 2006. Bioactive prenylated xanthones and anthraquinones from *Cratoxylum formosum* ssp. *Pruniflorum*. **Tetrahedron.** 62: 8850-8859.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie.** 28: 25-30.

Bravo, L. 1998. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews.** 56(11): 317-333.

Bui, M.-L., Grayer, R.J., Veitch, N.C., Kite, G.C., Tran, H. and Nguyen, Q.-C.K. 2004. Uncommon 8-oxygenated flavonoids from *Limnophila aromatica* (Scrophulariaceae). **Biochemical Systematics and Ecology.** 32: 943-947.

Cacace, J.E. and Mazza, G. 2002. Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with sulfured water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 50: 5939-5946.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences.** 74: 2157-2184.

Cai, Y.Z., Sun, M., Jie, X., Luo, Q., and Corke, H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. **Life Sciences.** 78: 2872-2888.

Capecka, E., Mareczeek, A. and Leja, M. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry.** 93: 223-226.

Castenmiller, J.J.M., Linssen, J.P.H., Heinonen, I.M., Hopia, A.I.,Schwarz, K., and Hollmann, P.C.H. 2002. Antioxidant properties of differently processed spinach products. Nahrung. 46: 290–293.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, S.K., Lim, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S. and Yong, M.Y. 2009. Effect of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. **Food Chemistry.** 113: 166-172.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A. and Rakariyatham, N. 2005. Screening of antioxidant activity and antioxidant compound of some edible plants of Thailand. **Food Chemistry.** 92:491-497.

Chiang,Y.M., Chuang, D.Y., Wang, S.Y., Kuo, Y.H., Tsai, P.W. and Shyur, L.F. 2004. Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa.* **Journal of Ethnopharmacology.** 95: 409-419.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction condition of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. Separation Purification Technology. 55: 217-225.

Choi, H.-S., Song, H.-S., Ukeda, H. and Sawamura, M. 2000. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their component: Detection using 1;1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 48: 4156-4161.

Chun, S.-S., Vattem, D.A., Lin, Y.-T. and Shetty, K. 2005. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori.* **Process Biochemistry.** 40: 809-816.

Cornelli, U. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. **Clinics in Dermatolgy.** 27: 175-194

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M. and Tawata, S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oil from *Bidens pilosa* Linn. Var. *Radiata*. **Food Control.** 19: 346-352.

Del Caro, A. Piga, A. and Corda, G. 2004. Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 52: 4780-4784.

de Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N. and Lemmens, R.H.M.J. (Editors.) 1999. Plant resources of South-East Asia No.12(1) : Medicinal and poisonous plants 1. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 711 pp.

Dewanto, V., Wu, X.Z., Adom, K.K. and Liu, R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritions value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 50: 3010-3014.

Dupont, S., Caffin, N., Bhandari, B. and Dykes, G. A. 2006. *In vitro* antibacterial activity of Australian herb extracts against food- related bacteria. **Food Control.** 17(11): 929-932.

Dini, I., Tenore, G.C. and Dini, A. 2009. Saponins in *Ippomoea batatas* tubers: Isolations, characterization, quantification and antioxidant properties. **Food Chemistry.** 113:411-419.

Ferreira, D., Guyot, S., Marnet, N., Delgadillo, I., Renard, C.M.G.C. and Coimbra, M.A. 2002. Composition of phenolic compounds in a Portuguese pear (*Pyrus communis* L. var. S. Bartolomeu) and changes after sun-drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 50: 4537-4544.

Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L.M. and Araújo, M.E.M. 2006. The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. **Journal of Ethnopharmacology.** 108: 31-37.

Folin, O. and Ciocalteau, V. 1927. Tyrosine and tryptophan determinations proteins. **The Journal of Biological Chemistry.** 73: 627.

Frankel, E.N., Waterhouse, A.L. and Teissedre, P.L. 1995. Principal phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 43: 890-894.

Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J.-L., Trotin, F. and Grec, S. 2009. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. **Food Chemistry.** 115: 897-903.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Garau, M.C., Simal, S., Rosselló, C. and Femenia, A. 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. **Food Chemistry.** 104: 1014-1024.

Gawlik-Dziki. U. 2008. Effect of hydrothermal treatment on the antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) florets. **Food Chemistry.** 109: 393-401.

Giovanelli, G., Zanoni, B., Lavelli, V. and Nani, R. 2002. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. **Journal of Food Engineering.** 52: 135-141.

Gutiérrez, L.-F., Ratti, C. and Belkacemi, K. 2008. Effects of drying method on the extraction yields and quality of oils from quebec sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seeds and pulp. **Food Chemistry.** 106: 896-904.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1995. Free radical in biology and medicine. Clarendon Press. Oxford. 704 pp.

Hao Dieu Nguyen, L. and Harrison, L.J. 1998. Triterpenoids and xanthone consitutents of *Cratoxylum cochinchinenes*. **Phytochemistry.** 50: 471-476.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry.** 13: 572–584.

Hernandes, H., Mendiola, J., Torress, D., Garrifo, N. And Perez, N. 1990. Effect of aqueous extracts of *Artemisia* on the in vitro culture of *Plasmodium falciparum*. **Fitoterpia.** 61(6): 540-541.

Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53: 1841-1856.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. **Food Chemistry.** 83: 547-550.

Joubert, E., Winterton, P., Britz, T.J., and Ferreira, D. 2004. Superoxide anion and 2,2 –diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging capacity of rooibos (*Aspalathus linearis*) aqueous extracts, crude phenolics fractions, tannin and flavonoids. **Food Research International.** 37: 33–138.

Keawpeadub, N., Dej-adisai, S. and Yuenyongsawad, S. 2005. Antioxidant and cytotoxic activities for Thai medicinal plants named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Coscinium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

blumeanum and *Fibraurea tinctoria*. **Songklanakarin Journal of Science and Technology.** 27(Suppl.): 455-467.

Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plants extracts for antioxidant capacity and total phenols. **Food Chemistry.** 94: 550-557.

Katsube, T., Tabata, H., Ohta, Y., Yamasaki, Y., Anuurad, E., Shiwaku, K. and Yamane, Y. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plants products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 52: 2391-2396.

Katsube, T., Tsurunaga Y., Sugiyama, M. Furuno, T. and Yamasaki, Y. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of phenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chemistry.** 113: 964-969.

Kaur, C., and Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables –the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology.** 36: 703–725.

Kaur, C., and Kapoor, H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology.** 37: 153–161.

Kubola, J. and Siriamornpun, S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. **Food Chemistry.** 110: 881-890.

Kwok, B.H.L., Hu, C., Durance, T. and Kitts, D.D. 2004. Dehydration techniques affect phytochemical contents and free radical scavenging activities of Saskatoon berries. **Journal of Food Science.** 69: 122-126.

Larson, R.A. 1988. The antioxidant of higher plants. **Phytochemistry.** 27: 969-978.

Lemmens, R.H.M.J. and Bunyapraphatsara, N. (Editors.) 2003. Plant resources of South-East Asia No.12(3) : Medicinal and poisonous plants 3. Bogor. Indonesia. 664 pp.

Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W. and Chen, F. 2008. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT-Food science and technology.** 41: 385-390.

Li, W., Pickard, M.D. and Beta, T. 2007. Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran. **Food Chemistry.** 104: 1080-1086.

Lim, Y.Y., and Murtijaya, J. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. **LWT-Food science and technology.** 40: 1664–1669.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liu, H., Qiu., N., Ding, H. and Yao. R. 2008. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. **Food Research International.** 41: 363-370.

Liyana-Pathirana, C. and Shahidi, F. 2005. Optimization of extraction of phenolics compounds from wheat using response surface methodology. Food Chemistry. 93: 45-56.

Llobera, A. and Cañellas, J. 2007. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Nergo red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry.** 101: 659-666.

Mahabusarakam, W., Nuangnaowarat, W. and Taylor,W.C. 2006. Xanthone derivatives from *Cratoxylum cochinchinenes* roots. **Phytochemistry.** 67: 470-474.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. 2007a. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry.** 100: 1409–1418.

Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R and Gordon M.H. 2007b. Characterization of phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). **Food Chemistry.** 100: 1620–1629.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S. and Ritthiruangdej, P. 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. **Journal of Food Composition and Analysis.** 21: 229-240.

Mantle, D., Eddeb, F. and Pickering, A.T. 2000. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. **Journal of Ethnopharmacology.** 72: 47-51.

Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C. and Lerici, C.R. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Technology.** 11: 340-346.

Marshall, M.R., Kim, J. and Wei, C.-I. 2000. Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods. [online.]. available : http://www.fao.org/ag/Ags/agsi/ENZYMEFINAL/ Enzymatic% 20 Browning.html. (Accessed 25 March 2009).

Masuda, T, Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T. and Andoh, T. 1999. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 47: 1749-1754.

Matkowski, A. 2009. Plant in vitro culture for the production of antioxidants—A review. **Biotechnology Advances.** 26: 548-560.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

McDonald, R.E., and Hultin, H.O. 1987. Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation systems in the microsomal fraction of flounder muscle. **Journal of Food Science.** 52: 15–21.

Meddleton, E. and Kandaswami, C. 1994. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implication for immunity, inflammation and cancer. *In* Harborn, J.B. (Editor.) The flavonoids advances in research science. London. UK. Chapman and Hall. 619-620 pp.

Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evan, C., Davis, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science.** 84: 407-412.

Moon, J.-K. and Shibamoto, T. 2009. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 57: 1655-1666.

Mosby's Medical Dictionary. 2009. antioxidant. [online.]. available : http://medical-dictionary. thefreedictionary.com/antioxidant. (Accessed 16 April 2009).

Nair, M.S., Gopal, S. and Issac, D. 1997. Opitimised isolation procedure for biologically active compounds nimbolide and 28-deoxonimbolide from *Azadirachta indica* leaves. **Phytochemistry.** 46: 1177-1178.

Nantitanon,W., Yotsawimonwat, S. and Okonogi, S. 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. LWT-Food Science and Technology. 43: 1095-1103.

Nicoli, M., Anese, M. and Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruits and vegetables. **Trend in Food Science and Technology.** 10: 94-100.

Oboh, G. 2005. Effect of blanching on the antioxidant properties of tropical green leafy vegetables. LWT-Food Science and Technology. 38: 513-517.

Oksman-Caldentey, K.M. and Inźe, D. 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. **Trends in Plant Science.** 9: 433-440.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M.E., Serrano, J., Goňi, I. and Saura-Calixto, F. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food research International.** 41: 274-285

Pietta, P.-G. 2000. Flavonoids as antioxidants—Reviews. **Journal of Natural Products.** 63: 1035-1042.

Pietta, P.G., Simonetti, P. and Mauri, P., 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46 : 4487–4490.

Piga, A., Del Caro, A. and Corda, G. 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 51: 3675-3681.

Pilarski, R. , Zieli´nski, H., Ciesiolka, D., and Gulewicz , K. 2006. Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of Ethnopharmacology.** 104 : 18–23.

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53(10): 4290-4302.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. **Free Radical Biology and Medicine.** 20: 933-956.

Rocha-Guzmán, N.E., Gallegos-Infante, A., González-Laredo, R.F., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Garcia-Gasca, T., Rodríguez-Muñoz, M.E., Guzmán-Maldonado, S.H., Medina-Torres, L., Lujan-García, B.A. 2009. Antioxidant activity and genotoxic effect on HeLa cells of phenolic compounds from infusions of *Quercus resinosa* leaves. **Food Chemistry.** 115: 1320-1325.

Roy, M.K., Takenaka, M., Isobe, S., and Tsushida, T. 2007. Antioxidant potential, anti-proliferative, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. **Food Chemistry.** 103: 106-114.

Saralamp, P. and Chuakul, W. 2000. Encyclopadia of medicinal plants vol.4: Kok Ya E-sarn (Medicinal plants of the Northeast in Thai). Bangkok. 159 pp.

Sasef, M.S.M., Hong, L.T. and Prawirohatmodjo, S. (Editors.) 1998. Plant resources of South-East Asia No.5(3) : Timber trees : Lesser known timber. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 859 pp.

Seeram, N.P. and Nair, M.G. 2002. Inhibition of lipid peroxidation and structure—activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 50: 5308-5312.

Siemonsma, J.S., and Piluek, K. (Editors.) 1994. Plant resources of South-East Asia No. 8 : Vegetables. Bogor. Indonesia. 412 pp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Siddiqui, B.S., Ghiasuddin Faizi, S. and Siddiqui, S. 1992. Triterpenoids from the fresh fruit coats of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry.** 31: 4275-4278.

Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F. and Larondelle, Y. 2007. Antioxidant activities and phenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry.** 101: 1012-1018.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology.** 299: 152-177.

Sithisarn, P., Carlsen, C.U., Andersen, M.L., Gritsanapan, W. and Skibated, L.H. 2007. Antioxidative effects of leaves from *Azadirachta* of different provenience. **Food Chemistry.** 104: 1539-1549.

Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications, Technomic Pub. Co. Basel. Switzerland. 331 pp.

Sribusarakum, A., Bunyapraphatsara, N., Vajragupta, O. and Watanabe, H. 2004. Antioxidant activity of *Limnophila aromatica* Merr. Thai **Journal of Phytopharmacy.** 11(2): 11-17.

Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Duan, X. and Chen, F. 2007. Polyphenolic profile and antioxidants activities of Oolong tea infusion under various steeping conditions. **International Journal of Molecular Sciences.** 8: 1196-1205.

Suksamrarn, A., Poomsing, P., Aroonrerk, N., Punjanon, T., Suksamrarn, S. and Kongkun, S. 2003. Antimycobacterial and antioxidant flavones from *Limnophila geoffrayi*. **Archives of Pharmacal Research.** 26(10): 816-820.

Surveswaran, S., Cai, Y.-Z., Corke, H. and Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry.** 102: 938-953.

Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y. and Tsuji, K. 2002. An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. **Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi.** 49: 507–511.

Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J.-O. and Dommes, J. 2007. Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and stability during storage. **Food Chemistry.** 105: 1268-1275.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.-O. and Dommes, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry.** 113: 1226-1233.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. **Food Chemistry.** 104: 1372-1378.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis.** 19 : 669–675.

Thongdon, J. and Inprakhon, P. 2009. Composition and biological of essential oils from *Limnophila geoffrayi* Bonati. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.** [online.]. available : http://www.springerlink.com/content/p60358627537046k/ fulltext.pdf (Accessed 25 April 2009).

van der Vossen, H.A.M. and Wessel, M. (Editors.) 1999. Plant resources of South-East Asia No.16 : Stimulants. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 201 pp.

van Valkenburg, J.L.C.H. and Bunyapraphatsara, N. (Editors.) 2001. Plant resources of South-East Asia No.12(2) : Medicinal and poisonous plants 2. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 782 pp.

Vinha, A.F., Ferreres, F., Silva, B.M., Valantão, P., Gonçalves, A., Pereira, J., Oliveira, M.B., Seabra, R.M. and Andrade, P.B. 2005. Phenolic profiles of Protuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. **Food Chemistry.** 89: 561-568.

Vogel, H., Gonz´alez, M., Faini, F., Razmilic, L., Jaime Rodr´ıguez, J., Mart, J.S., and Urbinag, F. 2005. Antioxidant properties and TLC characterization of four Chilean *Haplopappus*-species known as bailahu´en. **Journal of Ethnopharmacology.** 97: 97–100.

Witzell, J., Gref, R. and Näsholm, T. 2003. Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtillus*) plants. **Biochemical Systematics and Ecology.** 31: 115-127.

Wojdyło, A., Oszmiański, J. and Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry.** 105: 940-949.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wojdyło, A., Figiel, A. and Oszmiański, J. 2009. Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 57: 1337-1343.

Wong, S.P., Leong, L.P. and Koh, J.H.W. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. **Food Chemistry.** 99: 775-783.

Wu, C.-R., Huang, M.-Y., Lin, Y.-T., Ju, H.-Y. and Ching, H. 2007. Antioxidant properties of *Cortex Fraxini* and its simple coumarins. **Food Chemistry.** 104: 1464-1471.

Yamamoto, T., Juneja, L.R., Chu, D.C. and Kim, M. (Editors.) 1997. Chemistry and applications of green tea. CRC Press. New York. 176 pp.

Yawadio Nsimba, R., Kikuzaki, H. and Konishi, Y. 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* ssp. seeds. **Food Chemistry.** 106: 760-766.

Yoshida, T., Chou, T. Nitta, A. and Okuda, T. 1991. Tannins and related polyphenols of theaceous plants. IV. monomeric and dimeric hydrolyzable tannins having a dilactonized valoneoyl group from *Schima wallichii* KORTH. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin.** 39(9): 2247-2251.

Yu, J., Wang, L., Walzem, R.L., Miller, E.G., Pike, L.M. and Patil, B.S. 2005. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids and coumarins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 53: 2009-2014.

Zheng, W. and Wang, S.Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compound in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 49: 5165-5170.

Zhou, K. and Yu, L. 2004. Antioxidant properties of bran extracts from Trego wheat grown at different location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 52: 1112-1117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

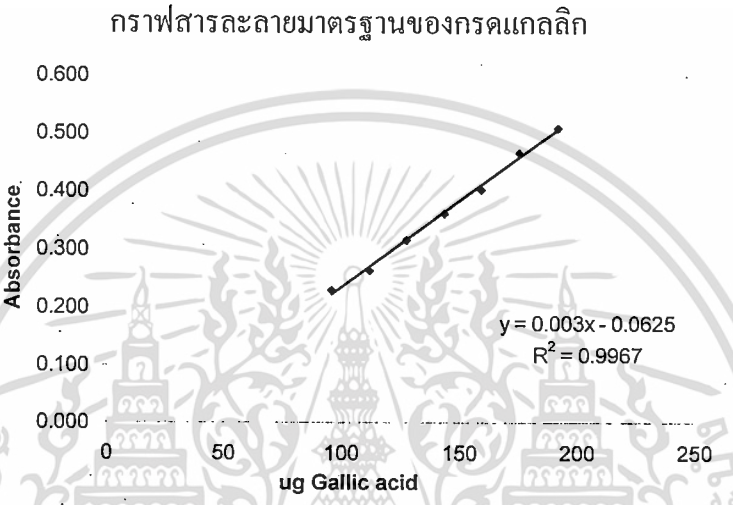
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

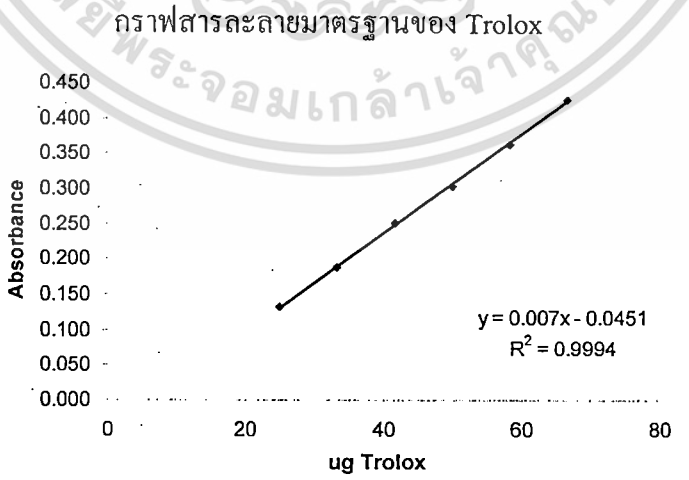
กราฟมาตรฐาน

1. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)



ภาพที่ ก1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิก ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.003x

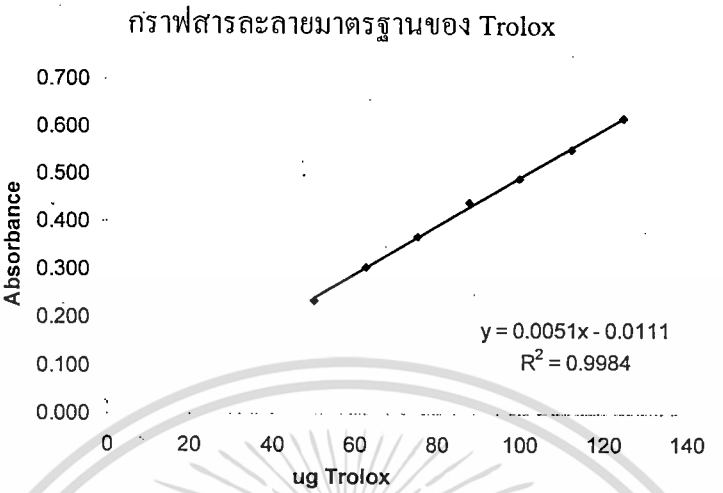
2. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)



ภาพที่ ก2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.007x

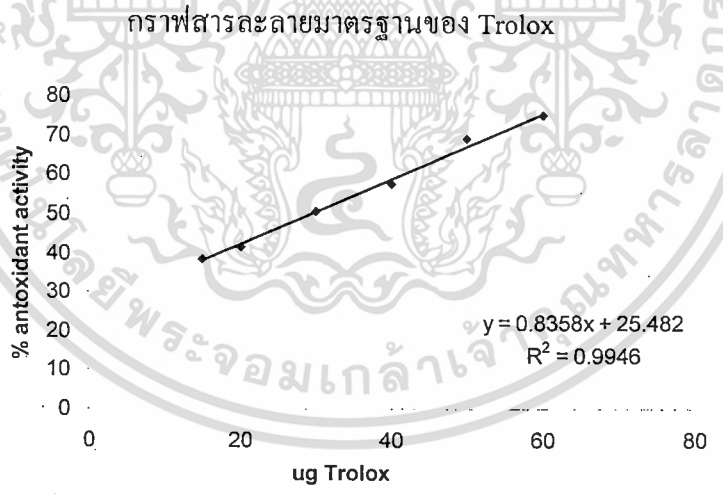
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด (FRAP)



ภาพที่ ก3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.0051x

4. ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS



ภาพที่ ก4 ความสัมพันธ์ระหว่าง % antioxidant activity กับปริมาณ Trolox ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 0.8358x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณปริมาณสารที่พบในตัวอย่างโดยใช้กราฟสารละลายมาตรฐาน สามารถทำได้ดังนี้

1) การคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

$$\text{ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (μg/g wet basis)} = \frac{\text{Total dilution factor} \times A}{m \times \text{น้ำหนักพืชตัวอย่าง}}$$

หมายเหตุ m คือ ค่าความชันของกราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดพืช

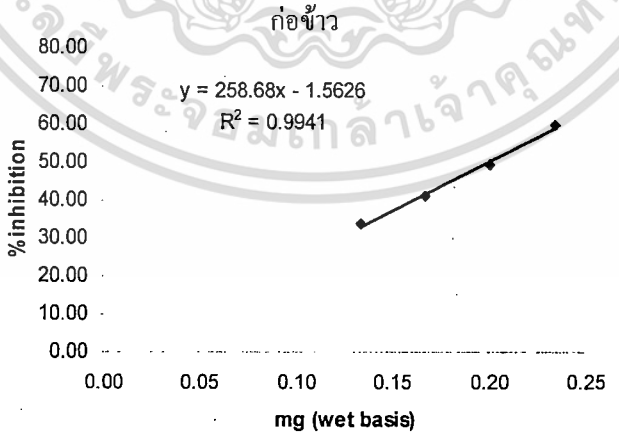
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างต่อน้ำหนักแห้ง คำนวณจาก

$$\text{ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด} = \frac{\text{μg/g wet basis}}{1 - (\%\ MC/100)}$$

หมายเหตุ % MC หมายถึง เปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TEAC, FRAP และ TBARS สามารถคำนวณได้เช่นเดียวกับการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กราฟสารละลายมาตรฐานที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละวิธีสำหรับการคำนวณ

2) การคำนวณค่า EC_{50}



ภาพที่ ก5 ความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับปริมาณสารสกัดก่อข้าว ได้เป็นสมการเส้นตรง y = 258.68x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณค่า EC_{50} ของก่อข้าว

$$y = 258.68x$$

$$50 = 258.68x$$

$$= 0.1933 \text{ mg (wet basis)}$$

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระต่อน้ำหนักแห้ง คำนวณจาก

$$= g \text{ (wet basis)} \times \frac{(100 - \%M.C.)}{100}$$

$$= 0.1933 \times 0.379 \text{ mg (dry basis)}$$

$$= 0.0733 \text{ mg (dry basis)}$$

คำนวณส่วนกลับของค่า EC_{50}

$$= 1/0.0733$$

$$= 13.64 \text{ mg (dry basis)}^{-1}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายมาตรฐานและรีเอเจนต์ทดสอบ

1. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ชั่งกรดแกลลิก 0.02 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)

ชั่ง Trolox 0.025 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่มีความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

4. สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl radical (DPPH)

ชั่ง DPPH 0.0078 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์

5. สารละลาย 2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

ชั่ง ABTS 0.2742 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำสารละลาย ABTS ที่ได้มาเติมแมงกานีสไดออกไซด์ 2 กรัม คนผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วกรองซ้ำอีกครั้งด้วยตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอน จะได้สารละลาย $ABTS^{+}$ ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

ก่อนทำการวิเคราะห์ให้เจือจางสารละลาย $ABTS^{+}$ ด้วยน้ำกลั่น ให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร อยู่ในช่วง 0.700 ± 0.020 และควรเตรียมสารละลาย $ABTS^{+}$ ใหม่ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. สารละลาย Ferric reducing/antioxidant power (FRAP)

1) เตรียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ (pH= 3.6)

ชั่งโซเดียมอะซิเตต 3.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น เติมกรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid) 16 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2) เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3.31 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3) เตรียมสารละลาย FRAP

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.1082 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine (TPTZ) 0.0624 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายทั้งสองมาผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (หรือในอัตราส่วน 1:1:10) จะได้สารละลาย FRAP ปริมาตร 240 มิลลิลิตร ควรเตรียมสารละลาย FRAP ใหม่ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

7. การทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน

1) เตรียมอิมัลชันของกรดไขมันลิโนเลอิก 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดไขมันลิโนเลอิก 0.5 กรัม เติม Tween 40 จำนวน 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลาย TCA-TBA-HCl

ชั่งกรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid, TCA) 15 กรัม และกรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid, TBA) 0.375 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 จะได้สารละลาย TCA-TBA-HCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้