การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากต้นหางนกยูงฝรั่ง *Delonix regia*
Evaluation of Bioactivities of *Delonix regia* Extracts

สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
Suttijit Sriwatcharakul
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วันที่ส่ง : 25 พฤษภาคม 2561 วันที่แก้ไข : 5 มิถุนายน 2561 วันที่ตอบรับ : 22 มิถุนายน 2561

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่ง (*Delonix regia)* จากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี และสุรินทร์ ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสารสกัดที่ได้มาทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichea coli* ATCC 25922*, Bacillus subtilis* ATCC 6633*, Micrococcus luteus* ATCC 9341*, Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 โดยใช้เทคนิค agar disc diffusion ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการและกาญจนบุรี และสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการและกาญจนบุรีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 5 ชนิด จึงนำสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดมาทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) พบว่า สารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรีมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด โดย *E. coli* มีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *B. subtilis, M. luteus, S. aureus* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดมาวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดดอกและใบจากจังหวัดสมุทรปราการมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 50 และ 105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดทั้งหมดมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับปริมาณกรดแกลลิก ผลปรากฏว่าสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากทุกแหล่งปลูก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากใบ โดยสารสกัดดอกจากจังหวัดชลบุรีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเทียบเท่ากับ 200 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด จากการทดลองพบว่า สารสกัดใบหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดชลบุรีมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดสมุทรปราการมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากดอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากใบ

คำสำคัญ : หางนกยูงฝรั่ง ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

---

*ที่อยู่ติดต่อ, โทรศัพท์ (02)329-8000-8099 ต่อ 6267 E-mail address: suttijit.sr@kmitl.ac.th

Abstract

The bioactivity studied of ethanolic extracts from flower and leaves of flame tree; *Delonix regia* were collected from 4 provinces; Chon Buri, Samut Prakarn, Kanchanaburi and Surin. Firstly the extracts were tested antibacterial activity with *Escherichea coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Preliminary were tested at 50 mg/ml with agar disc diffusion technique, the result showed that leaf extracts from Chonburi, Samut Prakarn and Kanchanaburi and flower extracts from Samut Prakarn and Kanchanaburi province could inhibited all tested bacterial species. Five extracts were collected to search the minimum inhibitory concentration (MIC) of bacterial species and the result revealed that the minimum concentration of leaf extract from Chonburi could inhibited all five bacterial species. Then, all extracts were analyzed for the efficacy of free radical scavenging by using DPPH radical scavenging assay. Both flower and leaf extracts from Samut Prakarn indicated the strongest reduction of free radical of the extracts with IC_{50} at 50 and 105 mg/ml, respectively. Finally, the extracts were evaluated total phenolic contents revealed that flower extract from Chon Buri had the highest content by 200 mg GAE/g extract.

Keywords : *Delonix regia,* antibacterial, antioxidant

1. บทนำ

ต้นหางนกยูงฝรั่ง *(Delonix regia)* จัดอยู่ในวงศ์ LEGUMINOSAE-CAESALPINOIDEAE เป็นไม้ยืนต้นพบได้ทั่วไปในประเทศไทย มักนิยมใช้เป็นไม้ประดับ [1,2] โดยพบว่าในอดีตมีการนำมาส่วนต่างๆ ของต้นหางนกยูงฝรั่งมาใช้เป็นพืชสมุนไพร โดยรากใช้สำหรับบำรุงโลหิตและขับประจำเดือน แก้อาการบวมจากวัณโรค ลำต้น ใบ และก้าน ใช้แก้พิษร้อน แก้ไข้ และถอนพิษจากแมลงต่างๆ ดอกนำมาตากแห้งชงกับน้ำร้อนใช้บรรเทาอาการอักเสบและช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น [3] นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าในดอกหางนกยูงฝรั่งนั้นมีแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ฟลาโวนอล (flavonol) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) รูทีน (rutine) และกรดแกลลิก (gallic acid) ในปริมาณที่สูง [4] ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มีคุณสมบัติในการชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้นในร่างกาย โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันคือเป็นสารต้านออกซิเดชัน และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) และการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่าง

รวดเร็ว [5] ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ จึงทำการคัดเลือกดอกและใบจากต้นหางนกยูงฝรั่งซึ่งนิยมใช้เป็นเพียงไม้ประดับที่พบได้ทั่วไป จาก 4 จังหวัดในประเทศไทย ได้แก่ ชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี และสุรินทร์ มาทำการสกัดสารชีวภาพ เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดสอบจะเป็นข้อมูลเพิ่มเติม มีการทดสอบทางวิทยาศาสตร์เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการเลือกใช้พืชเป็นยาสมุนไพร เป็นการเพิ่มคุณค่าในพืชให้เกิดขึ้นและยังเป็นการส่งเสริมให้เกิดการดูแลสุขภาพเบื้องต้นด้วยพืชใกล้ตัวอีกทางหนึ่ง

2. วิธีการทดลอง

2.1 การสกัดสารจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่ง

หลังจากเก็บตัวอย่างของต้นหางนกยูงฝรั่งมาจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี และสุรินทร์ ทำการแยกส่วนดอกและใบ นำมาตากให้แห้งในที่ร่ม แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง เพื่อลดความชื้นและหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด แล้วทำการชั่งน้ำหนัก 100 กรัม ใส่ในลงเอทานอล 95% ปริมาตร 900 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 7 วัน ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดส่วนใสที่ผ่านการกรองแล้วไปทำให้เข้มข้นขึ้น โดยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่ง นำไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar disc diffusion

นำสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่ง มาทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นกับเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Escherichea coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 โดยมีวิธีการทดสอบ คือ เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) นำเชื้อที่ใช้มาปรับให้มีความขุ่นเท่ากับมาตรฐาน McFarland 0.5 นำไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในสารแขวนลอยที่เจือจางไว้และทา (swab) ลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง จากนั้นนำสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้น 3.125 6.25 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบ และทิ้งไว้ให้แห้ง แล้ววางแผ่นทดสอบลงบนผิวหน้าของอาหารที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ โดยใช้เอทานอล 95% เป็นกลุ่มควบคุมเชิงลบ (negative control) และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (gentamicin) เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก (positive control) จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบแต่ละชนิด

2.3 การทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

ทำการเจือจางสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่งด้วยเอทานอล 99.99%ให้ได้ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 0.1875 0.375 0.75 1.5 3 6 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาทดสอบกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล โดยในส่วนของสารมาตรฐานวิตามินอี (α-tocopherol) ทำการเจือจางด้วยเอทานอล 99.99% ให้ได้ความเข้มข้น 8 ระดับ ได้แก่ 0.39 0.78 1.56 3.125 6.25

12.5 25 และ 50 ไมโครโมล แล้วนำสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่งในแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม (96-well plate) และหยดสารละลาย DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตรตามลงไป นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมีเอทานอล 99.99% เป็น blank นำผลที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ โดยทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ [6]

เปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging) คำนวณได้จากสมการ (1)

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{(A_{517\ control} - A_{517\ test\ sample}) \times 100}{A_{517\ control}} \quad (1)$$

$A_{517\ control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากการบ่ม

$A_{517\ test\ sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่นำมาทดสอบ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากการบ่ม

สำหรับการประเมินค่า IC_{50} ของสารที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับ % radical scavenging ที่ได้จากการคำนวณ จากนั้นวิเคราะห์ค่า IC_{50} จากกราฟ

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ

ใส่สารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่งความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 80 ไมโครลิตร บ่มไว้ 30 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดในสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่งเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยแสดงผลเทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด [7]

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) แบบ Compare Means จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดจากพืช

นำสารสกัดจากดอกและใบของต้นหางนกยูงฝรั่งมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *E. coli, B. subtilis, M. luteus, S. aureus* และ *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสมุทรปราการสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 5 ชนิด ขณะที่สารสกัดดอกจากจังหวัดสุรินทร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

ได้ 4 ชนิด คือ *E. coli, B. subtilis, M. luteus* และ *S. aureus* และสารสกัดดอกจากจังหวัดชลบุรีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียง 3 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis, M. luteus* และ *S. aureus* สำหรับสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี จังหวัดสมุทรปราการ และจังหวัดกาญจนบุรีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 5 ชนิด ขณะที่สารสกัดใบจากจังหวัดสุรินทร์ สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียง 3 ชนิดเท่านั้น คือ *B. Subtilis, S. aureus* และ *P. aeruginosa* ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ของสารสกัดดอกและใบหางนกยูงฝรั่งจากแหล่งที่แตกต่างกัน ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหางนกยูงฝรั่ง	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)				
	E. coli	*B. subtillis*	*M. luteus*	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
สารสกัดจากดอก					
ชลบุรี	6.00±0.00 ^{f}	7.32±0.39 ^{f}	11.10±0.90 ^{f}	8.30±0.63 ^{e}	6.00±0.00 ^{g}
สมุทรปราการ	7.83±1.61 ^{e}	12.78±0.36 ^{d}	7.70±1.49 ^{g}	20.33±1.53 ^{b}	17.20±0.27 ^{c}
กาญจนบุรี	8.48±0.53 ^{e}	14.80±0.46 ^{c}	17.20±1.99 ^{e}	14.33±0.58 ^{d}	13.00±0.50 ^{e}
สุรินทร์	7.57±0.40 ^{e}	8.95±0.18 ^{e}	6.67±1.16 ^{g}	8.35±0.99 ^{e}	6.00±0.00 ^{g}
สารสกัดจากใบ					
ชลบุรี	13.56±1.49 ^{c}	13.37±0.35 ^{d}	30.73±0.32 ^{a}	22.30±1.13 ^{a}	21.23±1.08 ^{b}
สมุทรปราการ	11.50±1.14 ^{d}	15.20±2.10 ^{c}	23.50±2.23 ^{c}	18.27±0.75 ^{c}	15.20±0.27 ^{d}
กาญจนบุรี	15.13±0.81 ^{b}	19.87±1.63 ^{a}	26.97±1.85 ^{b}	19.77±1.37 ^{b}	16.03±0.06 ^{c}
สุรินทร์	6.00±0.00 ^{f}	7.43±1.24 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}	8.57±0.60 ^{e}	7.13±0.32 ^{f}
ชุดควบคุม					
เจนตามัยซิน	17.10±0.31 ^{a}	17.38±0.18 ^{b}	21.40±0.18 ^{d}	18.50±0.18 ^{c}	24.23±0.18 ^{a}
เอทานอล 95%	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}	6.00±0.00 ^{g}	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวสดมภ์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95%

จากการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการและกาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการและกาญจนบุรี สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *E. coli, B. subtilis, M. luteus, S. aureus* และ *P. aeruginosa* จึงนำสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดมาทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ได้ผลดังตารางที่ 2

เมื่อนำสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการและกาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการและกาญจนบุรี มาทำการหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ กาญจนบุรี และ

ตารางที่ 2. แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ของสารสกัดดอกและใบจากต้นหางนกยูงฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดจากดอก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)				
	E. coli	*B. subtillis*	*M. luteus*	*S. aureus*	*P. aeruginosa*
สมุทรปราการ					
3.125	6.00±0.00 ^{f}	9.23±0.25 ^{e}	8.67±0.15 ^{ef}	7.23±0.25 ^{fg}	6.00 ±0.00 ^{g}
6.25	6.73±0.64 ^{f}	9.77±0.25 ^{cd}	9.33±0.29 ^{e}	8.67±0.35 ^{f}	7.10±0.06 ^{fg}
12.5	7.90±0.36 ^{e}	10.50±0.50 ^{c}	10.43±0.40 ^{de}	10.47±0.45 ^{ef}	9.50±0.30 ^{e}
25	9.17±0.29 ^{cd}	11.40±0.53 ^{bc}	11.10±0.06 ^{de}	13.43±0.40 ^{d}	10.70±0.61 ^{de}
50	11.70±0.61 ^{bc}	12.13±0.32 ^{bc}	12.33±0.72 ^{d}	19.07±0.49 ^{b}	13.53±0.55 ^{cd}
กาญจนบุรี					
3.125	6.00±0.00 ^{f}	8.17±0.29 ^{ef}	8.00±0.10 ^{ef}	8.07±0.06 ^{fg}	7.43±0.21 ^{f}
6.25	6.00±0.00 ^{f}	9.07±0.06 ^{cd}	9.83±0.47 ^{e}	11.10±0.10 ^{e}	9.27±0.50 ^{e}
12.5	9.00±0.20 ^{cd}	10.33±0.35 ^{c}	13.37±0.64 ^{cd}	14.80±0.47 ^{d}	10.30±0.61 ^{de}
25	15.00±1.00 ^{ab}	11.30±0.46 ^{bc}	14.17±0.76 ^{c}	15.93±0.21 ^{c}	11.73±1.10 ^{d}
50	17.33±1.528 ^{a}	12.80±0.36 ^{bc}	16.50±1.53 ^{b}	19.37±1.10 ^{b}	15.93±1.07 ^{c}
สารสกัดจากใบ					
ชลบุรี					
3.125	6.00±0.00 ^{f}	6.80±0.10 ^{f}	8.37±0.40 ^{ef}	9.00±0.20 ^{f}	7.33±0.15 ^{f}
6.25	7.07±0.12 ^{e}	9.07±0.21 ^{e}	11.33±0.61 ^{de}	11.50±0.50 ^{e}	9.07±0.12 ^{e}
12.5	8.33±0.15 ^{d}	10.97±0.15 ^{d}	12.73±0.64 ^{d}	15.77±0.25 ^{d}	11.20±0.20 ^{d}
25	9.83±0.76 ^{cd}	12.40±0.53 ^{bc}	14.87±1.01 ^{c}	19.83±0.57 ^{c}	13.77±0.25 ^{c}
50	12.97±0.25 ^{b}	16.77±0.25 ^{a}	19.57±1.40 ^{a}	28.77±2.46 ^{a}	19.33±2.08 ^{b}
สมุทรปราการ					
3.125	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{f}	7.57±1.37 ^{f}	10.03±0.15 ^{ef}	7.80±0.27 ^{f}
6.25	6.00±0.00 ^{f}	7.33±0.15 ^{ef}	9.23±0.25 ^{e}	10.67±0.42 ^{ef}	9.17±0.15 ^{e}
12.5	6.00±0.00 ^{f}	8.13±0.15 ^{ef}	10.17±0.29 ^{de}	16.30±1.57 ^{c}	11.23±0.25 ^{d}
25	8.67±0.15 ^{d}	9.23±0.25 ^{e}	11.93±0.51 ^{d}	19.23±2.63 ^{b}	14.23±0.25 ^{c}
50	16.77±0.25 ^{a}	15.23±1.00 ^{ab}	14.57±0.60 ^{c}	25.27±2.11 ^{a}	18.23±1.72 ^{b}
กาญจนบุรี					
3.125	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}	7.33±0.15 ^{fg}	6.00±0.00 ^{g}
6.25	7.97±0.15 ^{e}	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}	9.17±0.15 ^{f}	6.00±0.60 ^{g}
12.5	10.03±0.15 ^{cd}	7.00±0.10 ^{ef}	7.47±0.25 ^{f}	11.20±0.27 ^{e}	10.27±0.25 ^{de}
25	10.97±0.15 ^{c}	9.30±0.10 ^{e}	9.23±0.25 ^{e}	12.40±0.36 ^{d}	12.97±0.68 ^{cd}
50	12.23±0.25 ^{bc}	11.00±0.20 ^{d}	11.60±0.53 ^{d}	13.90±0.56 ^{d}	15.17±1.26 ^{c}
ชุดควบคุม					
เจนตามัยซิน	17.07±0.64 ^{a}	15.80±0.58 ^{ab}	19.00±0.31 ^{a}	26.73±0.82 ^{a}	23.40±0.35 ^{a}
เอทานอล 95%	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{f}	6.00±0.00 ^{g}	6.00±0.00 ^{g}	6.00±0.00 ^{g}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวสดมภ์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95%

สารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี มีค่าเท่ากับ 6.25 12.5 6.25 25 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ กาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี มีค่าเท่ากับ 3.125 3.125 3.125 6.25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด ในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ กาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี มีค่าเท่ากับ 3.125 3.125 3.125 3.125 และ12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ กาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารสกัดทุกชนิด และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ กาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ กาญจนบุรี มีค่าเท่ากับ 6.25 3.125 3.125 3.125 และ12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยสารสกัดทั้ง 5 ชนิด คือ สารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการและกาญจนบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรี สมุทรปราการ และกาญจนบุรี พบว่า สารสกัดใบจากจังหวัดชลบุรีมีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้งหมด รองลงมาคือ สารสกัดดอกและใบจากจังหวัดกาญจนบุรี และสารสกัดดอกจากจังหวัดสมุทรปราการ มีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 4 ชนิด ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดใบจากจังหวัดสมุทรปราการ สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียง 1 ชนิด ซึ่งผลจากการทดลองนี้ให้ผลดีกว่าการทดลองของ Ghulam และคณะ [8] ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากดอก ใบ และเปลือกของต้นหางนกยูงฝรั่งในประเทศปากีสถานที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อพิจารณาผลของสารสกัดใบด้วยเอทานอล 80% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากดอกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ 41 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ในการทดลองครั้งนี้สารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดกาญจนบุรีสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดสมุทรปราการในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในส่วนของสารสกัดจากใบหางนกยูงฝรั่ง Ghulam และคณะรายงานว่ามีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* และ *E. coli* เท่ากับ 30 และ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่การทดลองนี้พบว่าสารสกัดใบหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดชลบุรีและกาญจนบุรีมีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* และเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 3.125 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากใบและดอกหางนกยูงฝรั่งจากการทดลองนี้ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ดีกว่าการทดลองของ Ghulam และคณะ

3.2 ผลการทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging assay

เมื่อนำสารสกัดดอกและใบหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดต่างๆ มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH radical scavenging assay) เมื่อวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่งให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1875 0.375 0.75 1.5 3.0 6.0 และ12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดสมุทรปราการมีฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 46.25% รองลงมาคือสารสกัดดอกจากจังหวัดกาญจนบุรี ชลบุรี และสุรินทร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 32.91 32.54 และ 30.9% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดใบหางนกยูงฝรั่งจากจังหวัดสมุทรปราการมีฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 40.95% รองลงมาคือสารสกัดใบจากจังหวัดกาญจนบุรี สุรินทร์ และชลบุรี ซึ่งมีค่าเท่ากับ 32.36 29.8 และ 27.97% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} พบว่า สารสกัดดอกและใบจากจังหวัดสมุทรปราการมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 50 และ 105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3. แสดงเปอร์เซนต์ของค่าดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆ

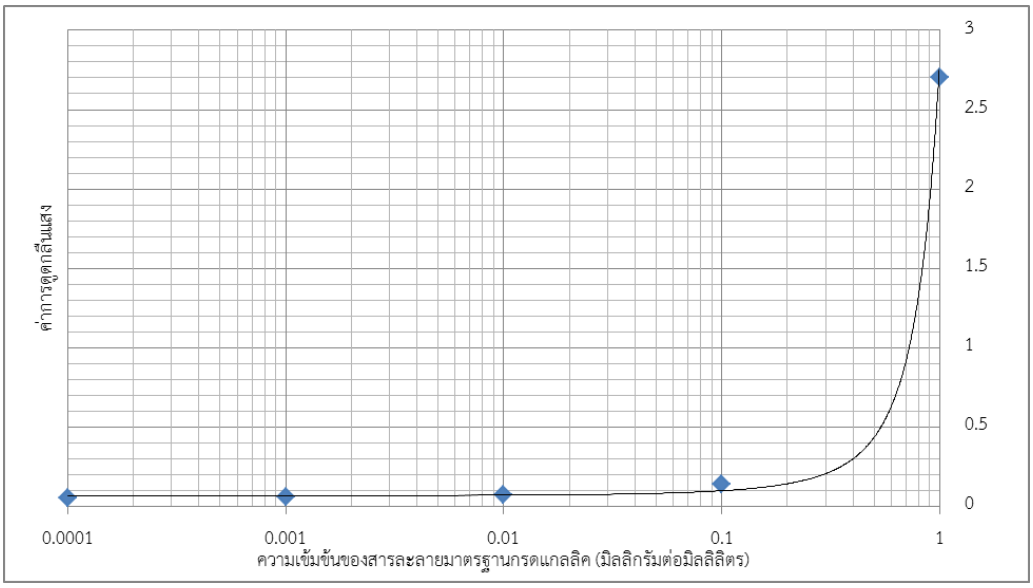
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	% DPPH reduction							
	ชลบุรี		สมุทรปราการ		กาญจนบุรี		สุรินทร์	
	ดอก	ใบ	ดอก	ใบ	ดอก	ใบ	ดอก	ใบ
0.1875	22.49	24.31	25.59	31.07	26.51	26.14	25.78	25.29
0.375	24.31	25.96	25.96	31.81	26.87	27.24	26.14	27.42
0.75	25.23	25.59	26.69	32.36	27.60	27.61	26.69	27.79
1.5	26.51	26.87	32.72	33.09	27.79	27.79	27.06	28.15
3.0	27.06	26.51	41.68	33.46	27.24	27.97	27.42	28.70
6.0	29.43	27.42	42.96	34.19	27.97	29.07	29.07	29.43
12.0	32.54	27.97	46.25	40.95	32.91	32.36	30.90	29.80
IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	145.37	452.04	50.21	105.00	209.55	215.09	240.71	356.72

จากการทดลองของ Ghulam และคณะ [8] ที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอก ใบ และเปลือกของต้นหางนกยูงฝรั่งในประเทศปากีสถานที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าปริมาณค่า IC_{50} ของสารสกัดดอกและใบหางนกยูงฝรั่ง มีค่าเท่ากับ 22.68 และ 16.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการทดลองในครั้งนี้ และงานทดลองของ Amabye และคณะ [9] ได้ทดสอบการดักจับอนุมูลอิสระในสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งด้วยเอทานอล 75% ในประเทศเอธิโอเปีย มีค่าเปอร์เซนต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 86% ใน 100 ไมโครลิตร

3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดของดอกและใบหางนกยูงฝรั่งจากทั้ง 4 แหล่ง ได้แก่จังหวัดชลบุรี จังหวัดสมุทรปราการ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสุรินทร์ โดยทำการทดสอบด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่งกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (รูปที่ 1) ได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 4



รูปที่ 1. กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

ตารางที่ 4. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่ง จากแหล่งต่างๆ

แหล่ง	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)	
	ดอก	ใบ
ชลบุรี	200.0	18.7
สมุทรปราการ	99.4	17.9
กาญจนบุรี	175.4	30.2
สุรินทร์	153.1	31.3

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่ง พบว่าสารสกัดจากดอกหางนกยูงฝรั่งจากทุกแหล่งปลูก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากใบ ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดักจับอนุมูลอิสระ โดยเมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} พบว่า ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากดอกหางนกยูงฝรั่งจากทุกแหล่งปลูกมีค่า IC_{50} ต่ำกว่าสารสกัดจากใบที่มาจากแหล่งเดียวกัน ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยสารสกัดดอกจากจังหวัดชลบุรีมีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดเทียบเท่ากับ 200 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดใบจาก

จังหวัดสมุทรปราการมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด เทียบเท่ากับ 17.9 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

จากการทดลองของ Shanmukha และคณะ [10] ได้ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งจากประเทศอินเดีย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งด้วยแอลกอฮอล์ 70% มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 34.44 มิลลิกรัมต่อกรัม และการทดลองของ Amabye และคณะ (2016) [9] ได้ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดดอกหางนกยูงฝรั่งด้วยเอทานอล 75% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับ 19 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากดอกหางนกยูงฝรั่งจากทั้ง 4 แหล่ง มีปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงกว่ามาก ในขณะที่การทดลองของ Ghulam และคณะ [8] ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากดอกใบ และเปลือกของต้นหางนกยูงฝรั่งในประเทศปากีสถานที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดดอกและใบหางนกยูงฝรั่ง ด้วยเอทานอล 80% มีค่าเทียบเท่ากับ 0.47 และ 0.78 กรัมของกรดแกลลิกต่อ100 กรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

4. สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า ส่วนของต้นหางนกยูงฝรั่งที่แตกต่างกัน ปลูกจากแหล่งที่ต่างกัน ทำให้มีชนิด ปริมาณสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน ดังนั้น การเลือกใช้สารสกัดจากส่วนดอกหรือใบจากแหล่งใด ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้เป็นสำคัญ ผลจากการทดลองในครั้งนี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกใช้ประโยชน์จากต้นหางนกยูงฝรั่งต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก โครงการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง (References)

[1] Smitinand, T. 2014. “Thai plant names”, The forest herbarium, Royal forest Department, Bangkok.

[2] Smitinand, T. 1980. “Thai plant names: botanical names - vernacular names”, The forest herbarium, Royal forest Department, Bangkok.

[3] PTT Public Company Limited. 1988. “HRH Princess Maha Chakri Sirindhorn Herb Garden Company”, Graphic international, Bangkok.

[4] Felix, A., Yves, F.L., Pual, L. and Emile, M.G. 2010. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Industrial Crops and Products*, 32, 439-444.

[5] Catherine, R.E., Nicholas, M. and George, P. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend in Plant Science*, 2 (4), 152-159.

[6] Prior, R.L., Wu, X and Schaixh, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agri. Food Chem*, 53, 4290-4302.

[7] Singleton, V.L, Ingleton, V.L, Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*, 3, 152-178.

[8] Ghulam, S., Farooq, A., Bushra, S., Zarar, M.K., Muhammad, A., Qaiser, M.K. and Ashrafuazzaman, M. 2011. Antioxidant and antimicrobial attributes and phenolics of different solvent extract from leaves, flowers and barks of Gold Mohar [*Delonix regia* (Boger ex HOOK.) Raf.]. *Molecules*, 16, 7302-7319.

[9] Amabye, T.G., Bezabh, A.M. and Mekonen, F. 2016. Phytochemical constituents and antioxidant activity of *Delonix regia L*. in flower extract. *J Anal Pharm Res*. 2 (1) : 00006.

[10] Shanmukha, I., Harshil, P., Jignesh, P. and Riyazunnisa. 2011. Quantification of total phenol and flavonoid content of *Delonix regia* flowers. *International Journal of ChemTech Research*, 3 (1), 280-283.