การศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากรากต่อไส้

Determination of Antioxidant Activity of Crude Extract of *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch

จิรกิตต์ สุขสบาย[1] จินดารัตน์ สายสุด[1] เขมิสรา สวัสดี[1] บุษยมาส กองแก้ว[1] รัตติยาภรณ์ จ่าหล้า[1] ธัญญลักษณ์ จรเจริญ[1]
ภาพตะวัน ทองดี[1] บงกชวรรณ พาคำวงค์[1] ฑิมพิกา พรพรม[1] นฤดล ภูศรี[1] สมจินตนา ทวีพาณิชย์[1]
กัมปนาท ฉายจรัส[1] สายสมร ลำลอง[1] ประจักกิจ ระวี[1] จิตรลดา เดชาติวงศ์[1] จิดาภา แสงสวัน[2] กาญจนา แปงจิตต์[3]
พฤทธิ์ คำศรี[4] อรดี พันธ์กว้าง[4] คมสันต์ สุทธิสินทอง[5] ประสาท กิตตะคุปต์[6,7,8] และ พรพรรณ พึ่งโพธิ์[1*]

Jirakit suksabay[1], Jindarat Saisud[1], Khemisara sawadde[1], Butsayamat kongkaew[1], Rattiyaporn Jala[1] , Tanyarak Johnjlearn[1] ,
Paptawan Thongdee[1], Bongkochawan Pakamwong[1] , Thimpika Pornprom[1] , Naruedon Phusi[1], SomjintanaTaveepanich[1],
Kampanat Chayajarus[1], Saisamorn Lumlong[1], Prajakkit Rawee[1], Jitlada Dechatiwong[1], Jidapa sangswan[2], Kanjana Pangjit[3],
Pharit Kamsri[4], Auradee Punkvang[4], Khomson Suttisintong[5], Prasat Kittakoop[6,7,8] and Pornpan Pungpo[1*]

[1]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[2]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[3]วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[4]สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครพนม
[5]ศูนย์นาโนเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
[6]สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์
[7]สถาบันบัณฑิตศึกษาจุฬาภรณ์ ราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์
[8]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมและพิษวิทยา
[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
[2]Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
[3]College of Medicine and Public Health, Ubon Ratchathani University
[4]Division of Chemistry, Faculty of Science, Nakhon Phanom University
[5]National NanoTechnology Center, National Science and Technology Development Agency (NSTDA)
[6]Chulabhorn Research Institute
[7]Chulabhorn Graduate Institute, Chemical Biology Program, Chulabhorn Royal Academy
[8]Center of Excellence on Environmental Health and Toxicology (EHT), OPS, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation
[*]E-mail: pornpan_ubu@yahoo.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของรากต่อไส้ (*Allophylus cobbe* Raeusch) แบบแช่หมักจากสารสกัดหยาบ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล แบบ Partition จากเมทานอล สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตทและบิวทานอล โดยทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity (DPPH assay) จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH บ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากรากต่อไส้แบบแช่หมักที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 95.23 เปอร์เซ็นต์และสารสกัดจากรากต่อไส้แบบ Partition จากเมทานอลสกัดด้วยบิวทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 94.42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบทั้งสองวิธีพบว่าวิธีแบบแช่หมักมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากกว่าแบบ Partition และที่สำคัญยังเป็นพื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรพื้นบ้านให้เกิดมูลค่าต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รากต่อไส้ สารสกัดหยาบ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

Abstract

The purpose of this research is to study the antioxidant activity of crude extract of roots of *Allophylus cobbe* Raeusch obtained maceration (hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol) and partition method (hexane crude extract, dichloromethane, ethyl acetate and Butanol). The antioxidant activity was determined by DPPH Radical Scavenging Activity (DPPH assay). The highest antioxidant activity is from ethyl acetate maceration (95.23% DPPH inhibition). Whereas the antioxidant activity of partitioned root extract (butanol) was 94.42% DPPH inhibition). When comparing the two methods, the maceration has better antioxidant activity than the partition method. Therefore, crude extract of root can be used for the further development of local herbs to create value.

Keywords: Antioxidant Activity, *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch Root, Crude Extraction, 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)

บทนำ

Allophylus cobbe (L.) Raeusch เป็นสกุลที่สำคัญของวงศ์ Sapindaceae ซึ่งพบขึ้นตามป่าเบญจพรรณ *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch หลายชนิด ต่อไส้เป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้น ใบมีลักษณะเป็นรูปใบมีด ผลกลมและเป็นสีแดงอมส้ม เมื่อสุกพบพืชสกุลนี้ 2 ชนิด คือ *A. cobbe* (L.) Raeusch และ *A. serratus* (Roxb.) Kurz ทั้งสองสายพันธุ์นี้มีประโยชน์ในทางการแพทย์แบบดั้งเดิมและมีการใช้ภูมิปัญญาด้านเภสัชวิทยาของคนในท้องถิ่น ใบของ *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch สามารถใช้รักษาไข้ ท้องร่วง ผื่นคัน ปวดท้องและบาดแผล (Chavan and Gaikwad; 2013 Sangsopha et al., 2020; Ankad et al., 2016) จากการศึกษาพบว่าต่อไส้มีสารเทอร์พีนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์และแคโรทีนอยด์ จึงสนใจนำมาศึกษา (Chavan and Gaikwad, 2013) เทอร์พีนอยด์ เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญประเภทหนึ่งที่มีอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยนอกจากนี้ยังมีการรายงานว่ามีการอธิบายสารประกอบมากกว่า 22,000 ชนิดในต่อไส้ ดังนั้นต่อไส้จึงมีบทบาทการทำงานที่หลากหลาย เช่นฮอร์โมน สารสีสังเคราะห์แสงและพาหะของอิเล็กตรอนตัวกลางในการประกอบโพลีแซ็กคาไรด์ และส่วนประกอบโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ (Chavan and Gaikwad, 2013) ซึ่งจากการสำรวจพบว่า ต่อไส้เป็นสมุนไพรในจังหวัดอุบลราชธานี (บังอร, 2544)

อนุมูลอิสระ (Free radical) คือ โมเลกุลที่ไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีที่มีผลต่อการทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ต่อเนื่องไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระจึงเป็นสารพิษต่อเซลล์ร่างกาย ถ้ามีมากในเซลล์ก็เป็นอันตรายได้โดยจะทำลายดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์และอื่น ๆ ในระยะสั้นอนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ ในระยะยาวที่มีผลต่อความเสื่อมหรือ การแก่ของเซลล์ ปัจจุบันผลการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศพบว่า อนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรังชนิดไม่ติดต่อหลายชนิด โดยเฉพาะโรคมะเร็ง ซึ่งเป็นสาเหตุแห่งการเสียชีวิตอันดับต้น ๆ ของคนไทยและคนทั่วโลก (โรงพยาบาลเปาโล, 2564)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้นโดยจะทำการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ ช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่าง ๆ

ในร่างกายรวมทั้งช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย ถ้าร่างกายของคนเราได้รับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระประเภทผักธัญพืชและผลไม้ และช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่าง ๆ เหล่านี้ได้ (ศรีวัฒนา, 2548)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงต้องการศึกษาคุณสมบัติสารสกัดหยาบของรากต่อไส้ในการต้านอนุมูลอิสระเพื่อทราบถึงคุณประโยชน์ที่มีอยู่ในต้นต่อไส้และเพื่อพัฒนาสมุนไพรไทยและสร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจของต่อไส้

วิธีการวิจัย

1. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

1.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดแบบแช่หมัก

บดรากต่อไส้ด้วยเครื่องบดสมุนไพรให้มีขนาดเล็ก (ประมาณ 1-2 เซนติเมตร) แสดงดังภาพที่ 1 จากนั้นชั่งตัวอย่างรากต่อไส้บดละเอียด มาประมาณ 7 กิโลกรัม นำรากต่อไส้บดละเอียดมาห่อด้วยผ้าขาวบางใส่ลงในโหลสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เฮกเซน 95% ไดคลอโรมีเทน 95% เอทิลอะซิเตท และ 95% เมทานอล ตามลำดับปริมาณ 40 ลิตร นำฟอยล์มาหุ้มและตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน นำมากรองด้วยผ้าขาวบางและนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-100) โดยอุณหภูมิที่ใช้ระเหยตัวทำละลายคือ 60% ของแต่ละตัวทำละลาย ความดัน 300 มิลลิบาร์ประมาณ 1 ชั่วโมงต่อตัวทำละลาย จะได้สารสกัดหยาบที่ระเหยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนและหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิตและเก็บสารสกัดหยาบในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียสสำหรับนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

ภาพที่ 1 รากต่อไส้หลังบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร (ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร)

1.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดแบบ liquid-liquid extraction (Partition) จากเมทานอล

นำสารสกัดหยาบรากต่อไส้จากเมทานอล 200 มิลลิลิตรและน้ำปราศจากไอออน 200 มิลลิลิตรลงในกรวยแยก จากนั้นเติมเฮกเซน 600 มิลลิลิตรเขย่ากรวยแยก 1-2 นาทีเพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างเมทานอล และเฮกเซน (MeOH-Hexane) เก็บชั้นสารละลายเฮกเซน จากนั้นสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และบิวทานอลอย่างละ 800 มิลลิลิตร ตามลำดับโดยจะได้สารสกัดเมทานอลและไดคลอโรมีเทน (MeOH-DCM) เมทานอลและเอทิลอะซิเตท (MeOH-EtOAc) และบิวทานอล (BuOH) ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดที่ Partition จากเมทานอลไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-100) โดยอุณหภูมิที่ใช้ระเหยตัวทำละลายคือ 60% ของแต่ละตัวทำละลาย ความดัน 300 มิลลิบาร์ประมาณ 1 ชั่วโมงต่อตัวทำละลายจะได้สารสกัดหยาบแบบ Partition จากเมทานอล สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และบิวทานอล บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน และหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต

1.3 เตรียมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1000 ppm

เตรียมสารตัวอย่างความเข้มข้น 1000 ppm ละลายด้วยเมทานอล (MeOH, AR grade) ปริมาตร 1.00 มิลลิกรัม ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ (Microcentrifuge tube) เก็บไว้ไม่ให้โดนแสง

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบรากต่อไส้โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของสิริเพ็ญและคณะ (2564) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6.0 x 10-2 มิลลิโมลาร์ ด้วยเมทานอล (Analytical grade) เก็บไว้ในที่มืดให้โดนแสง เตรียมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น (Stock standard solution) ของโทรล็อกซ์ (Trolox) ความเข้มข้น 1000 ppm ละลายด้วยเมทานอล (MeOH, AR grade) เก็บไว้ไม่ให้โดนแสง เตรียมสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ (Working standard solution) ของ Trolox® ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm

การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบรากต่อไส้โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity โดยปิเปตสารละลาย DPPH 6.0 X 10-2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.90 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเมทานอล Trolox หรือสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (Control) ปิเปตเมทานอล ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร ในคิวเวทท์ (cuvette) ชนิด quartz เพื่อใช้ เป็น blank วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-Visible spectroscopy นำสารละลายที่ครบ 1 ชั่วโมง แล้วมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox® ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆ ของ Trolox® กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) จะได้กราฟมาตรฐาน (Calibration curve) จากนั้นนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากสารสกัดหยาบรากต่อไส้จากสูตร

$$\%\text{DPPH Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(A_{control} - A_{standard/sample})}{A_{control}}\right] \times 100$$

เมื่อ A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH A stdard คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานและ A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากสมุนไพร และวัดค่าการดูดกลืนแสง 3 ครั้ง นำค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ได้หาค่าเฉลี่ยเพื่อสร้างกราฟโดยเราจะสร้างกราฟเพื่อหาค่าดังนี้ กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH Radical Scavenging Activity) ของสารสกัด เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH Radical Scavenging Activity) ของสารสกัดหยาบ 95% เฮกเซน 95% ไดคลอโรมีเทน 95% เอทิลอะซิเตท และ 95% เมทานอล จากสารตัวอย่าง

ผลการวิจัย

การสกัดสารสกัดหยาบของต่อไส้ด้วยการแช่หมักและ partition

1. การสกัดสารตัวอย่างด้วยวิธีสกัดแบบแช่หมัก

สารสกัดรากต่อไส้ที่สกัดจากตัวทำละลายเฮกเซนมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลออกดำ จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีดำ จากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเป็นของเหลวหนืดสีดำออกน้ำตาล และ

เมทานอลมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีดำออกน้ำตาล น้ำหนักของสารสกัดรากต่อไส้จากตัวทำละลายเฮกเซนไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอลเท่ากับ 0.82, 6.11, 0.82 และ 57.95 กรัม ตามลำดับ

2. การสกัดสารตัวอย่างด้วยวิธีสกัดแบบ Partition

สารสกัดรากต่อไส้ที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอล-เฮกเซนมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีดำออกน้ำตาล จากตัวทำละลายเมทานอล-ละลายไดคลอโรมีเทนมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีดำ จากตัวทำละลายเมทานอล-เอทิลอะซิเตทเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำ และบิวทานอลมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง น้ำหนักของสารสกัดรากต่อไส้จากตัวทำละลายเมทานอล-เฮกเซน เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน เมทานอล-เอทิลอะซิเตท และบิวทานอล เท่ากับ 0.74, 5.42, 0.79 และ 0.89 กรัม ตามลำดับน้ำหนักสารสกัดหยาบและร้อยละน้ำหนักสุทธิ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดหยาบและร้อยละน้ำหนักสุทธิ (Percentage of yield) ด้วยวิธีสกัดแบบแช่หมักและการ Partition จากเมทานอล

การสกัด	น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (กรัม)					ผลผลิตร้อยละ (% yield)				
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทิลอะซิเตท	เมทานอล	บิวทานอล	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทิลอะซิเตท	เมทานอล	บิวทานอล
แช่หมัก	0.82	6.11	0.82	57.95	-	0.02	0.17	0.02	1.65	-
Partition	0.74	5.42	0.79	-	0.89	0.02	0.15	0.02	-	0.02

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบของรากต่อไส้

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบรากต่อไส้ของตัวทำละลาย 95% เฮกเซน 95% ไดคลอโรมีเทน 95% เอทิลอะซิเตท 95% และเมทานอล พบว่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH Radical Inhibition) ของสารสกัดหยาบรากต่อไส้ตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตทแบบแช่หมัก มีร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระ คือ 95.23 ± 1.60 เปอร์เซ็นต์และมากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นและสารสกัดหยาบรากต่อไส้ด้วยวิธีการสกัดแบบ Partition จากเมทานอล ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และบิวทานอล พบว่า สารสกัดหยาบรากต่อไส้เมื่อใช้ตัวทำละลายบิวทานอลมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นแสดงดังตารางที่ 2

ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากการสกัดแบบแช่หมักและแบบ Partition ด้วยวิธี DPPH ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดหยาบรากต่อไส้จากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และเมทานอลของทั้ง 2 วิธี มีร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าวิธีการสกัดแบบแช่หมักและแบบ Partition มีร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละตัวทำละลายใกล้เคียงกันยกเว้นตัวทำละลายเฮกเซน

ตารางที่ 2 การทดสอบร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสกัดหยาบต่อไส้แบบแช่หมักและแบบ Partition

สารสกัดหยาบ	DPPH Radical Scavenging Activity (%) (%DPPH ± SD)				
	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทิลอะซิเตท	เมทานอล	บิวทานอล
รากต่อไส้ (แช่หมัก)	52.05±2.33	74.83±1.86	95.23±1.60	93.08±1.83	-
รากต่อไส้ (Partition)	68.41±2.57	56.35±34.18	92.56±0.48	-	94.42±1.62
Trolox (สารมาตรฐาน)			96.08 ± 1.64		

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการสกัดสารจากรากต่อไส้ด้วยวิธีการแช่หมักในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล พบว่า สารสกัดหยาบจากรากต่อไส้ด้วยวิธีการแช่หมักในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล มีผลผลิตร้อยละ 0.02, 0.17, 0.02 และ 1.65 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบจากรากต่อไส้ด้วยตัวทำละลายเมทานอล มีผลผลิตร้อยละดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ส่วนการสกัดสารจากรากต่อไส้ด้วยแบบ Partition จากเมทานอลด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และบิวทานอล มีผลผลิตร้อยละ 0.02, 0.15, 0.02 และ 0.02 ซึ่งสารสกัดหยาบจากรากต่อไส้ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน มีผลผลิตร้อยละดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปศึกษาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบรากต่อไส้แบบแช่หมักที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ที่ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบจากรากต่อไส้ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 95.23 ± 1.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวทำละลายเฮกเซน 52.05 ± 2.33 เปอร์เซ็นต์ ไดคลอโรมีเทน 74.83 ± 1.86 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอล 93.08 ± 1.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Ghagane et al., 2017) มีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมทานอลของใบต่อไส้ที่ความเข้มข้น $1x10^5$ ppm มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพียง 45.67 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบรากต่อไส้พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านมูลอิสระสูงสุดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงควรนำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการอื่นได้แก่ FRAP ABTS การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมรวมถึงทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Column Chromatography เพื่อศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญที่จะสามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์เครื่องสำอางและเป็นการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับรากต่อไส้ในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) เพื่อสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ 2566 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) สำหรับเงินทุนสนับสนุนตลอดการทำวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านห้องปฏิบัติการเคมี เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ สารเคมี และอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

บังอร ศรีพานิชกุลชัย. (2544). *สำรวจและรวบรวมพืชสมุนไพรของจังหวัดอุบลราชธานี* (รายงานการวิจัย). มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. https://www.thaiscience.info/Journals/Article/JSUU/10970719.pdf

โรงพยาบาลเปาโล. (2564, 27 เมษายน). *สารต้านอนุมูลอิสระ--ANTIOXIDANT-จำเป็นต่อเรามากแค่ไหน?.* https://www.paolohospital.com/th-TH/phahol/Article/ArticleCategory/บทความ-ผิวหนัง-ภูมิแพ้/สารต้านอนุมูลอิสระ--ANTIOXIDANT-จำเป็นต่อเรามากแค่ไหน?-

สิริเพ็ญ โหมดม่วง, ศิรินทิพย์ แสงสว่าง, ฉัตริยา ภูติยา, จุฑารัตน์ ทำโยธา, รัตน์ชนิดา เจริญสมประสงค์, ชญาณิลห์ หาญวลินโรจน์, ภาพตะวัน ทองดี, อิสราภรณ์ เสียงล้ำ, ดรุณี สุขชิต, ประจักกิจ ระวี, ดวงดาว สัตยากูล, สมจินตนา ทวีพานิชย์, สายสมร ลำลอง, จิดาภา แสงสวันต์, กาญจนา แปงจิตต์, พฤทธิ์ คำศรี, วรายุทธ สะโจมแสง และพรพรรณ พึ่งโพธิ์. (2564) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของใบย่านางแดง. ใน ชวลิต ถิ่นวงศ์พิทักษ์ (บ.ก.), *Future trends of research and innovation. การประชุมวิชาการประชุมระดับชาติ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 15* (น. 127-132).

ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. (2548, 1 สิงหาคม). *สารต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นต่อร่างกายอย่างไร*. หมอชาวบ้าน. https://www.doctor.or.th/article/detail/1346

Chavan, R. B. and Gaikwad, D. K. (2013). Antibacterial activity of medicinally important two species of *Allophylus-Allophylus cobbe* (L.) Raeusch. and *Allophylus serratus* (Roxb.) Kurz. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *2*(1), 1-7.

Ankad, G. M., Upadhya, V., Pai, S. R., Hegde, H. V., Roy, S. and Kholkute, S. D. (2016). Total Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of leaves and stem bark extracts of *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci*, *86*(1), 145-149.

Ghagane, S. C., Puranik, S. I., Nerli, R. B. and Hiremath, M, B. (2017). Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of Allophylus cobbe leaf extracts on DU-145 and PC-3 human prostate cancer cell lines. *Cytotechnology*, *69*(1), 167-177.

Sangsopha, W., Schevenels, F. T., Lekphrom R. and Kanokmedhakul, S. (2020). A new tocotrienol from the roots and branches of *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch (Sapindaceae). *Natural Product Research*, *34*(7), 988-994.