การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดง

Determination of Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds from Crude of Stems of *Bauhinia sirindhorniae*

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 แสงสวันต์[2] กาญจนา แปงจิตต์[3] พฤทธิ์ คำศรี[4] อรดี พันธ์กว้าง[4]
คมสันต์ สุทธิสินทอง[5] ประสาท กิตตะคุปต์[6,7,8] และ พรพรรณ พึ่งโพธิ์[1*]
Paptawan Thongdee[1], Bongkochawan Pakamwong[1], Thimpika Pornprom[1], Naruedon Phusi[1], Somjintana Taveepanich[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]ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ 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, 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

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดง ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมักตัวทำลาย 3 ชนิดที่ขั้วแตกต่างกันได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอล จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ DPPH, ABTS และ FRAP โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ %DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมทานอล เอทิลอะซิเตทและเฮกเซนมีค่าเท่ากับ 90.12, 89.94 และ 79.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ %ABTS ของสารสกัดหยาบของเมทานอล เอทิลอะซิเตทและเฮกเซน คือ 94.26, 92.11 และ 88.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดหยาบเมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนมีค่าเท่ากับ 611.14, 173.86 และ 190.03 มิลลิกรัม ของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง จากผลการศึกษาพบว่าทั้งสามวิธีให้ผลสอดคล้องกัน คือ สารสกัดหยาบ

ลำต้นประดงแดงจากเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดตามด้วยเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฟีนอลิกรวมค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวก ทั้งนี้จึงสามารถนำสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดงไปทำบริสุทธิ์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปได้

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกรวม สารสกัดหยาบ ประดงแดง

Abstract

In this research, the antioxidant activity of three crude extracts of stems of *Bauhinia sirindhorniae* obtained using the solvents hexane, ethyl acetate (EtOAc) and methanol were evaluated. The antioxidant activity was evaluated using DPPH, ABTS and FRAP assay. DPPH value of methanol, EtOAc and hexane extract revealed 90.12, 89.94 and 79.10 percent, respectively. ABTS assay with 94.26, 92.11 and 88.06 percent, respectively. FRAP assay of methanol, EtOAc and hexane extract revealed with 611.14, 173.86 and 190.03 mg/g dry weight vitamin C, respectively. The ethanol extract exhibited the highest radical scavenging activity of all antioxidant activity evaluations. In addition, the total phenolics content showed that the methanol extract exhibited the highest total phenolics content and EtOAc extract and hexane extract, respectively. Therefore, the crude extract of stems of *Bauhinia sirindhorniae* can be useful to purify and evaluate chemical constituents for development of compounds with improved antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Crude Extract, *Bauhinia sirindhorniae*

บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free radical) เกิดได้จากกระบวนการทำงานของเซลล์ในร่างกาย เช่น การเผาผลาญเพื่อใช้เป็นพลังงาน กระบวนการย่อยอาหาร และหากเกิดอนุมูลอิสระมากเกินไปร่างกายไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้จะเกิดกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) ที่ส่งผลกระทบกับเยื่อหุ้มเซลล์ DNA ส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง อัลไซเมอร์ โรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น (สุจิตราและคณะ, 2563; Boulechfar et al., 2021) นอกจากนี้แล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดได้จากสภาวะแวดล้อมเช่น UV X-ray และ Gamma ray โดยรังสีเหล่านี้จะกระตุ้นให้น้ำเปลี่ยนไปเป็น hydroxyl radical ที่เป็นอนุมูลอิสระ (Nimse and Palb, 2015) ดังนั้นการป้องกันและต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นสิ่งที่ควรให้ความสนใจ ปัจจุบันการเลือกทานอาหารและผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นหนึ่งทางเลือกในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ชาเขียวพบสารกลุ่มคาเทชิน มะเขือเทศพบสารกลุ่มไลโคปีนและกลูตาไธโอนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ เป็นต้น (วิภาวัณย์, 2562) นอกจากนี้แล้วยังมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชและสมุนไพรไทย สิรินธรวัลลี (*Bauhinia sirindhorniae*) หรือ ประดงแดง จัดเป็นพืชสมุนไพรท้องถิ่นของจังหวัดหนองคาย ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ และที่สำคัญยังเป็นสมุนไพรไม้เถาเนื้อแข็งขนาดใหญ่ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวเรียงเวียนสลับ หลัง ใบเขียวเข้มเป็นมัน ท้องใบเกลี้ยง ดอกออกเป็นช่อกลีบดอกสีเหลืองอมส้มถึงแดงมี 5 กลีบ ผลเป็นฝักแบน ขอบขนานเมล็ดสีน้ำตาลดำรูปกลมขนาดเล็ก พืชชนิดนี้มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรไทย เมื่อนำมาตากแห้งแล้วนำไปต้มจะแก้ปวดตามข้อ ตามเส้น ถ้านำดอกมาตาก แห้งแล้วนำไปผสมกับน้ำใช้ทาสำหรับรักษาฝีหนอง ใช้บำรุงรักษาระบบประสาท สมอง และการไหลเวียนของโลหิตในร่างกายป้องกันโรคความดันและ

โรคเบาหวาน (Puechkaset, 2559) และมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณ สารฟีนอลิกรวม (Srinivasan et al., 2012) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial) (ณัฏฐา, 2555; Chaisri and Laoprom, 2016; Athikomkulchai, et al., 2005) มีรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ กลุ่มไซยาโนจีนิคกลูโคไซด์ (Cyanogenic Glucoside) กลุ่มฟลาแวน (Flavan) กลุ่มฟลาโวโนน (Flavanon) กลุ่มฟลาวานอล (Flavanol) กลุ่มฟลาโวน (Flavone) กลุ่มชาลโคน (Chalcone) กลุ่มโครโมน (Chromone) กลุ่มลิกแนนไกลโคไซด์ (Lignin Glycoside) กลุ่มไตรเทอร์พีนอย (Triterpenoid) กลุ่มสเตียรอยด์กลูโคไซด์ (Steroidglucoside) กลุ่มฟีริโอลิก (Pheriolic) แยกได้จากลำต้น และราก ดังนั้น กลุ่มงานวิจัยจึงมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดงเพื่อที่จะนำมาเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทยในส่งผลต่อมูลค่าทางเศรษฐกิจของสมุนไพรในตลาดโลก และพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารตัวอย่าง

1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

ชั่งตัวอย่างลำต้นประดงแดงบดละเอียด 6 กิโลกรัม และห่อด้วยผ้าขาวบางใส่ลงในภาชนะแก้ว สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซนร้อยละ 95 ปริมาตร 20 ลิตร หุ้มภาชนะด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ และตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน นำมากรองด้วยผ้าขาวบางและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบเฮกเซน จากนั้นนำลำต้นประดงแดงที่สกัดด้วยเฮกเซนไปสกัดต่อด้วย เอทิลอะซิเตท และเมทานอลร้อยละ 95 ตามลำดับ จะได้สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทและเมทานอล บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน และหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิตเก็บสารสกัดไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

1.2 การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

ชั่งสารสกัดหยาบของลำต้นประดงแดงจาก 3 ตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอล จากนั้นละลายสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลและนำไป sonicate โดยความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่จะนำไปทดสอบ คือ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH scavenging activity)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดังนี้ เตรียม 2,2-diphenyl-1 Picrylhydrazyl radical (DPPH) ที่ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตรและปิเปตเมทานอล หรือ 6-Hydroxy-2,5,7,8 Tetramethylchroman-2-Carboylic acid (Trolox) 1000 ppm หรือตัวอย่างสารสกัดหยาบปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในขวดสีชาเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (control) ตัวควบคุมบวก (positive control) และตัวอย่างที่จะทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามลำดับ ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometers ทำการทดลอง 3 ซ้ำและทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากปฏิกิริยาควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัดหยาบและคำนวณผลการทดลองโดยคำนวณหา%DPPH radical scavenging activity การคำนวณแสดงดังสมการ

$$\%\ \text{DPPH Radical Scavenging Activity} = \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}\right) x\ 100$$

เมื่อ $A_{control}$ และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ของตัวควบคุมและสารสกัดหยาบที่ 517 nm ตามลำดับ (สิริเพ็ญและคณะ, 2564)

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity

เตรียม 2,2-azino-bis(3 ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid หรือ ABTS ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และนำมาผสมกับสารละลาย $K_3S_2O_8$ ปิเปตสารละลายผสมของ ABTS cation ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตรและปิเปตเมทานอล หรือ Trolox 1,000 ppm หรือตัวอย่างสารสกัดหยาบปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในขวดสีชาเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (Control) ตัวควบคุมบวก (Positive control) และตัวอย่างที่จะทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามลำดับ ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometers ทำการทดลอง 3 ซ้ำและทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS จากปฏิกิริยาควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารสกัดหยาบและคำนวณผลการทดลอง โดยคำนวณหา %ABTS cation radical scavenging activity การคำนวณแสดงดังสมการ

$$\%\ \text{ABTS Cation Radical Scavenging Activity} = \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}\right) x\ 100$$

เมื่อ $A_{control}$ และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS cation ของตัวควบคุมและของสารสกัดหยาบที่ 734 นาโนเมตร ตามลำดับ (สิริเพ็ญและคณะ, 2564; กุลิสราและวัลลภา, 2565)

2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการใช้วิธี FRAP โดยการเตรียม FRAP reagent จากสารละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ 1) 300 มิลลิโมลาร์ acetate buffer pH 3.6 2) 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl-1,3,5-triazine) ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl และ 3) 20 มิลลิโมลาร์ $FeCl_3.6H_2O$ ในอัตราส่วน 10:1:1 ปิเปต FRAP reagent ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองและเติมกรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) หรือสารสกัดตัวอย่าง 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตรเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมบวกและสารสกัดหยาบตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometers ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (สิริเพ็ญและคณะ, 2564)

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolics content) ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีโนลิกรวมด้วยวิธีของ Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแทนนิก (Tannic acid) เป็นสารมาตรฐานของปริมาณฟีโนลิกรวมของตัวอย่างสารสกัดหยาบสามารถวิเคราะห์ได้ดังนี้ ปิเปตกรดแทนนิกความเข้มข้น 1,000 ppm หรือสารสกัดตัวอย่าง 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 100 ไมโครลิตรเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมบวกและสารสกัดหยาบตัวอย่างตามลำดับ และปิเปต 7% Na_2CO_3 ปริมาตร 1,250 ไมโครลิตร folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และเติมน้ำ DI 400 ไมโครลิตรลงในขวดสีชา ผสมให้เข้ากัน บ่มเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometers ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณ

ปริมาณสารฟีนอลิกรวมโดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานแสดงผลปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัม น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (สิริเพ็ญและคณะ, 2564; ขวัญเรือนและคณะ, 2566)

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดง

จากการสกัดลำต้นประดงแดงด้วย 3 ตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตท เมทานอลหลังจากระเหยตัวทำละลายได้น้ำหนักของสารสกัดลำต้นประดงแดงดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ลำต้นประดงแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และเมทานอลมีผลผลิตร้อยละ 0.09 0.69 และ 9.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดงจากตัวทำละลายเมทานอลมีผลผลิตร้อยละสูงสุด

ตารางที่ 1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบและผลผลิตร้อยละของลำต้นประดงแดง

ลำดับที่	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	% yield
1	เฮกเซน	5.39	0.09
2	เอทิลอะซิเตท	41.25	0.69
3	เมทานอล	550.54	9.18

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH แสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1 พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีค่าเท่ากับ 90.12 89.94 และ 79.10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ซึ่งมีค่าเท่ากับ 93.55 เปอร์เซ็นต์พบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน

2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity

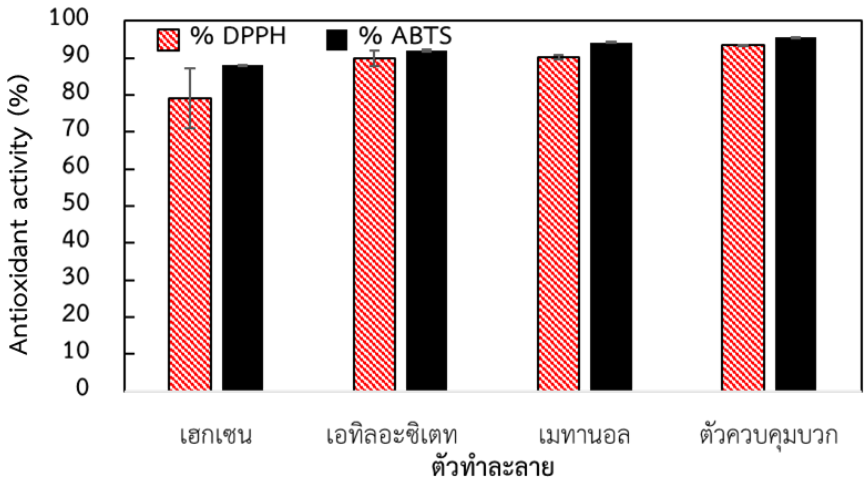
ผลการทดลองศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดงพบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีค่าเท่ากับ 94.26 92.11 และ 88.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox เท่ากับ 95.55 เปอร์เซ็นต์พบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐานจากทั้ง 3 ตัวทำละลายแสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1

2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

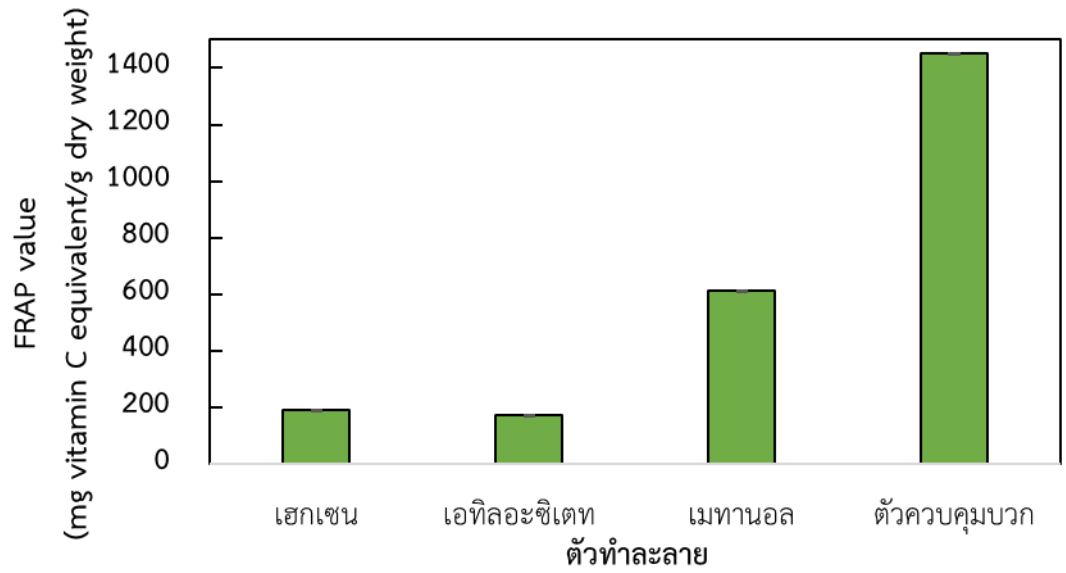
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดงพบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 611.14 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด สารสกัดของลำต้นประดงแดงจากเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกันคือ 173.86 และ 190.03 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 2

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดง

ลำดับที่	ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ			ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg TAE/g dry weight tannic acid)
		วิธี DPPH (%)	วิธี ABTS (%)	FRAP value (mg/g dry weight vitamin C)	
1	เฮกเซน	79.10 ± 8.08	88.06 ± 0.12	190.03 ± 0.12	616.32 ± 1.72
2	เอทิลอะซิเตท	89.94 ± 2.08	92.11 ± 0.30	173.86 ±0.40	778.24 ± 1.92
3	เมทานอล	90.12 ± 0.59	94.26 ± 0.03	611.14 ±0.03	1,938.42 ± 12.14
4	ตัวควบคุมบวก	93.55 ± 0.08	95.55 ± 0.01	1,450.00 ± 0.10	-



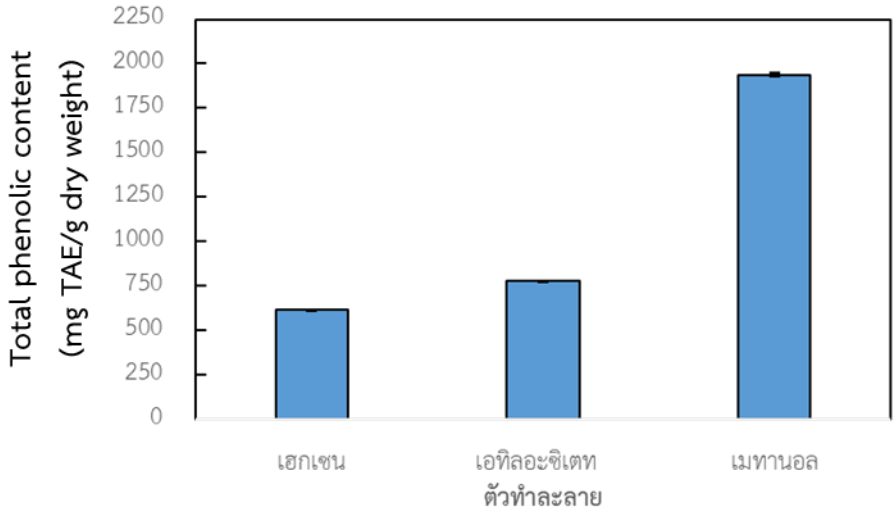
ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดงจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอลและตัวควบคุมบวก (Trolox; สารมาตรฐาน) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS



ภาพที่ 2 ค่าการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี FRAP มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดง

2.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลของสารสกัดหยาบลำต้นประดงแดงพบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ตามด้วยเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีค่าเท่ากับ 1,938.42 778.24 และ 616.32 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของลำต้นประดงแดงที่ได้จากการสกัดจากตัวทำละลาย 3 ตัวทำละลายที่แตกต่างกันได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอลสำหรับนำสารสกัดหยาบไปแยกบริสุทธิ์ต่อไป ผลการสกัดของลำต้นประดงแดงด้วย 3 ตัวทำละลายพบว่าเมทานอล เอทิลอะซิเตทและเฮกเซนได้ปริมาณสารสกัดหยาบคือ 550.54 41.25 และ 5.39 กรัมและผลผลิตร้อยละคือ 9.18 0.69 และ 0.09 ตามลำดับพบว่า สารสกัด

ลำต้นประดงแดงจากตัวทำละลายเมทานอลมีผลผลิตร้อยละสูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทำการสกัดใบละมุดสีดาด้วยเฮกเซนและเมทานอลพบว่า เมทานอลสามารถสกัดสารในใบละมุดสีดาได้ดีกว่าเฮกเซน 3 เท่า (ต่วนรอฮานีและคณะ, 2561) จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบของลำต้นประดงแดงจากเมทามอลมีค่าสูงที่สุดของทุกวิธีการทดสอบ ได้แก่ % DPPH % ABTS และ FRAP คือ 90.12 เปอร์เซ็นต์ 94.26 เปอร์เซ็นต์ และ 611.14 มิลลิกรัม/กรัมตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเมทานอลมีค่าใกล้เคียงกับตัวควบคุมของทั้ง 3 วิธีการทดสอบ นอกจากนี้สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบจากเมทานอล คือ 89.94 เปอร์เซ็นต์ 92.11 เปอร์เซ็นต์ 173.86 มิลลิกรัม/กรัมตามลำดับ และสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ 79.10 เปอร์เซ็นต์ 88.06 เปอร์เซ็นต์ และ 190.03 มิลลิกรัม/กรัมตามลำดับ จากการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำต้นประดงแดงโดยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เนื่องจากมีกลไกปฏิกิริยาในการจับกับอนุมูลอิสระที่เหมือนกัน และเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจึงทำให้มีความสามารถในการละลายสาระสำคัญจากลำต้นประดงแดงที่มีขั้วสูงออกมาซึ่งอาจจะเป็นสารประกอบในกลุ่มของ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และจากการเปรียบเทียบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดเมทานอลมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นตัวตัวรีดิวซ์กับอนุมูลอิสระได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอลมีค่าในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (Rattana et al., 2010) และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของทั้ง 3 สกัดหยาบพบว่าสารสกัดหยาบของลำต้นประดงแดงจากเมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนมีปริมาณฟีนอลิกรวมคือ 1,938.42 778.24 616.32 mg TAE/g dry weight tannic acid ตามลำดับ โดยผลการศึกษาฟีนอลิกรวมสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือเมื่อมีปริมาณฟีนอลิกสูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Deetae et al., 2012) ดังนั้นจากการเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของลำต้นประดงแดงมีปริมาณมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Chaisri and Laoprom (2016) พบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงจึงสามารถแยกสารที่มีความเป็นขั้วสูงออกมาได้ดี คือสารในกลุ่มของฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ เทอร์พีนอยด์ ส่งผลให้มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงมากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นที่มีความเป็นขั้วที่ต่ำ จากการศึกษาสารสกัดหยาบของลำต้นประดงแดงจากทั้ง 3 ตัวทำละลายพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฟีนอลิกรวมค่อนข้างสูงจึงสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์ และศึกษาสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของลำต้นประดงแดงเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (Thailand Graduate Institute of Science and Technology, TGIST (SCA-CO-2561-6946-TH)) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สวทช.) ที่สนับสนุนเงินทุนแก่นางสาวภาพตะวัน ทองดี และส่งเสริมให้เกิดความร่วมมือในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) เพื่อสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ 2566 และมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) สำหรับเงินทุนสนับสนุนตลอดการทำวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านห้องปฏิบัติการเคมี เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ สารเคมี และอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

กุลิสรา อุ่นเจริญ และวัลลภา ลีลานันทกุล. (2565). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสารสกัดตำรับประสะขมิ้นอ้อยและสมุนไพรในตำรับ. *วารสารสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดขอนแก่น, 4*(2), 225-238.

ขวัญเรือน นาคสุวรรณ์กุล, นุจรี ชำนาญทัพ, อารีรัตน์ ใสส่อง และกฤษฎา จำปาทาสี. (2566). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์และแทนนินจากสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทามและเห็ดผึ้งขมด้วยตัวทำละลายหลายชนิด. *วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา), 23*(1), 132-143.

ณัฏฐา นิธิกุลวรวงศ์. (2555). ประสิทธิภาพของสารสกัดสิรินธรวัลลีต่อความต้านทานเชื้อ Streptococcus agalactiae ในปลานิล (Oreochromis niloticus). *วารสารวิจัย มข. สาขาการประมง คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขตหนองคาย, 17*(5), 715-724

ต่วนรอฮานี โตะกูบาฮา, โนร์เลียนา ยะโก๊ะ, ทวีสิน นาวารัตน์ และนันธิดา ลิ่มเสฏโฐ. (2561). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพจากสารสกัดใบละมุดสีดา. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 23*(3), 1520-1527.

วิภาวัณย์ อรรณพพรชัย. (2562, 10 กุมภาพันธ์). *10 สารต้านอนุมูลอิสระ ชะลอวัย ที่ไม่เคยตกเทรน.*https://www.wongnai.com/beauty-tips/antioxidants-part-1

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 แสงสวัน์ต์, กาญจนา แปงจิตต์, พฤทธิ์ คำศรี, วรายุทธ สะโจมแสง และพรพรรณ พึ่งโพธิ์ ใน ชวลิต ถิ่นวงศ์พิทักษ์ (บ.ก.), *Future trends of research and innovation. การประชุมวิชาการประชุมระดับชาติ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 15* (น. 127-132).

สุจิตรา ยาหอม, จิตรสุดา กุลวัฒน์ และเบญจพร บุราณรัตน์ (2563) การตรวจสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบเพกา. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข., 48(2),* 200-207.

Athikomkulchai, S., Sriubolmas, N. and Ruangrungsi, N. (2005). Antibacterial activity of flavonoids from *bauhinia sirindhorniae*. *Journal of Health Research, 19(1),* 13-18.

Boulechfar, S., Zellagui, A., Asan-Ozusaglam, M., Bensouici, C., Erenler, R., Yildiz, I., Tacer, S., Boural, H. and Ibrahim, D. (2021). Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of two essential oils from Algerian propolis. *The Journal Zeitschrift für Naturforschung C., 77(3-4), 105-112*. https://doi.org/10.1515/znc-2021-0028.

Chaisri, P. and Laoprom, N. (2016). Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Selected Traditional Thai Medicinal Plants. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal, 12*(1), 10-18.

Deetae, P., Parichanon, P., Trakunleewatthana, P., Chanseetis, C. and Lertsiri, S. (2012). Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas. *Food Chemistry*, *133*(3), 953-959. https://doi.org /10.1016/j.foodchem.2012.02. 012.

Nimse, S. B. and Palb D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances, 5*(35), 27986-28006. DOI: 10.1039/c4ra13315c.

Puechkaset. (2559, 17 พฤศจิกายน). สิรินธรวัลลี/ประดงแดง ประโยชน์ และสรรพคุณสิรินธรวัลลี. https://puechkaset.com/สิรินธรวัลลี/

Rattana, S., Phadungkit, M. and Cushnie, B. (2010). Phytochemical Screening, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Tiliacora Triandra Leaf Extracts. *The 2nd Annual International Conference of Northeast Pharmacy Research 2010* (pp. 60-63).

Srinivasan, R., Selvam, G., Karthik, S., Mathivanan, K., Baskaran, R., Karthikeyan, M., Gopi, M. and Govindasamy C. (2012) In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2*(1 Supplement), S136-S139. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60144-0.