

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย

ณพัชร บัวฉน^{1*} ณัฐพล สิงสุข² พลวัฒน์ กันอาน² สุภารัตน์ แก้วประเสริฐ²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย และแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบสมอไทย โดยนำเนื้อสมอไทยสกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธีการแช่เย็น จากนั้นนำสารสกัดหยาบสมอไทยมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด โดยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer และนำสารสกัดหยาบสมอไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์โลชั่น ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบสมอไทยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 85.22 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 365.77 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ BHA และ BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.06 และ 11.92 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แยกสารสกัดหยาบสมอไทยเป็น 5 กลุ่ม (F1, F2, F3, F4 และ F5) และ พบว่าสารกลุ่ม F2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์โลชั่นที่ได้ มีสีขาว ไม่มีกลิ่น เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น และมีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.7

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบ สารต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด สมอไทย

¹สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
e-mail: send2duang@hotmail.com

² สาขาวิชาเคมีและวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

*ผู้รับผิดชอบหลัก e-mail: send2duang@hotmail.com

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT FROM *TERMINALIA CHEBULIA*

Napattaorn Buachoon^{1*} Nattapon Singsuk² Phollawat Kanran²
Sudarat Kaeoprasoet²

Abstract

This research was to study antioxidant activity and separated the chemical compound of crude extract from crude extract from *Terminalia chebula*. Samples were extracted with ethanol by immersion method while the quantity of total phenolic and total tannin. We conducted the investigation of the antioxidant activity of the crude extract via DPPH Radical Scavenging with UV-VIS Spectrophotometer. The results illustrated that the crude extract from samples had total phenolic contents at 85.22 milligram gallic acid/100 g FW, total tannin contents at 365.77 microgram/milliliter respectively whilst IC₅₀ value of the antioxidant activity was 13.24 milligram/milliliter and IC₅₀ value of BHA and BHT were 12.06 and 11.92 milligram/milliliter respectively. The separation of crude extract can be separated into four groups (F1, F2, F3, F4 and F5) and the results showed that F2 has the strongest activity against the others with IC₅₀ = 12.53 milligram/milliliter. The lotion was odorless, white color with no phase separation with pH 6.7

Keywords : Crude extract, Antioxidant activity, Total phenolic, *Terminalia chebula* .

¹Chemistry Progra , Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

² Chemistry and Science Program , Faculty of Education, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

* Corresponding author, e-mail: send2duang@hotmail.com

บทนำ

สมอไทย (*Terminalia chebula*) เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในอินเดียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อยู่ในวงศ์ Combretaceae ผลสมอไทยมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย เช่น ยาระบายอ่อนๆ ยาธาตุ ยาบำรุงและแก้ช้ำกระดูก เป็นต้น ทั้งนี้มีรายงานว่า ในผลสมอไทยมีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง เช่น Gallic acid Ellagic acid Chebulic acid และ Corilagin เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายประการ ยกตัวอย่างเช่นฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน (เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ, มปป.; ณพัชร บัวฉุน, 2558)

นอกจากนี้ยังพบว่าในสมอไทย มีสารประกอบจำพวกแทนนิน (tannin) ที่สามารถใช้เป็นยาสมานแผล ลมจุกเสียด ยาเจริญอาหาร ยาบำรุง เป็นยาชงอมกลั้วคอแก้เจ็บคอ ชับน้ำเหลืองเสีย ใช้ภายนอกเป็นผงละเอียดโรยแผลเรื้อรัง ใช้รักษาโรคฟันและเหงือกเป็นแผล เป็นยาระบายอ่อนๆ แก้พิษร้อนภายใน แก้ลมป่วนระบายนม รุ่ยร้างรูติเอง คุมธาตุในตัวเสร็จ ถ่ายพิษไข้ สารสกัดจากสมอไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นราชาสมุนไพร เนื่องจากฤทธิ์ในการกำจัดสารพิษออกจากร่างกายและบำบัดโรคหลายชนิด ในขณะเดียวกันยังสามารถบำรุงสุขภาพ และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย (ปฐวิมา บุญมาลี และ ปัทมา เทียนวรรณ, 2556) ในประเทศอินเดียสารสกัดจากสมอไทยใช้ในการรักษาโรคหลายชนิด เช่น โรคระบบทางเดินอาหาร อาการอาหารไม่ย่อย โรคระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเบาหวาน โรคผิวหนัง โรคพยาธิ โรคหัวใจ อาการไข้เป็นระยะ อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องผูก แผลในทางเดินอาหาร อาเจียน อาการเจ็บปวดในลำไส้ และริดสีดวงทวารหนัก นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส รวมทั้งเชื้อ HIV และแบคทีเรียบางชนิด บำรุงหัวใจ ต้านอนุมูลอิสระและชะลอความชรา นอกจากนี้ ยังช่วยควบคุมระดับไขมันในเส้นเลือด และช่วยการทำงานของตับในการกำจัดไขมันออกจากร่างกาย รวมทั้งกระตุ้นการเผาผลาญของร่างกายได้อีกด้วย

จากข้อมูลข้างต้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย และนำผลการศึกษาที่ได้ไปทำผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมอไทยซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาขั้นสูงต่อไป และเพื่อเป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อเป็นพื้นฐานในการนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย
2. เพื่อแยกและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบสมอไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นและทดสอบสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการ

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสกัดสารจากสมอไทย (รัตน อินทรานุปกรณ์, 2547)

เตรียมสมอไทยโดยนำมาเฉพาะเนื้อจำนวน 1 กิโลกรัม จากนั้นนำไปตากแดดให้แห้งแล้วนำไปอบจนแห้งเพื่อไล่น้ำออกให้หมด นำไปชั่งน้ำหนักได้ 250 กรัม เติมตัวทำละลายเอทานอล สกัดโดยการแช่ในขวดโหลปิดภาชนะทิ้งไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดนำไปกรองแยกสารสกัดหยาบด้วยผ้าขาวบางแล้วกรองโดยชุดกรองแบบบูชเนอร์ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 นำสารที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออก

โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบสมอไทย ชั่งน้ำหนักของสารสกัด

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมด (Leite & Dourado, 2013; Lingard & Singlaton, 1977)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและแทนนิกเข้มข้น 1,000 ppm และ 100 ppm และเจือจางจนมีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกและแทนนิก นำสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760}) หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบสมอไทย

การวิเคราะห์หาฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคแรงเลขผิวบาง (Leite & Dourado, 2013; Lingard & Singlaton, 1977)

1. ชั่งสมอไทยแห้ง 10 กรัม เติมน้ำเมทานอล 40 มิลลิลิตร อุณหภูมิห้อง 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทิ้งให้เย็นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ซะล้างกระดาษกรองด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส

2. นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง

3. นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน (รูทีน) spot บนแผ่น TLC แล้วใส่ลงในถังทำ TLC ที่มี Mobile Phase คือ Ethyl Acetate: Formic: Acetic Acid: Water (7: 5: 1: 2) ตั้งทิ้งให้ Mobile Phase ซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสี UV ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

การศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย โดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH Radical

1. ชั่งสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) 0.0125 กรัม ละลายด้วย 99.99% เอทานอล ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จนได้สารละลาย BHT และ BHA ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จะได้สารละลาย BHT ที่มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3. ชั่งสารสกัดหยาบสมอไทย 0.0125 กรัม ละลายด้วย 99.99% เอทานอล ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จนได้สารละลายสกัดหยาบสมอไทย ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายสกัดหยาบสมอไทย ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จะได้สารละลาย สกัดหยาบสมอไทย ที่มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ เติมสารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. ปิเปตสารละลายสกัดหยาบสมอไทยที่มีความเข้มข้นต่างๆ เติมสารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ

6. คำนวณหา % DPPH Scavenging

7. พล็อตกราฟค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับ BHA, BHT สกัดหยาบสมอไทย

การแยกองค์ประกอบทางเคมี

การแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแรงคเลขวาง

โดยเตรียมสารละลายของสารตัวอย่างจากตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สามารถละลายสารตัวอย่างได้ดีที่สุด ใช้หลอด Capillary แต้มสารลงบนแผ่น TLC อะลูมิเนียม แล้ววางในแก้วที่มีตัวทำละลายอิมมัวอยู่ ปล่อยให้ตัวทำละลายซึมขึ้นไปจนสุดพื้นผิวหน้าตัวดูดซับ นำแผ่น TLC อะลูมิเนียม ไปตรวจสอบหาตำแหน่งสารโดยส่องด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง เปลี่ยนระบบตัวทำละลายอินทรีย์จนกระทั่งได้ระบบตัวทำละลายที่ให้ผลการแยกดีที่สุด

การแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

การเตรียมคอลัมน์

ใช้ซิลิกาเจลบรรจุลงในคอลัมน์โดยขังมา 30 เท่าของสารสกัดผสมซิลิกาเจลกับตัวทำละลายเฮกเซน แล้วทำให้มีลักษณะไม่ขึ้นไม่เหลวจนเกินไปและไม่มีการฟองอากาศผ่านคอลัมน์ที่มีสำลีและทรายละเอียดที่สะอาด ปิดอยู่ด้านล่างคอลัมน์

การเตรียมสารเพื่อบรรจุในคอลัมน์

นำสารสกัดหยาบสมอไทยผสมกับตัวทำละลายเอทานอลคนให้เข้ากันนำไปประเหด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุนจนเอทานอลระเหยหมด นำสารสกัดสมอไทยใส่ในคอลัมน์โครมาโทกราฟี

การบรรจุสารลงคอลัมน์

1. นำคอลัมน์ที่เตรียมมาโรยปิดสเลอรี่ด้วยทราย นำสารที่เตรียมไว้เพื่อบรรจุคอลัมน์ ค่อยๆ โรยอย่างช้าๆ

2. ค่อยๆ ะสารด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทน: เมทานอล โดยเก็บสารที่แยกได้ครั้งละ 80 มิลลิลิตร

3. เก็บสารที่แยกได้ จนกระทั่งสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์หมด โดยสังเกตสีของสารละลายที่ออกมาเป็นสีเดียวกับตัวทำละลาย

4. นำสารแต่ละขวดที่แยกไปประเหให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ

5. รวมสารที่แยกได้ ด้วยวิธีการแยกสารสกัดโดยวิธี TLC ซึ่งใช้ตัวทำละลายจากอัตราส่วนที่เหมาะสมที่หาได้ข้างต้น สังเกตว่าตัวทำละลายนั้นสูงถึงขีดบน นำแผ่น TLC ออกมาวางให้แห้งส่องดูด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วงสังเกตระยะห่างของสารแต่ละสารของแต่ละขวดที่สารเคลื่อนที่ ขวดใดเคลื่อนที่เท่ากันหรือใกล้เคียงกันให้นำมารวมเป็นขวดเดียวกัน

6. นำสารที่รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน ได้สารทั้งหมด 5 กลุ่ม แล้วนำไปหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง

ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้โดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical

1. ชั่งสารจากกลุ่ม F2 0.01 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute ethanol จะได้สารละลายของสารสกัดที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายของสารสกัดหยาบสมอไทยที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute ethanol จะได้สารละลายของสารสกัดหยาบสมอไทยที่มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายของสารกลุ่ม F2 ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นละ 500 ไมโครกรัม ลงไปในหลอดทดลอง เติม 0.1 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 500 ไมโครกรัม ลงไปในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortexmixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

3. ทำการทดลองตามวิธีข้อ 1. และ 2. โดยเปลี่ยนเป็นสารกลุ่ม F3 F4 และ F5 และพล็อตกราฟหา IC_{50} เปรียบเทียบกับ BHT, BHA และสารที่แยกได้

การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่น

นำสารกลุ่มที่แยกได้และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมาพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่น ทดสอบสมบัติทางกายภาพบางประการ เช่น สี กลิ่น การแยกชั้นของเนื้อโลชั่น การทดสอบทางเคมี บางประการโดยวัดความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น

ผลการวิจัย

ผลจากสกัดสารจากสมอไทย

ผลการสกัดจากสมอไทยโดยวิธีการแช่อยู่ด้วยเอทานอลพบว่าสารสกัดหยาบสมอไทยที่ได้มีลักษณะเหนียวเหนียวสีขาวเข้ม เมื่อนำมาหำร่อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบสมอไทย พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดจากสมอไทยด้วย เอทานอล ได้นำหนักของสารสกัดเท่ากับ 13.020 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.208

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทย

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทย

สารสกัดหยาบสมอไทย	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	85.22

จากตารางที่ 1 พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทยเท่ากับ 85.22 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 2 ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทย

สารสกัดหยาบสมอไทย	ปริมาณ(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ปริมาณแทนนินทั้งหมด	365.77

จากตารางที่ 2 พบว่าปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทยเท่ากับ 365.77 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทยโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH Radical Scavenging

จากการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมอไทยทดสอบโดยเทคนิค DPPH Radical Scavenging และจากการทดสอบการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอาศัยหลักการจับอนุมูลอิสระด้วย DPPH Radical Scavenging เมื่อทำการละลายในเอทานอลจะเห็นเป็นสารละลายสีม่วง เมื่อ DPPH รับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเรดิคัล จะทำให้มีค่าเสถียรมากขึ้นและเป็นผลให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง

ผู้วิจัยวัดสมบัติการยับยั้ง DPPH Radical Scavenging แล้วนำมาหาค่าความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 31-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำมาหาค่า IC_{50} ของ BHT BHA และสารสกัดหยาบสมอไทย ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของ BHT BHA และสารสกัดหยาบสมอไทย

สารตัวอย่าง	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
BHT	11.92
BHA	12.06
สารสกัดหยาบสมอไทย	13.24

จากตารางที่ 3 พบว่าค่า IC_{50} ของ BHT , BHA และสารสกัดหยาบสมอไทยเท่ากับ 11.92 12.06 และ 13.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ จากการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดหยาบสมอไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี แบบคอลัมน์ พบว่า แยกได้สารทั้งหมด 141 แพรกชัน เมื่อนำสารมารวมโดยวิธีโครมาโทกราฟี แบบแรงคเลขวาง ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการรวมกลุ่มสารสกัดหยาบสมอไทยที่แยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

กลุ่มสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)	ลักษณะสาร
F1	-	ไม่มีสาร
F2	4.25	สีเขียวเข้ม
F3	4.01	สีเขียวเข้ม
F4	3.89	สีเขียวเข้ม
F5	3.08	สีเขียวเข้ม

จากตารางที่ 4 พบว่า เมื่อรวมกลุ่มสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแรงคเลขวาง ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต 254 นาโนเมตร สามารถรวมสารที่แสดงเหมือนกัน ได้กลุ่มสารทั้งหมด 4 กลุ่ม แต่กลุ่ม F1 ไม่มีสาร F2 F3 F4 และ F5 เนื้อสารมีลักษณะเป็นสารชั้นหนืดสีเขียวเข้ม

ผลการทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มสารที่แยกได้
การวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical ของสารกลุ่ม F2-F5 ได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่า IC_{50} ของ BHT BHA และสารกลุ่ม F2-F5

กลุ่มสาร	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
BHT	11.92
BHA	12.06
F2	12.53
F3	12.91
F4	13.00
F5	12.74

จากตารางที่ 5 พบว่าค่า IC_{50} ของ BHT , BHA และสารกลุ่ม F2-F5 เท่ากับ 11.92, 12.06, 12.53, 12.91, 13.00 และ 12.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า IC_{50} ของสารกลุ่ม F2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่น

พบว่าสมบัติทางกายภาพและสมบัติเคมีบางประการของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบสมอไทยมีสีขาว ไม่มีกลิ่น ไม่พบการแยกชั้นของเนื้อผลิตภัณฑ์โลชั่น และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.7

อภิปรายผล

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 85.22 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบสมอไทย เท่ากับ 365.77 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำมา

ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย จากการวิจัยจะเห็นว่าสารสกัดหยาบสมอไทยมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานปิเชอและปิเชอที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ (2555) ได้สารสกัดจากส่วนเถาของสมอไทย พบว่า สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายร้อยละ 80 เมทานอล และร้อยละ 80 เอทานอล มีร้อยละของสารสกัดคือ 3.23 และ 6.12 และพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมเท่ากับ 10.54 ± 0.03 และ 10.18 ± 0.02 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิดต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และยังสอดคล้องกับผลการวิจัยของ พิทยา ประเสริฐแสง และ วรินทร์ ขวศิริ (2545) ที่ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผลพลึงกาสา พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผลพลึงกาสา พบสารบริสุทธิ์ 3 ชนิด และพบว่ามี Embelin เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดผลพลึงกาสา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก และสอดคล้องกับ เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (มปป.) ได้ทำการศึกษาศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรรอบบ้านของไทยจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ผักคราดหัวแหวน ผักบุ้งทะเล สมอไทย สมอพิเภก และส้มป่อย พบว่าสารสกัดจากสมอพิเภก และสมอไทย มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงสุด โดยมีปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 216.65 ± 10.55 196.90 ± 6.49 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 38.27 ± 3.21 , 33.90 ± 2.37 มิลลิกรัมสมมูลของเคเทคินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และสารสกัดจากสมอพิเภก สมอไทย มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} เท่ากับ 0.0029 ± 0.0007 และ 0.0281 ± 0.0032 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และ ABTS (IC_{50} เท่ากับ 0.822 ± 0.104 และ 1.058 ± 0.057 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ได้ดี

เอกสารอ้างอิง

- ณพัชร บัวฉวน. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะเอมไทย. **วารสารวิจัยและพัฒนาโดยองค์กรฯ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 10(2), 78-95.
- ณพัชร บัวฉวน. (2558). การพัฒนาโลชั่นจากสารสกัดหยาบชะเอมไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิจัยและพัฒนาโดยองค์กรฯ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 10(2), 97-106.
- ปฐมา บุญมาลี และ ปัทมา เทียนวรรณ. (2556). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเอนไซม์ไทโรซิเนสของครีมตรีผลา. **ปริญญาเภสัชศาสตร์ บัณฑิตคณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล**.
- พิทยา ประเสริฐแสง และ วรินทร์ ขวศิริ. (2545). องค์ประกอบทางเคมีของผลพลึงกาสา (*Ardisia colorata* Roxb.) และฤทธิ์ทางชีวภาพ. **ปริญญานิพนธ์วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ (เคมี)**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตนา อินทรานุกุล. (2547). **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพรรอบบ้าน**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ. (2555). ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนเถาของชะเอมไทย. **เชียงราย : มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง**.
- สุชาติพิทย์ อินทรกำธรชัย และคณะ. (2555) **การพัฒนาครีมชะลอวัยผสมสารสกัดดอกมะลิลา**. เชียงราย: มหาวิทยาลัย แม่ฟ้าหลวง.
- Leite, L., &Dourado, L. (2013). Laboratory activities, science education and problem-solving skills. **Procedia-Social and Behavioral Sciences**. 106, 1677-1686.

Lingkard, K., Singlaton, V.L.(1977). Totalphenal analysis Automation and comparison with manual method. **Am J EnolVitic.** 28, 49-55.