

## การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา

ณพัฐอร บัวฉุน<sup>1\*</sup>

Received : August 2, 2021

Revised : December 19, 2021

Accepted : December 22, 2021

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และสารต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดหยาบจากใบปลิงกาสา จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่ามีปริมาณเท่ากับ 612.79 mg GAE/g, 58.97 mg TAE/g และ 0.62 mg QE/g ตามลำดับ ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบปลิงกาสาด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดหยาบจากใบปลิงกาสา มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 12.28 และ 8.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบความสามารถเป็นตัวรับอิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา  $Fe^{3+}$  เท่ากับ 192.39 ไมโครโมลต่อกรัม น้ำหนักสารสกัดเทียบกับสารมาตรฐาน BHT BHA Vitamin C และ  $\alpha$ -Tocopherolrol ซึ่งมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 13.74 16.18 15.24 และ 14.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ข้อมูลการศึกษานี้จะเป็นองค์ความรู้พื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรพื้นบ้านให้เกิดมูลค่าต่ออุตสาหกรรมการรักษาต่อไปในอนาคต

**คำสำคัญ:** ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ปลิงกาสา

<sup>1</sup> อาจารย์ประจำหลักสูตรสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

\*ผู้ติดต่อหลัก อีเมล: napattaorn@hotmail.com

## THE STUDY OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A CRUDE EXTRACT FROM *Ardisia polycephala* LEAVES

Napattaorn Buachoon<sup>1\*</sup>

### Abstract

This research is to study the amount of the total phenolic compounds, the total tannin compounds, the total flavonoid compounds, and the antioxidant of rough extract from *Ardisia polycephala* leaves. From the analysis of the total compounds, the amount was 612.79 mg GAE/g, 58.97 mg TAE/g and 0.62 mg QE/g respectively. According to the study of antioxidant activity by DPPH and ABTS of rough extract from *Ardisia polycephala* leaves. The antioxidant activity of crude extracts from *Ardisia polycephala* leaves with EC<sub>50</sub> values of 12.28 and 8.24 mg/mL and the ability as an electron receptor of crude extracts from *Ardisia polycephala* leaves Fe<sup>3+</sup> values of 192.39 mol/g extract were compared to standard substances BHT, BHA, Vitamin C, and  $\alpha$ -Tocopherol with EC<sub>50</sub> values of 13.74, 16.18, 15.24, and 14.46 mg/mL, respectively. This research will serve as the foundational knowledge for the future development of folk herbs to add value to the healing sector.

**Keywords:** Antioxidant activity, Total phenolic compounds, Total flavonoid compounds, *Ardisia polycephala*

---

<sup>1</sup> Lecturer of Chemistry Program , Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

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

## บทนำ

ประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ ทั้ง พืช สัตว์ และแร่ธาตุที่หลากหลาย นานาพันธุ์ ภายใต้ระบบนิเวศที่แตกต่างกัน สมุนไพรเป็นพืชที่คนไทยรู้จักนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน และทรัพยากรธรรมชาติที่ใช้เป็นอาหารและยา มีพืชต่าง ๆ ที่ทำให้เป็นสมุนไพรได้อย่างมากมายนับหมื่นชนิด ทำให้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรธรรมชาติได้รับความนิยมที่เพิ่มขึ้น และนำมาใช้เป็นการรักษาแพทย์ทางเลือก นอกจากนี้ยังพบว่าทั่วโลกมีการนำสมุนไพรทั้งที่เป็นสมุนไพรเดี่ยวและชนิดที่ปรุงเป็นตำรับยามาใช้ในการรักษาอาการป่วยขั้นพื้นฐาน เพื่อทดแทนยาแผนปัจจุบันอย่างได้ผลลัพท์ในทางที่ดี ให้คุณประโยชน์ดีกว่ายาที่ได้จากการสังเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ อีกทั้งยังครอบคลุม อาการเจ็บป่วย ได้หลาย ๆ ระบบ เช่น ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ เป็นต้น ซึ่งสาเหตุที่ทำให้มนุษย์เกิดโรคร้ายไข้เจ็บ ต่าง ๆ หนึ่งในปัจจัยนั้นคือ อนุมูลอิสระ (Free radical) (ณพัชร บัวฉวน, 2558) ผลจากการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศพบว่า อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ มากมาย อนุมูลอิสระเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่สามารถทำปฏิกิริยากับอะตอมอื่น ๆ ในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว และเป็นตัวทำลายภูมิคุ้มกันและเซลล์ต่าง ๆ อนุมูลอิสระในร่างกายเกิดจากกระบวนการต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น กระบวนการเมตาบอลิซึมซึ่งร่างกายจำเป็นต้องอาศัยออกซิเจนช่วยในกระบวนการนี้ทำให้ได้ออกซิเจนที่มีประจุลบซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้นอกจากจะรวมตัวกับไขมันไม่ดี และยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายแล้วก่อให้เกิดเป็นสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ (ณพัชร บัวฉวน และ เยาวนารณ งามนันท, 2561) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยภายนอกอาจไปกระตุ้นให้เซลล์ของร่างกายผลิตอนุมูลอิสระมากขึ้น เช่น การเผชิญกับรังสียูวี รังสีเอกซ์เรย์ การสูดดมควันบุหรี่ มลพิษจากสิ่งแวดล้อม เช่น โลหะหนัก สารเคมีจากอุตสาหกรรม ซึ่งอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกายแสดงออกมาในรูปของริ้วรอย ความเสื่อมของอวัยวะ หากสารอนุมูลอิสระมีความเข้มข้นสูงอาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมภายในเซลล์ก่อตัวเป็นเนื้อร้ายหรือเซลล์มะเร็ง ปกติร่างกายของมนุษย์มีกลไกการกำจัดสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยไปยับยั้งแหล่งที่จะเป็นต้นกำเนิดของอนุมูลอิสระหยุดการก่อตัวใหม่ และซ่อมแซมส่วนที่ได้รับความเสียหายจากอนุมูลอิสระทำให้มีสภาพเหมือนเดิมอีกครั้ง ซึ่งร่างกายสามารถสร้างได้เอง ช่วงวัยเด็กและวัยรุ่นสามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระได้ดี แต่ด้วยอายุที่มากขึ้นความเครียดสภาพแวดล้อมและวิถีชีวิตของคนในปัจจุบันทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นนั้นลดน้อยลงไม่เพียงพอต่อการกำจัดอนุมูลอิสระที่มีปริมาณมากได้ จึงต้องอาศัยการรับประทานอาหารที่เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืชสมุนไพร จะพบสารสำคัญ คือ สารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งเป็นสารเคมีที่พบในพืช โดยทั้งที่เป็นสารทุติยภูมิ (secondary product) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อจุดประสงค์ เช่น ป้องกันตัวเองจากเชื้อโรคและแมลง ให้สีสันทับกับพืช ตัวอย่างของสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (polyphenolic compound) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และไอโซฟลาโวน (isoflavones) สารพฤกษเคมีในพืชนั้นมีหลายชนิดและมีฤทธิ์ต่าง ๆ กัน และสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เนื่องจากมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมีแนวโน้มเป็นสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ดี

พืลังกาสา (*Ardisia polycephala*) มีการศึกษาวิจัยทางชีวภาพเพื่อสนับสนุนประโยชน์ทางยา พบว่ามีประโยชน์ทางเภสัชวิทยา ประกอบด้วยฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ในการถ่ายพยาธิ ฤทธิ์ต้านมะเร็งและความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านการเจริญพันธุ์ ฤทธิ์การยับยั้ง การจับตัวของลิ่มเลือด ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการปกป้องตับ และฤทธิ์ต้านเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าสมุนไพรพืลังกาสายังมีสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยคุณสมบัติอันโดดเด่นหลายประการข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบพืลังกาสาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเป็นการศึกษาเบื้องต้น และเป็น

ข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และส่งเสริมให้สมุนไพรพลังกาสาเป็นพืชเศรษฐกิจในอนาคต

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสารสกัดหยาบใบพลังกาสา
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบพลังกาสา

### วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบเป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Meryem et al. (2017)  
สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาคครั้งนี้ คือ ใบพลังกาสา (*Ardisia polycephala*) ใช้ใบอ่อนเก็บในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ.2562 จากสวนในอำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี และนำตัวอย่างใบพลังกาสาแบบแห้งไปชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน 500 กรัม แล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายโดยใช้การกรองด้วยสุญญากาศ นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator; รุ่น Rotavapor®R-100, BUCHI) จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (Ethanol extract) แล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิธีการคำนวณ จากสูตร

$$\text{Yield Crude Extract} = (b/a) \times 100\%$$

เมื่อ a = น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)

b = ปริมาณใบพลังกาสาที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

2. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของใบพลังกาสา  
การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Slinkard & Singleton (1997) ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานจากบริษัท Sigma-Aldrich (ที่ความเข้มข้น 1.0 0.8 0.4 0.2 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยนำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นหรือสารสกัดที่ต้องการทดสอบปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu reagent 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที เติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/ g crude extract)

3. การหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของใบพลังกาสา  
การหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด (Total tannin compounds) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Slinkard & Singleton (1997) ใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐานจากบริษัท Sigma-Aldrich (ที่ความเข้มข้น 1.0 0.8 0.4 0.2 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยนำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นหรือสารสกัดที่ต้องการทดสอบปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม Folin-Ciocalteu reagent 500 ไมโครลิตร เขย่า 1 นาที เติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกรดแทนนิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด (mg TAE/ g crude extract)

4. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids compounds) (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak, et al, 2008)

เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินที่ความเข้มข้น 1.0 0.8 0.4 0.2 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และทำการผสมกับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (1%  $AlCl_3$ ) ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าและทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ทำการทดสอบเช่นกันกับสารสกัดเพื่อหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และนำเสนอค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg QE/g extract)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Zhu et al. (2006) โดยเตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 50-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบปริมาณ 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 โมล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้ BHT, BHA, Vitamin C และ  $\alpha$ -Tocopherol เป็นสารมาตรฐานจากบริษัท Sigma-Aldrich ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้วิเคราะห์หาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition DPPH) โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(Abs_{\text{Control}} - Abs_{\text{sample}}) \times 100] / Abs_{\text{Control}}$$

นำค่า % radical scavenging activity มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหา  $EC_{50}$

5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS radical scavenging activity) โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Re et al. (1999)

โดยเตรียมสาร ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมล ผสมกับ potassium persulfate (KPS) ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (2:1) ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 ชั่วโมง นำมาเจือจางและ วัดค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ  $0.700 \pm 0.02$  ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำสารละลายของสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่าเท่ากับ  $0.70 \pm 0.02$  ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้ BHT, BHA, Vitamin C และ  $\alpha$ -Tocopherol เป็นสารมาตรฐานทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้วิเคราะห์หาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (% Inhibition ABTS) โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(Abs_{\text{Control}} - Abs_{\text{sample}}) \times 100] / Abs_{\text{Control}}$$

นำค่า % radical scavenging activity มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหา  $EC_{50}$

5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie & Strain (1996) เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสม Acetate buffer pH 3.5 มิลลิโมลาร์  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  และ สารละลาย TPTZ ใน 40 มิลลิโมลาร์ HCl อัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ

ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำสารละลายของสารสกัดตัวอย่างมาเติมสาร FRAP reagent ดังนี้

A (Test sample) : สารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสม FRAP reagent 9 มิลลิลิตร

B (Blank) : สารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสม Acetate buffer 9 มิลลิลิตร

C (Control) : Ethanol 1 มิลลิลิตร ผสม FRAP reagent 9 มิลลิลิตร

หลังจากนั้นนำสาร A B และ C มาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากสมการ

$$ABS = A - B - C$$

คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous sulfate ( $FeSO_4$ ) แสดงค่าในรูปของมิลลิโมลาร์สมมูลของ  $Fe^{2+}$  ต่อกรัมสารสกัด (mM  $Fe^{2+}$  equivalent/g sample extract)

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. ผลการสกัดสารจากใบปลิงกาสาด้วยเอทานอล

ผลการสกัดใบปลิงกาสาด้วยเอทานอล โดยวิธีการแช่หมักด้วยเอทานอล พบว่า สารสกัดหยาบใบปลิงกาสาที่ได้มีลักษณะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม นำมาหาร้อยละของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา (% Yield) พบว่า สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีน้ำหนักของสารสกัดเท่ากับ 24.51 คิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบ เท่ากับ 4.90

### 2. ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ  $612.79 \pm 0.01$  mg GAE/g,  $58.97 \pm 0.06$  mg TAE/g และ  $162.42 \pm 0.02$  mg QE/g ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา

| สาร                                          | สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา |
|----------------------------------------------|-----------------------|
| สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)   | $612.79 \pm 0.01$     |
| สารประกอบแทนนินทั้งหมด (mg TAE/g extract)    | $58.97 \pm 0.06$      |
| สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QE/g extract) | $162.42 \pm 0.02$     |

### 3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสาด้วยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $12.28 \pm 0.03$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี ABTS assay สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $8.24 \pm 0.01$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบความสามารถเป็นตัวรับอิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา เท่ากับ  $Fe^{3+}$   $192.39 \pm 0.23$  ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด แสดงว่า สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP assay ของสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา

| สาร                   | DPPH assay<br>$EC_{50}$ (mg/mL) | ABST assay<br>$EC_{50}$ (mg/mL) | FRAP assay<br>$\mu\text{mol/g extract}$ |
|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|
| BHT                   | $13.74 \pm 0.21$                | $11.56 \pm 0.16$                | $202.45 \pm 0.22$                       |
| BHA                   | $16.18 \pm 0.12$                | $8.98 \pm 0.21$                 | $198.39 \pm 0.16$                       |
| Vitamin C             | $15.24 \pm 0.13$                | $10.55 \pm 0.20$                | $209.80 \pm 0.17$                       |
| $\alpha$ -Tocopherol  | $14.46 \pm 0.41$                | $9.64 \pm 0.19$                 | $228.21 \pm 0.21$                       |
| สารสกัดหยาบใบปลิงกาสา | $12.28 \pm 0.03$                | $8.24 \pm 0.01$                 | $192.39 \pm 0.23$                       |

### อภิปรายผล

จากการทดลองพบว่า เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าสารสกัดหยาบใบปลิงกาสา มีปริมาณสารดังกล่าวเท่ากับ  $612.79 \pm 0.01$  mg GAE/g,  $58.97 \pm 0.06$  mg TAE/g และ  $162.42 \pm 0.02$  mg QE/g ตามลำดับ ซึ่งของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปิยศิริ สุนทรนนท์ และคณะ (2557) ที่พบว่าในสารสกัดผลปลิงกาสาที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ  $58.38 \pm 3.20$  เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) หมายความว่า หากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมาก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ก็จะสูงด้วย ( $EC_{50}$  น้อย) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการรายงานของ Piluzza & Bullitta (2021) ที่รายงานว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นั่นคือถ้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงความสามารถในการเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงด้วย จากการศึกษาของ ปิยศิริ สุนทรนนท์ และคณะ (2557) พบว่า สารสกัดจากเนื้อปลิงกาสาที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH $\bullet$  ได้ดีที่สุดที่สุดสูงโดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $15.16$  mg/mL เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT ผลของการวิจัยของ Dey SK et al (2014) ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลของผลปลิงกาสาพบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยให้ค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $30.75$   $\mu\text{g/ml}$  เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging อาจเนื่องจากใบปลิงกาสา มีองค์ประกอบทางเคมีหลากหลายชนิด ได้แก่ tannin, hydrolyzable flavanone, flavone, flavonol, xanthone, anthocyanin, anthocyanidin, epigallocatechin gallate,

epigallocatechin และ epicatechin gallate โดยสารแต่ละชนิดนั้นมีกลไกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (บรรพต จอมสุวรรณ และคณะ, 2560)

ผลจากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABST จากค่า  $EC_{50}$  ของสารสกัดหยาบของ ใบพลิงกาสา ( $8.24 \pm 0.01$  mg/mL) พบว่าสารสกัดหยาบใบพลิงกาสามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ดีที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS กับปริมาณสารประกอบแทนนิน ทั้งหมดพบว่ามีความสัมพันธ์กัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH FRAP และ ABTS มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธีของสารสกัดหยาบใบ พลิงกาสา จะพบว่า สารสกัดหยาบใบพลิงกาสามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งมีการ รายงานว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นเมื่อปริมาณโพลีฟีนอลมีมากขึ้น

จากการทดสอบในแต่ละวิธีจะพบว่า การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เป็นการทดสอบ ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการดักจับอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สารต้าน อนุมูลอิสระทำหน้าที่ในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่เสถียร ปฏิกิริยาและจะ เปลี่ยนสารสีม่วงให้เป็นสารสีเหลือง (Amicet et al., 2003) เช่นเดียวกับปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่อนุมูลอิสระ ABTS เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะได้สาร ABTS ที่เสถียร ปฏิกิริยาจะเปลี่ยนสาร สีเขียวเข้มเป็นสารสีเขียวที่มีความจางลง และในการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP Assay เป็นวิธี วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นอีกกลไกหนึ่งในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม ความสามารถให้อิเล็กตรอนของสารประกอบฟีนอลิก มิได้อยู่ภายใต้อิทธิพลของจำนวนหมู่ ฟีนอลิกอย่างเดียวเท่านั้น แต่อาจขึ้นกับตำแหน่งหมู่ ไฮดรอกซิลที่เป็นส่วนประกอบโครงสร้างดังกล่าวด้วย เนื่องจากมีหมู่ ortho-dihydroxyl บนวงแหวนบี (B-ring) ของฟลาโวนอยด์ สามารถให้อิเล็กตรอนได้ดีกว่า หมู่ hydroxyl ที่ตำแหน่งอื่น ๆ บนโมเลกุลเดียวกัน (Morel et al., 1998) ในการทดลองที่พบสารสกัดหยาบ ใบพลิงกาสามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง เนื่องจากมีกลุ่มสารโพลีฟีนอลมาก (ปิยศิริ สุนทรนนท์ และคณะ, 2557) และประกอบใบพลิงกาสามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีรสฝาด ซึ่งสอดคล้องกับ Pitchaon M. et al. (2006) รายงานวิจัยว่าพืชที่มีรสฝาดจะมีสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในปริมาณสูง และไมตรี สุทธิจิตต์และคณะ (2543) ศึกษาวิจัยพบว่าพืชที่มีรสฝาดส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และนอกจากนี้ยังพบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระมีส่วนช่วยในการป้องกันโรคเรื้อรังบางชนิด เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น ซึ่ง syringic acid เป็นสารจำพวก phenolic acid และเป็นสารที่พบได้ในใบพลิงกาสา ซึ่งจากการทดลองจะพบว่าสารสกัดใบพลิงกาสาจึงน่าจะมีบทบาทในการป้องกันโรคเรื้อรังดังกล่าวได้ ผลวิจัยนี้เป็นข้อมูลในการพัฒนานำสารสกัดจากใบพลิงกาสา ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและปลอดภัย ไปใช้ในการ ผสมอาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทอื่นเช่น ชา

## สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบใบพลิงกาสา พบว่า สารสกัดหยาบใบพลิงกาสามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง และพบว่าสารสกัดหยาบใบพลิงกาสามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดนำไปต่อยอดเพื่อศึกษาในโมเดลทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



ต่อไป เช่น การยับยั้งแบคทีเรีย การต้านอัลไซเมอร์และการยับยั้งมะเร็ง

### ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาวิจัยกลไกการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับไบโพลิงกาสาและศึกษาในระดับคลินิกต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

- ณพัชร บัวฉน. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากชะเอมไทย. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 10(2), 78-95.
- ณพัชร บัวฉน, และเยวนารถ งามนนท์. (2561). การพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวจากสารสกัดหยาบชะเอมไทยและพื้งกาสา. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 13(2), 74-85.
- บรรทด จอมสวรรค์, ธนศักดิ์ ธนะสาร, ประเสริฐ ไวยะกา, และศุภวุฒิ ใจกล้า. (2560).ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักจ้ำ. **วารสารการวิจัยกาสะลองคำ**, 11(3), 1-9.
- ปณัฐรา ไชยมุติ. (2546). การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรบางชนิด. วิทยานิพนธ์วท.ม. (ชีวเคมี) สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปิยศิริ สุนทรนนท์, อุบล ต้นสม, และสมภพ เกาทอง. (2557). การศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันจากส่วนต่าง ๆ ของผลพื้งกาสา. ยะลา: มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา.
- ไมตรี สุทธจิตต์, อุดมกัณฑ์ ชาลสุวรรณ, ศิริวรรณ สุทธจิตต์, ปกฤษฏางค์ แก้วสุริยะ, และภาคศิริ สินไชยกิจ. (2543). ความสามารถของสารสำคัญในการต่อต้านออกซิเดชันของสมุนไพรไทย. รายงานการวิจัยแพทย์แผนไทยฉบับสมบูรณ์. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- Amicet Amic D, D. Beslo & N. Trinajstic. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Croatia Chim Acta**, 76: 55–61.
- Benzie IFF,& Strain JJ. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, 239(1), 70-76.
- Dey S., Hira A., Howlader MS., Ahmed A., Hossain H., & Jahan IA.(2014) Antioxidant and antidiarrheal activities of ethanol extract of Ardisia elliptica fruits. **Phrm Biol**, 52 :213-220.
- Morel, I., Cillard, P. & Cillard, J. (1998). **Flavonoid-metal Interactions in Biological System**, In C.A. Rice-Evans and L. Packer (eds.). **Flavonoids in Health and Disease** (3rd), New York, 163-177.
- Piluzza, G. & Bullitta, S. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. **Pharmaceutical Biology**, 49(3), 240-247
- Pitchaon, M., Maitree, S. & Rungnaphar P. (2006). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, 100(4): 1409-1418.

- Prommuak, C., D-Eknamkul, W. & Shotipruk, A. (2008). Extraction of flavonoids and carotenoids from thai silk waste and antioxidant activity of extract. **Separation and Purification Technology**, 62, 444-448.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999), Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26, 1231-1237.
- Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1997). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, 28(1): 49-55.
- Zhu, K., Zhou, H. & Qian, H. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. **Process Biochemistry**, 41(6): 1296-1302.
- Meryem B., Noori S. A., Nawal E. M., Hamada I., Anna C., Thia A.W., & Badiia L. (2017). Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. **Journal Food Scientists & Technologists**, 54(4): 4205-4212.