องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกะทกรก

วัลย์ลิกา สุขสำราญ[1*] กัณฐมณี โพธิวัฒน์[2] อรอนงค์ ประนนท์[3]

Received : February 3, 2022
Revised : April 15, 2022
Accepted : April 26, 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก (*Passiflora foetida* L.) ทั้งหมด 4 ส่วน ได้แก่ ใบ ดอก เปลือก และเมล็ด จากการศึกษาสารพฤกษเคมีจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก สารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบ พบคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟีนอลิก และ ฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม มีปริมาณ 22.02 ± 0.04 ถึง 68.82 ± 0.08 mgGAE.g-1, 34.25 ± 0.09 ถึง 87.36 ± 0.04 mgTAE.g-1 และ 22.13±0.31 ถึง 148.33±2.92 mgRE.g-1 ตามลำดับ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay ที่ความเข้มข้น 1395.00 ไมโครกรัมต่อลิตร สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบกะทกรกมีฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24 ± 0.19 รองลงมาคือ เปลือก (ร้อยละ 87.52 ± 0.65) เมล็ด (ร้อยละ 76.79 ± 0.54) และดอก (ร้อยละ 47.13 ± 0.36) ตามลำดับ และจากการศึกษาความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบกะทกรกมีค่า IC_{50} มากที่สุดเท่ากับ 494.70 ไมโครกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เปลือก (629.08 ไมโครกรัมต่อลิตร) เมล็ด (897.90 ไมโครกรัมต่อลิตร) และดอก (1524.15 ไมโครกรัมต่อลิตร) จากผลข้างต้นพบว่าสามารถนำส่วนต่าง ๆ ของกะทกรกมาเป็นข้อมูลที่สนับสนุนการพัฒนาสมุนไพรมาใช้ต่อไป

คำสำคัญ: กะทกรก พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

---

[1] อาจารย์ประจำหลักสูตร สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี จังหวัดลพบุรี อีเมล: walliga.s@lawasri.tru.ac.th

[2] นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี จังหวัดลพบุรี อีเมล: ktmnptw782540@gmail.com

[3] นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี จังหวัดลพบุรี อีเมล: pangonanong18@gmail.com

** ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล: walliga.s@lawasri.tru.ac.th*

PHYTOCHEMICAL COMPOSITIONS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Passiflora foetida* L.

Wallika Suksomran[1*] Kantamanee Phothiwat[2] Onanong Panon[3]

Abstract

The present study was performed to evaluate the phytochemicals and biological activities of the methanolic extracts from four parts of *Passiflora foetida* L., such as leaves, flowers, peels and seeds. Phytochemicals of methanolic extracts presented cardiac glycoside, coumarins, saponins, tannins, phenolic and flavonoids. Total phenolic content, total tannins content and total flavonoids content were in range of 22.02 ± 0.04 to 68.82 ± 0.08 mgGAE.g^{-1}, 34.25 ± 0.09 to 87.36 ± 0.04 mgTAE.g^{-1} and 22.13±0.31 to 148.33±2.92 mgRE.g^{-1}, respectively. The antioxidant activity obtained from DPPH free radical scavenging assay method at 1395.00 ug.mL^{-1} methanolic *P. foetida* extracts demonstrated the highest antioxidant activity of extract from leaves (91.24 ± 0.19 %) followed by peels (87.52 ± 0.65 %), seeds (76.79 ± 0.54 %) and flowers (47.13 ± 0.36 %), respectively. In addition, study of extract concentration of 50% effective antioxidants (IC_{50}) revealed the highest IC_{50} value of extract from *P. foetida* leaves (494.70 µg.mL^{-1}) followed by peels (629.08 µg.mL^{-1}), seeds (897.90 µg.mL^{-1}) and flowers (1524.15 µg.mL^{-1}), these results provided the potential information of *P. foetida* to support development of this herb for further application.

Keywords: *Passiflora foetida* L., Phytochemical, Antioxidant activity

[1] *Lecturer of Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University, e-mail: walliga.s@lawasri.tru.ac.th*

[2] *Undergraduate student of Science Program in Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University, e-mail: ktmnptw782540@gmail.com*

[3] *Undergraduate student of Science Program in Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University, e-mail: pangonanong18@gmail.com*

** Corresponding author, e-mail: walliga.s@lawasri.tru.ac.th*

บทนำ

ด้วยสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่เอื้อต่อการเติบโตของพืชในเขตร้อนชื้น ทำให้มีความหลากหลายของพืชสมุนไพร โดยพืชสมุนไพรเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่สุด ตัวอย่างของสารพฤกษเคมีที่สำคัญ ได้แก่ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (Anthroquinone glycoside) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย (Sakulpanich & Grissanapan, 2008) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Beer et al., 2002; Pourmorad et al., 2006) ต้านอักเสบ (Sharma et al. 2011) และเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Ghasemzadeh et al., 2010) อัลคาลอยด์ (Alkaloids) มีฤทธิ์ต้านอักเสบ และต้านมะเร็ง (พิสมัย เหล่าภัทรเกษม, 2548) เป็นต้น ดังนั้น การองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากพืชสมุนไพรจึงเป็นปัจจัยหลักในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พืชสมุนไพรจึงมีความสำคัญไม่เพียงแต่ให้ประโยชน์ด้านการรักษาโรคเท่านั้น แต่ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรชนิดนั้น ๆ ด้วย สารพฤกษเคมีที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เพราะสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บที่ร้ายแรง เช่น โรคมะเร็ง และโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน เป็นต้น (พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล, 2549; พิสมัย เหล่าภัทรเกษม, 2548; Ghasemzadeh et al., 2010; Pham-Huy et al., 2008)

กะทกรก (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Passiflora foetida* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่สามารถพบได้ทั่วไปตามท้องถิ่นต่าง ๆ เป็นไม้เถาเลื้อยคล้ายตำลึง ในภูมิปัญญาพื้นบ้านมีการนำกะทกรกมาใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ อาทิเช่น แก้อาการปวดต่าง ๆ แก้ความดันโลหิตสูง ระงับความเครียดความวิตกกังวล และนอกจากนี้ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร ได้ศึกษาวิจัยสารสกัดจากกะทกรก พบว่าสามารถเพิ่มระดับสารสื่อประสาทโดพามีนและลดระดับเอนไซม์ MAO-B ในสมองหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับ Sinemet ซึ่งเป็นยารักษาโรคพาร์กินสัน จึงได้นำเอามาพัฒนาสูตรตำรับยาเม็ดเคลือบฟิล์มชนิดธรรมดาในชื่อผลิตภัณฑ์จากสารสกัดกะทกรกว่า “ParkinPas” โดยผ่านการศึกษาขั้นคลินิกในเรื่องความปลอดภัยและประสิทธิผลต่อการบรรเทาอาการจากโรคพาร์กินสันในอาสาสมัครเปรียบเทียบกับยาหลอก พบว่า ผลิตภัณฑ์ ParkinPas สารสกัดจากกะทกรกไม่ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่รุนแรงในอาสาสมัคร (กฤติยา ทิสยากร, 2562) ดังนั้นการศึกษาหาสารพฤกษเคมีในกะทกรกจึงมีส่วนช่วยให้การทำกะทกรกมาใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางขึ้น โดยสุรพล พหลภาคย์ และคณะ (2556) ทดสอบพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นกะทกรก พบกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ สารแทนนิน ซาโปนิน ไกลโคไซด์ และคาร์ดิเอคไกลโคไซด์ ในสารสกัดชั้นน้ำที่อุณหภูมิห้อง, น้ำต้มเดือด และเอทานอล แต่ไม่พบ สารสเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ในสารสกัดทั้ง 3 ชั้น และจากการศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการสกัดสารพฤกษเคมีจากกระทะรก โดย Chiavaroli et al. (2020) พบว่า เมทานอลและเอทิลอะซิเตตมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในปริมาณที่สูง ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์

รวมและวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH free radical scavenging assay จากส่วนต่าง ๆ ของต้นกะทกรกโดยสกัดด้วยเมทานอล

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี จากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก เปลือก และเมล็ด

2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม จากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก เปลือก และเมล็ด

3. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH free radical scavenging assay จากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก เปลือก และเมล็ด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

การศึกษาในงานวิจัยนี้ นำกะทกรกจากพื้นที่ทุ่งหญ้าในตำบลพระพุทธบาท อำเภอเมือง จังหวัดสระบุรี เก็บในช่วงเดือนมกราคม-มีนาคม โดยเลือกส่วนต่าง ๆ ของกะทกรกมาทำการศึกษาหาสารพฤกษเคมี โดยนำส่วนใบ ดอก เปลือก และเมล็ด มาทำความสะอาด เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออกและนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้แห้งเพื่อไล่ความชื้นออก และใช้ในการสกัดสารต่อไป

2. การสกัดจากกะทกรก (Ojha et al. 2018)

ชั่งตัวอย่างกะทกรกที่อบแห้ง ทั้ง 4 ส่วน ได้แก่ ดอก ใบ เปลือกผล และเมล็ด 20 กรัม สกัดด้วยตัว ทำละลายเมทานอล 200 มิลลิลิตร ด้วยวิธีการสกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) อุ่น 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ หาร้อยละผลผลิต โดยคำนวณดังนี้

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักส่วนของกะทกรก (กรัม)}} \times 100$$

3. การศึกษาองค์ประกอบพฤกษเคมี

3.1 การตรวจสอบคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) ปรับปรุงจาก พาลาภ มะณีแนม และศักดิ์ศรี แสนยาเจริญกุล (2561) นำสารสกัดปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เติมไดคลอโรมีเทนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ร้อยละ 1 ($FeCl_3$) จำนวน 5 หยดลงในของเหลวที่ได้จากกรอง เขย่าให้สารเข้ากันแล้วเติมกรดแอซิติกเข้มข้น (Glacial acetic acid) จำนวน 5 หยด เขย่าแล้ว ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ให้กรดรินลงข้างหลอดทดลองอย่างช้า ๆ ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลเกิดขึ้นตรงรอยต่อระหว่างชั้นสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบสารกลุ่มคาร์ดิแอคไกลโคไซด์

3.2 การตรวจสอบคูมาริน (Coumarin) ปรับปรุงจาก พาลาภ มะณีแนมและศักดิ์ศรี แสนยาเจริญกุล (2561) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายเมทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

แล้วกรอง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในของเหลวที่กรองได้ เขย่าแล้วถ้าสังเกตว่าเกิดสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบสารกลุ่มคูมาริน

3.3 การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins) ปรับปรุงจาก ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ (2556) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด นำของเหลวที่ผ่านการกรองมาเติมน้ำปราศจากไอออน 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง ๆ หากมีฟองเกิดขึ้นและคงอยู่ประมาณ 3-5 นาทีแสดงว่าพบสารในกลุ่มซาโปนิน

3.4 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ปรับปรุงจาก ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ (2556) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร ใส่ผงแมกนีเซียม 5 มิลลิกรัม เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร สังเกตสีของสารละลายถ้าเกิดสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

3.5 การตรวจสอบอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ปรับปรุงจาก ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ (2556) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 2-3 นาที กรองแล้วเก็บของเหลวทิ้งไว้ให้ของเหลวเย็นลง หยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) 5-8 หยด ปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบสารในกลุ่มอัลคาลอยด์

3.6 การตรวจสอบแทนนิน (Tannins) ปรับปรุงจาก วาทินี เสล่าษฎร์ (2559) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นกรอง หยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 1 จำนวน 5 หยดลงในของเหลวที่กรองได้ สังเกตสีของสารละลายถ้าเกิดสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบสารในกลุ่มแทนนิน

3.7 การตรวจสอบฟีนอลิก (Phenolic) ปรับปรุงจาก วาทินี เสล่าษฎร์ (2559) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นกรอง หยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ร้อยละ 1 จำนวน 5 หยดลงในของเหลวที่กรองได้ สังเกตสีของสารละลายถ้าเกิดสีเขียวดำหรือน้ำเงินสีดำ แสดงว่าพบสารในกลุ่มฟีนอลิก

3.8 การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthaquinones) ปรับปรุงจาก ธีรยุทธ์ ศรียาเทพ และคณะ (2563) นำสารสกัด 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรนำไปอุ่นอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 5 นาที กรองเก็บของเหลวแล้วทิ้งไว้เย็นลง นำของเหลวมาสกัดต่อด้วยไดคลอโรมีเทนแยกชั้นส่วนล่างด้วยกรวยกรองมาเติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 2-3 หยด สังเกตสีของสารละลายถ้าเกิดสีชมพูแดงแสดงว่าพบสารในกลุ่มแอนทราควิโนน

4. การวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารประกอบพฤกษเคมีบางชนิด

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Leite & Dourado, 2013; Lingkard & Singlaton, 1977)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดโดยใช้สารละลายฟอลินซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu) เป็นตัวออกซิไดซ์และใช้สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 5 - 125 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบปริมาตร 200 ไมโครลิตรกับสารละลายฟอลินซิโอแคลตู ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร และเติมน้ำปราศจากไอออน 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักส่วนสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE.g^{-1} dried extract) โดยสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลื่นแสงที่ 760 นาโนเมตรกับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก แล้วทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินรวม (Leite & Dourado, 2013; Lingkard & Singlaton, 1977)

การหาปริมาณแทนนินรวมของสารสกัดโดยใช้สารละลายฟอลินซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu) เป็นตัวออกซิไดซ์และใช้สารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid) ผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นระหว่าง 5 - 125 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร กับสารละลายฟอลินซิโอแคลตูที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร และเติมน้ำปราศจากไอออน 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบแทนนินรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแทนนิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแทนนิกต่อน้ำหนักส่วนสกัดแห้ง 1 กรัม (Tannic acid equivalents, mgTAE.g^{-1} dried extract) นำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลื่นแสงที่ 760 นาโนเมตร กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานกรดแทนนิก แล้วทำการหาสมการเส้นตรง และค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Leite & Dourado, 2013; Lingkard & Singlaton, 1977)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content) ผสมสารละลายมาตรฐานรูทินที่มีความเข้มข้น 5 – 100 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือสารตัวอย่างที่ต้องการจะทดสอบ หลังจากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 4 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไนไตรท์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เติมสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่ทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีปริมาตรใหม่เป็น 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นำไปหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานรูทิน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของรูทินต่อน้ำหนักส่วนสกัดแห้ง 1 กรัม (Rutin equivalents, mgRE.g^{-1} dried extract) โดยสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรกับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารมาตรฐานรูทิน แล้วทำการหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 จากกราฟมาตรฐาน

4.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH free radical scavenging assay ทำโดยผสมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 500 ไมโครกรัมต่อลิตรหรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 5,000 ไมโครกรัมต่อลิตรกับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้น

2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH free radical inhibition) และความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก การคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH free radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA มาเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การสกัดส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากกะทกรก

ตัวอย่างกะทกรกทั้ง 4 ส่วน ได้แก่ ใบ เปลือก ดอก และเมล็ดมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธีการสกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายของแต่ละตัวอย่าง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้เป็นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (Methanol extract) ที่มีน้ำหนักสารสกัดหยาบ ร้อยละผลผลิต (Percentage yield) และลักษณะต่าง ๆ ทางกายภาพดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักตัวอย่างพืช น้ำหนักสารสกัด ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของกะทกรก

ตัวอย่าง	น้ำหนัก (กรัม)		ร้อยละผลผลิต	ลักษณะของสารที่สกัดได้
	ตัวอย่างพืช	สารสกัด		
ใบ	20	2.50	12.50	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
เปลือก	20	4.54	22.70	ของเหลวข้นหนืดสีส้มอิฐ
ดอก	20	1.99	9.95	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
เมล็ด	20	2.43	12.15	ของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม

จากการสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากเปลือกกะทกรกให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 22.70 รองลงมาคือ ใบ (ร้อยละ 12.50) เมล็ด (ร้อยละ 12.15) และดอก (ร้อยละ 9.95) ตามลำดับ

2. การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ออกเป็น 8 กลุ่ม ได้แก่ คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน และแอลคาลอยด์ โดยสังเกตจากปฏิกิริยาที่มีการเกิดสีหรือตะกอนขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก

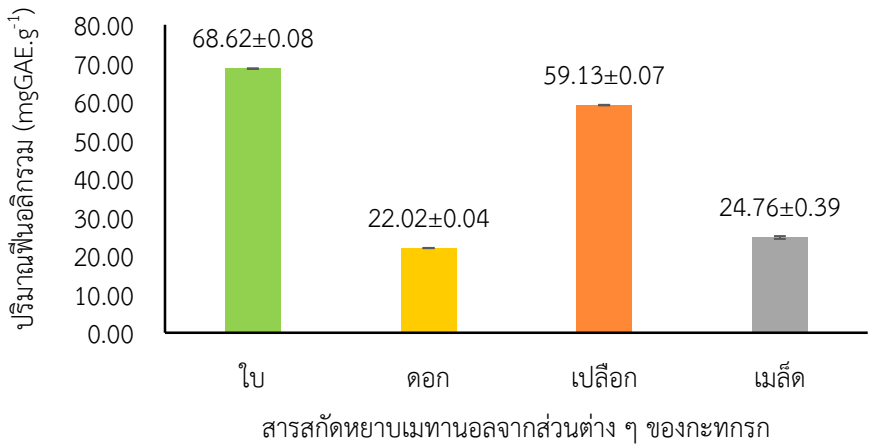
สารพฤกษเคมี	สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก			
	ใบ	ดอก	เปลือก	เมล็ด
คาร์ดิแอคไกลโคไซด์	+	+	+	+
คูมาริน	+	+	+	+
ซาโปนิน	+	+	+	+
แทนนิน	+	+	+	+
ฟีนอลิก	+	+	+	+
ฟลาโวนอยด์	+	+	+	+
แอนทราควิโนน	-	-	-	-
อัลคาลอยด์	-	-	-	-

หมายเหตุ - ตรวจสอบไม่พบ
+ ตรวจสอบพบ

ตรวจสอบพบสารพฤกษเคมีจากส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก คือ คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ พบใน ใบ ดอก เปลือก เมล็ด แต่ไม่พบแอนทราควิโนน และอัลคาลอยด์ในการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

3. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

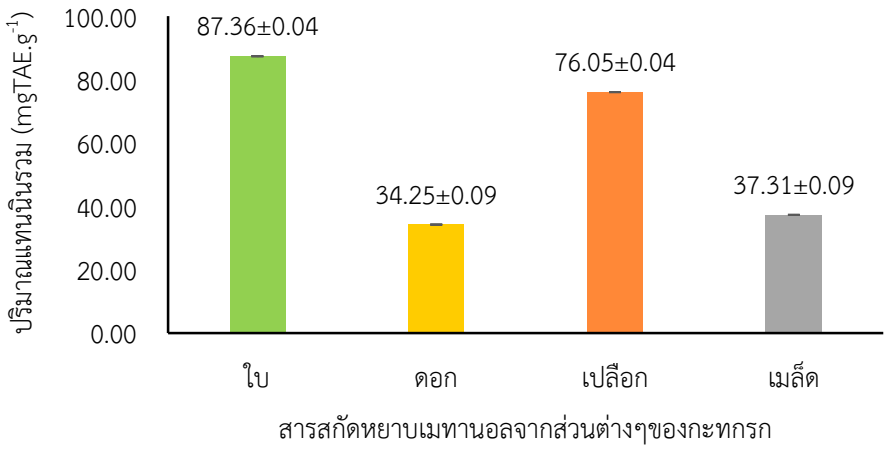
การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ซึ่งใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และใช้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม ดังภาพที่ 1 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้จากสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มทดลอง ด้วยวิธี One-way ANOVA ที่ระดับความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ $P< 0.05$ โดยสารสกัดหยาบเมทานอลจากใบกะทกรกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดเท่ากับ 68.62 ± 0.08 mgGAE.g^{-1} รองลงมาคือเปลือก (59.13 ± 0.07 mgGAEg^{-1}) เมล็ด (24.76 ± 0.39 mgGAE.g^{-1}) และดอก (22.02 ± 0.04 mgGAE.g^{-1}) ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก

4. การหาปริมาณสารประกอบแทนนินรวม

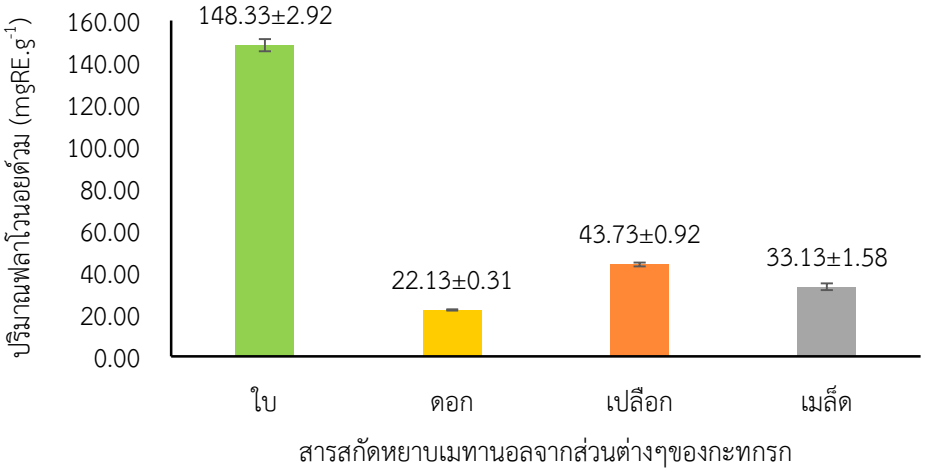
การหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ซึ่งใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐาน และใช้กราฟมาตรฐานกรดแทนนินในการหาปริมาณสารประกอบแทนนินรวมของสารตัวอย่าง รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแทนนิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม ดังภาพที่ 2 พบว่าปริมาณสารประกอบแทนนินรวมที่ได้จากสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มทดลอง ด้วยวิธี One-way ANOVA ที่ระดับความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ $P< 0.05$ โดยสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบกะทกรกมีปริมาณสารประกอบแทนนินรวมมากที่สุดเท่ากับ 87.36 ± 0.04 mgTAE.g^{-1} รองลงมาคือเปลือก (76.05 ± 0.04 mgTAEg^{-1}) เมล็ด (37.31 ± 0.09 mgTAE.g^{-1}) และดอก (34.25 ± 0.09 mgTAE.g^{-1})



ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบแทนนินรวมของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก

5. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric โดยใช้รูทิน เป็นสารมาตรฐาน และใช้กราฟมาตรฐานรูทินในการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างรายงาน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของรูทินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม ดังภาพที่ 3 พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่ได้จากสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนต่าง ๆ ของวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มทดลอง ด้วยวิธี One-way ANOVA ที่ระดับความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ $P< 0.05$ โดยสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบกะทกรกมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 148.33±2.92 mgRE.g^{-1} รองลงมาคือ เปลือก (43.73±0.92 mgRE.g^{-1}) เมล็ด (33.13±1.58 mgRE.g^{-1}) และดอก (22.13±0.31 mgRE.g^{-1})



ภาพที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก

จากศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก พบว่า ส่วนของใบและเปลือกของผลมีปริมาณสารประกอบดังกล่าวสูงกว่าในเมล็ดและดอก อาจเนื่องมาจากใบไม้มีหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงและจัดเก็บสารอาหาร ส่วนเปลือกของผลมีหน้าที่ปกป้องเมล็ดที่บริเวณเปลือกติดกับส่วนเนื้อของผลที่ประกอบด้วยแร่ธาตุ สารประกอบอินทรีย์พื้นฐานและสารตั้งต้นที่ส่งเสริมในการแพร่กระจายพันธุ์ (Tandoro et al., 2020) และเมื่อเปรียบเทียบกับพืชในวงศ์กะทกรก (PASSIFLORACEAE) อย่าง เสาวรสลิ้นงู *Passiflora incarnate* L. เป็นพืชที่มีความคล้ายคลึงกับกะทะรก พบว่าจากใบที่สกัดด้วยเมทานอลมีแทนนิน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์และฟีนอลิก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในใบที่สูงเช่นกัน (Elghobashy et al., 2020)

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH free radical scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay ซึ่งใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน แสดงผลการทดลองเป็นร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรกกับสารมาตรฐานวิตามินซี

ส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากกะทกรก	ความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) (ไมโครกรัมต่อลิตร)
วิตามินซี	6.79
ใบ	494.70
ดอก	1524.15
เปลือก	629.08
เมล็ด	897.90

พบว่า ความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบกะทกรก มีความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเท่ากับ 494.70 ไมโครกรัมต่อลิตร รองลงมา คือ เปลือก (629.08 ไมโครกรัมต่อลิตร) เมล็ด (897.90 ไมโครกรัมต่อลิตร) และดอก (1524.15 ไมโครกรัมต่อลิตร) ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวิตามินซี สารสกัดจากกะทกรกจะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า เนื่องจากสารสกัดจากกะทกรกไม่ได้ถูกสกัดแยกให้บริสุทธิ์ทำให้มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเมื่อเทียบกับน้ำหนักที่ใช้

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ได้แก่ ใบ ดอก เปลือก และเมล็ด พบสารพฤกษเคมี 6 ชนิด ได้แก่ คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Paulraj et al. (2014) ที่ศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากส่วนใบ ราก และผลของกะทกรกที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล เอทิลอะซิเตต คลอโรฟอร์ม และปิโตรเลียม อีเทอร์ พบว่ามีสารคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ซาโปนิน แทนนิน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และเทอร์พีนอยด์อยู่ในเกือบทุกส่วนของกะทกรก รายงานการศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบกะทกรก พบว่ามีสารในกลุ่มเดียวกัน 5 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน โดยสารในกลุ่มดังกล่าวเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ พืชส่วนมากพบสารในกลุ่มนี้ (Trinovita & Fatmaria, 2020) สุรพล พหลภาคย์ และคณะ (2556) ทดสอบพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นกะทกรก พบกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ สารแทนนิน สปอนนิน ไกลโคไซด์ และคาร์ดิเอคไกลโคไซด์ ในสารสกัดชั้นน้ำที่อุณหภูมิห้อง, น้ำต้มเดือด และเอทานอล แต่ไม่พบสารสเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ในสารสกัดทั้ง 3 ชั้น

การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรกในการศึกษานี้ พบว่าสารสกัดจากใบกะทกรกมีปริมาณมากที่สุด เท่ากับ 68.62 ± 0.08 mgGAE.g^{-1}, 87.36 ± 0.04 mgTAE.g^{-1} และ 148.33 ± 2.92 mgRE.g^{-1} ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาที่แสดงถึงค่าความแตกต่างของปริมาณสารพฤษเคมีของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก ซึ่งส่วนต่าง ๆ ของพืชมีหน้าที่และคุณค่าทางโภชนาการต่างกัน รวมถึงการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันที่ความมีขั้วของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน Ajane & Patil (2019) รายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดน้ำจากใบกะทกรก มีค่าเท่ากับ 63.91 mgGAE.g^{-1}, 32.27 mgTAE.g^{-1} และ 30.98 mgRE.g^{-1} ตามลำดับ มีรายงานผลการเปรียบเทียบสารสกัดน้ำจากใบและผลกะทกรก พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดน้ำจากใบกะทกรก (22.92±0.18 และ 6.53±1.02 mgGAE.g^{-1}) มีค่าสูงกว่าสารสกัดน้ำจากผลกะทกรก (7.01±0.10 และ 1.56±0.27 mgGAE.g^{-1} (Tandoro et al., 2020) สารสกัดเฮกเซนจากใบกะทกรก มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 16.78 ± 0.26 mgGAE.g^{-1} (Melo Filho et al., 2018) อย่างไรก็ตามทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดน้ำและเฮกเซนจากใบกะทกรกมีค่าต่ำกว่าสารสกัดเมทานอลจากใบกะทกรกที่ได้จากกการศึกษาครั้งนี้ Revathy & Sunilkumar (2019) พบว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกะทกรกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 24.1 mgGAE.g^{-1} และ 9.066 mgRE.g^{-1} ตามลำดับ นอกจากนี้การวิเคราะห์สารพฤษเคมีของสารสกัดน้ำและทานอลจากต้นกะทกรก แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 22.28–36.91 mgGAE.g^{-1} และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม อยู่ในช่วง 3.22–50.11 mgRE.g^{-1} (Chiavaroli et al., 2020)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay ของสารสกัด เมทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของกะทกรก พบว่า ที่ความเข้มข้น 1395.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด เมทานอลจากใบกะทกรกมีร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 91.24 ± 0.19 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม สารสกัดเมทานอลจากใบกะทกรกมี ค่า IC_{50} ดีที่สุดเท่ากับ 494.70 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับการพบสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟีนอลิก แทนนินและฟลาโวนอยด์ในใบ รวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่มีค่าสูง ทำให้ ค่า IC_{50} ของใบมีค่าสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ของกะทกรก และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ajane & Patil (2019) ที่สกัดใบกะทกรกด้วยน้ำ ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ค่า IC_{50} ที่ความเข้มข้น 614.405 ไมโครกรัมต่อลิตร สารสกัดน้ำจากใบและผลกะทกรก มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 2.77±0.02 mgGAE.g^{-1} และ 1.00±0.15 mg mgGAE.g^{-1} ตามลำดับ (Tandoro et al., 2020) สารสกัดเฮกเซนจากใบกะทกรก มีร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 17.97 ค่า IC_{50} ที่ค่าความเข้มข้นระหว่าง 10 ถึง 20 mg/L (Melo Filho et al., 2018) สารสกัดเมทานอลจากผลกะทกรกมีค่า Ascorbic acid เท่ากับ 5.77 mg/g (Revathy & Sunilkumar, 2019) สุรพล พหลภาคย์และคณะ (2556) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นกะทกรก ด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดชั้นเอทานอล ชั้นน้ำที่อุณหภูมิห้อง และน้ำต้มเดือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 74.37, 48.08 และ 47.21 ตามลำดับ

สรุป

สารสกัดเมทานอลจากใบกะทกรกปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบแทนนินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณสารสูงกว่าส่วนอื่นที่ได้จากต้นกะทกรก ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลจากใบกะทกรกมีกลุ่มสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ที่สามารถใช้เป็นหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม การผลิต ยารักษาโรค เครื่องสำอาง หรืออุตสาหกรรมอาหาร อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นให้ผู้ที่สนใจได้นำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

การนำไปใช้ประโยชน์จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อการระบุชนิดสารบริสุทธิ์ที่มีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์ฤทธิ์และการศึกษาทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดจากกะทกรก เพิ่มเติมต่อไป เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กฤติยา ทิสยากร. (2562). ผลิตภัณฑ์สำหรับบรรเทาอาการจากโรคพาร์กินสันในผู้สูงอายุ “PakinPas”. ในสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. **Thailand tech show 2019**. (น. 114). ปทุมธานี. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ธีรยุทธ์ ศรียาเทพ, ขนิษฐา ศรีภูมราช, ชณันญา กัลยากาญจน์, และรุวัยดา หมีนพราน. (2563). **องค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากพลับพลา**. การประชุมวิชาการระดับชาติ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาภาคใต้ ครั้งที่ 5 (น. 1-11). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

พาลาภ มะณีแนม, และศักดิ์ศรี แสนยาเจริญกุล. (2561). **การสกัดสารและทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของพืชสมุนไพรบางชนิด**. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5 (น. 690-697). สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. (2549). การใช้สารประกอบฟีนอลิกของพืชเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย**, *26*(3), 222-238.

พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. (2548). บทบาทของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ในการป้องกันและรักษามะเร็ง. **ศรีนครินทร์เวชสาร**, 20(3), 180-189.

วาทินี เสล่าราษฎร์. (2559). **การสกัด การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของทุเรียนเทศ.** (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยบูรพา). http://digital_collect.lib.buu.ac.th/dcms/files/57920933.pdf.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจและสิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. **วารสารวิทยาศาสตร์ มข.**, 41(3), 723-730.

สุรพล พหลภาคย์, จุฑาทิพย์ พหลภาคย์, และสัณฐิตา ตังคจิวางกูร. (2556). **การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรกะทกรก**. การประชุมวิชาการประจำปี ภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา (HERP) ครั้งที่ 1 (น.196-203). มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

Ajane, G., & Patil, A. S. (2019). Evaluation of antioxidant potential of *Passiflora foetida* extract and quantitative evaluation of its phytochemical content-a possible natural antioxidant. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, 6, 14–24.

Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., & Manley, M. (2002). Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. **South African Journal of Enology and Viticulture***,* 23(2), 48-61.

Chiavaroli, A., Simone, S. C. D., Sinan, K. I., Ciferri, M. C., Flores, G. A., Zengin, G., Etienne, O. K., Ak, G., Mahomoodally, M. F., Jugreet, S., Cziáky, Z., Jekő J., Recinella, L., Brunetti, L., Leone, S., Angelini, P., Venanzoni, R., Menghini, L., Ferrante, C., & Orlando, G. (2020). Pharmacological properties and chemical profiles of *Passiflora foetida* L. extracts: novel insights forpharmaceuticals and nutraceuticals. **Processes***,* 8(1034), 1-23.

Elghobashy, K. A., Eldanasoury, M. M., Elhadary, A. A., & Farid, M., (2020). Phytochemical Constituent, HPLC Profiling and Antioxidant Activity of *Passiflora incarnata* and *Arctium lappa* Leaves Extracts. **Int J Vet Sci**, 9(1): 42-49.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger *(Zingiber officianle Roscoe*). **Molecules***,* 15, 4324-4333.

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. **American Journal of Enology and Viticulture***,* 28, 49-55.

Melo Filho, A. A., Kamezaki, A.K., Estevam Ribeiro, P.R., Goncalves Reis De Melo, A.C., Montero Fernandez, I., Carvalho Dos Santos, R., Alves Chagas, E. & Cardoso Chagas, P. (2018). Chemical composition, antioxidant and biological activity of leaves *Passiflora foetida*. **Chemical Engineering Transactions***,* 64, 241-246.

Ojha S., Raj, A., & Roy, S. (2018). Extraction of total phenolics, flavonoids and tannins from *Paederia foetida L.* leaves and their relation with antioxidant activity. **Pharmacognosy Journal**, 10(3), 541-547.

Paulraj, J. A., Subharamanian, H., Suriyamoorthy, P., & Kanakasabapathi, D. (2014). Phytochemical screening, GC-MS analysis and enzyme inhibitory activity of *Passiflora foetida L*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research***,* 3526-3534.

Pham-Huy, L.A., He, H., & Pham-Huy, D. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and heath. **International Journal of Biomedical Science***,* 4(2), 89-96.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology***,* 5(11), 1142-1145

Revathy, S., & Sunilkumar. T. (2019). Phytochemical and nutritional studies on the fruit pulp extract of *Passiflora foetida Linn*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 8(4), 732-734.

Sakulpanich, A., & Grissanapan, W. (2008). Extraction method for high content of anthraquinones from *Cassia fistula* pods. **Journal of Health Research**, 22(4), 167-172.

Sharma, G.N., Dubey, S.K., Sati, N., & Sanadya, J. (2011). Anti-inflammatory activity and total phavonoid content of *Aegle marmelos* seeds**. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 3(3), 214-218

Tandoro, Y., Widyawati, P. S., Budianta, T. D. W., & Sumargo, G. (2020). Phytochemical identification and antioxidant activity of *Passiflora foetida* fruits and leaves extracts: A comparative study. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 12(6), 55-58.

Trinovita, E., & Fatmaria, F. (2020). Evaluation of gastroprotective activity of Cemot leaves (*Passiflora foetida* L.) extracted by ultrasonic assisted extraction (UAE) against ethanol-induced gastric lesions in rats. **Traditional Medicine Journal**, 25(2), 110-117.