รายงานการวิจัย

สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

Phenolics Contents, Flavonoids Contents and Antioxidant Activity of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts

สุนันทา ข้องสาย Sunanta Khongsai

ลักษมี วิทยา Luksamee Vittaya

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2562 เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ ตลอดจนผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ อาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรม

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณสาขาศึกษาทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่ให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยให้การทำวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงานดังกล่าว ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุนันทา ข้องสาย
ลักษมี วิทยา
สิงหาคม 2563

สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

สุนันทา ข้องสาย[1*] และลักษมี วิทยา[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์จากส่วนใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิด พบว่าสารสกัดดอกเสม็ดขาวในตัวทำละลายเมทานอลให้ %yield สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 19.41 และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 750.65 ± 6.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง สารสกัดผลเสม็ดขาวในตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 665.59 ± 1.56 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และสารสกัดดอกเสม็ดแดงในตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.01 ± 0.02 และ 1.30 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเมทานอล แสดงว่าสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ส่วนสารสกัดจากผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่า โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่มีในสารสกัด พบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายกลุ่มและเป็นกลุ่มสารที่มีขั้วต่างกัน ดังนั้นใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง จึงเป็นพืชที่มีความน่าสนใจในการนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางยา อาหาร และอื่นๆ และทั้งนี้ควรมีการวิเคราะห์และแยกสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้บริสุทธิ์ รวมถึงวิถีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเพื่อประโยชน์ในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ : เสม็ดขาว, เสม็ดแดง, สารประกอบฟีนอลิก, สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

---

[1]สาขาศึกษาทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Phenolics Contents, Flavonoids Contents and Antioxidant Activity of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts

Sunanta Khongsai[1*] and Luksamee Vittaya[1]

Abstract

The purposes of this research were to study on active substance of leaves, flowers and fruits of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* extracts. The dried samples were extracted with four solvents according to polarity of solvents such as hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol, respectively in order to study on total phenolics contents, total flavonoids contents and antioxidant activity of twenty four extracts. The methanolic of *Melaleuca cajuputi* flowers extract showed the highest % yield aqual to 19.41 with the highest total phenolic contents aqua to 750.65 ± 6.14 mgGAE/DW. The hexane of *Melaleuca cajuputi* fruits extract showed the highest total flavonoids contents aqua to 665.59 ± 1.56 mgRE/DW. The methanolic of *Syzygium gratum* flowers extract showed the highest DPPH and ABTS scavenging effect with IC_{50} of 1.01 ± 0.02 and 1.30 ± 0.01 µg/ml, respectively. The part of leaves and flowers all of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* showed the highest of antioxidant activity in methanol indicated that antioxidant substance in leaves and flowers all of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* dissolved in the higher polar solvent instead of the extracts of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* fruits showed the highest of antioxidant activity in the lower polar. Antioxidant activity was related by total phenolic contents showed that there are many groups of antioxidants substance with different polarities. Therefore, the leaves, flowers and fruit of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* is an interesting to develop and utilize in medicine, food and others, and should be analyzed and purified the antioxidant substance including the way of changes within the cells of living organisms for future benefits.

Keywords : *Melaleuca cajuputi*, *Syzygium gratum*, Total phenolic contents, Total flavonoids contents and Antioxidant activities

---

[1] Department of General Education, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus.

สารบัญเรื่อง

เรื่อง **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ ก
บทคัดย่อภาษาไทย ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ค
สารบัญเรื่อง ง
สารบัญตาราง จ
สารบัญภาพ ช
บทที่ 1 บทนำ
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย 1
1.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย 2
1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 10
1.4 วัตถุประสงค์ 15
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 15
บทที่ 2 วิธีดำเนินงานวิจัย
2.1 วัสดุและอุปกรณ์ 16
2.2 เครื่องมือ 16
2.3 สารเคมี 16
2.4 การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายและการสกัด 17
2.5 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง 18
2.6 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง 19
2.7 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง 21
บทที่ 3 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 22
บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 36
ภาคผนวก ก เสม็ดขาวและเสม็ดแดง 40
ภาคผนวก ข ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 41
ภาคผนวก ค ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 43
ภาคผนวก ง ข้อมูลทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 45
ภาคผนวก จ ข้อมูลทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS 47
ภาคผนวก ฉ การหาค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH 49
ภาคผนวก ช การหาค่า IC_{50} ด้วยวิธี ABTS 53

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 1.1	ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ	2
ตารางที่ 2.1	แสดงอัตราส่วนของการเตรียมสารสกัด	18
ตารางที่ 3.1	% yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	22
ตารางที่ 3.1	% yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)	23
ตารางที่ 3.2	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	24
ตารางที่ 3.3	แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	25
ตารางที่ 3.4	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	26
ตารางที่ 3.4	แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)	27
ตารางที่ 3.5	แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	28
ตารางที่ 3.6	แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	29
ตารางที่ 3.6	แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)	30
ตารางที่ 3.7	แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง	31
ตารางที่ 3.7	แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)	32
ตารางผนวกที่ ข1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23	41
ตารางผนวกที่ ข2	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	42

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
ตารางผนวกที่ ค1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23	43
ตารางผนวกที่ ค2	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	44
ตารางผนวกที่ ง1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23	45
ตารางผนวกที่ ง1	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	46
ตารางผนวกที่ จ1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23	47
ตารางผนวกที่ จ2	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS	48

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ป่าเสม็ดถือเป็นพันธุ์ไม้ที่บอกความเป็นเอกลักษณ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในพื้นที่อาณาเขตกว่า 1,700 ไร่ เป็นแหล่งที่มีคุณค่าทางด้านนิเวศวิทยาอย่างมหาศาล (ปิยะวัฒน์ และโกสินทร์, 2552) พื้นที่ป่าเสม็ดส่วนใหญ่จะเป็นเสม็ดขาวและมีเสม็ดแดงบางพื้นที่

เสม็ดขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Melaleuca cajuputi* อยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีชื่อสามัญ Cajuput tree, Milk wood และ Paper bark tree เป็นไม้ยืนต้นที่มีเปลือกชั้นนอกสีขาวนวล เป็นแผ่นบาง ๆ เรียงซ้อนกันเป็นปึกหนานุ่ม เปลือกชั้นในบาง สีน้ำตาล ยอดอ่อน กิ่งอ่อน และใบอ่อน มีขนสีขาวเป็นมันคล้ายเส้นไหม ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ แผ่นใบรูปหอก กว้าง 1.5 - 4 เซนติเมตร ยาว 5 - 10 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบแหลม ดอกมีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง สีขาว กลีบเลี้ยงยาว 0.3 เซนติเมตร โคนกลีบติดกัน กลีบดอกยาว 0.2 - 0.3 เซนติเมตร รูปช้อนแกมรูปไข่กลับ เกสรเพศผู้จำนวนมากยาวพ้นกลีบดอกเป็นพู่ ผลมีลักษณะเป็นผลแห้งแตก รูปถ้วย กว้างและยาวประมาณ 0.4 เซนติเมตร สามารถนำส่วนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ ส่วนเนื้อไม้ใช้ทำเสาเข็ม เสารั้ว สร้างบ้าน และทำถ่าน ส่วนเปลือกต้นใช้มุงหลังคา ทำฝาบ้านชั่วคราว และใช้ห่อก้อนไต้สำหรับใช้จุดไฟ ส่วนใบนำมาสกัดทำน้ำมันหอมระเหย มีคุณสมบัติในทางยาคล้ายกับ Eucalyptus oil นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำต้มใบเสม็ดที่ได้จากการกลั่นน้ำมันหอมไปย้อมสีผ้าได้อีกด้วย โดยจะให้สีน้ำตาลอ่อนและช่วยทำให้ผ้าคงทนต่อการเข้าทำลายของแมลงที่กัดกินเนื้อผ้าได้ดี

เสม็ดแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Syzygium gratum* อยู่ในวงศ์ Myrtaceae เป็นไม้พุ่มต้นไม่ผลัดใบ เปลือกต้นสีน้ำตาลแดง แตกสะเก็ดแผ่นบางๆ โคนต้นมักเป็นพูพอน ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวออกตรงข้าม รูปหอก ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อซี่ร่มเล็กๆ สีเหลืองอ่อนที่ปลายยอด ผลมีลักษณะกลม สีขาว มีขนาดเล็ก เมล็ดมีลักษณะเหมือนลิ่ม สามารถนำส่วนต่างๆ ไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ ส่วนใบสดนำมาตำปั่นปิดพอกแก้เคล็ดยอก ฟกบวมได้ดี หรือใช้ผลมะกรูด หรือใบพลู รมควันใต้ใบเสม็ดพออุ่นๆ นาบท้องเด็กแก้ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อในเด็ก แก้ปวดท้องได้ น้ำมันจากใบมีกลิ่นคล้ายการบูร ใช้นวดแก้เคล็ด เมื่อย ปวดบวม แก้หมัด เหา ชุบสำลีอุดฟันแก้ปวดฟัน ส่วนใบอ่อนกินเป็นยาขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบ ขับลม ยอดอ่อนรับประทานเป็นผักสดกับน้ำพริก

ด้วยคุณสมบัติทางยา บรรเทาอาการ และอื่นๆ ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการศึกษาความสำคัญของคุณสมบัติดังกล่าว โดยการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟินอลิกรวมของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงในตัวทำละลายต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการตรวจสอบคุณสมบัติอื่นๆ ทั้งทางเคมีและทางชีวภาพ และส่งเสริมให้มีนำส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงไปใช้ประโยชน์ต่อไป

1.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ในการสกัดสารสำคัญจากพืชจะต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก ซึ่งมีหลักที่ควรพิจารณาในการเลือกตัวทำละลายดังต่อไปนี้

1. คุณสมบัติของสารที่ต้องการสกัด เช่น ความมีขั้วของสาร ความคงตัวของสารในตัวทำละลายนั้นในอุณหภูมิสูง
2. มีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
3. ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของสารผสมที่ถูกสกัดนั้น
4. ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องการ
5. สามารถแยกออกจากตัวถูกละลายได้ง่ายภายหลังที่สกัดแล้ว
6. ไม่ควรทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
7. ตัวทำละลายควรมีราคาไม่แพงมาก
8. ความมีขั้วของตัวทำละลายต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดสาร ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ (สุรางค์รัตน์, 2558)

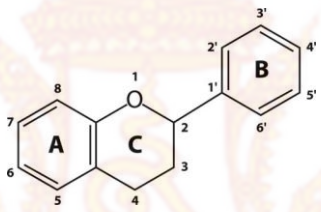
ความมีขั้ว	**ตัวทำละลาย**
ไม่มีขั้ว	ปิโตรเลียมอีเทอร์
↓	เฮกเซน
↓	คาร์บอนเตตระคลอไรด์
↓	เบนซีน
↓	ไดคลอโรมีเทน
↓	คลอโรฟอร์ม
↓	ไดเอทิลอีเทอร์
↓	เอทิลแอซิเตต
↓	อะซิโตน
↓	1-โพรพานอล
↓	เอทานอล
↓	เมทานอล
มีขั้ว	น้ำ

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารเมตาบอไลต์ขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolite) จากธรรมชาติในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) (สิรินุช, 2561) สร้างจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (aromatic amino acids) ได้แก่ phenylalanine, tyrosine และ malonate โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ลำต้น กิ่งก้าน ดอก และเมล็ด รวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์ และไวน์ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ใน

รูปที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปเบต้าไกลโคไซด์ (β-glycosides) ในระบบทางเดินอาหารฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อย และถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ ส่วนฟลาโวนอยด์ที่ ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูกขับออกทางน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกสลายโดยจุลชีพ บางชนิดทำให้ได้กรดฟินอลิกซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้ากระแสเลือดอีกครั้ง โดยฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกระแสเลือดก็จะไปยังเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย และสามารถถูกกำจัดได้ทางไตโดยเซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ฟลาโวนอยด์อาจผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงไปได้

สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในอาหารที่เป็นพืช เช่น ผัก และผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียกเป็น ring A, B, และ C โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน ring C เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา : ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์ (วิภพ, 2556)

ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐาน ได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

1. ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซิติน (quercetin) แคมป์เฟอรอล (kaempferol) ไมริซิติน (myricetin)

2. ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin) ไครซิน (chrysin)

3. ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin) นารินจินิน (naringenin) อีริโอดิคทิออล (eriodictyol)

4. ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิชิน (catechin) แกลโลแคทิชิน (gallocatechin) อีพิแคทิชิน (epicatechin) อีพิแกลโลแคทิชิน (epigallocatechin) อีพิแคทิชิน-3-แกล เลต (epicatechin-3-gallate) อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate)

5. ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin)

6. ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein) จีนิสตีน (genistein) ไกลซิตีน (glycitein) ฟอร์โมโนเนติน (formononetin)

7. แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิน (malvidin) พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) พีโอนิดิน (peonidin) พีทูนิดิน (petunidin)

ประโยชน์ของฟลาโวนอยด์

1. ด้านสุขภาพ

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระพบในเม็ดสีชนิดละลายในน้ำของผัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช ใบไม้ และเปลือกไม้ ฟลาโวนอยด์มีอยู่มากมายหลายชนิด และพืชแต่ละชนิดจะมีฟลาโวนอยด์ แต่ละประเภทในความเข้มข้นที่ต่างกันไป แท้จริงแล้วมีการศึกษาหลายชิ้นพบว่าฟลาโวนอยด์บางชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเหนือกว่าวิตามินซีหรือวิตามินอีถึง 50 เท่า และฟลาโวนอยด์ในองุ่นแดงมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแอลดีแอล (LDL-fat) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการอุดตันของเส้นเลือดแดงและการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดมากกว่าวิตามินอีถึงกว่าหนึ่งพันเท่าฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ที่พบบางส่วนมีดังนี้

1) แคเทคิน (Catechin) เป็นหนึ่งในสมาชิกของตระกูลพอลิฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสแตฟไฟโลคอกคัส (Staphylococcus) ซึ่งดื้อต่อยาหลายชนิดการติดเชื้อ แบคทีเรียชนิดทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ แคเทคินยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ที่รับประทาน อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง และยังช่วยป้องกันฟันผุและโรคเหงือกได้อีกด้วย ยังมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่พบว่าแคเทคินอาจช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปอดช่วยป้องกันการทำลายของดีเอ็นเอ (DNA) จากอนุมูลอิสระและยังช่วยชะลอการเกิดของโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว แคเทคินพบมาในชาเขียว องุ่น (น้ำองุ่น, ไวน์องุ่น)

2) เรสเวอราทรอล (Resveratrol) สมาชิกสำคัญอีกหนึ่งจากตระกูลพอลิฟีนอลฟลาโวนอยด์มีการศึกษาพบว่ามีคุณสมบัติช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยการยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมัน ชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่า มันยังช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามารถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งร้ายให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเรสเวอราทรอลพบในในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

3) โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins & Anthocyanidins, PCOs) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โอลิโกเมอริกโปรแอนโทไซยานิดินส์ (OPCs) ฟลาโวนอยด์เหล่านี้เป็นผู้คุ้มกันผนังหลอดเลือดที่ทรงพลังและยังโดดเด่นในการเชื่อมโยงและสร้างความแข็งแรงให้เส้นสายโปรตีนคอลลาเจนโดยเฉพาะคอลลาเจน บริเวณเนื้อเยื่ออ่อน เส้นเอ็น และกระดูก ด้วยเหตุผลดังกล่าว OPCs จึงช่วยส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปหล่อเลี้ยงต่อม และอวัยวะทั่วร่างกายซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันและรักษาโรคช่วยรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะแตกง่าย เช่น อาการฟกช้ำ เส้นเลือดขอดบริเวณขา และริดสีดวงทวาร และยังมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคกระดูกพรุน OPCs มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดีส่งผลให้ช่วยต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวรอบเนื้อเยื่อต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหนึ่งในไม่กี่ตัวที่สามารถผ่านระบบกันระหว่าง

เส้นเลือดกับสมองได้ ดังนั้นจึงสามารถช่วยป้องกันสมองและเนื่อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระได้พบมากในสารสกัดจากเมล็ดองุ่น และเปลือกสน

2. ด้านการใช้สีจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

ฟลาโวนอยด์เป็นแหล่งของสีย้อมธรรมชาติ ส่วนใหญ่ให้สีเหลือง สีส้ม หรือส้มแดง เช่น ลูทิโอลิน (Luteolin) จากพืชในตระกูล Reseda luteola จะให้สีเหลืองเควอซีทีน (Quercetin) จากเปลือกหอมหัวใหญ่ให้สีเหลืองเข้มมอริน (Morin) จากแก่นขนุนจะให้สีเหลืองเข้มคาร์ทามิน (Carthamin) จากดอกคำฝอยให้สีเหลืองปนน้ำตาล

3. ด้านการแพทย์

ในระบบทางเดินอาหารฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อย และถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ ส่วนฟลาโวนอยด์ที่ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก และฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูกขับออกทางน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกสลายโดยจุลชีพบางชนิดทำให้ได้กรดฟินอลิกซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้ากระแสเลือดอีกครั้ง โดยฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกระแสเลือดก็จะไปยังเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกายและสามารถถูกกำจัดได้ทางไตโดยที่เซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ฟลาโวนอยด์อาจผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงไปได้ ในการการศึกษาทางคลินิกสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ถูกพัฒนา เป็นยารักษาโรคมะเร็งซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์และชักนำการตายของเซลลม์ะเร็งโดยไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติและสามารถยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง เช่น การอักเสบการสร้างหลอดเลือดใหม่ การแพร่กระจายรวมถึงการเอาชนะปัญหาการดื้อยาของเซลล์มะเร็งได้และข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลบ่งชี้ว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์ ได้แก่ การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งซึ่งเป็นผลมาจากการหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ และชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส รวมถึงการยับยั้งการอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็งการสร้างหลอดเลือดใหม่การแพร่กระจายและการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งด้วยโดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เกี่ยวข้องการยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และการแสดงออกของยีนส์ที่ขึ้นอยู่กับทรานสคริปชันแฟคเตอร์ NFKB รวมถึงการทำให้เกิดความเสียหายที่ระดับไมโทคอนเดรียของซึ่งส่งผลต่อสถานะเชิงพลังงานของเซลล์มะเร็ง

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์

1) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะกลุ่ม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะกลุ่ม หรือโดยเฉพาะชนิดนั้น สามารถทำได้โดยมักใช้เทคนิค HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), UV-Visible สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) และการตรวจวัดด้วยรังสีอุลตราไวโอเลต PDH (Photo-diode array) หรือ MS (Mass spectrometer) เนื่องจากสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชมักอยู่ในรูปออร์โทไกลโคซิดิค (Oglycosidic) โดยจับกับน้ำตาล เช่น กลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) และรูติโนส (rutinose) แต่ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์จะทำการวิเคราะห์เฉพาะส่วนอะไกลโคน ดังนั้น ต้องใช้กรดไฮโดรไลซ์น้ำตาลออกไปจากโมเลกุลซึ่งโดยมากนิยมใช้กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคและเครื่องมือที่กล่าวไว้ในข้างต้น

2) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธีสเปคโตรโฟโตมิตรี เป็นวิธีการทดสอบโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมที่นิยมใช้มากที่สุดในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด องค์ประกอบของสารประกอบเหล่านี้ถือเป็นตัวแปรสำคัญสำหรับการประเมินคุณค่าอาหารหรือตัวอย่างพืชสมุนไพร โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมฟลาโวนอยด์ (Aluminium - flavonoid complex) หลักการของ Al - flavonoid complexation reaction คือ การทำปฏิกิริยากันระหว่างอะลูมิเนียมไอออนและกลุ่ม o - dihydroxyl (3', 4' - OH) ในวงแหวน B และ o - dihydroxy ในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถประสานกันช่วยเสริมให้จับกับอะลูมิเนียมไอออนได้ดียิ่งขึ้นเกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมกับฟลาโวนอยด์

อนุมูลอิสระ (ขนิษฐา, 2553)

อนุมูลอิสระ (free radical) คืออะตอม โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุดเป็นจำนวนคี่ เนื่องจากมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่อย่างน้อยหนึ่งอิเล็กตรอนในวงโคจรของอิเล็กตรอนรอบๆ นิวเคลียสของอะตอม ทำให้ความเสถียรลดต่ำลง อนุมูลอิสระจึงเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปดึงหรือแย่งเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมของสารที่อยู่ข้างเคียงซึ่งมีอิเล็กตรอนจับคู่กันครบในวงจรเพื่อทำให้ตัวเองเสถียร ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งอนุมูลอิสระชนิดใหม่นี้ก็จะไปดึงอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลสารข้างเคียงมาอีกเช่นเดียวกันเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อไปเรื่อยๆ ร่างกายของมนุษย์ได้รับอนุมูลอิสระมาจาก 2 แหล่งใหญ่ๆ คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย เกิดจากการขนถ่ายอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจ กระบวนการเผาผลาญอาหารหรือกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ที่ทำให้เกิดเป็นพลังงาน โดยใช้ออกซิเจนในไมโตรครอนเดรียซึ่งเรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน (lipid peroxidation) โดยกรดไขมันอิ่มตัว ตลอดจนสภาวะทางอารมณ์ทั้งความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เช่น ประจำเดือน ตั้งครรภ์ หรือความชรา ความเครียดด้านอารมณ์ และความเครียดจากการเป็นโรคต่างๆ เช่น การติดเชื้อ เบาหวาน โรคหัวใจ เป็นต้น

2. อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค สารพิษ รังสี และมลภาวะต่างๆ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่น เป็นต้น

ผลของอนุมูลอิสระต่อร่างกาย (ขนิษฐา, 2553)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตส่วนมากเป็นพวกที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ สูงมาก จะไปชักนำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ภายในเซลล์ ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นมากมาย จากกลไกต่างๆ ส่งผลให้เกิดความเสียหายอย่างมากกับโครงสร้างและหน้าที่ของสารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิต ได้แก่ ทำให้กิจกรรมและกระบวนการต่างๆ ทางเมทาบอลิซึมภายในร่างกายบกพร่อง เกิดความ

ผิดปกติในกระบวนการเมทาบอลิซึม นำไปสู่การเกิดโรคภัยต่างๆ ทำลายโครงสร้างของเซลล์ ทำให้เซลล์ตาย และเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเซลล์ นำไปสู่การเกิดโรคมะเร็ง

โดยปกติเซลล์จะมีกลไกในการต้านทานหรือยับยั้งอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ โดยการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือการซ่อมแซมความผิดปกติที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นการทำงานของสารประกอบที่มีอยู่ในเซลล์ แต่หากกรณีที่มีอนุมูลอิสระมากเกินไป เซลล์ย่อมไม่สามารถทนต่อสภาวะนี้ได้ อีกทั้งหากเกิดกลไกในการต้านอนุมูลอิสระมากเซลล์ก็จะสูญเสียองค์ประกอบที่สำคัญเพื่อนำไปใช้ในการป้องกัน ทำให้องค์ประกอบที่เหลืออยู่ในเซลล์ไม่เพียงพอต่อการทำกิจกรรมของเซลล์ตามปกติ ส่งผลกระทบเสียหายต่อเซลล์และการทำงานของอวัยวะภายในร่างกาย นอกจากนี้ยังอาจทำให้มีการสะสมที่มีรูปร่างผิดปกติมากเกินไปในเซลล์ ซึ่งไปรบกวนโครงสร้างของโปรตีน และควบคุมการทำงานของเซลล์ อนุมูลอิสระจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ เบาหวาน ต้อกระจก ไขข้ออักเสบ โรคหลอดเลือด และโรคมะเร็ง เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ (ขนิษฐา, 2553)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารที่สามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระโดยการเข้าไปหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อไป ร่างกายสามารถรับสารต้านอนุมูลอิสระจาก 2 วิธี คือ ร่างกายสามารถสร้างขึ้นเองได้ หรือรับจากอาหารที่รับประทานเข้าไป สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ขึ้น

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติโดยมากจะมาจากพืช ผัก ผลไม้ และสมุนไพรต่างๆ ส่วนที่พบในคนและสัตว์มีน้อย โดยสามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเอนไซม์ ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ วิตามินซี (L - ascorbic acid), วิตามินอี (tocopherol), แคโรทีนอยด์ (carotenoid) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

2. สารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่ butylated hydroxyanislole (BHA) และ butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นได้ แต่สามารถชะลอความเสียหายทำให้เกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเกิดจากผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำลายและเสียหายมาเป็นเวลานาน

กลไลการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา, 2554)

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีหลายกลไกดังนี้

1. ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$R^{\bullet} + AH \rightarrow RH + A^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + AH \rightarrow ROH + A^{\bullet}$$

$$R^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow RA$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow ROA$$

2. ยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจน (Singlet oxygen quenching, $^1O_2^*$) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจนโดยการเปลี่ยน ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูปทริปเปร็ท (triplet oxygen ; $^3O_2$) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อนโดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกล็ทออกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล

$$^1O_2^* + {}^1Car \rightarrow {}^3O_2 + {}^3Car\bullet$$

$$^3Car\bullet \rightarrow {}^1Car + \text{thermal energy}$$

3. จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และ ซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น

4. หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chainbreaking) วิตามินอี (α-tocopherol ; Toc - OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอน (electron - acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxyl (ROO•)

5. เสริมฤทธิ์ (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอุนมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินอี (α - tocopherol) กับวิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในสภาวะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟ่า - โทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล (α - tocopherol peroxyl) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟ่า - โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล (ROO•) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟ่า - โทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้

6. ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิโพออกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอ็นไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ขนิษฐา, 2553)

การที่ร่างกายและเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด ทำให้เกิดความเสียหายภายในเซลล์ร่างกายจนทำให้เกิดโรคต่างๆ ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นหาวิธีการทดสอบความสามารถในการต้านอนูมลอิสระ ซึ่งมีวิธีการทดสอบหลายวิธี ได้แก่

1. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation inhibition assay) วิธีนี้อาศัยหลักการวัดปริมาณของเปอร์ออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นหลังจากการเกิดปฏิกิริยา หากสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะทำให้เปอร์ออกซิไดซ์ของไขมันที่เกิดจากปฏิกิริยาลดลง

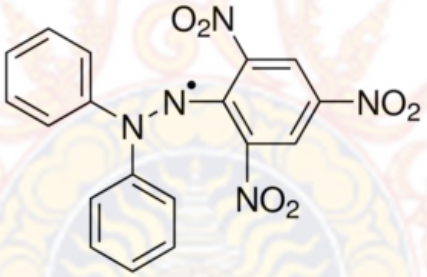
2. การทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability assay) วิธีนี้จะทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิด reactive oxygen apecies (ROS) ขึ้นในเซลล์ สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจลดการตายของเซลล์เนื่องจากสภาวะเครียดจากออกซิเดชัน โดยนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว หรือทดสอบการทำงานของไมโตคอนเดรีย และคำนวณเซลล์ที่มีชีวิตเป็นร้อยละของความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์

3. การทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging assay) วิธีนี้เป็นการทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระของสารทดสอบโดยอนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl (DPPH) และ 2, 2 - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) (ABTS) โดยทำการวัดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer หากสารทดสอบมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระก็จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระนั้นๆ ลดลง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย

9. DPPH radical scavenging assay อนุมูล DPPH• มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอิสระอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำได้โดยใช้เครื่อง spectrophotometer วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นจึงนำไปคำนวณเป็น scavenging effect (%) ได้ตามสมการดังนี้

$$\text{scavenging effect (\%)} = [(A_{517\ control} - A_{517\ test\ sample}) / A_{517\ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำได้ง่าย ใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป และนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ



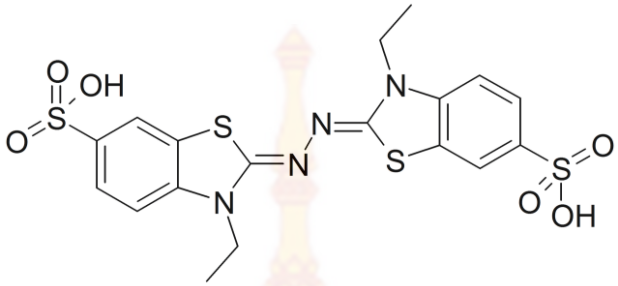
ภาพที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของ 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl

10.ABTS radical cation decolorization assay การทดสอบทำได้โดยนำ ABTS มาทำเป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกรีดิวซ์ด้วย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ให้กลายเป็น $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีฟ้าอมเขียว และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 660, 734 และ 840 นาโนเมตร ตามลำดับ แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยต้องทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ $ABTS^{\bullet+}$ เป็น 0.700 ± 0.020 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้ $ABTS^{\bullet+}$ ลดลง ซึ่งทำให้มีสีจางลง สามารถนำไปคำนวณเป็น scavenging effect (%) ได้ตามสมการดังนี้

$$\text{scavenging effect (\%)} = [(A_{734\ control} - A_{734\ test\ sample}) / A_{734\ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระประมาณ 5 นาที และการวิเคราะห์ยังทำได้ในช่วง pH ที่กว้าง นอกจากนี้อนุมูล $ABTS^{\cdot+}$

ละลายได้ทั้งในน้ำและสารอินทรีย์ ทำให้สามารถวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่างๆ ได้ไม่ว่าจะเป็นสารที่ละลายน้ำหรือสารที่ละลายในลิปิด



ภาพที่ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของ 2, 2 - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid)

1.3 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เป็นที่ทราบกันดีว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดเป็นแหล่งของยาที่สำคัญ เนื่องจากพืชเหล่านี้มักจะมีสารสำคัญหลายชนิด และแต่ละชนิดก็ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างกว้างขวาง เช่น สารกลุ่ม alkaloids หรือ flavonoids หลายตัวที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบร่วมกับฤทธิ์อื่นๆ (ปณต และคณะ, 2549) มีการนำน้ำมันหอมระเหยของพืชในวงศ์ Myrtaceae มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลากหลายประเภทอย่างกว้างขวาง เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยของพืชกลุ่มนี้มีองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางยาที่น่าสนใจซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพ (Luiz, *et al*., 2013) น้ำมันหอมระเหยของพืชในวงศ์ Myrtaceae มีฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส (วิภาพร และ ศิริวรรณ, 2557) เห็ดเสม็ด เป็นเห็ดกินได้ที่งอกบริเวณพื้นที่ป่าเสม็ด มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระ 43 ชนิดในเสม็ดที่สามารถยั้บยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ (Yuswan, *et al*., 2015) เห็ดเสม็ดที่เก็บจากรัฐกลันตัน ประเทศมาเลเซีย นำมาสกัดด้วยน้ำร้อน น้ำเย็น และเมทานอล มาศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีพบแอลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน สเตียรอยด์ และแทนนิน มีประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.79, 1.97 และ 3.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Sutha, 2016)

การวิเคราะห์ส่วนของลำต้น ใบ และเมล็ดของเสม็ด พบว่ามีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบ สารแทนนินเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้น และจัดเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช จึงได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเมทานอลจากส่วนของใบและกิ่งเสม็ดขาว โดยนำสารสกัดมาทดสอบผลที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชจากแปลงข้าวโพดไร่สุวรรณวาจกกสิกิจ จังหวัดนครราชสีมา 12 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง กระดุมใบ ตีนตุ๊กแก ต้อยติ่ง บานไม่รู้โรยป่า ผักโขม ผักเบี้ย หญ้ายาง หญ้าโขย่ง หญ้ารังนก หญ้าพันงู และหญ้าบุ้ง พบว่าสารสกัดจากใบเสม็ดขาวจะให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าวัชพืชได้ดีกว่าสารสกัดจากกิ่งเสม็ด สารสกัดจากใบเสม็ดขาว 1 กรัมน้ำหนักแห้งจะยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช ทั้ง 12 ชนิดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากกิ่งเสม็ดจะให้ผลในการยับยั้งการงอกและการ

เจริญเติบโตของวัชพืชได้ 10 ชนิด 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น หญ้ายาง และหญ้าพันงู (สมบุญ, 2559) มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดน้ำของเสม็ดแดงในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยทำการตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ ตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โดยวิธีทำให้เกิดสี (Colorimetric assays) รวมทั้งหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าเสม็ดแดงมีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ และยังพบสารประกอบฟลาโวนอยด์และแทนนิน รวมทั้งฟลาโวน ฟลาโวนอล และแซนโทน (Kannika, 2013)

น้ำมันเสม็ดหรือน้ำมันเขียว (Cajuput Oil) ใช้เป็นส่วนผสมของยาหม่อง น้ำมันมวย ยาดม ใช้ทำยาทาถูนวดแก้ปวดเมื่อย รักษาโรคไขข้ออักเสบ ทำยาแก้ปวดหัว ปวดหู ปวดฟัน ยารักษาโรคผิวหนัง รักษาสิว ใช้ฆ่าเชื้อโรค ฆ่าแมลง ใช้ภายในเป็นยากระตุ้น ขับลม แก้อาการเกร็งของ กล้ามเนื้อในกระเพาะลำไส้ แก้จุกเสียด แก้ท้องอืด ขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบ และขับพยาธิ เป็นต้น มีรายงานการวิจัยน้ำมันเสม็ดว่าน้ำมันเสม็ดขาวใช้ไล่แมลง และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดสิวได้ดี นำไปสู่การพัฒนาเป็นธูปกันยุง และสบู่เหลวล้างหน้าป้องกันสิว มีงานวิจัยรายงานว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการไล่แมลงศัตรูในโรงเก็บ 3 ชนิด ได้แก่ มอดแป้ง ด้วงงวงข้าวโพด ด้วงถั่วเขียว และแมลงศัตรูผัก 3 ชนิด ได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกะทู้หอม หนอนกระทู้ผัก มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลง มีค่า LC_{50} ของสารสกัดต่อมอดแป้ง ด้วงงวงข้าวโพด ด้วงถั่วเขียว หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก เท่ากับ 9.60, 16.18, 11.54, 1.34, 2.46 และ 0.67 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ (นฤมล, 2546)

การศึกษาวิจัยโดยสำนักวิจัยและพัฒนาผลิตผลป่าไม้ของกรมป่าไม้พบว่าเสม็ดจากแต่ละแหล่งไม่เพียงแต่ให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันที่แตกต่างกันเท่านั้น ยังให้น้ำมันหอมที่มีองค์ประกอบทางเคมีและกลิ่นแตกต่างกันมาก บางแหล่งให้น้ำมันที่มีกลิ่นหอม บางแหล่งให้น้ำมันที่มีกลิ่นค่อนข้างฉุน และพบว่าน้ำมันเสม็ดที่ได้จากแหล่งต่างๆ สามารถไล่แมลงบางชนิด เช่น ปลวก ยุง เห็บ หมัด เหา และสัตว์ดูดเลือด เช่น ทาก ได้ดี สามารถพัฒนาไปสู่การผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม เช่น แชมพูสุนัข สเปรย์ไล่ยุง สเปรย์ฆ่าปลวก หรือสเปรย์ป้องกันทากได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำต้มใบเสม็ดที่ได้จากการกลั่นน้ำมันหอมระเหยไปย้อมผ้า ให้สีน้ำตาลอ่อน ช่วยให้ผ้าคงทนต่อการเข้าทำลายของแมลงกินเนื้อผ้าได้ดี น้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสและเสม็ดขาวมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อราโรคพืชสาเหตุการเน่าเสียและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ โดยนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ในการพัฒนาถุงกระดาษเคลือบน้ำมันหอมระเหยและพัฒนาแผ่นป้องกันเชื้อรา และพัฒนาถุงกระดาษโดยนำถุงกระดาษไปเคลือบด้วยสารเคลือบอิมัลชันของไขผึ้งที่เติมน้ำมันหอมระเหย (สุธีรา และคณะ, 2557)

ในปัจจุบันทั่วโลกได้ให้ความสำคัญกับการใช้พืชสมุนไพรเพื่อป้องกัน และรักษาโรคต่างๆ มากมาย ซึ่งสาเหตุและกลไกการเกิดโรครวมถึงความแก่ชรามีผลอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย โดยปฏิกิริยาดังกล่าวมีสาเหตุสำคัญจากอนุมูลอิสระในร่างกาย การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคต่างๆ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาตินับว่ามีความปลอดภัยมากที่สุดต่อการบริโภค และพืชสมุนไพรก็เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สำคัญและสามารถหาได้ง่าย ซึ่งมีสารที่เป็นองค์ประกอบคือสารกลุ่มพอลิฟีนอลและ

สารประกอบฟลาโวนอยด์ หลายชนิดได้แก่ ฟลาโวน ไอโซฟลาโวน ฟลาโวนอล ฟลาวาโนน ฟลาวาโนนอล และแอนโทไซยานิน อีกทั้งสารประกอบฟลาโวนอยด์ยังสูญสลายไป ในธรรมชาติได้ช้ากว่าสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด (ณัฐนนท์ และ ชญาดา, 2559)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ และสูญสลายไปในธรรมชาติได้น้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นๆ แม้เก็บรักษาไว้นาน มีการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในใบสะระแหน่ ใบทับทิม และใบว่านแร้งคอดำเพื่อแปรรูปเป็นชาสมุนไพร พบว่าใบสะระแหน่และใบว่านแร้งคอดำมี flavonol เป็นองค์ประกอบ ส่วนยอดและใบอ่อนของทับทิมมี flavanonol เป็นองค์ประกอบ สารสกัดเอทานอลของใบทับทิมมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ ระหว่าง 13.10 - 21.55 มิลลิกรัม รองลงมา คือ ใบสะระแหน่ และใบว่านแร้ง คอดำ คือ ระหว่าง 8.82 - 17.13 และ 1.30 - 2.50 มิลลิกรัม ตามลำดับ และผลการแปรรูปเป็นชาสมุนไพร พบว่าเครื่องดื่มชาใบสะระแหน่ (พืช 2 กรัม ต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร) มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ ประมาณ 100.86 รองลงมา คือ เครื่องดื่มชาใบทับทิม และเครื่องดื่มชาใบว่านแร้งคอดำ คือ ประมาณ 32.53 และ 15.42 มิลลิกรัม ตามลำดับ (ณัฐนนท์ และ ชญาดา, 2559)

มีการศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง โดยการศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบดาวเรืองสด โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกันทั้งหมด 12 ระบบ พบว่า สารสกัดของระบบ 10% EtOH/EtOAc ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือร้อยละ 54 ซึ่งสูงกว่าระบบอื่นเป็น 13 เท่า และการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี Folin - Ciocalteu Colorimetric assay, วิธี Aluminium chloride colorimetric assay และ วิธี DPPH assay ตามลำดับ พบว่า ระบบ 60% H_2O/EtOH มีปริมาณฟีนอลิก (56.1 mgGAE/g crude extract, 10%) ระบบ 50% H_2O/EtOH มีปริมาณฟลาโวนอยด์ (8.52 mgQGE/g crude extract, 17%) มากที่สุด และ 40% H_2O/EtOH แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (IC_{50}= 12.44 ± 0.01 ppm) ดังนั้นระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด มี 2 ระบบ คือ 10% EtOH:EtOAc (ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด) และ ระบบ 40 - 60% H_2O/EtOH แสดงค่าปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (Gallic acid คือ 5.80 ppm) (ปิยนุช และ กาญจนา, 2558)

มีการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดน้ำจากผลมะตาด โดยการนำผลมะตาดแห้งบดละเอียดมาสกัดต่อเนื่องด้วยเครื่องสกัดซอกห์เลตโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แล้วนำสารสกัดน้ำวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0082x – 0.0148$ มีค่า $R^2 = 0.9994$) และสารละลายมาตรฐานแคทีชิน (สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0028x – 0.0007$ มีค่า $R^2 = 0.9999$) ตามลำดับ ผลพบว่าสารสกัดน้ำมีปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 15.7596 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อพืชแห้ง 1 กรัม และ 12.1592 ± 0.13 มิลลิกรัมสมมูลแคทีชินต่อพืชแห้ง 1 กรัม ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลมะตาดมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน ทำให้การบริโภคอาหารหรือน้ำสกัดจากผลมะตาดเป็นส่วนประกอบสามารถช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคที่มีสาเหตุของอนุมูลอิสระได้ (การะเกตุ และคณะ, 2561)

มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆ ของส้มซ่า พบว่าส้มซ่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่ 121 °C ต้มในน้ำเดือด 100 °C เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 40, 70, และ 95 โดยปริมาตร พบว่าส่วนสกัดเปลือกผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ความสามารถในการรีดิวซ์ และฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ สูงกว่าส่วนสกัดจากใบ แต่ส่วนสกัดจากใบของส้มซ่ามีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนสกัดจากเปลือกผล และกิ่งของส้มซ่า ส่วนสกัดจากเปลือกผล และใบที่สกัดโดยการต้มในน้ำเดือด และส่วนสกัดจากกิ่งที่สกัดด้วยน้ำโดยใช้หม้อนึ่งความดัน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนสกัดที่สภาวะอื่น ๆ (IC_{50} = 0.236 ± 0.008, 0.579 ± 0.021, และ 0.733 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ และความสามารถในการรีดิวซ์ (R = 0.5606 และ R = 0.8358 ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่าเป็นแหล่งสารต้านอนมุลูอิสระที่อาจจะนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และใช้ เป็นเครื่องสำอาง (ชมัยพร และคณะ, 2560)

มีการศึกษาปริมาณฟลาโวนอย์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวไทย 12 พันธุ์ โดยนำข้าวสารมาสกัดด้วยตัวทำละลายทที่มี ethanol : HCl (65% : 0.1%) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งให้เป็นผง แล้วนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมลูอสิระโดยวิธี DPPH assay, ABTS radical scavenging activity, ความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power) และความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation พบว่าข้าวที่มีสีดำมีปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบสูง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวที่มีสีขาวในทุกๆ วิธีการทดสอบ โดยข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด แสดงถึงความสัมพันธ์ในทางบวกระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบในข้าวไทยทั้ง 12 พันธุ์ (นวลอนงค์, 2559)

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดตะขบฝรั่งโดยการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนราก ลำต้น และใบของตะขบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมธานอล แล้วตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ด้วย Folin - Ciocaltue และ Aluminum chloride colorimetric assays ตามลำดับ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH และ FRAP assays พบว่าสารสกัดเมทานอลของรากตะขบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ทั้งวิธี DPPH และ FRAP และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเช่นกัน ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์พบมากที่สุดในสารสกัดเมทานอลของใบ (อรรถพล, 2560)

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเสม็ดแดงในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี โดยการตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ ตรวจวัดเชิงคุณภาพของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โดยวิธีทำให้เกิดสี (Colorimetric assays) รวมทั้งหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าเสม็ดแดงมีความสามารถในการรีดิวซ์จากการตรวจวัดเชิงคุณภาพแสดงให้เห็นว่าเสม็ดแดงมีสารประกอบโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ และยังพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ และแทนนิน รวมทั้งฟลาโวน ฟลาโวนอล และแซนโทน นอกจากนี้

ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 231.33 ± 0.026 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 131.72 ± 0.006 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัด (กรรณิการ์ และคณะ, 2556)

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากใบหนาด ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในการรักษาโรคผิวหนัง กลาก เกลื้อน โรคเหน็บชา โรคไขข้อ และอาการปวดเอว โดยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสารสกัดและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากใบหนาด จากการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และการยับยั้ง nitric oxide (NO) พบว่าส่วนสกัด ethyl acetate ของใบหนาดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบที่ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.6 และ 21.6 µg/ml ตามลำดับ เมื่อแยกสารจากส่วนสกัด ethyl acetate ได้สารบริสุทธิ์กลุ่มฟลาโวนอยด์ 5 สาร ได้แก่ ombuin (1), dihydroquercetin-4´-methylether (2), rhamnetin (3), luteolin (4) และ 5,7,3´,5´-tetrahydroxyflavanone (5) โดยพบว่าสาร 4 ที่แยกได้มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดีที่สุด (IC_{50} = 10.74 µM) ตามด้วยสาร 3 (IC_{50}=13.59 µM), 5 (IC_{50}= 34.99 µM), 1 (IC_{50}= 44.32 µM) และ 2 (IC_{50}=48.09 µM) ตามลำดับ จากข้อมูลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าส่วนสกัด ethyl acetate และสารบริสุทธิ์กลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากใบหนาดมีคุณสมบัติต้านการอักเสบโดยยับยั้ง NO และอนุมูลอิสระ (ปรวุฒิ และคณะ, 2559)

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ของสารสกัดลำต้นนกกระลิงแดงที่สกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล โดยทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดอะซิโตนมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด (IC_{50} = 2.12 ± 0.01 mg/ml) และมีฤทธิ์สูงกว่าสารมาตรฐาน BHT (IC_{50} = 14.05 ± 0.05 mg/ml) ประมาณ 6.6 เท่า การหาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric aluminium chloride และ Bromocresol Green method ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมของทุกสารสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดพบในสารสกัดเฮกเซนมีค่า 140.0 ± 0.01 มิลลิกรัมสมมูลเควอซิทินต่อกรัมสารสกัด ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และปริมาณแอลคาลอยด์สูงสุดพบในสารสกัดแอซิโตน คือ 1,684.95 ± 0.02 มิลลิกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อกรัมสารสกัด จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของ สารสกัดลำต้นนกกระลิงแดงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารฟีนอลิกและแอลคาลอยด์รวมที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ r เท่ากับ 0.991 และ 0.686 ตามลำดับ แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็น 0.966 (วัชราภรณ์ และพิชิต, 2560)

มีการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากผลอุ่นป่า โดยทำการสกัดผลอุ่นป่าด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล และน้ำ แล้วตรวจสอบสารพฤกษเคมีโดยวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Folin - Ciocalteu และ colorimetric aluminum chloride ตามลำดับ พบว่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในผลอุ่นป่าที่สกัดด้วยเมทานอลมีค่าสูงกว่าที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH (IC_{50} = 13.8 µg/mL), ABTS (IC_{50} = 6.3 µg/mL), FRAP (3.5

mM $FeSO_4$/g) และ CUPRAC (1065 µg TE/g) สารสกัดผลองุ่นป่าที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงกว่าที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ โดยปริมาณฟีนอลิกมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยวิธี FRAP ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.998 (สุริสา และคณะ, 2557)

1.4 วัตถุประสงค์

1.4.1 ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิด

1.4.2 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การวิจัยนี้เป็นการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดงเพื่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์

บทที่ 2
วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง
2.1.2 ขวดแก้วปากกว้างมีฝาปิดสำหรับแช่สิ่งสกัด
2.1.3 อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่างสิ่งสกัด เช่น กะละมัง กรรไกร ถาด
2.1.4 ขวดก้นกลมสำหรับระเหยตัวทำละลาย
2.1.5 อลูมิเนียมแผ่นบาง
2.1.6 กระดาษกรอง
2.1.7 กรวยกรอง
2.1.8 หลอดหยด
2.1.9 เซลล์สำหรับใส่สารตัวอย่าง (cuvette) ขนาดความกว้างเซลล์เท่ากับ 1 เซนติเมตร
2.1.10 หลอดเซนทริฟิวจ์

2.2 เครื่องมือ

2.2.1 เครื่องสปกโทรโฟโตมิเตอร์ U - 1800
2.2.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ
2.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2.2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
2.2.5 ตู้อบลมร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (hot air oven)
2.2.6 เตาให้ความร้อน (hot plate)
2.2.7 ตู้เย็น (refrigerator)
2.2.8 เครื่องดูด - จ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette)
2.2.9 เครื่องปั่นละเอียด

2.3 สารเคมี

2.3.1 ตัวทำละลายสำหรับสกัด ได้แก่ Hexane, Ethyl acetate, Ethanol และ Methanol
2.3.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ได้แก่ Folin - Ciocalteu reagent, Sodium Carbonate (Na_2CO_3) และ Gallic acid
2.3.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ Sodium Nitrite ($NaNO_2$), Aluminium Chloride ($AlCl_3$), Sodium Hydroxide (NaOH) และ Rutin
2.3.4 สารเคมีสำหรับทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ DPPH (1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl), ABTS (2, 2 - Azino - bis - (3 - ethylbenzothia zoline - 6 -

sulfonic acid diammonium salt), Potassium persulfate (K_2SO_4), Ascorbic acid, BHA (Butylated hydroxyanisole) และ BHT (Butylated hydroxytoluene)

2.4 การเตรียมตัวอย่างและการสกัด

2.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

2.4.1.1 เก็บตัวอย่างใบเสม็ดขาวและใบเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะส่วนใบที่ไม่อ่อนหรือไม่แก่เกินไป (ใบเพสลาด)

ใบเสม็ดขาว

ใบเสม็ดแดง

2.4.1.2 เก็บตัวอย่างดอกเสม็ดขาวและดอกเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะดอกที่เพิ่งเริ่มบาน

ดอกเสม็ดขาว

ดอกเสม็ดแดง

2.4.1.3 เก็บตัวอย่างผลเสม็ดขาวและผลเสม็ดแดง บริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ อย่างละ 10 กิโลกรัม โดยวิธีการเด็ด และเก็บเฉพาะในเวลา 06.00 - 09.00 น. เท่านั้น (เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพรเอามาเป็นยา) เลือกเด็ดเฉพาะผลแก่จัด

ผลเสม็ดขาว

ผลเสม็ดแดง

2.4.2 การเตรียมสารสกัด

เมื่อนำส่วนใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง มาล้างทำความสะอาดผึ่งลมให้แห้ง และนำมาอบจนตัวอย่างแห้ง นำมาสกัดด้วยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายตามอัตราส่วนดังแสดงในตารางที่ 2.1 โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน, เอทิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอล ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เขย่าเป็นครั้งคราว กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำมาระเหยตัวทำละลายออก คำนวณหา % yield ดังนี้

$$\%\text{yield} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักสาหร่ายที่ใช้ในการสกัด}}$$

ตารางที่ 2.1 แสดงอัตราส่วนของการเตรียมสารสกัด

ตัวอย่าง		ปริมาณตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณตัวทำละลาย (มิลลิลิตร)
เสม็ดขาว	ใบ	3,000	6,000
	ดอก	1,000	2,000
	ผล	2,000	4,000
เสม็ดแดง	ใบ	3,000	6,000
	ดอก	1,000	2,000
	ผล	2,000	4,000

2.5 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ดัดแปลงตามวิธีการของ จันทิมา, 2556 ; การะเกต และคณะ, 2561)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกรดแกลลิก นำสารสกัดมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยให้สารประกอบฟีนอลิกทำปฏิกิริยากับ Folin - Ciocalteu Reagent (FCR) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน มีขั้นตอนดังนี้

2.5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 ppm และ 100 ppm

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 ppm ทำโดยชั่งกรดแกลลิก 0.0250 กรัม ละลายในเมทานอล และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสิบเท่าให้ได้สารมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 100 ppm ด้วยการปิเปตมา 2.5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยเอทานอลให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

2.5.2 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1) นำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 100 ppm มาเจือจางด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร โดยแยกแต่ละหลอดการทดลอง

2) นำทุกหลอดมาเติมน้ำ 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3) นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที

4) นำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดช่วงความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV - Vis Spectrophotometer วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด โดยใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานแกลลิกมาเขียนกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดต่อไป

2.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด

1) เตรียมสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำสารสกัดหยาบมา 0.0010 กรัม ละลายด้วยเมทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) นำสารสกัดที่เตรียมได้ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

3) นำสารสกัดมาเติมน้ำ 2.5 มิลลลิตร และเติมสารละลาย Folin ปริมาตร 0.2 มิลลลิตร เขย่าให้เข้ากันดี และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7% ปริมาตร 2 มิลลลิตร

4) นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที

5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นสูงสุด

6) หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ทำในวันเดียวกัน โดยทำการทดลอง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

7) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ (m gGAE/g DW)

$$TPC = CV / M \quad (1)$$

เมื่อ TPC หมายถึง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (m gGAE/g DW)
C หมายถึง ความเข้มข้นที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (mg/mL)
V หมายถึง ปริมาตรสารละลายของตัวอย่างที่เตรียม (mL)
M หมายถึง น้ำหนักของพืชแห้ง (g) ของสารสกัดหยาบที่เตรียมสารละลายของตัวอย่าง

2.6 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ดัดแปลงตามวิธีการของ สุริสา, 2557 ; การะเกต และคณะ, 2561)

2.6.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานรูตินเข้มข้น 1000 ppm และ 100 ppm

สารละลายมาตรฐานรูตินเข้มข้น 1000 ppm ทำโดยชั่งรูติน 0.0250 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นเจือจางสิบเท่าให้ได้สารมาตรฐานรูตินเข้มข้น 100 ppm ด้วยการปิเปตมา 2.5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยเอทานอลให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

2.6.2 การสร้างกราฟมาตรฐานรูติน

1) นำสารละลายมาตรฐานรูตินเข้มข้น 100 ppm มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร โดยแยกแต่ละหลอดการทดลอง

2) นำทุกหลอดมาเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที

3) เติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ตั้งไว้อีก 5 นาที

4) แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำสารผสมที่ได้ไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

5) นำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดช่วงความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV - Vis Spectrophotometer วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารมาตรฐานรูตินมาเขียนกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดต่อไป

2.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัด

1) นำสารสกัดที่เตรียมได้ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2) นำสารสกัดมาเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที

3) เติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ตั้งไว้อีก 5 นาที

4) แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำสารผสมที่ได้ไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นสูงสุด

6) หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานรูตินที่ทำในวันเดียวกัน โดยทำการทดลอง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

8) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัด ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของรูตินต่อสารสกัดหยาบ (mg RE/g DW)

$$TFC = CV / M \qquad (2)$$

เมื่อ TFC หมายถึง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด(mg RE/g DW)

C หมายถึง ความเข้มข้นที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (mg/mL)

V หมายถึง ปริมาตรสารละลายของตัวอย่างที่เตรียม (mL)

M หมายถึง น้ำหนักของพืชแห้ง (g) ของสารสกัดหยาบที่เตรียมสารละลายของตัวอย่าง

2.7 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ดัดแปลงตามวิธีการของจันทิมา, 2556 ; สุริสา, 2557)

2.7.1 ศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical

เป็นการทดสอบโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจนจะเปลี่ยนเป็น DPPH:H เกิดเป็นสารไม่มีสี

โดยผสมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารผสมที่ได้เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH radical จากสูตร

$$\text{Inhibiton (\%)} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC_{50} ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50} เทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ BHA

2.7.2 ศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง ABTS radical

เป็นการทดสอบโดย ABTS (2,2-Azino-bis-(3-ethylbenzothia zoline -6-sulfonic acid diammonium salt) จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี

เตรียมสารอนุมูลอิสระ ABTS โดยการผสม ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 1:1 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ประมาณ 0.7 จากนั้นนำสารผสมที่เตรียมได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ก่อนจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ABTS radical จากสูตร

$$\text{Inhibiton (\%)} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC_{50} ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50} เทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid และ BHA

บทที่ 3
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การเตรียมตัวอย่างและการสกัด

ตัวอย่างใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง ที่เก็บบริเวณอาคารเรียนรวมและปฏิบัติการ เมื่อนำมาทำให้แห้ง และสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเขียว – เหลือง – น้ำตาล สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนใบเสม็ดขาวในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 1.57, 5.83, 11.76 และ 6.01 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนดอกเสม็ดขาวในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 1.17, 8.05, 12.94 และ 19.41 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนผลเสม็ดขาวในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 1.62, 2.54, 6.87 และ 3.50 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนใบเสม็ดแดงในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 0.25, 1.26, 1.66 และ 6.61 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนดอกเสม็ดแดงในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 0.72, 4.14, 5.00 และ 3.70 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนผลเสม็ดแดงในตัวละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล มี % yield เท่ากับ 3.41, 1.02, 8.97 และ 12.59 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 % yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

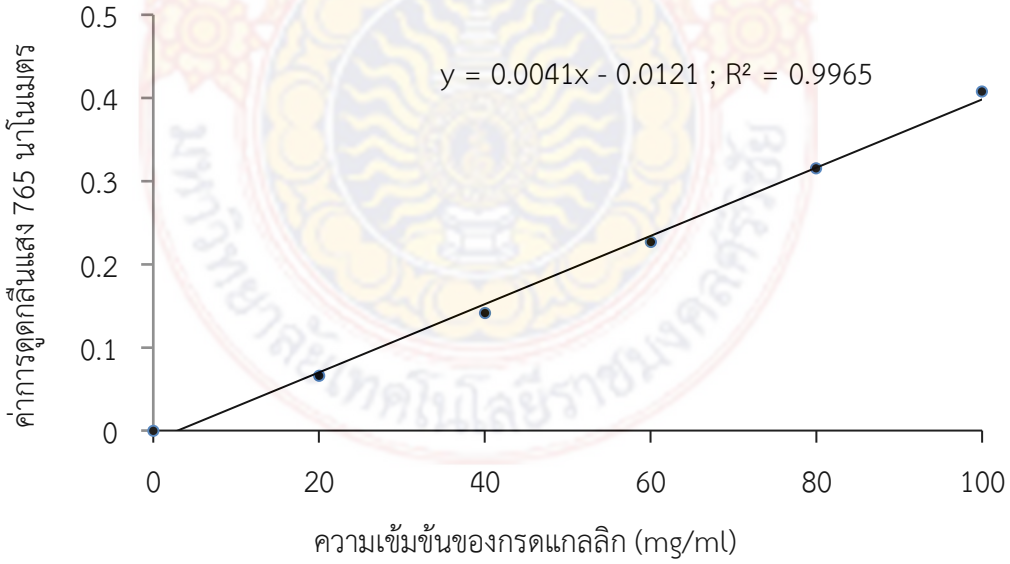
ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ลักษณะของสารสกัด	% yield
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	ของแข็งสีเขียวเข้ม	1.57
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเขียวเข้ม	5.83
		Ethanol	ของแข็งสีเขียวเข้ม	11.76
		Methanol	ของแข็งสีเขียวเข้ม	6.01
	ดอก	Hexane	ของแข็งสีเหลือง	1.17
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเหลือง	8.05
		Ethanol	ของแข็งสีเหลือง	12.94
		Methanol	ของแข็งสีเหลือง	19.41
	ผล	Hexane	ของแข็งสีน้ำตาล	1.62
		Ethyl acetate	ของแข็งสีน้ำตาล	2.54
		Ethanol	ของแข็งสีน้ำตาล	6.87
		Methanol	ของแข็งสีน้ำตาล	3.50

ตารางที่ 3.1 % yield ของสารสกัดจากใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ลักษณะของสารสกัด	% yield
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	ของแข็งสีเขียว	0.25
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเขียว	1.26
		Ethanol	ของแข็งสีเขียว	1.66
		Methanol	ของแข็งสีเขียว	6.61
	ดอก	Hexane	ของแข็งสีเหลือง	0.72
		Ethyl acetate	ของแข็งสีเหลือง	4.14
		Ethanol	ของแข็งสีเหลือง	5.00
		Methanol	ของแข็งสีเหลือง	3.70
	ผล	Hexane	ของแข็งสีน้ำตาล	3.41
		Ethyl acetate	ของแข็งสีน้ำตาล	1.02
		Ethanol	ของแข็งสีน้ำตาล	8.97
		Methanol	ของแข็งสีน้ำตาล	12.59

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ระดับความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ($y = 0.0041x - 0.0121$; $R^2 = 0.9965$) ดังแสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	A_{765}			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	0.019	0.016	0.018	0.018 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.020	0.017	0.021	0.019 ± 0.002
		Ethanol	0.103	0.108	0.109	0.107 ± 0.003
		Methanol	0.111	0.112	0.114	0.112 ± 0.002
	ดอก	Hexane	0.045	0.049	0.045	0.046 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.231	0.237	0.234	0.234 ± 0.003
		Ethanol	0.146	0.142	0.142	0.143 ± 0.003
		Methanol	0.296	0.298	0.293	0.296 ± 0.003
	ผล	Hexane	0.015	0.013	0.018	0.015 ± 0.003
		Ethyl acetate	0.185	0.184	0.186	0.185 ± 0.001
		Ethanol	0.286	0.289	0.283	0.286 ± 0.003
		Methanol	0.091	0.094	0.090	0.092 ± 0.002
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	0.012	0.014	0.014	0.013 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.047	0.049	0.045	0.047 ± 0.002
		Ethanol	0.186	0.187	0.188	0.187 ± 0.001
		Methanol	0.206	0.204	0.202	0.204 ± 0.002
	ดอก	Hexane	0.012	0.009	0.010	0.010 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.018	0.017	0.019	0.018 ± 0.001
		Ethanol	0.050	0.051	0.051	0.051 ± 0.001
		Methanol	0.209	0.208	0.208	0.208 ± 0.001
	ผล	Hexane	0.004	0.003	0.006	0.004 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.037	0.036	0.033	0.035 ± 0.002
		Ethanol	0.015	0.016	0.013	0.015 ± 0.002
		Methanol	0.021	0.025	0.023	0.023 ± 0.002

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารตัวอย่างรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง (mgGAE/g DW) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดดอกเสม็ดขาวในตัวทำละลายเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 750.65 ± 6.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 3.3

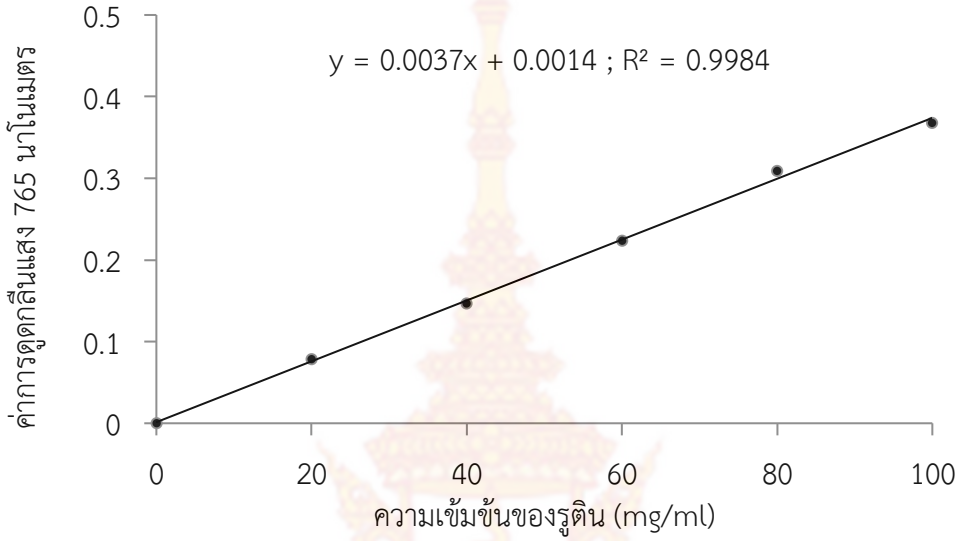
ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/g DW)
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	72.60 ± 3.73 ^{o,p}
		Ethyl acetate	76.67 ± 5.08 ^{o}
		Ethanol	289.68 ± 7.84 ^{i}
		Methanol	303.49 ± 3.73 ^{h}
	ดอก	Hexane	142.52 ± 5.63 ^{l}
		Ethyl acetate	600.24 ± 7.32 ^{c}
		Ethanol	379.10 ± 5.63 ^{g}
		Methanol	750.65 ± 6.14 ^{a}
	ผล	Hexane	66.91 ± 6.14 ^{p,q}
		Ethyl acetate	480.73 ± 2.44 ^{f}
		Ethanol	727.07 ± 7.32 ^{b}
		Methanol	253.09 ± 5.08 ^{j}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	62.03 ± 2.82 ^{q,r}
		Ethyl acetate	144.15 ± 4.88 ^{l}
		Ethanol	485.61 ± 2.44 ^{f}
		Methanol	527.07 ± 4.88 ^{e}
	ดอก	Hexane	54.72 ± 3.73 ^{r}
		Ethyl acetate	73.41 ± 2.44 ^{o,p}
		Ethanol	153.09 ± 1.41 ^{k}
		Methanol	537.64 ± 1.41 ^{d}
	ผล	Hexane	40.08 ± 3.73 ^{s}
		Ethyl acetate	115.69 ± 5.08 ^{m}
		Ethanol	65.29 ± 3.73 ^{p,q}
		Methanol	85.61 ± 4.88 ^{n}

หมายเหตุ : ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานรูติน ที่ระดับความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ($y = 0.0037x + 0.0014$; $R^2 = 0.9984$) ดังแสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 กราฟมาตรฐานของรูติน

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	A_{765}			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	0.017	0.016	0.019	0.017 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.067	0.064	0.067	0.066 ± 0.002
		Ethanol	0.083	0.083	0.084	0.083 ± 0.001
		Methanol	0.085	0.086	0.085	0.085 ± 0.001
	ดอก	Hexane	0.127	0.125	0.128	0.127 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.040	0.042	0.043	0.042 ± 0.002
		Ethanol	0.095	0.091	0.094	0.093 ± 0.002
		Methanol	0.075	0.072	0.071	0.073 ± 0.002
	ผล	Hexane	0.248	0.248	0.247	0.248 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.213	0.211	0.209	0.211 ± 0.002
		Ethanol	0.186	0.184	0.180	0.183 ± 0.003
		Methanol	0.141	0.144	0.140	0.142 ± 0.002

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	A_{765}			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	0.017	0.016	0.019	0.017 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.067	0.064	0.067	0.066 ± 0.002
		Ethanol	0.083	0.083	0.084	0.083 ± 0.001
		Methanol	0.085	0.086	0.085	0.085 ± 0.001
	ดอก	Hexane	0.127	0.125	0.128	0.127 ± 0.002
		Ethyl acetate	0.040	0.042	0.043	0.042 ± 0.002
		Ethanol	0.095	0.091	0.094	0.093 ± 0.002
		Methanol	0.075	0.072	0.071	0.073 ± 0.002
	ผล	Hexane	0.248	0.248	0.247	0.248 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.213	0.211	0.209	0.211 ± 0.002
		Ethanol	0.186	0.184	0.180	0.183 ± 0.003
		Methanol	0.141	0.144	0.140	0.142 ± 0.002
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	0.108	0.109	0.110	0.109 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.040	0.044	0.041	0.042 ± 0.002
		Ethanol	0.069	0.068	0.068	0.068 ± 0.001
		Methanol	0.083	0.085	0.085	0.084 ± 0.001
	ดอก	Hexane	0.136	0.135	0.135	0.135 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.026	0.028	0.029	0.028 ± 0.002
		Ethanol	0.056	0.058	0.054	0.056 ± 0.002
		Methanol	0.099	0.095	0.099	0.098 ± 0.002
	ผล	Hexane	0.125	0.124	0.124	0.124 ± 0.001
		Ethyl acetate	0.047	0.046	0.044	0.046 ± 0.002
		Ethanol	0.022	0.025	0.022	0.023 ± 0.002
		Methanol	0.039	0.038	0.039	0.039 ± 0.001

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารตัวอย่างรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง (mgRE/g DW) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดผลเสม็ดขาวในตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 665.59 ± 1.56 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (mgRE/g DW)
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	43.06 ± 4.13 ^{s}
		Ethyl acetate	174.60 ± 4.68 ^{l}
		Ethanol	221.44 ± 1.56 ^{j}
		Methanol	226.85 ± 1.56 ^{j}
	ดอก	Hexane	338.56 ± 4.13 ^{f}
		Ethyl acetate	108.83 ± 4.13 ^{o}
		Ethanol	248.47 ± 5.63 ^{i}
		Methanol	192.61 ± 5.63 ^{k}
	ผล	Hexane	665.59 ± 1.56 ^{a}
		Ethyl acetate	566.49 ± 5.41 ^{b}
		Ethanol	491.71 ± 8.26 ^{c}
		Methanol	379.10 ± 5.63 ^{d}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	290.81 ± 2.70 ^{g}
		Ethyl acetate	108.83 ± 5.63 ^{o}
		Ethanol	180.90 ± 1.56 ^{l}
		Methanol	224.15 ± 3.12 ^{j}
	ดอก	Hexane	361.98 ± 1.56 ^{e}
		Ethyl acetate	70.99 ± 4.13 ^{q}
		Ethanol	147.57 ± 5.41 ^{m}
		Methanol	260.18 ± 6.24 ^{h}
	ผล	Hexane	332.25 ± 1.56 ^{f}
		Ethyl acetate	119.64 ± 4.13 ^{n}
		Ethanol	58.38 ± 4.68 ^{r}
		Methanol	100.72 ± 1.56 ^{p}

หมายเหตุ : ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH free radical scavenging activity และ ABTS free radical scavenging activity พบว่าสารสกัดแต่ละชนิดออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดหยาบเมทานอลจากดอกเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.01 ± 0.02 และ 1.30 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	IC_{50} (µg/ml)	
			DPPH	ABTS
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	772.84 ± 4.80 ^{g}	258.89 ± 2.89 ^{i}
		Ethyl acetate	520.16 ± 13.32 ^{f}	58.01 ± 0.55 ^{f}
		Ethanol	72.55 ± 0.98 ^{c}	74.93 ± 1.19 ^{g}
		Methanol	11.76 ± 0.24 ^{a}	53.79 ± 0.17 ^{e,f}
	ดอก	Hexane	162.07 ± 2.80 ^{d}	414.03 ± 4.19 ^{j}
		Ethyl acetate	4.59 ± 0.04 ^{a}	8.48 ± 0.05 ^{a}
		Ethanol	10.30 ± 0.07 ^{a}	8.97 ± 0.08 ^{a}
		Methanol	1.05 ± 0.03 ^{a}	0.55 ± 0.00 ^{a}
	ผล	Hexane	1616.58 ± 5.55 ^{i}	451.67 ± 8.19 ^{k}
		Ethyl acetate	7.02 ± 0.04 ^{a}	39.94 ± 0.70 ^{c,d}
		Ethanol	4.09 ± 0.11 ^{a}	5.36 ± 0.04 ^{a}
		Methanol	72.90 ± 2.02 ^{c}	69.38 ± 0.09 ^{g}
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	928.04 ± 8.66 ^{h}	697.88 ± 6.00 ^{l}
		Ethyl acetate	48.06 ± 2.57 ^{b}	22.97 ± 0.63 ^{b}
		Ethanol	7.53 ± 0.09 ^{a}	56.06 ± 1.56 ^{e,f}
		Methanol	1.02 ± 0.02 ^{a}	1.30 ± 0.01 ^{a}
	ดอก	Hexane	1610.06 ± 24.15 ^{i}	768.13 ± 8.98 ^{m}
		Ethyl acetate	89.11 ± 1.56 ^{c}	31.86 ± 1.16 ^{b,c}
		Ethanol	35.43 ± 0.39 ^{b}	42.58 ± 0.94 ^{d}
		Methanol	1.01 ± 0.01 ^{a}	0.65 ± 0.01 ^{a}
	ผล	Hexane	1729.11 ± 64.69 ^{j}	782.38 ± 27.46 ^{n}
		Ethyl acetate	77.05 ± 1.51 ^{c}	24.12 ± 0.23 ^{b}
		Ethanol	232.22 ± 1.00 ^{e}	108.22 ± 2.22 ^{h}
		Methanol	88.80 ± 1.32 ^{c}	46.64 ± 1.23 ^{d,e}

ตารางที่ 3.6 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)

ตัวอย่าง ส่วนของพืช ตัวทำละลาย	IC_{50} (µg/ml)	
	DPPH	ABTS
Ascorbic acid	0.05 ± 0.00 [a]	0.03 ± 0.00 [a]
BHA	0.06 ± 0.00 [a]	0.02 ± 0.00 [a]

หมายเหตุ : ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 3.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง ทั้ง 2 วิธี พบว่าสารสกัดจากใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเมทานอล แสดงว่าสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ส่วนสารสกัดจากผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเอทานอลและเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ แสดงว่าสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบ ดอก ผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่มีในสารสกัด ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรายงานเป็นค่า IC_{50} (µg/mL) โดยพิจารณาจากค่า IC_{50} ที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง แสดงว่าปริมาณฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Stajic และคณะ (2013) ดังแสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/g DW)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (mgRE/g DW)	IC_{50} (µg/ml)	
					DPPH	ABTS
เสม็ดขาว	ใบ	Hexane	72.60 ± 3.73 ^{o,p}	43.06 ± 4.13 ^{s}	772.84 ± 4.80 ^{g}	258.89 ± 2.89 ^{i}
		Ethyl acetate	76.67 ± 5.08 ^{o}	174.60 ± 4.68 ^{l}	520.16 ± 13.32 ^{f}	58.01 ± 0.55 ^{f}
		Ethanol	289.68 ± 7.84 ^{i}	221.44 ± 1.56 ^{j}	72.55 ± 0.98 ^{c}	74.93 ± 1.19 ^{g}
		Methanol	303.49 ± 3.73 ^{h}	226.85 ± 1.56 ^{j}	11.76 ± 0.24 ^{a}	53.79 ± 0.17 ^{e,f}
	ดอก	Hexane	142.52 ± 5.63 ^{l}	338.56 ± 4.13 ^{f}	162.07 ± 2.80 ^{d}	414.03 ± 4.19 ^{j}
		Ethyl acetate	600.24 ± 7.32 ^{c}	108.83 ± 4.13 ^{o}	4.59 ± 0.04 ^{a}	8.48 ± 0.05 ^{a}
		Ethanol	379.10 ± 5.63 ^{g}	248.47 ± 5.63 ^{i}	10.30 ± 0.07 ^{a}	8.97 ± 0.08 ^{a}
		Methanol	750.65 ± 6.14 ^{a}	192.61 ± 5.63 ^{k}	1.05 ± 0.03 ^{a}	0.55 ± 0.00 ^{a}
	ผล	Hexane	66.91 ± 6.14 ^{p,q}	665.59 ± 1.56 ^{a}	1616.58 ± 5.55 ^{i}	451.67 ± 8.19 ^{k}
		Ethyl acetate	480.73 ± 2.44 ^{f}	566.49 ± 5.41 ^{b}	7.02 ± 0.04 ^{a}	39.94 ± 0.70 ^{c,d}
		Ethanol	727.07 ± 7.32 ^{b}	491.71 ± 8.26 ^{c}	4.09 ± 0.11 ^{a}	5.36 ± 0.04 ^{a}
		Methanol	253.09 ± 5.08 ^{j}	379.10 ± 5.63 ^{d}	72.90 ± 2.02 ^{c}	69.38 ± 0.09 ^{g}

ตารางที่ 3.7 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดเสม็ดขาวและเสม็ดแดง (ต่อ)

ตัวอย่าง	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/g DW)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (mgRE/g DW)	IC_{50} (µg/ml)	
					DPPH	ABTS
เสม็ดแดง	ใบ	Hexane	62.03 ± 2.82 ^{q,r}	290.81 ± 2.70 ^{g}	928.04 ± 8.66 ^{h}	697.88 ± 6.00 ^{l}
		Ethyl acetate	144.15 ± 4.88 ^{l}	108.83 ± 5.63 ^{o}	48.06 ± 2.57 ^{b}	22.97 ± 0.63 ^{b}
		Ethanol	485.61 ± 2.44 ^{f}	180.90 ± 1.56 ^{l}	7.53 ± 0.09 ^{a}	56.06 ± 1.56 ^{e,f}
		Methanol	527.07 ± 4.88 ^{e}	224.15 ± 3.12 ^{j}	1.02 ± 0.02 ^{a}	1.30 ± 0.01 ^{a}
	ดอก	Hexane	54.72 ± 3.73 ^{r}	361.98 ± 1.56 ^{e}	1610.06 ± 24.15 ^{i}	768.13 ± 8.98 ^{m}
		Ethyl acetate	73.41 ± 2.44 ^{o,p}	70.99 ± 4.13 ^{q}	89.11 ± 1.56 ^{c}	31.86 ± 1.16 ^{b,c}
		Ethanol	153.09 ± 1.41 ^{k}	147.57 ± 5.41 ^{m}	35.43 ± 0.39 ^{b}	42.58 ± 0.94 ^{d}
		Methanol	537.64 ± 1.41 ^{d}	260.18 ± 6.24 ^{h}	1.01 ± 0.01 ^{a}	0.65 ± 0.01 ^{a}
	ผล	Hexane	40.08 ± 3.73 ^{s}	332.25 ± 1.56 ^{f}	1729.11 ± 64.69 ^{j}	782.38 ± 27.46 ^{n}
		Ethyl acetate	115.69 ± 5.08 ^{m}	119.64 ± 4.13 ^{n}	77.05 ± 1.51 ^{c}	24.12 ± 0.23 ^{b}
		Ethanol	65.29 ± 3.73 ^{p,q}	58.38 ± 4.68 ^{r}	232.22 ± 1.00 ^{e}	108.22 ± 2.22 ^{h}
		Methanol	85.61 ± 4.88 ^{n}	100.72 ± 1.56 ^{p}	88.80 ± 1.32 ^{c}	46.64 ± 1.23 ^{d,e}
Ascorbic acid			-	-	0.05 ± 0.00 ^{a}	0.03 ± 0.00 ^{a}
BHA			-	-	0.06 ± 0.00 ^{a}	0.02 ± 0.00 ^{a}

หมายเหตุ : ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นสารให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Halliwell *et al*., 1987) สอดคล้องกับรายงานของ Pourmorad et al.(2006) ที่พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงด้วยเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทำหน้าที่เป็น free radical terminators (Abdel-Hameed, 2009) ที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงอะโรมาติก (aromatic ring) แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ที่สามารถใช้ดักจับอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นเมื่อสารสกัดมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงจึงส่งผลให้มีแนวโน้มในการต้านออกซิเดชันได้สูงด้วย

ตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ในตัวอย่างแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของมนต์สรวง และคณะ (2557) รายงานว่าสารสกัดสาหร่ายใบ (*Pyropia Vietnamensis*) ที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระสูงสุด เป็นผลจากการออกฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลิกรวมจำพวกมีขั้วสูง (polar phenolics) เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอาจขึ้นกับองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละสารสกัด แสดงให้เห็นว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายกลุ่มและเป็นกลุ่มสารที่มีขั้วต่างกัน ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวแปรที่สำคัญเพราะสามารถเป็นตัวกำหนดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ โดยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลได้มีงานวิจัยที่นิยมใช้มากที่สุดในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างทางพฤกษศาสตร์ (Hayouni et al., 2007; Pinelo et al., 2005; Mazandarani et al., 2012) ดังนั้นหากต้องการสารกลุ่มใด จึงต้องเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารให้เหมาะสม (ขนิษฐา, 2553)

บทที่ 4
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บตัวอย่างใบ ดอก และผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง จากบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง นำมาสกัดด้วยตัวละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต เอทานอล และเมทานอล แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ พบว่าสารสกัดจากใบเสม็ดขาวมี % yield เท่ากับ 1.57, 5.83, 11.76 และ 6.01 ตามลำดับ สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวมี % yield เท่ากับ 1.17, 8.05, 12.94 และ 19.41 ตามลำดับ สารสกัดจากผลเสม็ดขาวมี % yield เท่ากับ 11.62, 2.54, 6.87 และ 3.50 ตามลำดับ สารสกัดจากใบเสม็ดแดงมี % yield เท่ากับ 0.25, 1.26, 1.66 และ 6.61 ตามลำดับ สารสกัดจากดอกเสม็ดแดงมี % yield เท่ากับ 0.72, 4.14, 5.00 และ 3.70 ตามลำดับ สารสกัดจากผลเสม็ดแดงมี % yield เท่ากับ 3.41, 1.02, 8.97 และ 12.59 ตามลำดับ แล้วนำสารสกัดทั้ง 24 ชนิด มาศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกรดแกลลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เทียบกับรูตินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical พบว่าสารสกัดจากใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสารสกัดจากใบเสม็ดขาวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 303.50 ± 3.73 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 226.85 ± 1.56 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.76 ± 0.24 และ 53.79 ± 0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากดอกเสม็ดขาวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 750.65 ± 6.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 192.61 ± 5.63 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.05 ± 0.03 และ 0.55 ± 0.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากใบเสม็ดแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 527.07 ± 4.88 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 224.14 ± 3.12 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.02 ± 0.02 และ 1.30 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากดอกเสม็ดแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 537.64 ± 1.41 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 260.18 ± 6.24 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.01 ± 0.01 และ 0.65 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากผลของเสม็ดขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 727.07 ± 7.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 491.71 ± 8.26 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ

4.09 ± 0.11 และ 5.36 ± 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากผลของเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 115.69 ± 5.08 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 119.64 ± 4.13 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัมน้ำหนักแห้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical มีค่า IC_{50} เท่ากับ 77.05 ± 1.51 และ 24.12 ± 0.23 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงว่าสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบและดอกของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ส่วนสารสกัดจากผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่า โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่มีในสารสกัด แสดงให้เห็นว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายกลุ่มและเป็นกลุ่มสารที่มีขั้วต่างกัน ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวแปรที่สำคัญเพราะสามารถเป็นตัวกำหนดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระของใบ ดอก ผลของเสม็ดขาวและเสม็ดแดงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี และ BHA ดังนั้นใบ ดอก ผล ของเสม็ดขาวและเสม็ดแดง จึงเป็นพืชที่มีความน่าสนใจในการนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางยา อาหาร และอื่นๆ และทั้งนี้ควรมีการวิเคราะห์และแยกสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้บริสุทธิ์ รวมถึงวิถีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเพื่อประโยชน์ในอนาคตต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เทพมงคล, กรกนก รุ่งเรืองบูรณะกุล และ ชัชวิน เพชรเลิศ. 2556. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชกินได้บางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชนบ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) จังหวัดจันทบุรี. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมทางวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรม เพื่อความเข้มแข็งของชุมชน” หอประชุมพญางาเมือง มหาวิทยาลัยพะเยา. 28 – 29 มกราคม 2556.

การะเกตุ โบอ่องเจริญลาภ, สรีวรรณ อ่อนบัว และอรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล. 2561. ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดน้ำจากผลมะตาด. รายงานสืบเนื่องจากการงานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 10 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. วันที่ 29 - 30 มีนาคม พ.ศ. 2561. หน้า 1 - 7.

ขนิษฐา คงยอด. 2553. **ผลการต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จันทิมา นามโชติ, ศศมล ผาสุก และปัณณ์รภัส ถกลภักดี. 2556. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกิ่งมะขวิดที่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5**. 251 – 260.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์**. 1(1). 59 – 70

ชมัยพร รอดกลิ่น, เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข. ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆ ของส้มซ่า. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**. 22(1). 211 – 225.

ณัฐนนท์ อยู่สถิตย์ และชญาดา กลิ่นจันทร์. 2559. การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในใบสะระแหน่ ใบทับทิม และใบว่านแร้งคอดำ เพื่อแปรรูปเป็นชาสมุนไพร. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 3 (322 - 338). กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

นวลอนงค์ เสมสังข์ และวีรพงษ์ จันทะชัย. 2559. ปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบและการต้านอนุมูลอิสระของข้าวไทย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

นฤมล สังขโอธาน. 2546. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเสม็ดขาวในการควบคมแมลงศัตรูพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร กรุงเทพฯ.

ปณต ตั้งสุจริต, วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์ และวันชัย ไอยารัตน์. 2549. การตรวจสอบฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านอักเสบของพืชผักพื้นบ้านอีสาน. **ศรีนครินทร์เวชสาร**. 21(4). 305 – 310.

ปรวุฒิ เมืองอู่, นันทพงศ์ ขำทอง และธีรทัศน์ สุดสาย. 2559. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากใบหนาด. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2559. วันที่ 29 เมษายน 2559. 66 - 74.

ปิยนุช เจริญผล และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง. 2558. การศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง. **วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์**. 7(7). 17 - 27.

ปิยะวัฒน์ พรหมรักษา และโกสินทร์ พัฒนมณี. 2552. ป่าเสม็ดผืนป่าที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. **วารสารสิ่งแวดล้อม**. 13(3). 34 - 36.

มนต์สรวง ยางทอง และนงพร โตวัฒนะ. 2557. ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ของสาหร่ายทะเล 6 ชนิด จากชายฝั่งภาคใต้ของประเทศไทย. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**. 8(1). 93 – 104.

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล และพิชิต สุดตา. 2560. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์ของสารสกัดลำต้นนกกระลิงแดง. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 45(3). 531 - 542.

วิภพ สุทธนะ. 2556. ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. **ศรีนครินทร์เวชสาร**. 28(4). 567 - 582

วิภาพร เสรีเด่นชัย และศิริวรรณ อธิคมกุลชัย. 2557. รายงานวิจัย ฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ Zingiberaceae และ Myrtaceae. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2559. ศักยภาพการใช้สารสกัดจากเสม็ดเพื่อควบคุมวัชพืช. http://www3.rdi.ku.ac.th/?p=24125 March 10, 2016

สุธีรา วิทยากาญจน์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, ประภัสสร รักถาวร, ชัยพร สามพุ่มพวง, เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และลลิตา คชารัตน์. 2557. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบของต้นยูคาลิปตัสและเสม็ดขาว เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เพื่อการเกษตรและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ. สถาบันค้นค้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุริสา ศรีสุวรรณ, อัณศยา ท่อนโพธิ์ และประสงค์ สีหานาม. 2557. สารสกัดจากผลอ่อนป่า: พฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 10. 373 – 382.

สิรินุช พละภิญโญ. 2561. **การรักษาหลอดเลือดดำขอดด้วยสารสกัดฟลาโวนอยด์**. โรงพยาบาลกรุงเทพ สำนักงานใหญ่.

สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558. **องค์ประกอบทางเคมีการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของบอนหอม**. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

อรรถพล พันธุ์งาม, สุรพงศ์ รัตนะ และ บรรลือ สังข์ทอง. 2560. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดตะขบฝรั่ง. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ฉบับพิเศษ**. 13. 563 - 572.

Abdel-Hameed, E. S. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. **Food Chemistry**. 114. 1271 – 1277.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O. I. 1987. The deoxyribose method: A simple “test tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Analytical Biochemistry**. 165. 215 – 219.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**. 105. 1126 – 1134.

Kannika, T., Kornkanok, R. and Chatchawin, P. 2013. Antioxidant effect of some edible plants from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. Proceedings in the 5th Science Research Conference. 4th-5th March 2013 at University of Payao, Payao, Thailand. BIO5 - BIO10.

Luiz, C. A. B., Cleber, J. S., Robson, R. T., Renata, M. S. A. M. and Antonio, L. P. 2013. Chemistry and Biological Activities of Essential Oils from *Melaleuca* L. Species. **Agriculturae Conspectus Scientificus**. 78(1). 11 – 23.

Mazandarani, M., Zarghami M. P., Zolfaghari, M. R., Ghaemi, E. A. and Bayat, H. 2012. Effect of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in *Onosma dichroanthum* Boiss. **Journal of Medical Plants Research**. 28. 4481 – 4488.

Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. and Nunez, M. J. 2005. Effect of solvent, temperature, solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extract from different component of grape pomance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53. 2111 – 2117.

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

Stajić, M., Vukojević, J., Knežević, A., Laušević, S. D., and Milovanović, I. 2013. Antioxidant protective effects of mushroom metabolites. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. 13. 2660 – 2676.

Sutha, M., Fauzi, D., Sahidan, S., Mahanem, M. N., Malina, K., Andi, N., Andik, M., Ayumawarni, Y. Y. J. L., Rahimah, B. M. Z., Janet, S. I., Subhashini, K., Deeviya, G., Yi, C. L., Azwan, M. L. and Shazrul, F. 2016. Active Compound, Antioxidant, Antiproliferative and Effect on STZ induced Zebrafish of Various Crude Extracts from *Boletus qriseipurpureus*. **Malaysian Applied Biology Journal**. 45(1). 69 - 80.

Yuswan, M. H. M. Y., Al-Obaidi, J. R., Rahayu, A., Sahidan, S., Shazrul, F. and Fauzi, D. 2015. New Bioactive Molecules with Potential Antioxidant Activity from Various Extracts of Wild Edible Gelam Mushroom (*Boletus spp.*). **Advances in Bioscience and Biotechnology**. 6,.320 – 329.

ภาคผนวก ก
เสม็ดขาวและเสม็ดแดง

(a) (b) (c)

ภาพผนวกที่ ก1 ส่วนต่างๆ ของเสม็ดขาว (a) ใบ (b) ดอก (c) ผล

(a) (b) (c)

ภาพผนวกที่ ก2 ส่วนต่างๆ ของเสม็ดแดง (a) ใบ (b) ดอก (c) ผล

ภาคผนวก ข
ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางผนวกที่ ข1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23

Total Phenolic Content

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3706455.852	23	161150.254	6967.298	.000
Within Groups	1110.217	48	23.130		
Total	3707566.069	71			

ตารางผนวกที่ ข2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

Duncan[a]

TPC (mgGAE/g DW)	N	Subset for alpha = 0.05																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
SSH	3	40.08																		
SFH	3		54.71																	
SLH	3		62.03	62.03																
SSE	3			65.29	65.29															
MSH	3			66.91	66.91															
MLH	3				72.60	72.60														
SFEA	3				73.41	73.41														
MLEA	3					76.67														
SSM	3						85.61													
SSEA	3							115.69												
MFH	3								142.52											
SLEA	3								144.15											
SFE	3									153.09										
MSM	3										253.09									
MLE	3											289.68								
MLM	3												303.49							
MFE	3													379.10						
MSEA	3														480.73					
SLE	3														485.61					
SLM	3															527.07				
SFM	3																537.64			
MFEA	3																	600.24		
MSE	3																		727.07	
MFM	3																			750.65
Sig.		1.000	0.068	0.248	0.063	0.335	1.000	1.000	0.681	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.220	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ภาคผนวก ค
ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ตารางผนวกที่ ค1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23

Total Flavonoid Content

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1780690.319	23	77421.318	4080.733	.000
Within Groups	910.675	48	18.972		
Total	1781600.994	71			

ตารางผนวกที่ ค2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

Duncan[a]

TFC	N	Subset for alpha = 0.05																		
(mgRE/g DW)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
MLH	3	43.06																		
SSE	3		53.38																	
SFEA	3			70.99																
SSM	3				100.72															
MFEA	3					108.83														
SLEA	3					108.83														
SSEA	3						119.64													
SFE	3							147.57												
MLEA	3								174.60											
SLE	3								180.90											
MFM	3									192.61										
MLE	3										221.44									
SLM	3										224.15									
MLM	3										226.85									
MFE	3											248.47								
SFM	3												260.18							
SLH	3													290.81						
SSH	3														332.25					
MFH	3														338.56					
SFH	3															361.98				
MSM	3																379.10			
MSE	3																	491.71		
MSEA	3																		566.49	
MSH	3																			665.59
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000	1.000	0.083	1.000	0.157	1.000	1.000	1.000	0.083	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ภาคผนวก ง
ข้อมูลทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ตารางผนวกที่ ง1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23

DPPH ; IC_{50} (µg/ml)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22546177.17	25	901847.087	4595.912	.000
Within Groups	10203.862	52	196.228		
Total	22556381.03	77			

ตารางผนวกที่ ง2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

Duncan[a]

IC_{50} (µg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vit.C	3	0.05									
BHA	3	0.06									
SFM	3	1.01									
SLM	3	1.02									
MFM	3	1.05									
MSE	3	4.09									
MFEA	3	4.59									
MSEA	3	7.02									
SLE	3	7.53									
MFE	3	10.30									
MLM	3	11.76									
SFE	3		35.43								
SLEA	3		48.06								
MLE	3			72.55							
MSM	3			72.90							
SSEA	3			77.05							
SSM	3			88.80							
SFEA	3			89.11							
MFH	3				162.07						
SSE	3					232.22					
MLEA	3						520.16				
MLH	3							772.84			
SLH	3								928.04		
SFH	3									1610.06	
MSH	3									1616.58	
SSH	3										1729.11
Sig.		.399	.275	.205	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.571	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ภาคผนวก จ
ข้อมูลทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ตารางผนวกที่ จ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS แบบ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 23

ABTS ; IC_{50} (µg/ml)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4642189.740	25	185687.590	4938.888	.000
Within Groups	1955.046	52	37.597		
Total	4644144.786	77			

ตารางผนวกที่ จ2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan'New Multiple Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

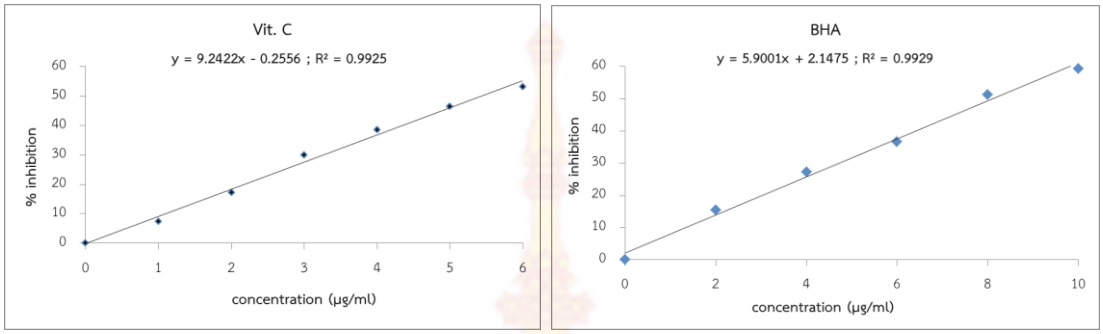
Duncan[a]

IC_{50} (µg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
BHA	3	0.02													
Vit. C	3	0.03													
MFM	3	0.55													
SFM	3	0.65													
SLM	3	1.30													
MSE	3	5.36													
MFEA	3	8.48													
MFE	3	8.97													
SLEA	3		22.97												
SSEA	3		24.12												
SFEA	3		31.86	31.86											
MSEA	3			39.94	39.94										
SFE	3				42.58										
SSM	3				46.64	46.64									
MLM	3					53.79	53.79								
SLE	3					56.06	56.06								
MLEA	3						58.01								
MSM	3							69.38							
MLE	3							74.93							
SSE	3								108.22						
MLH	3									258.89					
MFH	3										414.03				
MSH	3											451.67			
SLH	3												697.88		
SFH	3													768.13	
SSH	3														782.38
Sig.		0.132	0.099	0.113	0.213	0.080	0.433	0.273	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

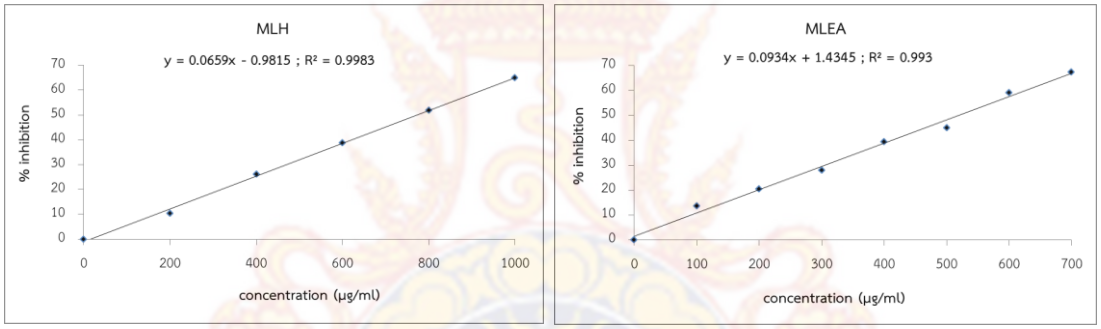
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

ภาคผนวก ฉ
การหาค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH

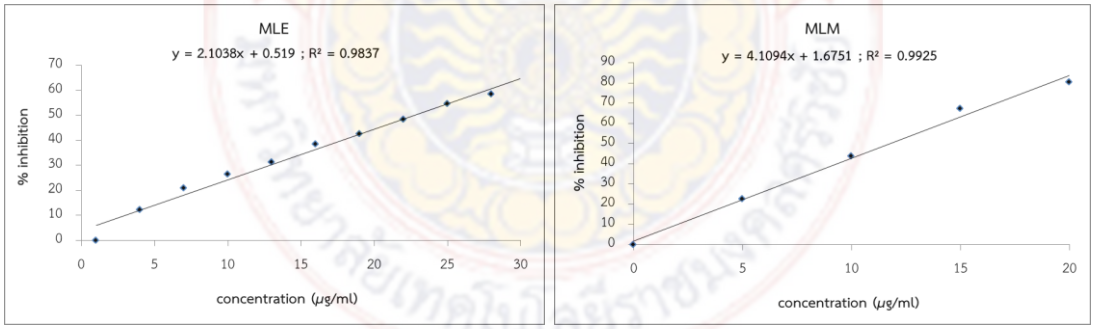


(a) (b)

ภาพผนวกที่ ฉ1 การหา IC_{50} ของสารมาตรฐานด้วยวิธี DPPH (a) Ascorbic acid (b) BHA

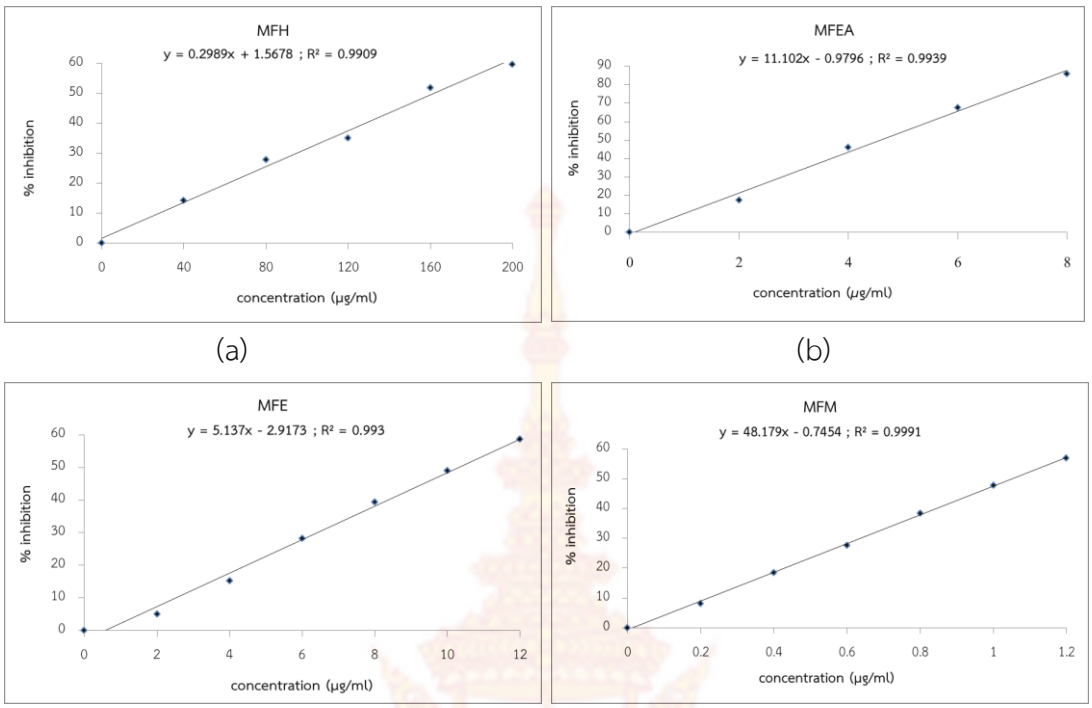


(a) (b)



(c) (d)

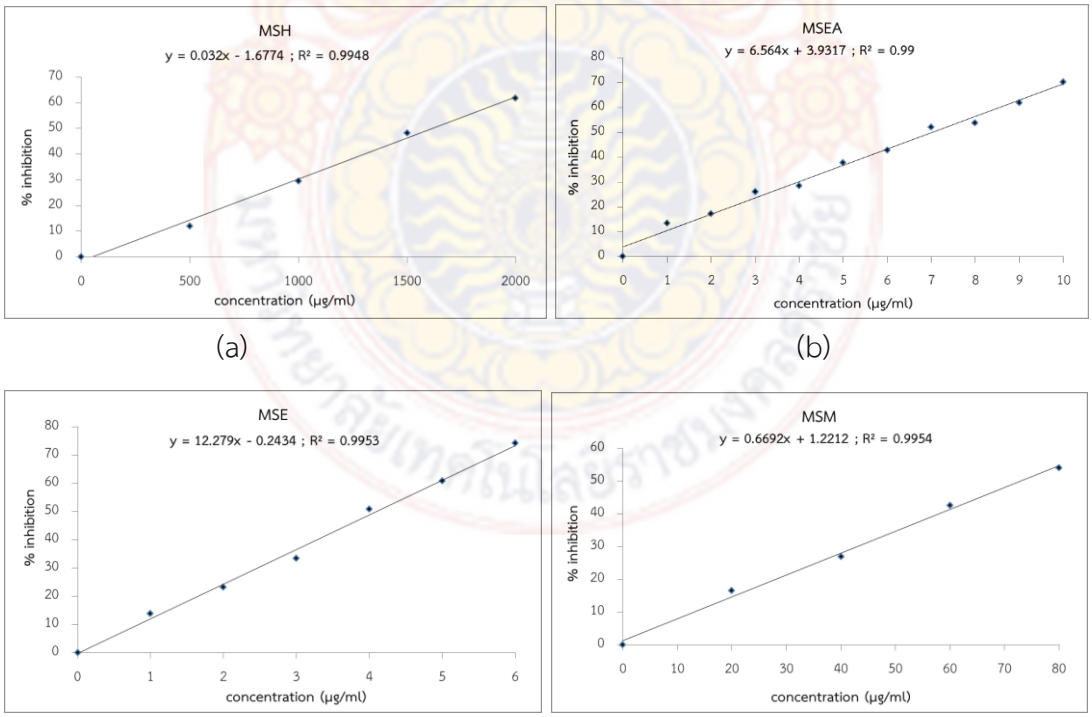
ภาพผนวกที่ ฉ2 การหา IC_{50} ของสารสกัดในใบเสม็ดขาวด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



(a) (b)

(c) (d)

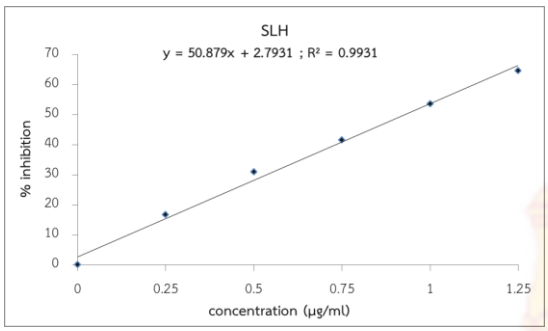
ภาพผนวกที่ ฉ3 การหา IC_{50} ของสารสกัดในดอกเสม็ดขาวด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



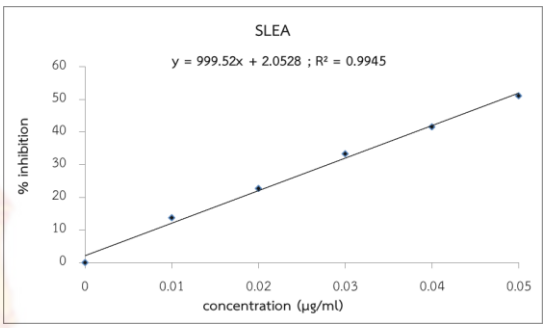
(a) (b)

(c) (d)

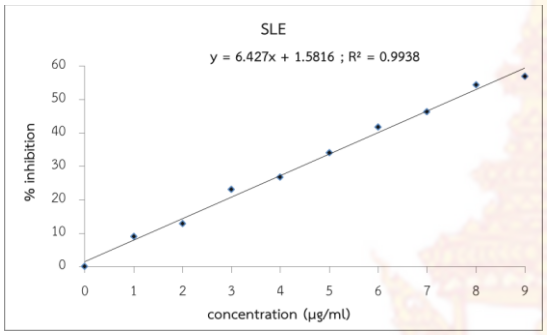
ภาพผนวกที่ ฉ4 การหา IC_{50} ของสารสกัดในผลเสม็ดขาวด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



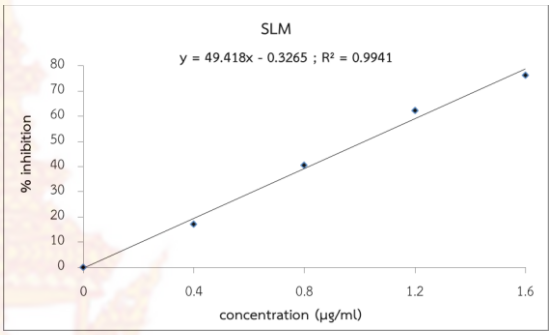
(a)



(b)

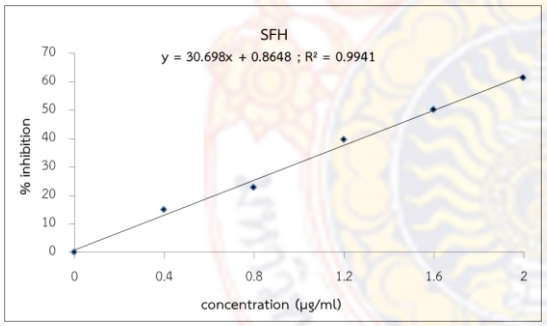


(c)

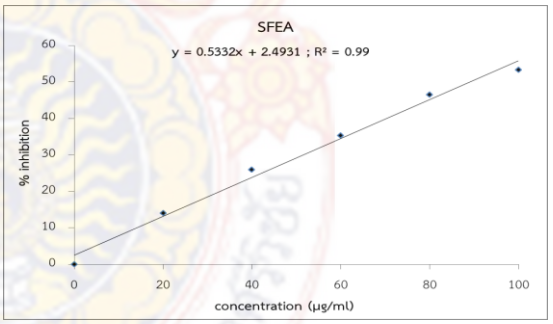


(d)

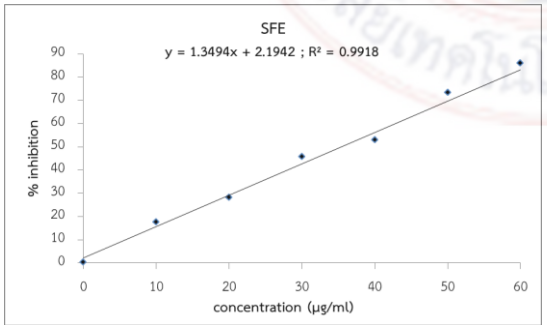
ภาพผนวกที่ ฉ5 การหา IC_{50} ของสารสกัดในใบเสม็ดแดงด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย
(a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



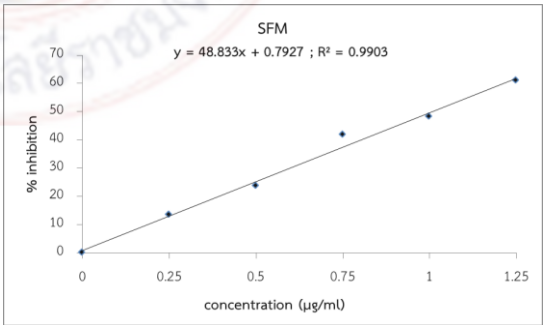
(a)



(b)

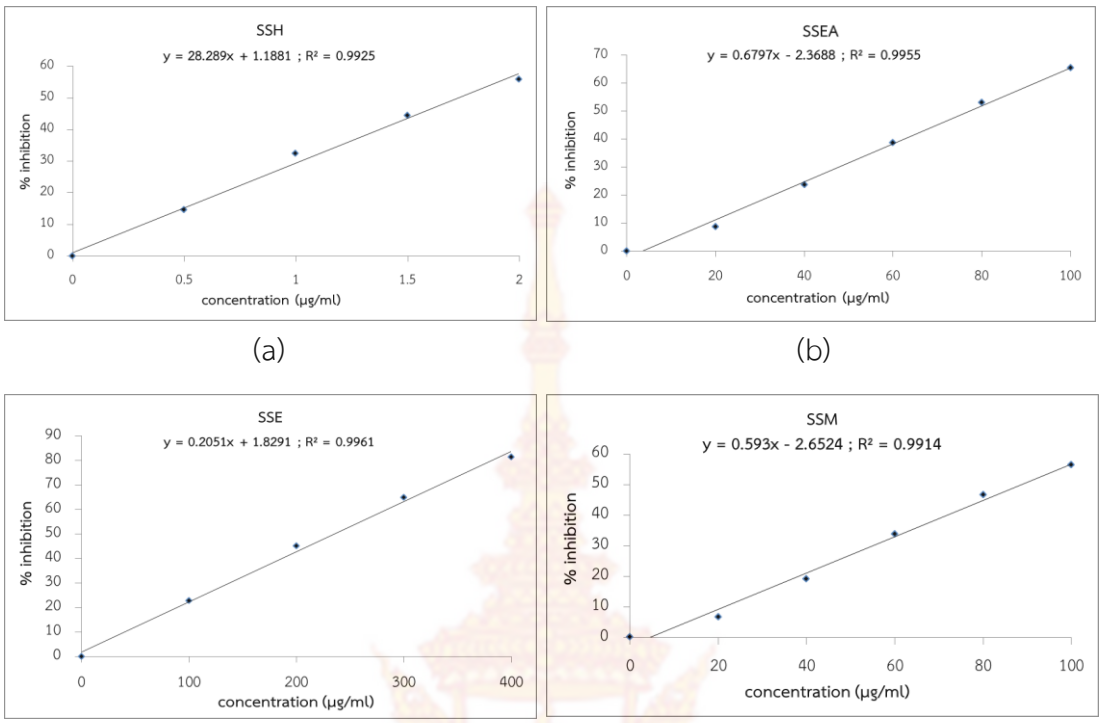


(c)



(d)

ภาพผนวกที่ ฉ6 การหา IC_{50} ของสารสกัดในดอกเสม็ดแดงด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย
(a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล

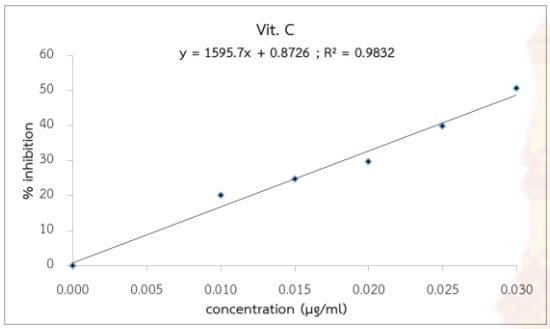


(a) (b)

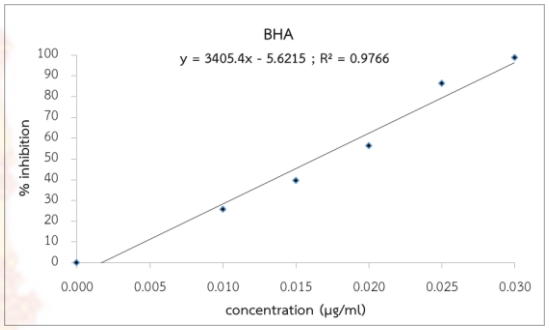
(c) (d)

ภาพผนวกที่ ฉ7 การหา IC_{50} ของสารสกัดในผลเสม็ดแดงด้วยวิธี DPPH ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล

ภาคผนวก ช
การหาค่า IC_{50} ด้วยวิธี ABTS

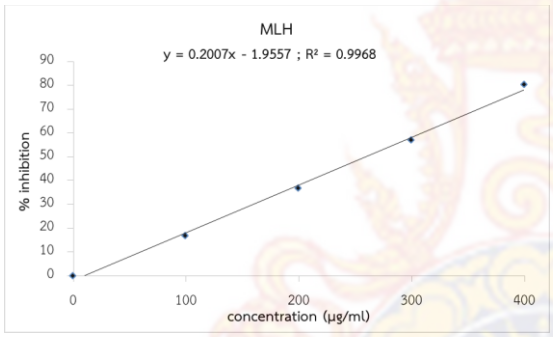


(a)

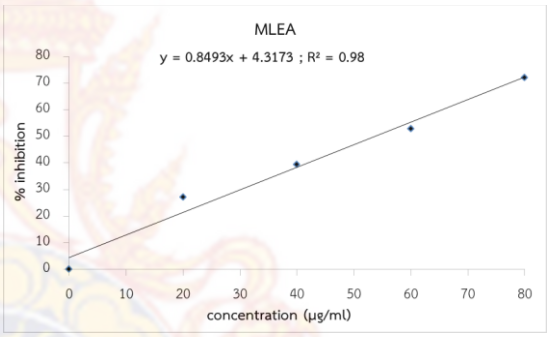


(b)

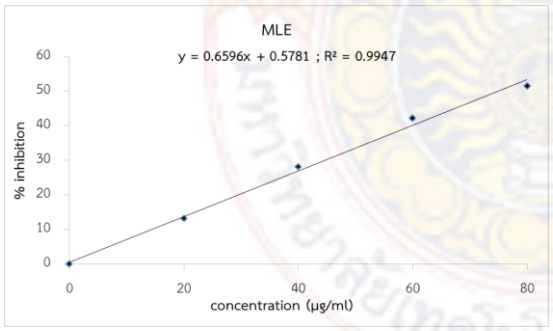
ภาพผนวกที่ ช1 การหา IC_{50} ของสารมาตรฐาน ด้วยวิธี ABTS (a) Ascorbic acid (b) BHA



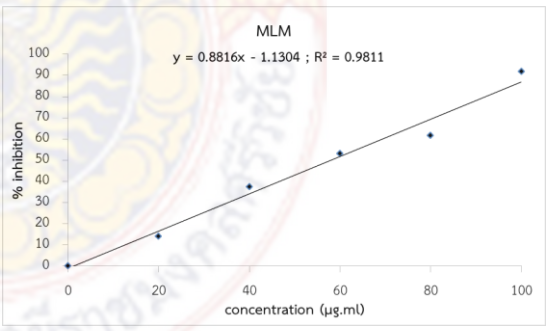
(a)



(b)

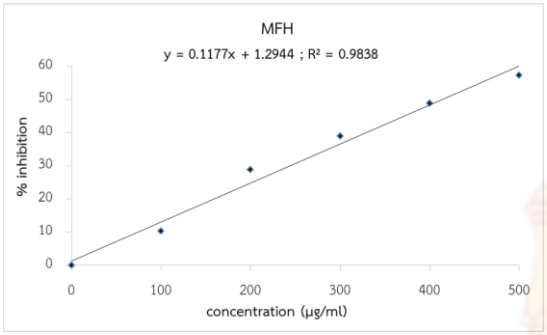


(c)

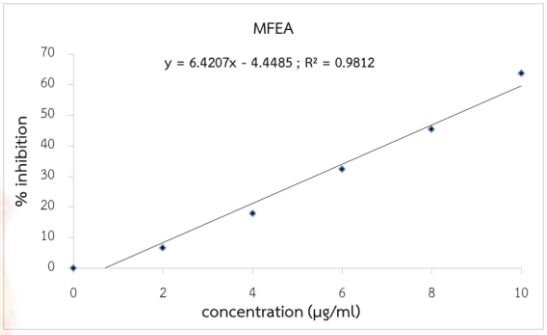


(d)

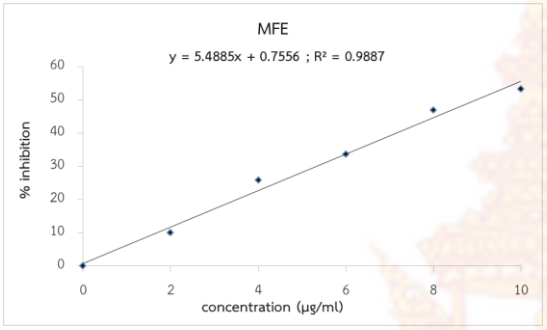
ภาพผนวกที่ ช2 การหา IC_{50} ของสารสกัดในใบเสม็ดขาวด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



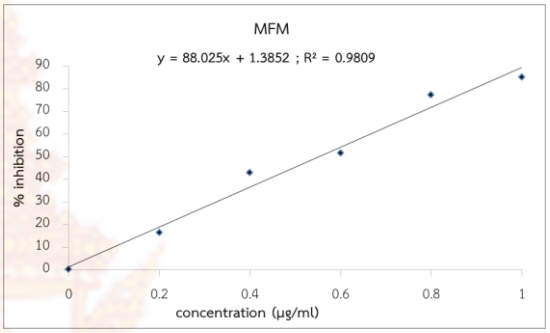
(a)



(b)

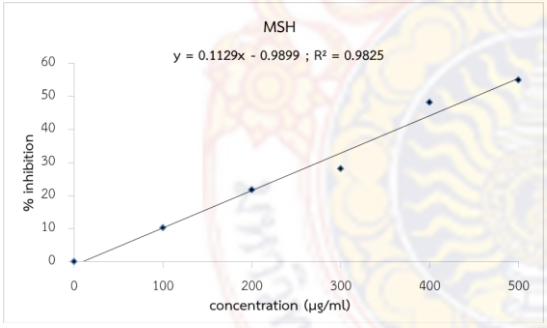


(c)

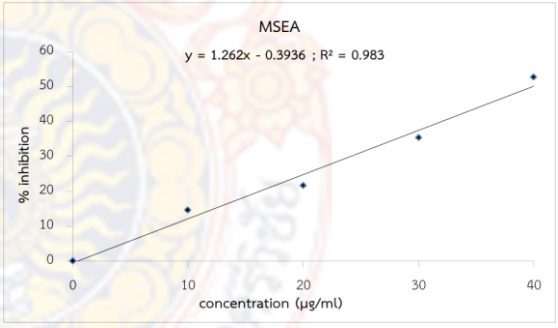


(d)

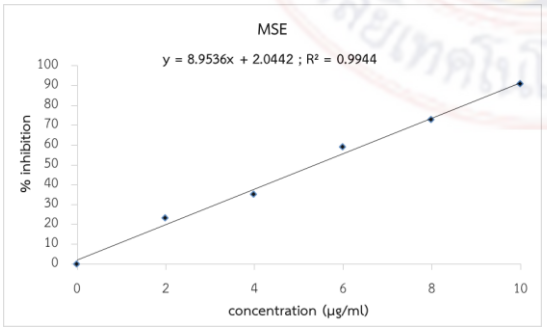
ภาพผนวกที่ ช3 การหา IC_{50} ของสารสกัดในดอกเสม็ดขาวด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



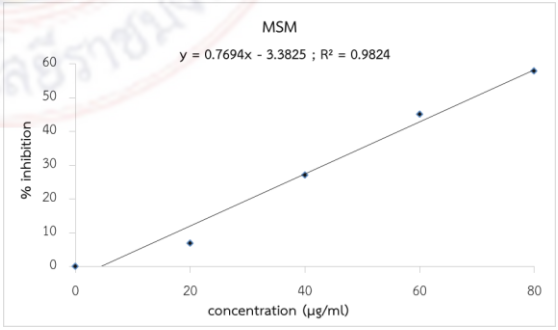
(a)



(b)

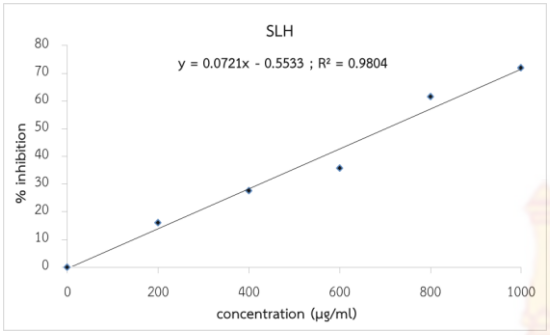


(c)

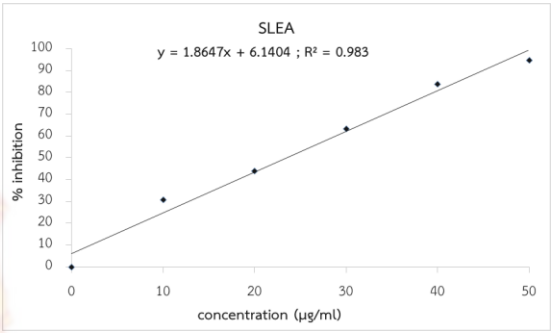


(d)

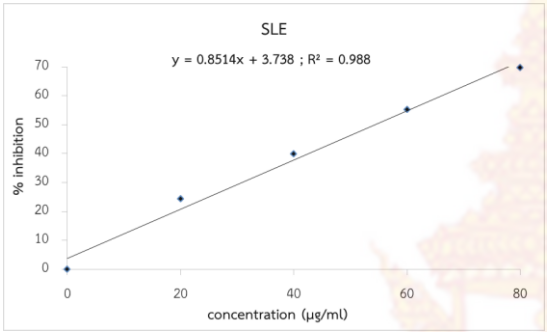
ภาพผนวกที่ ช4 การหา IC_{50} ของสารสกัดในผลเสม็ดขาวด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



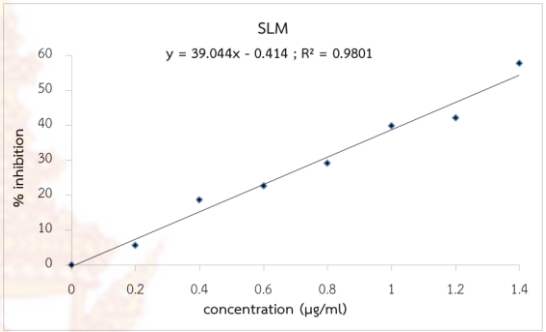
(a)



(b)

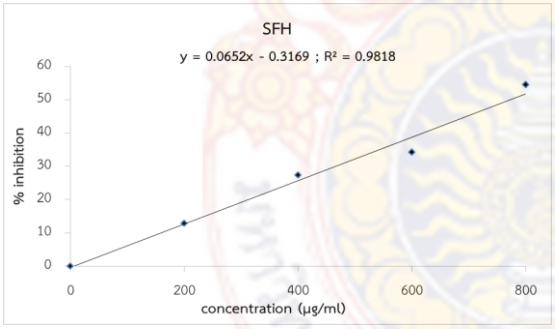


(c)

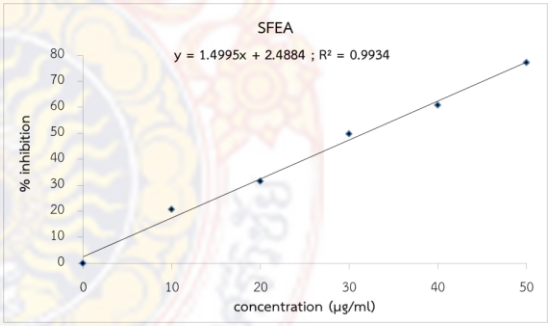


(d)

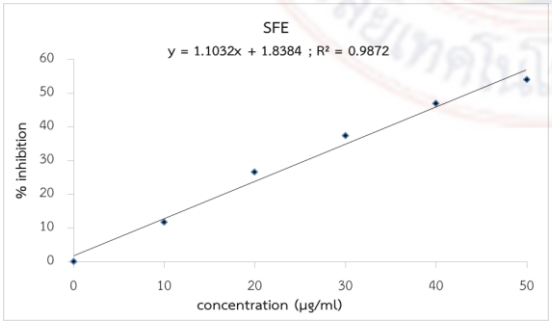
ภาพผนวกที่ ช5 การหา IC_{50} ของสารสกัดในใบเสม็ดแดงด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



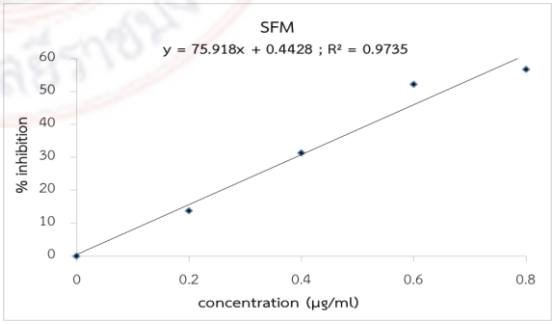
(a)



(b)

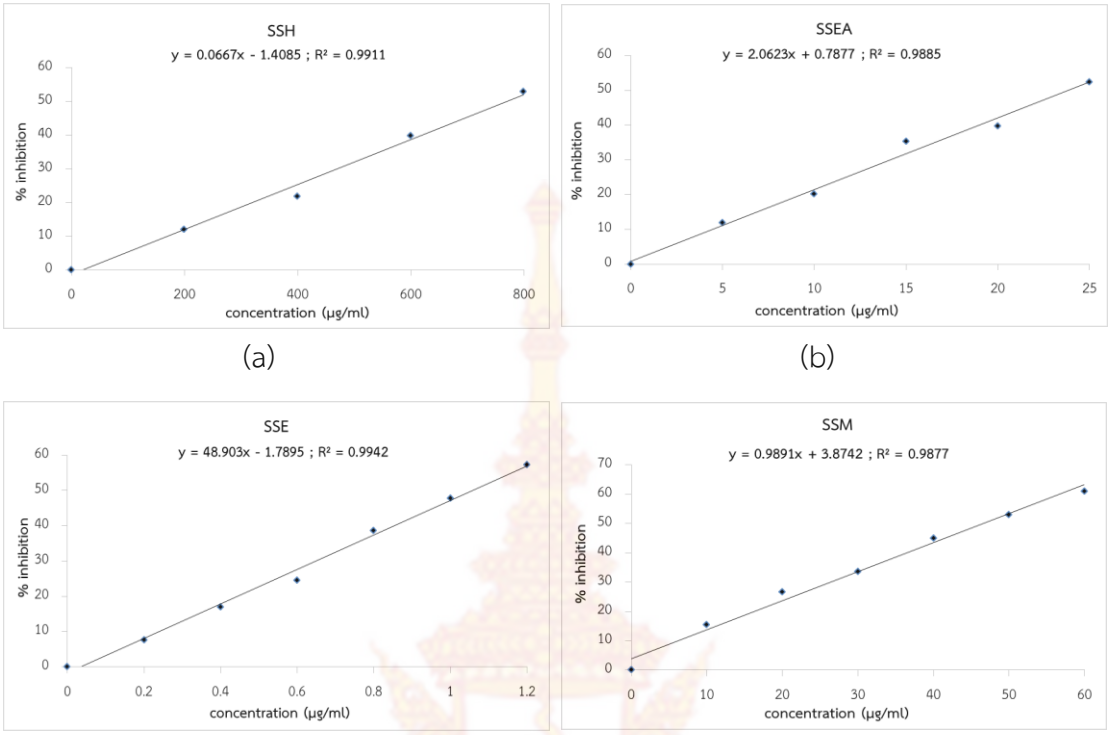


(c)



(d)

ภาพผนวกที่ ช6 การหา IC_{50} ของสารสกัดในดอกเสม็ดแดงด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล



(a) (b)

(c) (d)

ภาพผนวกที่ ช7 การหา IC_{50} ของสารสกัดในผลเสม็ดแดงด้วยวิธี ABTS ในตัวทำละลาย (a) เฮกเซน (b) เอทิลอะซิเตต (c) เอทานอล (d) เมทานอล