การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด

เอนก หาลี[1*] และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์[2]
มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ตำบลนครชุม อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร 62000

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรพื้นบ้าน ซึ่งใช้พืชสมุนไพรที่หาซื้อได้ในเขตตำบลนครชุม อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม ทั้งนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดย 3 เทคนิคคือ ABTS DPPH และ FRAP รวมถึงศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองได้แก่ อัญชัน ขมิ้น ใบเตย มะรุม กระเจี๊ยบ โหระพา สะระแหน่ มะตูม ข่า ขิง มะขาม กะเพรา ตะไคร้ แมงลักและมะนาว ผลการศึกษาพบว่า กระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุดคือ 21.21 μmol Trolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 μmol Trolox/g นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สุดคือ 4.83 mg of gallic acid/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.42-4.80 mg of gallic acid/g ส่วนฟลาโวนอยด์นั้น อัญชันและกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกันคือ 8.65 และ 7.96 mg of catechin/g ตามลำดับ

คำสำคัญ : สมุนไพร / สารต้านอนุมูลอิสระ / สารประกอบฟีนอลิก

* *Corresponding Author : nek__ha@hotmail.co.th*

1 *อาจารย์ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

2 *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

Study of Antioxidant Efficacies of 15 Local Herbs

Anek Halee[1*] and Boonyakrit Rattanapun[2]

Kamphaeng Phet Rajabhat University, Tambon Nakornchum, Amphoe Muang, Kamphaeng Phet, 62000

Abstract

The purpose of this study was to determine the phenolic content and antioxidant activity of selected local herbs. The plant samples were collected from Tambon Nakornchum, Amper Muaeng, Kamphaeng Phet province and analyzed to obtain a guideline as to which plants should be further developed into functional food and drink. The antioxidant efficacy of each plant was assessed via the ABTS, DPPH and FRAP assays. Phenolic and flavonoids content were also assessed. Herbs used in this study were *Clitoria ternatea*, *Curcuma longa*, *Pandanus odorus*, *Moringa oleifera*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ocimum basilicum*, *Melissa officinalis*, *Aegle marmelos*, *Alpinia galangal*, *Zingiber officinale*, *Tamarindus indica*, *Ocimum tenuiflorum*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* L.f. var. *citratum* Back. and *Citrus aurantifolia*. The results revealed that Hibiscus sabdariffa exhibited significantly (p<0.05) higher antioxidant activity than the other herbs. In particular, *Hibiscus sabdariffa* had the highest antioxidant activity against DPPH• at 21.21 µmol Trolox equivalents/g, while other herbs demonstrated wide range of antioxidant activity of 0.39-17.62 µmol Trolox/g. In addition, the extract of *Hibiscus sabdariffa* possessed the highest phenolic content of 4.83 mg of gallic acid/g. *Clitoria ternatea* and *Hibiscus sabdariffa* had higher flavonoids content than the other herbs at 8.65 and 7.96 mg of catechin/g, respectively.

Keywords : Herbs / Antioxidant / Phenolic Compounds

* *Corresponding Author : nek__ha@hotmail.co.th*

1 *Lecturer, Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology.*

2 *Assistant Professor, Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology.*

1. บทนำ

สมุนไพรจัดเป็นพืชที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์มาก ด้วยคุณค่าทางสารอาหาร สมบัติในด้านการป้องกันและรักษาโรคโดยเฉพาะความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ถือเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านที่สืบทอดกันมา และถูกลืมเลือนไปเมื่อมนุษย์หันไปให้ความสำคัญกับยาแผนปัจจุบันมากขึ้น สมุนไพรจึงถูกลดบทบาทและความสำคัญลงมาเป็นแค่อาหาร แต่ปัจจุบันสมุนไพรไทยกลับมาเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายอีกครั้งทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เพราะประชาชนได้รับทราบถึงผลดีของสมุนไพรและข้อจำกัดของยาแผนปัจจุบันกันมากขึ้น สมุนไพรหลายชนิดจึงถูกนำมาบริโภคในรูปของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย เพื่อให้สุขภาพร่างกายแข็งแรง [1] นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อให้สะดวกแก่การบริโภคและได้รสชาติที่แปลกใหม่ [2] กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในสมุนไพรได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์และวิตามินต่างๆ [3] โดยประเทศไทยมีสมุนไพรที่นิยมนำมาผลิตเป็นอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด และแต่ละพื้นที่ยังมีความหลากหลายด้านชนิดสมุนไพร ซึ่งมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณทางยารวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่พบได้ในพืช นอกจากมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารแล้ว ยังมีบทบาทในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็งเป็นต้น นอกจากนี้ ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง สารกลุ่มดังกล่าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ โดยในปัจจุบันการใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติยังไม่มีกฎหมายควบคุมอย่างชัดเจนมีแต่พียงมีข้อกำหนดให้ใช้ได้กับอาหารบางชนิดเท่านั้น [4] Tachakittirungrod [5] ได้ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทยบางชนิดในเขตจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า โหระพา แมงลัก ตะไคร้ สะระแหน่ กระเพรา มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 0.877, 0.850, 0.260, 1.844 และ 1.483 TEAC (μM) ตามลำดับ นอกจากนี้ Kruawan และ Kangsadalampai [6] ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทยในเขตกรุงเทพมหานคร ได้แก่ ขิง ตะไคร้ กระเจี๊ยบและมะตูม โดยพบว่าพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในช่วง 59.86-267.22 mg of GAE/g ซึ่งมะตูมและกระเจี๊ยบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ส่วนประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 794.31-2,220 μM โดยกระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของพืชสมุนไพร เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สำคัญและเป็นตัวหลักที่พบได้ในพืชสมุนไพร [7] เพื่อเป็นข้อมูลด้านวิชาการและเป็นข้อมูลในการเลือกใช้ประโยชน์จากสมุนไพรดังกล่าวเพื่อผลิตเป็นอาหารและเครื่องดื่มต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 การคัดเลือกสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

ทำการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสมุนไพรจากงานวิจัย ตำรา หนังสือ บทความวิชาการ รวมทั้งบทความงานวิจัยจากวารสารต่างๆ เพื่อให้ได้มาซึ่งชนิดของสมุนไพรที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารและเครื่องดื่ม โดยพบว่า สมุนไพรที่นิยมนำมาทำอาหารและเครื่องดื่มได้แก่ ดอกอัญชัน ขมิ้น ใบเตย มะรุม กระเจี๊ยบ โหระพา สะระแหน่ มะตูม ข่า ขิง มะขาม กระเพรา ตะไคร้ แมงลักและมะนาว [8, 9] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรในประเทศไทย โดยพบว่า สมุนไพรที่สามารถนำมาบริโภคเป็นอาหารได้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงได้แก่ ตะไคร้ สะระแหน่ โหระพา กระเพรา มะตูมและมะรุม [5, 7, 10] จากการตรวจเอกสารพบว่า มีการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก รวมถึงฟลาโวนอยด์ของสมุนไพรดังกล่าวเป็นจำนวนมาก แต่เป็นการศึกษาด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน สารมาตรฐานคนละชนิด นอกจากนี้ยังมิได้ทำการศึกษาพร้อมกันด้วยสภาวะการทดลองเดียวกัน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษา

แยกกัน ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบกันได้อย่างแท้จริง

โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ส่วนต่างๆ ของสมุนไพรมาทำการทดลองดังนี้

ตารางที่ 1 สมุนไพรและส่วนที่นำมาใช้ในการทดลอง

สมุนไพร	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้
ดอกอัญชัน	*Clitoria ternatea*	ดอก
ขมิ้น	*Curcuma longa*	เหง้า
ใบเตย	*Pandanus odorus*	ใบ
มะรุม	*Moringa oleifera*	ฝัก
กระเจี๊ยบ	*Hibiscus sabdariffa*	ดอก
โหระพา	*Ocimum basilicum*	ใบ
สะระแหน่	*Melissa officinalis*	ใบ
มะตูม	*Aegle marmelos*	ผล
ข่า	*Alpinia galangal*	เหง้า
ขิง	*Zingiber officinale*	เหง้า
มะขาม	*Tamarindus indica*	เนื้อ
กระเพรา	*Ocimum tenuiflorum*	ใบ
ตะไคร้	*Cymbopogon citratus*	ต้น
แมงลัก	*Ocimum basilicum* L.f. var. *citratum* Back	ใบ
มะนาว	*Citrus aurantifolia*	ผล

โดยตัวอย่างทั้งหมดได้ทำการสุ่มตัวอย่างเก็บที่ตลาดในเขตตำบลนครชุม อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร ในวันที่ 24 มีนาคม 2559 จากนั้นนำมาทำความสะอาดและผึ่งลมให้แห้ง ยกเว้นกระเจี๊ยบและมะตูมที่เป็นตัวอย่างแห้ง ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

2.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชตัวอย่าง

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้ทำการดัดแปลงวิธีการของ [11, 12] โดยทำการปั่นตัวอย่างสมุนไพรให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้น ชั่งตัวอย่างสมุนไพรจำนวน 5 กรัม เติมเมทานอล 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการสกัดด้วยวิธีเดิมอีกครั้ง นำสารสกัดที่ได้ทั้งสองครั้งรวมกัน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล เก็บใส่ขวดที่ปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เพื่อนำไปทดสอบสมบัติของสารสกัดจากสมุนไพรต่อไป โดยสารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิดคำนวณในรูปของน้ำหนักแห้ง

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน เริ่มจากนำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ‘s reagent ที่ทำการเจือจาง 10 เท่าปริมาตร 800 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน 2 นาที เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับ blank ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดตัวอย่างและใช้กรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารละลายมาตรฐาน โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับสารสกัดตัวอย่างข้างต้น โดยเปลี่ยนจากสารสกัดตัวอย่างเป็นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม [13] โดยรายงานผลในหน่วยของมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อตัวอย่างสมุนไพร 1 กรัม

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

เริ่มจากปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียม ไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร บ่ม 6 นาที เติม

สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บ่มเวลา 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร สำหรับ blank ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดตัวอย่างและใช้ catechin ที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของ catechin ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม [14]

2.5 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

โดยการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระใช้มี 3 วิธีคือ

- DPPH radical scavenging ability โดยใช้ 2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) เป็นอนุมูลอิสระ เริ่มจากนำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บในที่มืดอุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank แทนสารสกัดตัวอย่างและใช้ Trolox ความเข้มข้น 25, 50, 100, 300 และ 600 µM เป็นสารมาตรฐาน นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ รายงานผลในหน่วยของ µmol Trolox ต่อตัวอย่างสมุนไพร 1 กรัม [15]

- ABTS โดยใช้ ABTS เป็นอนุมูลอิสระเตรียมโดย 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) ผสมกับ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (K_2SO_4) เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เจือจางเมทานอลนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงให้ได้ 1.100±0.05 ทำการวิเคราะห์โดยนำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย ABTS ที่เตรียมโดยการใช้ ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร สำหรับ blank ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้ Trolox ความเข้มข้น 25, 50, 100, 300 และ 600 µM เป็นสารมาตรฐานรายงานผลในหน่วยของ µmol Trolox ต่อตัวอย่างสมุนไพร 1 กรัม [16]

- Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) โดยใช้ FRAP เป็นอนุมูลอิสระ เริ่มจาก ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร สำหรับ blank ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้ Trolox ความเข้มข้น 25, 50, 100, 300, และ 600 µM เป็นสารมาตรฐานรายงานผลในหน่วยของ µmol Trolox ต่อตัวอย่างสมุนไพร 1 กรัม [17]

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

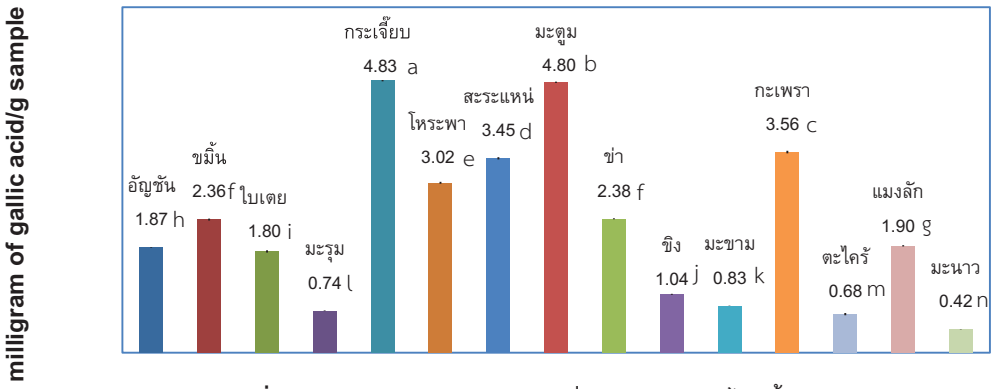
ทำการทดลอง 3 ซ้ำวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยการวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทุกด้านทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จากผลการทดลองพบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือ มะตูม กระเพรา สะระแหน่ โหระพา ขมิ้น ข่า แมงลัก อัญชัน ใบเตย ขิง มะขาม มะรุม ตะไคร้และมะนาว ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 0.42-4.83 mg of gallic acid โดยกระเจี๊ยบและมะตูมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงใกล้เคียงกัน ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พื้นที่การปลูก รวมถึงสภาพภูมิประเทศ [7] นอกจากนี้มะตูมมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกในปริมาณสูงโดยเฉพาะกลุ่มแทนนิน

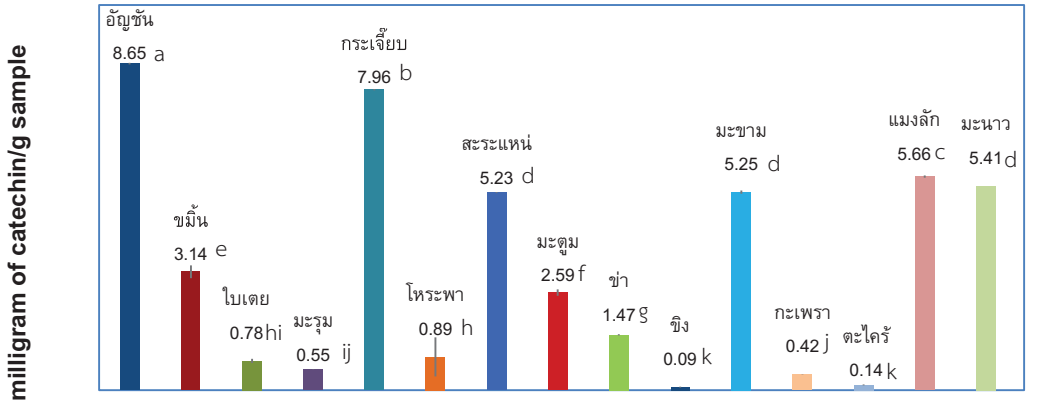
[18] และกระเจี๊ยบมีสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูงเช่นกัน โดยเฉพาะกลุ่มแอนโทไซยานิน [19] จึงทำให้กระเจี๊ยบและมะตูมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงว่าสมุนไพรชนิดอื่น



รูปที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด

3.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์

จากผลการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดสมุนไพรแสดงในรูปที่ 2 พบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีปริมาณฟลาโวนอยด์คำนวณในรูปของ mg of catechin ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอัญชันมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือ กระเจี๊ยบ แมงลัก มะนาว มะขาม สะระแหน่ ขมิ้น มะตูม ข่า โหระพา ใบเตย มะรุม กระเพรา ตะไคร้ และขิง ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 0.09-8.65 mg of catechin โดยอัญชันและกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สูงใกล้เคียงกัน ซึ่งโดยทั่วไป พืชผักและผลไม้ที่มีสีเช่น สีแดง น้ำเงินหรือม่วง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง ซึ่งอัญชันและกระเจี๊ยบเป็นสมุนไพรที่มีสารสีกลุ่มเดียวกันคือ แอนโทไซยานิน โดยจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ [20] จัดเป็นสารสีที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีนหลายเท่า [21, 22] ทำให้อัญชันและกระเจี๊ยบมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น

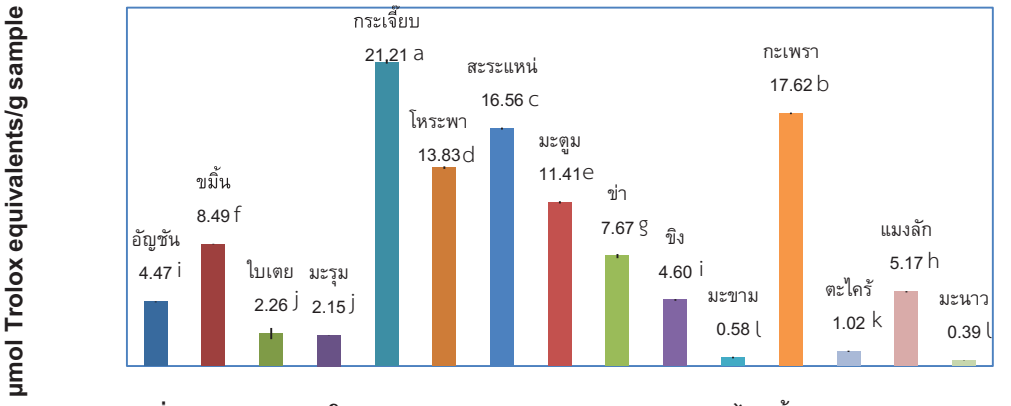


รูปที่ 2 ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด

3.3 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพร

1) DPPH radical scavenging ability

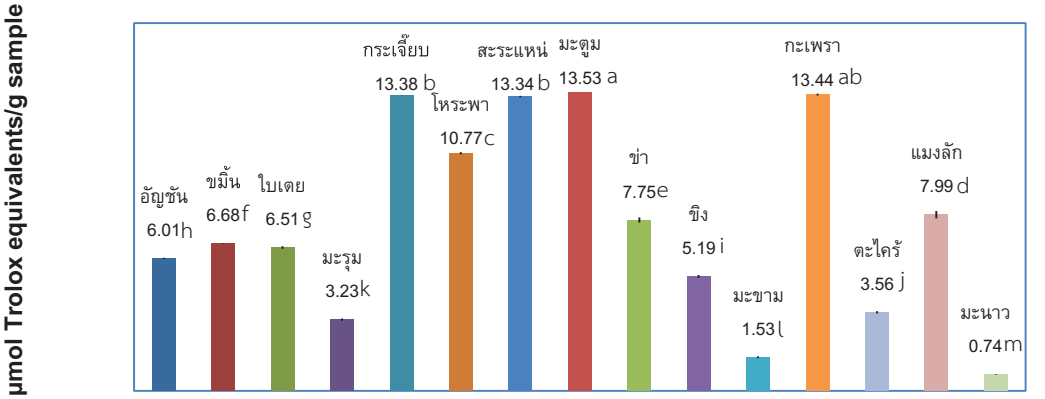
ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging ability แสดงรูปที่ 3 พบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระคำนวณในรูปของ µmol Trolox equivalents/g ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ 21.21 µmol Trolox equivalents/g นอกจากนี้ กระเพราและสะระแหน่ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่ากระเจี๊ยบเล็กน้อย โดยสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 0.39-21.21 µmol Trolox equivalents/g



รูปที่ 3 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด ทดสอบด้วยวิธี DPPH

2) ABTS

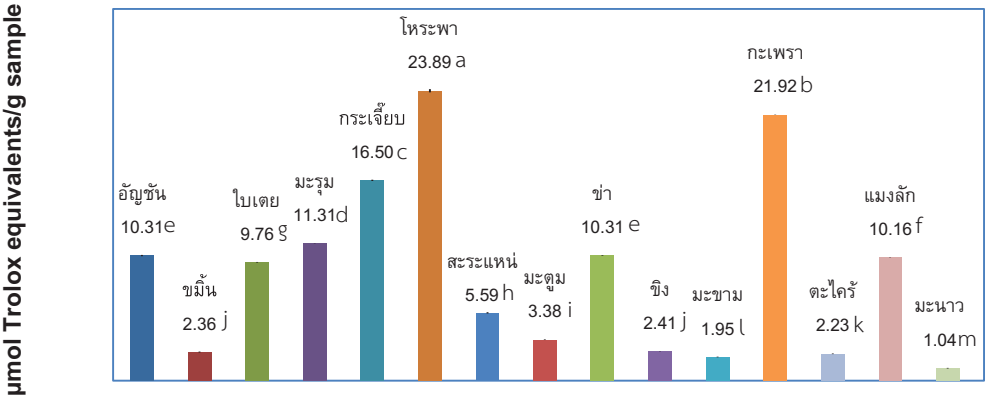
การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS แสดงรูปที่ 4 พบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย มะตูม กระเพรา กระเจี๊ยบ และสะระแหน่ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงใกล้เคียงกัน ซึ่งอยู่ในช่วง 13.34-13.58 µmol Trolox equivalents/g ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS แต่เมื่อพิจารณาสมุนไพรทั้ง 15 ชนิดแล้วพบว่า มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 0.74-13.58 µmol Trolox equivalents/g เป็นค่าที่มีความแตกต่างจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging ability เล็กน้อย



รูปที่ 4 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด ทดสอบด้วยวิธี ABTS

3) Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP แสดงรูปที่ 4 พบว่า สมุนไพรทั้ง 15 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยโหระพาและกระเพรามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 23.89 และ 21.92 µmol Trolox equivalents/g ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP เมื่อพิจารณาสมุนไพรทั้ง 15 ชนิดแล้วพบว่า สมุนไพรทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 1.04-23.89 µmol Trolox equivalents/g จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี คือ DPPH ABTS และ FRAP พบว่า ทั้ง 3 วิธี มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระคำนวณในรูปของ µmol Trolox equivalents/g sample ที่ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งมีค่าสูงสุดอยู่ที่ 23.89 µmol Trolox equivalents/g sample



รูปที่ 5 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด ทดสอบด้วยวิธี FRAP

จากผลการทดลองทั้ง 3 วิธีคือ DPPH ABTS และ FRAP พบว่า สมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงโดดเด่นได้แก่ กระเจี๊ยบ กระเพรา มะตูม สะระแหน่และโหระพา คือมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆ ซึ่งการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธี มีข้อแตกต่างกันในเรื่องของกลไกการทดสอบและกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีสมบัติที่แตกต่างกัน ทำให้มีผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละวิธีมีผลการทดลองที่แตกต่างกันไป ดังนั้นจึงต้องใช้การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระหลายวิธี เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองดังกล่าว ซึ่งการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านอนุมูลอิสระแก่อนุมูลของ $DPPH^{\bullet}$ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เป็นการทดสอบความสามารถของต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ ที่ถูกออกซิไดซ์ด้วย $K_2H_2O_8$ และการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์อนุมูลอิสระสังเคราะห์ เพื่อเป็นตัวแทนของอนุมูลที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ [19] จากข้อมูลดังกล่าวทำให้การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรทั้ง 3 วิธี มีผลการทดลองที่แตกต่างกัน ดังนั้นหากต้องการสารต้านอนุมูลอิสระที่เน้นการให้ไฮโดรเจนอะตอมของอนุมูลอิสระควรใช้กระเจี๊ยบและกระเพรา แต่ถ้าต้องการให้อิเลกตรอนกับอนุมูลอิสระพบว่ากระเจี๊ยบ สะระแหน่ มะตูมและกระเพราจะให้ผลที่ดี และถ้าต้องการรีดิวซ์อนุมูลอิสระควรเลือกใช้โหระพาและกระเพรา จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี พบว่า

กระเจี๊ยบและกระเพรามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีและหลากหลาย ทั้งการให้ไฮโดรเจนอะตอมของอนุมูลอิสระ การให้อิเลกตรอนกับอนุมูลอิสระและการรีดิวซ์ ตามลำดับ

โดยข้อมูลด้านประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมีผลการทดลองที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tachakittirungrod [5] ได้ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทยบางชนิดในเขตจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า โหระพา แมงลัก ตะไคร้ สะระแหน่ กะเพรา มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 0.877, 0.850, 0.260, 1.844 และ 1.483 TEAC (μM) ซึ่งกะเพราและสะระแหน่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าโหระพา แมงลักและตะไคร้ ตามลำดับ และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุจิราและคณะ [23] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของข่าและตะไคร้ จำนวน 3 วิธีคือ ABTS DPPH และ FRAP โดยคำนวณในรูปของ μmol Trolox equivalents/g จากการทดสอบทั้ง 3 วิธีพบว่าวิธี ABTS ข่าและตะไคร้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 167.48 และ 35.47 μM TEAC ส่วน DPPH มีค่าเท่ากับ 60.75 และ 28.08 μM TEAC FRAP มีค่า 104.38 และ 39.37 μM TEAC ตามลำดับ แสดงว่าข่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าตะไคร้ ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรยังให้ผลการทดลองที่แตกต่างกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในสมุนไพรอีกด้วย เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืชผักสมุนไพรต่างๆ มีด้วยกันหลายชนิด ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน วิตามินซี วิตามินอีและเบต้าแคโรทีน เป็นต้น [20] และสารต้านอนุมูลอิสระมักประกอบด้วยสารหลายชนิดที่ทำงานเสริมกันจึงจะมีประสิทธิภาพสูงในการทำงาน ปัจจุบันพบว่าพืชผักและผลไม้ที่มีสีเช่น สีแดงดำหรือม่วงที่เป็นกลุ่มของฟลาโวนอยด์ จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง [21] ซึ่งกระเจี๊ยบเป็นพืชที่มีสีแดง นอกจากนี้ในกระเจี๊ยบยังมีแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารสีที่อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์และจัดว่าเป็นสารประกอบฟีนอลิกอีกชนิดหนึ่งที่ละลายน้ำได้ดี สมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ สีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซีและหมู่เมทอกซีของ flavylium ring มีรายงานการวิจัยพบว่าสารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซี วิตามินอีแลเบต้าแคโรทีนหลายเท่า ซึ่งทำให้กระเจี๊ยบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยแอนโทไซยานินสามารถลดไขมันอุดตันในเส้นเลือดลดระดับคลอเลสเตอรอลในร่างกายมนุษย์ ป้องกันโรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูงยับยั้งการเจริญเติบของเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ในร่างกาย เช่น มะเร็งปอดเต้านมกระเพาะอาหารและเม็ดเลือดขาวและยังป้องกันไวรัส HSV-1 เป็นต้น [20, 21]

ผลการทดลองทั้งหมดพบว่า สมุนไพรที่มีแนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี คือ กระเจี๊ยบ มะตูม กระเพรา สะระแหน่ และโหระพา ตามลำดับ เนื่องจากมีแนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น ซึ่งทั้ง 3 วิธีให้ผลการทดสอบที่เป็นไปในแนวทางเดียวกัน จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกสมุนไพรมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มสมุนไพรต่อไปได้ นอกจากนี้สมุนไพรดังกล่าวอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติที่มีประโยชน์และสามารถรับประทานได้ในปริมาณ 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัมต่อวัน ซึ่งสามารถรับประทานได้มากกว่าวิตามินอี [7] จึงทำให้มีความปลอดภัยสูงกว่า

4. สรุป

ผลการทดลองพบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาทั้งสามวิธี คือ ABTS DPPH และ FRAP กระเจี๊ยบมีแนวโน้มในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเฉพาะ DPPH ที่มีค่าสูงที่สุด คือ 21.21 μmol Trolox equivalents/g สมุนไพรชนิดอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-17.62 μmol Trolox equivalents/g ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์พบว่ากระเจี๊ยบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดคือ 4.83 mg of gallic acid/g และมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูง

ใกล้เคียงกับอัญชันที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกัน คือ 7.96 และ 8.65 mg of catechin/g ตามลำดับ

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่สนับสนุนทุนในการวิจัยครั้งนี้ รวมถึงศูนย์ส่งเสริมและตรวจสอบการผลิตตามมาตรฐานความปลอดภัยทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในเรื่องเครื่องมือและวัสดุทางวิทยาศาสตร์สำหรับการทดลอง

6. เอกสารอ้างอิง

1. Hengsawasd, D., 2008, “Herbs in Thai Food,” *Food Journal*, 38, pp. 10-16.

2. Rakariyatham, N. and Chanwitheesuk, A., 2002, Antioxidant, Anticancer in Vegetables and Thai Herbs, Nopburikarnpimp, Chiangmai. (In Thai).

3. Shahidi, F., 1997, Natural Antioxidants : an Overview, in F. Shahidi (Ed.), *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Illinois, pp. 1-7.

4. Siriamornpun, S., 2014, Antioxidants in Food, O.S. Printing House, Bangkok, pp. 51-53.

5. Tachakittirungrod, S., 2008, Investigation of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Selected Indigenous Plant, Doctor of Philosophy (Pharmacy) Thesis, Faculty of Pharmacy, University of Chiangmai.

6. Kruawan, K. and Kangsadalampai, K., 2006, “Antioxidant Activity, Phenolic Compound Contents and Antimutagenic Activity of Some Water Extract of Herbs,” *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30 (1-2), pp. 28-35.

7. Vajragupta, O., Boonchoong, P., Boonyarat, C. and Utsintong, M., 2006, Redical Scavenging Agents, Chulalongkorn University, Bangkok. (In Thai)

8. Pimluck, C., 2005, Thai Local Vegetables, Herbs Against Disease, Phailin, Bangkok. (In Thai)

9. Hungthep, S., 2005, Vegetables and Herbs, Wadsilp, Bangkok. (In Thai)

10. Panidthananon, W., 2008, Chemical Constituents and Antioxidant Properties of Thai Medicinal Plants, Master of Pharmaceutical Sciences Thesis, University of Chiangmai.

11. Graciele, D.C., Francilene, G.K.V., Cristiane, C., Luciano, V.G. and Roseane, F., 2011, “Optimization of the Extraction of Flavanols and Anthocyanins from the Fruit Pulp of Euterpe edulis Using the Response Surface Methodology,” *Journal of Food Research International*, 44, pp. 708–715.

12. Urszula, Z., Sylwia, M. Malgorzata, N. and Michal, W., 2016, “The Effect of Different Solvents and Number of Extraction Steps on the Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Basil Leaves (Ocimum Basilicum L.) Extracts,” *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23 (5), pp. 628-633.

13. Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M., 1999, “Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-ciocalteu Reagent,” *Journal of Methods in Enzymology*, 299, pp. 152-178.

14. Jia, Z., Tang, M. and Wu, J., 1999, “The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals,” *Journal of Food Chemistry*, 64, pp. 555–559.

15. Nuengchamnong, N., Krittasilp, K., and Ingkaninan, K., 2009, “Rapid Screening and Identification of Antioxidants in Aqueous Extracts of Houttuynia Cordata Using LC–ESI–MS Coupled with DPPH Assay,” *Journal of Food Chemistry*, 117, pp. 750–756.

16. Arnao, M.B., Cano, A. and Acusta, M., 2001, “The Hydrophilic and Lipophilic Contribution

to Total Antioxidant Activity," *Journal of Food Chemistry*, 7, pp. 239–244.

17. Benzie, F.F. and Strain, J.J., 1996, "The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of 'Antioxidant Power': The FRAP Assay," *Journal of Analytical Biochemistry*, 239, pp. 70-76.

18. Manjeshwar, S.B., Harshith P.B., Nandhini, J. and Farhan, F., 2011, "Phytochemistry and Medicinal Uses of the Bael Fruit (Aegle marmelos Correa): A Concise Review," *Journal of Food Research International*, 44, pp. 1768-1775.

19. Moongngarm, A., 2012, Antioxidants in Cereals, Mahasarakham University, Mahasarakham. (In Thai)

20. Jirumand, J. and Srihanam, P., 2011, "Oxidants and Antioxidants : Sources and Mechanism," *Acad. Kalasin Rajabhat University*, 1, pp. 59-70.

21. Chen, P.N., Kuo, W.H., Chiang, C.L., Chiou, H.L., Hsieh, Y.S. and Chu, S.C., 2006, "Black Rice Anthocyanins Inhibit Cancer Cells Invasion Via Repressions of MMPs and u-PA Expression," *Journal of Chemico- Biological Interactions*, 163, pp. 218-229.

22. Lee, J.H., 2010, "Identification and Quantification of Anthocyanins From the Grains of Black Rice (Oryza sativa L.) Varieties," *Food Science and Biotechnology*, 19, pp. 391-397.

23. Ayusuk, A., Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P. and Usawakesmanee, W., 2009, "Effect of Heat Treatment on Antioxidant Property of Tom-kha Paste and Herbs/spices used in Tom-kha Paste," *Proceedings of 47th Kasetsart University Annual Conference*: Agro-Industry, 47 pp. 305-313.