การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาบเสือ**

Antioxidant Study of the Crude Extracts from *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson**

ปิยาภรณ์ วรานุสันติกูล[1]* สุชาดา โทผล[1] เจษฎา แพนาค[2]
นิวัฒน์ กังวานรังสรรค์[2] และศรีสุดา หาญภาคภูมิ[1]
[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต,
[2]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Piyaporn Waranusantigul[1]*, Suchada Thophon[1], Chetsada Phaenark[2],
Niwat Kangwanrangsan[2] & Srisuda Hanphakphoom[1]
[1]Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University
[2]Faculty of Science, Mahidol University

บทคัดย่อ

สาบเสือ *(Chromolaena odorata)* เป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปตลอดทั้งปีและในแทบทุกพื้นที่ของประเทศไทย จัดเป็นวัชพืชที่มีสรรพคุณทางยาใช้ในการรักษาแบบพื้นบ้านดั้งเดิม คุณลักษณะของสรรพคุณทางยานี้น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในการศึกษานี้จึงทำการสกัดสารจากใบ ลำต้น และรากของสาบเสือด้วยตัวทำละลายหลายชนิด แล้วจึงนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในห้องปฏิบัติการ ปริมาณสูงสุดของสารสกัดหยาบได้จากการสกัดใบของสาบเสือด้วยน้ำและเมทานอล (12.16 และ 10.45% ตามลำดับ) ในส่วนของพืชที่ศึกษา ใบที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในหลายการทดสอบ ปริมาณฟีนอลิกรวมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างส่วนสกัดจากอวัยวะต่างๆ ของต้นสาบเสือ โดยสารสกัดหยาบจากใบของสาบเสือด้วยเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (12.1 มก. GAE/มก. ของสารสกัด) จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า ส่วนใบของสาบเสือมีการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ของพืชนี้และเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดสาบเสือ

คำสำคัญ : สาบเสือ อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: wpiyaporn@yahoo.com

**งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

31-58.indd 31 11/4/16 4:33:46 PM

Abstract

Chromolaena odorata or Siam weed is a perennial herb and invasive weed commonly found throughout Thailand. It can be used in traditional medicine. Some of its medicinal properties are reported to be related to the antioxidant activity. In this study, the leaves, stems, and roots of C. odorata were subjected to extraction by various solvents and the extracts evaluated for their in vitro antioxidant activity. Extraction of leaves by water or methanol gave the highest recoveries (12.16 and 10.45%, respectively). Among the plant extracts studied, the ethanol extract of leaves showed the highest antioxidant activity in several assays. Significant differences in the amount of total phenolic content were found in extracts from different plant tissues, with the highest amount (12.1 mg GAE/mg of extract) found in ethanol extract of leaves. It can be concluded that C. odorata leaves have the highest antioxidant activities compared to other plant tissues and ethanol is the best solvent.

Keywords: *Chromolaena odorata,* Free radical, Antioxidant

บทนำ

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากหลายปฏิกิริยาในเซลล์ ทั้งที่เป็นผลอันไม่พึงประสงค์ (By-product) และโดยการทำงานของเอนไซม์เร่งการผลิตอนุมูลอิสระ ด้านหนึ่งอนุมูลอิสระมีความสำคัญหลายประการต่อร่างกาย ส่วนอีกด้านหนึ่งนั้นอนุมูลอิสระสามารถออกฤทธิ์ทำลายดีเอ็นเอ โปรตีนและเยื่อต่างๆ ตราบใดที่ระบบป้องกันของเซลล์สามารถควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตลอดจนระบบซ่อมแซมชีวโมเลกุลยังทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ อนุมูลอิสระจะไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Nuchadomrong, 2006; Harnying, 2006)

ในปัจจุบันบรรยากาศโลกถูกทำลายด้วยเทคโนโลยีที่มนุษย์สร้างขึ้น ก่อให้เกิดปัจจัยเสริมสภาวะออกซิเดชั่น (Oxidative stress) ต่อร่างกาย ที่รู้จักกันดีคือ สภาวะเรือนกระจก (Greenhouse effect) ด้วยผลของสารเคมีหลายชนิดและควันพิษจากการสันดาปเชื้อเพลิง ซึ่งเป็นเงื่อนไขทำร้ายที่ทำให้รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) รังสีคอสมิก (Cosmic radiation) จากนอกโลกซึ่งปกติส่วนใหญ่ถูกชั้นบรรยากาศกรองไว้นั้นทะลุผ่านลงมาที่ผิวโลกมากขึ้น การสันดาปเชื้อเพลิงอย่างมากมายในเขตอุตสาหกรรมหรือเขตจราจรหนาแน่น เป็นตัวการทำให้เกิดก๊าซโอโซน (Ozone; O_3) เกินระดับปลอดภัยปะปนอยู่ในอากาศที่มนุษย์หายใจ ปัจจัยเสริมสภาวะออกซิเดชันยังรวมถึงสารเคมีที่เข้าสู่ร่างกายพร้อมอาหาร สารเคมีเหล่านั้นอาจปนเปื้อนมาตั้งแต่ในขั้นตอนเกษตรกรรมหรือขั้นตอนการแปรรูปวัตถุดิบ ปัจจัยเสริมทั้งหมดดังกล่าวส่งผลกระตุ้นให้อนุมูลอิสระเพิ่มปริมาณมากขึ้นและสร้างความเสียหายต่อเซลล์เกินขีดความสามารถ

31-58.indd 32 11/4/16 4:33:46 PM

ที่เซลล์จะซ่อมแซมได้ ซึ่งนำไปสู่สภาวะเสื่อมก่อนวัยของอวัยวะและอาจเกิดโรคต่างๆ ตามมา (Nuchadomrong, 2006; Harnying, 2006)

องค์การอนามัยโลกประมาณการว่า ร้อยละ 80 ของประชากรในโลกยังใช้การรักษาตามแบบภูมิปัญญาพื้นบ้านสำหรับการดูแลสุขภาพ หรือความเจ็บป่วยเบื้องต้น และทั้งหมดของการรักษาเหล่านั้นมักจะเกี่ยวข้องกับการสกัดพืชหรือสารออกฤทธิ์จากพืช (Krishnaiah et al., 2011) การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน ประเทศไทยเป็นแหล่งอุดมสมบูรณ์ด้วยพรรณไม้สมุนไพร รวมทั้งวัชพืชหลากหลายชนิด มีรายงานในต่างประเทศว่าพืชตระกูล Asteraceae มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี ยกตัวอย่าง เช่น Albayrak et al. (2010) ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลของต้นดอกกระดาษ *Helichrysum* species จากส่วนลำต้นเหนือดิน ด้วยวิธี DPPH, Phosphomolybdenum assay, และ วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่า พืชชนิดนี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้ง 16 สายพันธุ์, Maksimović (2008) ทำการสกัดต้น *Ambrosia artemisiifolia* หรือ Ragweed ด้วย 70% อะซิโตน แล้วศึกษาการต้านอนุมูลอิสระโดยวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม, ปริมาณฟลาโวนอยด์, DPPH และอื่นๆ พบว่า พืชชนิดนี้แสดงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีในทุกวิธี และ Candan et al. (2003) ทำการสกัดด้วยน้ำและสกัดน้ำมันหอมระเหยต้น *Achillea millefolium* ซึ่งเป็นพืชที่พบแถบยุโรปตอนใต้และเมดิเตอร์เรเนียน แล้วศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Hydroxy (OH) radical scavenging activity, DPPH และอื่นๆ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดนี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระเทียบเคียงได้แก่ Curcumin, Ascorbic acid และ BHT จึงเป็นที่มาของการศึกษาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชตระกูล Asteraceae ที่พบในเมืองไทย ซึ่งก็คือ ต้นสาบเสือ ด้วยวิธีทดสอบการต้านอนุมูลอิสระในหลายๆ วิธี ซึ่งการที่ต้องทำหลายๆ วิธีในการทดสอบนั้นก็เพราะว่า อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากสภาพการดำรงชีวิตนั้นมีหลายชนิด ในแต่ละวิธีทดสอบก็จะมีหลักการและสภาวะการทดลองที่จะประเมินคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน (Ma et al., 2011) ดังนั้นการทดสอบเพียงวิธีใดวิธีหนึ่งจึงไม่เพียงพอครอบคลุมที่จะบอกได้ว่าสารสกัดนั้นมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระหรือไม่ (Mohd-Esa et al., 2010; Ma et al., 2011; Tan & Lim, 2015) Malta et al. (2013) แนะนำว่าควรทำการทดสอบอย่างน้อยสองวิธีขึ้นไป

สาบเสือเป็นวัชพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกากลาง มีเขตแพร่กระจายตั้งแต่ทางตอนใต้ของฟลอริดาจนถึงพื้นที่ตอนเหนือของอาร์เจนตินา ระบาดไปทั่วเขตร้อนของโลกทุกทวีป สาบเสือมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson อยู่ในวงศ์ Compositae หรือ Asteraceae ในประเทศไทยสาบเสือเป็นวัชพืชพบกระจายทั่วไปในทั่วทุกภูมิภาค ด้วยเมล็ดของสาบเสือสามารถลอยไปตามลมได้ไกลทำให้กระจายตัวได้อย่างรวดเร็ว และสาบเสือสามารถเติบโตได้ดีในพื้นที่แห้งแล้งอีกด้วย (McFadyen & Skarratt 1996; Rao et al., 2010; Mandal & Joshi, 2014) สาบเสือมีชื่อภาษาไทยหลายชื่อแตกต่างกันไปตามแหล่งที่พบ เช่น สาบเสือ (สิงห์บุรี) บ้านร้าง ผักคราด (ราชบุรี)

31-58.indd 33 11/4/16 4:33:46 PM

รำ เคย (ระนอง) เสือหมอบ (สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี) ยี่สุ่นเถื่อน (สุราษฎร์ธานี) ฯลฯ (Department of Agricultural Extension of Thailand, 1994) ดังนั้นการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาบเสือ จึงเป็นงานวิจัยที่สอดคล้องกับศักยภาพหรือการใช้ทรัพยากรของพื้นที่ โดยการนำวัชพืชที่พบอยู่ทั่วไปมาศึกษา ผลการวิจัยเมื่อนำไปพัฒนาต่ออาจก่อให้ประโยชน์ในอนาคต อีกทั้งจากการทบทวนวรรณกรรมทั้งรายงานภายในประเทศและต่างประเทศ พบว่ายังไม่มีงานวิจัยเกี่ยวกับสาบเสือเรื่องใดที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระจากทุกส่วนสกัด (ใบ ลำต้น และราก) ด้วยตัวทำละลายที่หลากหลาย ดังเช่นงานวิจัยชิ้นนี้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay, Hydroxy (OH) radical scavenging activity, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay และ FRAP (Ferric reducing/antioxidant potential) assay ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซน จากใบ ลำต้น และรากของต้นสาบเสือ

2. ศึกษาสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดหยาบด้วย เอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซน จากใบ ลำต้น และรากของต้นสาบเสือ

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การเก็บและเตรียมตัวอย่างสาบเสือ

เก็บรวบรวมต้นสาบเสือ บริเวณป่าสวนยาง ต.นาวัง อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ ในปี 2556 โดยลักษณะตัวอย่างที่เก็บ เป็นต้นสาบเสือที่เจริญเติบโตโดยสูงตั้งแต่ 100 เซนติเมตร ขึ้นไป จากนั้นทำการแยกพืชออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ลำต้น และราก หลังจากนั้นนำมาล้างเอาดินออกให้สะอาด ตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำเข้าตู้อบความร้อน (Memmert) ที่อุณหภูมิประมาณ 50° C เป็นเวลา 2 วัน จนมีน้ำหนักแห้งคงที่ จากนั้นนำพืชตัวอย่างออกจากตู้อบแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง โดยจากน้ำหนักสดของใบ ลำต้น และราก รวม 1 กิโลกรัม ภายหลังผ่านการอบแล้วเหลือน้ำหนักแห้ง 415 กรัม แล้วนำส่วน ใบ ลำต้น และ ราก ของสาบเสือที่อบแล้วไปทำให้เป็นผงละเอียดโดยนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า สำหรับส่วนของลำต้นและรากจะใช้วิธีการบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า (Wiley Mill) พืชทั้ง 3 ส่วนที่ผ่านการบดละเอียดแล้ว จะถูกนำไปทำการสกัดสารสกัดหยาบต่อด้วยวิธีการสกัดที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้ทำละลาย 4 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซน

2. การสกัดสารสกัดหยาบ

1) นำผงบดละเอียดส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ ลำต้น และราก มาชั่งด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า (Zepper EPS-302, China) ให้ได้ปริมาณ 10 กรัม จากนั้นนำไปสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่

31-58.indd 34 11/4/16 4:33:46 PM

เอทานอล (90%) เมทานอล (90%) น้ำ และเฮกเซน โดยวิธีการใช้กระบอกตวงปริมาตรตัวทำละลายแต่ละชนิดให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปผสมกับผงส่วนต่างๆ ของพืชที่ชั่งไว้แล้วในขวดแก้ว คิดเป็นความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (อัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตร)

2) ปิดฝาขวดแก้วให้สนิทและนำไปเขย่าเพื่อให้ส่วนผสมเข้ากัน ด้วยเครื่อง Orbital Shaker (Gemmy VRN-480, Taiwan) ที่ความเร็ว 150-200 รอบ/นาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เพื่อให้สารที่อยู่ในผงบดละเอียดจากส่วนต่างๆ ของพืชออกมากับตัวทำละลาย เมื่อเสร็จสิ้นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อแยกกากทิ้งไปให้ได้แต่ส่วนที่ต้องการคือส่วนของสารละลายที่ผ่านกระดาษกรองออกมา ซึ่งได้แก่สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ

3) นำสารละลายที่ผ่านการกรองไปทำการระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้ความดัน (evaporation) ด้วย Rotary evaporator (Buchi R-200, USA) โดยแบ่งสารละลายลงสู่หลอดขนาด 50 มิลลิลิตร ในปริมาตรหลอดละ 5-10 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดที่บรรจุสารละลายไปทำการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80° C ด้วย Ultra-low freezer (Coolsafe, USA) แล้วทำการระเหยแห้งต่อด้วย Dryer freezer (CoolSafe DK-3450, Denmark) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่ผ่านการระเหยแห้งเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างที่ผ่านการระเหยแห้งแล้วของส่วนสกัดต่างๆ ไปละลายใน DMSO (Dimethyl Sulfoxide, AR grade) ยกเว้นตัวอย่างที่สกัดมาจากเฮกเซนก็จะนำไปละลายในเฮกเซน เพื่อทำ Stock solution สำหรับการทดสอบด้วยวิธีต่างๆ

1) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay

ทดสอบดัดแปลงตามวิธีการที่ระบุโดย Yen & Chen (1995), Oueslati et al. (2012) และ John et al. (2015) โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.05 mM DPPH ในเอทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ตามลำดับ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (BioTek, USA) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งใส่เอทานอลแทนสารสกัด นำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซนต์การยับยั้งอนุมูล DPPH (% Radical scavenging) จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟระหว่าง % Radical scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด

คำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล DPPH จากสูตร

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

31-58.indd 35 11/4/16 4:33:46 PM

2) Hydroxyl (OH) radical scavenging activity (Tan & Lim, 2015)

วัดประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างสารสกัดเทียบกับชุดควบคุม โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นปฏิกิริยาระหว่าง Deoxyribose กับ ตัวอนุมูลอิสระ (Hydroxyl radicals) ที่เกิดจาก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 โดยปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นจะสามารถวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ผล ถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการกำจัด อนุมูลอิสระ (Hydroxyl radicals) ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลงเมื่อเทียบกับตัวที่ไม่มีสารสกัดซึ่งก็คือชุดควบคุม ผลจะรายงานผลเป็น % hydroxyl radicals inhibition ซึ่งทำการคำนวณดังนี้

$$\% \text{ hydroxyl radicals inhibition} = 100 \times [(A_0 - A_s)/ A_0)]$$

โดยที่ A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม ส่วน A_s คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากตัวอย่าง

การทดสอบทำโดยการเติมสารละลายต่างๆ ลงใน tube พลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร ดังนี้ 100 mM KH_2PO_4/KOH buffer pH 7.4 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 16.8 mM Deoxyribose ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, สารสกัดจากตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 500 uM $FeCl_3$ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 1.2 mM EDTA ปริมาตร 100 ไมโครลิตร, และ 1 mM Ascorbic acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติม 10 mM H_2O_2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลงไปใน Tube แล้วบ่มสารผสมทั้งหมดที่อยู่ใน Tube ที่อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย 1% Thiobarbituric acid (TBA) และ 1.4% Trichloroacetic acid (TCA) ลงไปใน Tube อย่างละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มสารผสมที่อยู่ใน tube ที่อุณหภูมิ 90° C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นและนำไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (BioTek, USA)

3) ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay

วัดความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 37° C ของ สาร Peroxyl radical ซึ่งถูกกระตุ้นโดย สาร 2,2´-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) โดยใช้ Fluorescein wavelength ที่ 485 nm excitation ที่ 540 nm emission (Ma et al., 2011; Oueslati et al., 2012) และรายงานผลเป็นปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ (μmol of Trolox equivalent per gram) จากตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับตัว Standard (Trolox) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบทำโดยการเจือจาง Standard 1000 μM Trolox ด้วย ORAC working buffer solution ให้ได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5 และ 6.125 μM จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่าง สารมาตรฐาน (Trolox) และ Blank (ORAC working buffer solution) ปริมาตร 25 μl/well ของ 96 well plate แล้วเติม Fluorescein working solution 150 μl/well ของ 96 well plate ทำการบ่มที่ 37° C เป็นเวลา

31-58.indd 36 11/4/16 4:33:47 PM

30 นาที แล้วทำการเติม AAPH 25 µl/well ของ 96 well plate และทำการวัดด้วย Fluorescein microplate reader (CLARIOstar, BMG Labtech, Germany) ทันที

4) FRAP (Ferric reducing/antioxidant potential) Assay

FRAP เป็นวิธีการหนึ่งในการตรวจหาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ จากตัวอย่าง โดยดูประสิทธิภาพของตัวอย่างในการ Reduce ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex (สีเหลือง) ไปเป็น Ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) (สีน้ำเงิน) การเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นจะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร (Sowndhararajan & Kang, 2013; Sati et al., 2013; Kenny et al., 2014) ทำการทดสอบโดยการเติมสารละลาย FRAP reagent ลงใน 96 well plate ปริมาตร 150 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารสกัดจากตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (BioTek, USA)

4. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัด

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method (Maksimovic; 2008) โดยนำสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร มาเติมน้ำกลั่นจนครบ 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin Ciocalteu reagent (ประกอบด้วย 10% (w/v) Sodium tungstate และ 0.002% (w/v) Phosphomolybdic acid) ปริมาตร 125 ไมโครลิตร หลังจากวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที เติม 7% Na_2CO_3 1.25 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 90 นาทีที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดสี จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร เทียบกับ Blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดหาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลาย Gallic acid ความเข้มข้น 20-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Krishnaiah et al., 2011)

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษานี้มีแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) จึงใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (Analysis of variance; ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง และเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference) เมื่อข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองมีการแจกแจงแบบปกติ และความแปรปรวนไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติจะใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 18.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

31-58.indd 37 11/4/16 4:33:47 PM

ผลการวิจัย

1. ปริมาณผลผลิตที่ได้ (% yield) ของสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และราก ของต้นสาบเสือ

ปริมาณผลผลิตที่ได้ (% yield) ของสารสกัดหยาบจาก ใบ ลำต้น และราก ของต้นสาบเสือมีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) โดยปริมาณ % yield เป็นไปตามลำดับคือ ใบ >ราก>ลำต้น ในทุกตัวทำละลาย เมื่อสกัดตัวอย่างแห้งส่วนใบและรากของต้นสาบเสือด้วยน้ำจะให้ % yield สูงสุด (12.16% และ 5.87% ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น มีข้อสังเกตว่าปริมาณ % yield สูงสุดของสารสกัดหยาบจากใบของต้นสาบเสือที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำนั้น (12.16%) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณ % yield ของใบต้นสาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอล (10.45%) ($p>0.05$) รายละเอียดตามตารางที่ 1 [หมายเหตุ: ผลการทดลองส่วนนี้อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากลำต้นและรากของต้นสาบเสือ โดยโครงการย่อยของแผนงานได้เผยแพร่ไปแล้วโดย Hanphakphoom et al. (2016)

ตารางที่ 1 ปริมาณผลผลิตที่ได้ (% yield) ของสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากของต้นสาบเสือ เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

ส่วนของพืชที่สกัด	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (% yield) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$8.42 \pm 1.15^{a,1}$	$10.45 \pm 0.12^{b,1}$	$12.16 \pm 1.34^{b,1}$	$2.37 \pm 0.21^{c,1}$
ลำต้น	$1.88 \pm 0.04^{a,2}$	$2.99 \pm 0.09^{b,2}$	$2.49 \pm 0.57^{b,2}$	$0.28 \pm 0.09^{c,2}$
ราก	$3.99 \pm 0.15^{a,3}$	$4.34 \pm 0.68^{a,2}$	$5.87 \pm 0.63^{b,3}$	$0.46 \pm 0.23^{c,2}$

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

31-58.indd 38 11/4/16 4:33:47 PM

2. ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ

2.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1picrylhydrazyl) assay

สารสกัดหยาบจากทุกส่วน (ใบ ลำต้น และราก) ในทุกตัวทำละลาย มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตามความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ แต่มีเปอร์เซ็นต์ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไป สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่ความเข้มข้น 25 มก./มล. มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์จากสูงไปต่ำ ดังนี้ เอทานอล>เมทานอล>น้ำ>เฮกเซน ตามลำดับ ($p<0.05$) เฉพาะสารสกัดจากใบและรากที่ความเข้มข้น 25 มก./มล. พบว่า เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) นอกจากนั้น พบว่า สารสกัดจากส่วนใบมีเปอร์เซนต์การกำจัดอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของรากและลำต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกันและที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

31-58.indd 39 11/4/16 4:33:47 PM

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เป็น % radical scavenging ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ต้นสาบเสือ ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, และ 25 มก./มล. ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ติดตามโดยวิธี DPPH assay

ส่วนของพืชที่สกัด	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มก./มล.)	% radical scavenging ตัวทำละลาย			
		เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	0.5	$32.58 \pm 1.40^{a,1,A}$	$22.90 \pm 2.14^{a,2,A}$	$30.65 \pm 0.63^{a,1,A}$	$4.78 \pm 0.33^{a,3,A}$
	1	$36.33 \pm 0.47^{b,1,A}$	$36.67 \pm 1.38^{b,1,A}$	$32.44 \pm 0.44^{a,2,A}$	$8.89 \pm 0.47^{b,3,A}$
	5	$59.93 \pm 0.45^{c,1,A}$	$63.82 \pm 1.96^{c,2,A}$	$36.33 \pm 1.06^{b,3,A}$	$19.49 \pm 0.89^{c,4,A}$
	10	$69.37 \pm 0.9^{1d,1,A}$	$81.30 \pm 1.43^{d,2,A}$	$51.76 \pm 1.16^{c,3,A}$	$30.77 \pm 2.39^{d,4,A}$
	25	$91.30 \pm 0.82^{e,1,A}$	$90.00 \pm 0.14^{e,1,A}$	$69.95 \pm 1.94^{d,2,A}$	$53.60 \pm 1.52^{e,3,A}$
ลำต้น	0.5	$13.28 \pm 0.12^{a,1,B}$	$12.86 \pm 0.36^{a,1,B}$	$10.69 \pm 0.09^{a,2,B}$	$8.98 \pm 0.31^{a,3,B}$
	1	$15.61 \pm 0.09^{b,1,B}$	$13.97 \pm 0.16^{b,2,B}$	$10.72 \pm 0.08^{a,3,B}$	$10.60 \pm 0.05^{b,3,B}$
	5	$20.93 \pm 0.30^{c,1,B}$	$18.36 \pm 0.24^{c,2,B}$	$15.89 \pm 0.12^{b,3,B}$	$15.35 \pm 0.16^{c,3,B}$
	10	$33.10 \pm 0.16^{d,1,B}$	$35.08 \pm 0.42^{d,2,B}$	$29.97 \pm 0.05^{c,3,B}$	$22.34 \pm 0.30^{d,4,B}$
	25	$62.17 \pm 0.80^{e,1,B}$	$60.16 \pm 0.14^{e,2,B}$	$49.44 \pm 0.14^{d,3,B}$	$27.24 \pm 0.16^{e,4,B}$
ราก	0.5	$18.71 \pm 2.39^{a,1,C}$	$17.33 \pm 2.31^{a,1,C}$	$8.42 \pm 0.43^{a,2,C}$	$1.92 \pm 3.88^{a,3,C}$
	1	$26.72 \pm 0.30^{b,1,C}$	$26.47 \pm 1.30^{b,1,C}$	$16.93 \pm 0.61^{b,2,C}$	$6.28 \pm 0.23^{b,3,C}$
	5	$40.60 \pm 1.78^{c,1,C}$	$51.24 \pm 0.61^{c,2,C}$	$31.61 \pm 0.43^{c,3,C}$	$12.68 \pm 1.29^{c,4,C}$
	10	$56.44 \pm 0.22^{d,1,C}$	$68.48 \pm 1.80^{d,2,C}$	$47.36 \pm 0.18^{d,3,C}$	$25.93 \pm 0.41^{d,4,C}$
	25	$84.31 \pm 1.81^{e,1,C}$	$86.03 \pm 0.57^{e,1,C}$	$65.40 \pm 1.55^{e,2,C}$	$39.17 \pm 0.51^{e,3,C}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ของแต่ละส่วนสกัด (จากใบ ลำต้น และราก) แสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของตัวทำละลายแต่ละชนิด และตัวเลขแตกต่างกันในแต่ละแถวแสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ในส่วนสกัดจากพืชประเภทเดียวกันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

3) อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันระหว่างสดมภ์ระหว่างส่วนสกัดต่างๆ (จากใบ ลำต้น และราก) ของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างส่วนสกัดต่างๆ (จากใบ ลำต้น และราก) ด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

31-58.indd 40 11/4/16 4:33:47 PM

ค่า IC_{50} (มก./มล.) ที่ดีที่สุดที่ได้จากวิธี DPPH Assay นี้ คือ ค่า IC_{50} ที่ได้จากสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นสาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอล (4.6 มก./มล.) แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบด้วยเมทานอล ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารสกัดจากส่วนใบด้วยเอทานอล (4.8 มก./มล.) ($p>0.05$) (ตารางที่ 3)

ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ Trolox^{tm} แสดงผลการทดลองด้วยค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ค่า TEAC ของสารสกัดที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นไปตามลำดับคือ ใบ>ราก>ลำต้น ($p<0.05$) ในทุกตัวทำละลาย โดยค่า TEAC สูงสุดของสารสกัดหยาบจากใบสกัดด้วยเมทานอล (2.4 มิลลิโมล/กรัม ของสารสกัด) นั้น พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับค่า TEAC ของสารสกัดหยาบจากใบสกัดด้วยเอทานอล (2.3 มิลลิโมล/กรัม ของสารสกัด) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ติดตามโดยวิธี DPPH assay

ส่วนของพืชที่สกัด	IC_{50} (มก./มล.) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$4.8 \pm 0.2^{a,1}$	$4.6 \pm 0.4^{a,1}$	$11.9 \pm 0.3^{b,1}$	$22.1 \pm 0.4^{c,1}$
ลำต้น	$18.9 \pm 0.3^{a,2}$	$19.4 \pm 0.0^{a,2}$	$24.7 \pm 0.1^{b,2}$	$54.0 \pm 0.5^{c,2}$
ราก	$10.1 \pm 0.0^{a,3}$	$8.3 \pm 0.1^{b,3}$	$15.7 \pm 0.4^{c,3}$	$30.7 \pm 0.9^{d,3}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

31-58.indd 41 11/4/16 4:33:47 PM

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Troloxtm ติดตามโดยวิธี DPPH assay

ส่วนของพืชที่สกัด	TEAC (มิลลิโมล/กรัม ของสารสกัด) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$2.3 \pm 0.0^{a,1}$	$2.4 \pm 0.1^{a,1}$	$2.0 \pm 0.0^{b,1}$	$0.5 \pm 0.0^{c,1}$
ลำต้น	$0.3 \pm 0.0^{a,2}$	$0.2 \pm 0.0^{b,2}$	$0.1 \pm 0.0^{c,2}$	$0.0 \pm 0.0^{d,2}$
ราก	$1.2 \pm 0.0^{a,3}$	$1.1 \pm 0.1^{a,3}$	0.8 ± 0.0b,3	$0.3 \pm 0.0^{c,3}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

2.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของ ต้นสาบเสือ โดยวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

สารสกัดหยาบจากทุกส่วนของพืช ในทุกตัวทำละลาย มีความสามารถในการกำจัด Hydroxyl radical และความสามารถในการกำจัดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตามความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ แต่มีเปอร์เซ็นต์ในการกำจัด Hydroxyl radical ที่แตกต่างกันไป สารสกัดหยาบจากทุกส่วนของต้นสาบเสือที่ความเข้มข้น 100 มก./มล. พบเปอร์เซนต์การกำจัด Hydroxyl radical จากสูงไปต่ำดังนี้ เอทานอล>เมทานอล>น้ำ>เฮกเซน ($p<0.05$) ตามลำดับ สารสกัดจากส่วนใบมีเปอร์เซนต์การกำจัด Hydroxyl radical มากกว่าสารสกัดจากส่วนของรากและลำต้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกันและที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

31-58.indd 42 11/4/16 4:33:47 PM

ตารางที่ 5 % hydroxyl radicals inhibition ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือที่ความเข้มข้น 1, 10, 25, 50, และ 100 มก./มล. ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ติดตามโดยวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

ส่วนของพืชที่สกัด	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มก./มล.)	% hydroxyl radicals inhibition ตัวทำละลาย			
		เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	1	$45.86 \pm 0.46^{a,1,A}$	$41.70 \pm 2.44^{a,2,A}$	$28.42 \pm 0.68^{a,3,A}$	$7.07 \pm 0.56^{a,4,A}$
	10	$79.15 \pm 0.41^{b,1,A}$	$57.69 \pm 2.31^{b,2,A}$	$51.61 \pm 0.23^{b,3,A}$	$36.63 \pm 0.12^{b,4,A}$
	25	$91.37 \pm 0.58^{c,1,A}$	$77.78 \pm 1.28^{c,2,A}$	$62.63 \pm 0.37^{c,3,A}$	$44.72 \pm 0^{.09c,4,A}$
	50	$95.00 \pm 0.37^{d,1,A}$	$92.52 \pm 0.75^{d,2,A}$	$75.73 \pm 0.35^{d,3,A}$	$52.12 \pm 0.12^{d,4,A}$
	100	$97.21 \pm 0.63^{e,1,A}$	$91.94 \pm 1.15^{d,2,A}$	$87.56 \pm 0.70^{e,3,A}$	$64.90 \pm 0.0^{5e,4,A}$
ลำต้น	1	$17.50 \pm 0.49^{a,1,B}$	$13.45 \pm 0.21^{a,2,B}$	$12.66 \pm 0.35^{a,2,B}$	$12.41 \pm 0.99^{a,2,B}$
	10	$34.40 \pm 0.70^{b,1,B}$	$31.84 \pm 0.74^{b,2,B}$	$27.02 \pm 0.31^{b,3,B}$	$21.22 \pm 0.24^{b,4,B}$
	25	$50.09 \pm 0.82^{c,1,B}$	$40.13 \pm 1.65^{c,2,B}$	$45.15 \pm 0.31^{c,3,B}$	$33.84 \pm 0.61^{c,4,B}$
	50	$72.30 \pm 0.95^{d,1,B}$	$71.00 \pm 0.21^{d,2,B}$	$57.47 \pm 0.77^{d,3,B}$	$45.85 \pm 0.20^{d,4,B}$
	100	$81.33 \pm 0.53^{e,1,B}$	$78.49 \pm 0.37^{e,2,B}$	$75.25 \pm 0.13^{e,3,B}$	$54.74 \pm 0.37^{e,4,B}$
ราก	1	$35.68 \pm 0.44^{a,1,C}$	$34.24 \pm 0.51^{a,2,C}$	$28.30 \pm 1.07^{a,3,A}$	$13.74 \pm 0.56^{a,4,B}$
	10	$53.00 \pm 0.46^{b,1,C}$	$49.15 \pm 0.52^{b,2,C}$	$45.29 \pm 0.79^{b,3,C}$	$28.10 \pm 0.04^{b,4,C}$
	25	$69.93 \pm 0.30^{c,1,C}$	$61.67 \pm 0.40^{c,2,C}$	$61.71 \pm 0.92^{c,2,A}$	$36.75 \pm 0.16^{c,3,C}$
	50	$87.63 \pm 1.26^{d,1,C}$	$78.96 \pm 0.56^{d,2,C}$	$69.16 \pm 0.58^{d,3,C}$	$48.00 \pm 0.18^{d,4,C}$
	100	$91.90 \pm 0.47^{e,1,C}$	$87.14 \pm 0.57^{e,2,C}$	$78.77 \pm 0.49^{e,3,C}$	$57.83 \pm 0.24^{e,4,C}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ของแต่ละส่วนสกัด (จากใบ ลำต้น และราก) แสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของตัวทำละลายแต่ละชนิด และตัวเลขแตกต่างกันในแต่ละแถวแสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างตัวทำลายชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ในส่วนสกัดจากพืชประเภทเดียวกันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

3) อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันระหว่างสดมภ์ระหว่างส่วนสกัดต่างๆ (ใบ, ลำต้น, และราก) ของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างส่วนสกัดต่างๆ (ใบ ลำต้น และราก) ด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

31-58.indd 43 11/4/16 4:33:47 PM

ค่า IC_{50} ที่ดีที่สุดที่ได้จากวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity นี้ คือ ค่าที่ได้จากสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล (1.1 มก./มล.) (ตารางที่ 6) ค่า TEAC ของสารสกัดที่ได้ จากการวิเคราะห์เป็นไปตามลำดับคือ ใบ>ราก>ลำต้น ($p<0.05$) ในทุกตัวทำละลาย โดยค่า TEAC สูงสุดที่ได้มาจากของสารสกัดหยาบจากใบสกัดด้วยเอทานอล (269 ไมโครโมล/กรัม ของสารสกัด) ($p>0.05$) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ติดตาม โดยวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

ส่วนของพืชที่สกัด	IC_{50} (มก./มล.) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$1.1 \pm 0.0^{a,1}$	$2.6 \pm 0.4^{b,1}$	$6.8 \pm 0.1^{c,1}$	$34.6 \pm 0.1^{d,1}$
ลำต้น	$15.3 \pm 0.2^{a,2}$	$20.5 \pm 0.7^{b,2}$	$27.1 \pm 0.5^{c,2}$	$98.4 \pm 1.2^{d,2}$
ราก	$4.2 \pm 0.1^{a,3}$	$5.8 \pm 0.1^{b,3}$	$9.1 \pm 0.4^{c,3}$	$67.4 \pm 1.0^{d,3}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพในการกำจัด Hydroxyl radical ด้วยค่า TEAC ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox^{tm} ติดตาม โดยวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

ส่วนของพืชที่สกัด	TEAC (ไมโครโมล/กรัม ของสารสกัด) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$269 \pm 4.1^{a,1}$	$253 \pm 3.6^{b,1}$	$119 \pm 5.9^{c,1}$	$3 \pm 0.3^{d,1}$
ลำต้น	$150 \pm 3.6^{a,2}$	$121 \pm 1.5^{b,2}$	$11 \pm 0.3^{c,2}$	$1 \pm 0.1^{d,2}$
ราก	$183 \pm 3.8^{a,3}$	$162 \pm 4.6^{b,3}$	$109 \pm 9.6^{c,1}$	$1 \pm 0.1^{d,2}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

31-58.indd 44 11/4/16 4:33:47 PM

2.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้น สาบเสือ โดยวิธี ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay

จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูล Peroxyl แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 8) ค่า TEAC ของสารสกัดที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นไปตามลำดับคือ ใบ>ราก>ลำต้น ($p<0.05$) ในทุกตัวทำละลาย และจากค่า TEAC พบว่า ใบของสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอล (111 ไมโครโมล/กรัม ของสารสกัด) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้ง อนุมูล Peroxyl ($p<0.05$)

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ Peroxyl ด้วยค่า TEAC ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox^{tm} ติดตามโดยวิธี ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay

ส่วนของพืชที่สกัด	TEAC (ไมโครโมล/กรัม ของสารสกัด) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$111 \pm 3.3^{a,1}$	$89 \pm 1.4^{b,1}$	$73 \pm 0.9^{c,1}$	$14 \pm 1.3^{d,1}$
ลำต้น	$17 \pm 1.1^{a,2}$	$13 \pm 2.0^{a,2}$	$10 \pm 0.8^{b,2}$	$5.0 \pm 0.6^{c,2}$
ราก	$32 \pm 0.3^{a,3}$	$29 \pm 1.0^{b,3}$	$21 \pm 0.8^{c,3}$	$11 \pm 4.6^{d,1}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

2.4 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ จากส่วนต่างๆ ของ ต้นสาบเสือ โดยวิธี FRAP (Ferric reducing/antioxidant potential) assay

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 9) ค่า TEAC ของสารสกัดที่ได้จากการวิเคราะห์เป็นไปตามลำดับคือ ใบ>ราก>ลำต้น ($p<0.05$) ในทุกตัวทำละลาย นอกจากนั้นพบว่า สารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} โดยค่า TEAC ของสารสกัดหยาบของแต่ละส่วนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยค่า TEAC สูงสุดจากวิธีนี้ของสารสกัดหยาบจากใบ ราก และลำต้น ของต้นสาบเสือ มีค่าเท่ากับ 7.2, 3.0, และ 1.7 มิลลิโมล/กรัม ของสารสกัด ตามลำดับ

31-58.indd 45 11/4/16 4:33:47 PM

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยค่า TEAC ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ ด้วยตัวทำละลายต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox^{tm} ติดตามโดยวิธี FRAP (Ferric reducing/antioxidant potential) Assay

ส่วนของพืชที่สกัด	TEAC (มิลลิโมล/กรัม ของสารสกัด) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$7.2 \pm 0.0^{a,1}$	$7.1 \pm 0.1^{a,1}$	$6.1 \pm 0.2^{b,1}$	$0.1 \pm 0.0^{c,1}$
ลำต้น	$1.6 \pm 0.0^{a,2}$	$1.7 \pm 0.1^{a,2}$	$0.7 \pm 0.0^{b,2}$	$0.4 \pm 0.0^{c,2}$
ราก	$3.0 \pm 0.1^{a,3}$	$3.0 \pm 0.0^{a,3}$	$0.8 \pm 0.0^{b,3}$	$0.4 \pm 0.0^{c,2}$

หมายเหตุ 1) ข้อมูลแสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

3. ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบ

ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสารสกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (12.1, 8.3, และ 11.2 มก. GAE/มก. ของสารสกัด ตามลำดับ) รองลงมาคือปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดด้วยเมทานอล น้ำ และ เฮกเซน ตามลำดับ ($p<0.05$) สำหรับสารสกัดจากใบด้วยเอทานอลและเมทานอล พบว่าให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 10)

เมื่อพิจารณาดูส่วนต่างๆ ของพืชที่ใช้สกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกัน พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสารสกัดจากใบจะให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดในทุกตัวทำละลาย ($p<0.05$) (12.1, 12.0, 9.3, และ 0.1 มก. GAE/มก. ของสารสกัด เมื่อสกัดด้วยเอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซน ตามลำดับ) รองลงมาคือปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากรากในทุกตัวทำละลาย (ตารางที่ 10)

31-58.indd 46 11/4/16 4:33:48 PM

ตารางที่ 10 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นสาบเสือ เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

ส่วนของพืชที่สกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (มก. GAE/มก. ของสารสกัด) ตัวทำละลาย			
	เอทานอล	เมทานอล	น้ำ	เฮกเซน
ใบ	$12.1 \pm 0.1^{a,1}$	$12.0. \pm 0.2^{a,1}$	$9.3 \pm 0.2^{b,1}$	$0.1 \pm 0.0^{c,1}$
ลำต้น	$8.3 \pm 0.3^{a,2}$	$5.3 \pm 0.6^{b,2}$	$1.0 \pm 0.0^{c,2}$	$0.0 \pm 0.0^{d,2}$
ราก	$11.2 \pm 0.2^{a,3}$	$10.5 \pm 0.3^{b,3}$	$8.6 \pm 0.2^{c,3}$	$0.1 \pm 0.0^{d,3}$

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) อักษรภาษาอังกฤษแต่ละแถวและตัวเลขแต่ละสดมภ์ที่แตกต่างกันแสดงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วยวิธี LSD

3) GAE = Gallic acid equivalent

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างแห้งของต้นสาบเสือ *(C. odorata)* โดยแยกเป็น ใบ ลำต้น และราก ด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล น้ำ และเฮกเซน พบว่า ปริมาณ % yield สูงสุดของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของสาบเสือ ส่วนใหญ่มาจากการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งสัมพันธ์กับงานวิจัยของ Sowndhararajan & Kang (2013) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของพืชสกุลชงโคชนิดหนึ่ง *(Bauhinia vahilii)* เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และพบว่าเมื่อสกัดส่วนของใบด้วยน้ำจะให้ปริมาณ % yield สูงสุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ทั้งนี้ได้ให้คำอธิบายไว้ว่า ปริมาณ % yield มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความแรงของขั้วของตัวทำละลาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้น้ำมีความแรงของขั้วสูงสุดจึงให้ปริมาณ % yield สูงสุด เช่นเดียวกันกับ Vidović et al. (2014) ศึกษากระบวนการก่อนการสกัดที่มีอิทธิพลต่อการเพิ่ม Yield โครงสร้างทางเคมี กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ *Satureja montana* โดยใช้วิธี Supercritical carbon dioxide พบว่า การใช้น้ำช่วยในขั้นตอนก่อนการสกัดเพิ่มปริมาณ % yield สูงสุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ

ในส่วนของการศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากของต้นสาบเสือ *(C. odorata)* ด้วยวิธีต่างๆ เริ่มจากการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม ด้วยวิธี DPPH (2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay เนื่องจากอนุมูล $DPPH^{\circ}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล การวิเคราะห์

31-58.indd 47 11/4/16 4:33:48 PM

เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านออกซิเดชั่นลงไป DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (Sacavenging activity) (Mohd-Esa et al., 2010; Liu et al., 2011; Ma et al., 2011; Oueslati et al., 2012; Boudjou et al., 2013) ผลการทดลองจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ เช่น Mohd-Esa et al. (2010) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกระเจี๊ยบ *(Hibiscus sabdariffa)* ด้วยน้ำและเมทานอลด้วยวิธีต่างๆ Liu et al. (2011) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากไหมข้าวโพดด้วยเอทานอลด้วยวิธีต่างๆ เช่นกัน รวมถึงงานวิจัยอื่น (Albayrak et al., 2010; Rao et al., 2010) โดยในส่วนของ DPPH assay นั้น ทุกงานวิจัยที่กล่าวมา รวมถึงงานวิจัยนี้ มีผลการทดลองในลักษณะเดียวกันคือ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระยิ่งสูง ค่า IC_{50} ที่ได้จะยิ่งต่ำ แม้ว่าวิธีนี้จะเป็นที่นิยมเนื่องจากความสะดวกของการประยุกต์ใช้ในงานวิจัยลักษณะนี้ แต่การเปรียบเทียบค่า IC_{50} หรือค่าอื่นๆ ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีนี้ระหว่างงานวิจัยไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากความแตกต่างในเรื่อง ความเข้มข้นของ DPPH ที่ใช้กันในแต่ละงานวิจัย ระยะเวลาบ่มของสาร ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และค่า pH เป็นต้น (Tan & Lim, 2015)

Hydroxy radical (OH°) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายสิ่งมีชีวิต อนุมูลไฮดรอกซิลอาจเข้าร่วมตัวกับนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอแล้วทำให้เกลียวแตกออก มีส่วนทำให้เกิดมะเร็ง การกลายพันธุ์ และความเป็นพิษต่อเซลล์ (Rao et al., 2010) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH° radical โดยกลไก 2 กลไก (Soontornnon, 2008) ได้แก่

a. ปฏิกิริยาของไอออนโลหะทรานซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แม้ว่าเกลือของโลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ OH° แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ OH° โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction ดังสมการ

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\circ} + OH^{-} \text{ (Fenton reaction)}$$

b. การแตกตัวของน้ำ เนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ

$$H_2O_2 + hv \longrightarrow H_2O^{+\circ} + e^{-}$$

$$H_2O^{+\circ} + H_2O_2 \longrightarrow OH^{-} + H_3O^{+}$$

31-58.indd 48 11/4/16 4:33:48 PM

การกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้นจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิตที่จะป้องกันระบบเซลล์ (Govindan & Muthukrishnan, 2013) หรือกลไกสำคัญภายในสิ่งมีชีวิตไว้ (Sowndhararajan & Kang, 2013) Hydroxyl (OH) radical scavenging activity เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากพืช ผัก และผลไม้ ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยมากมาย (Huang et al., 2011; Nusaiba & Murugan, 2013; Juárez-Reyes et al., 2015; Tan & Lim, 2015) ผลการทดลองในส่วนของวิธีนี้พบว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ เช่น Govindan & Muthukrishnan (2013) ที่ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ ของสารสกัดจากผักโขมหิน *(Boerhavia erecta)* ด้วยตัวทำละลายหลายชนิด Sowndhararajan & Kang (2013) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระหลากหลายวิธีจากใบของพืชสกุลชงโคชนิดหนึ่ง *(Bauhinia vahilii)* เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และงานอื่น (Rao et al., 2010) โดยผลการวิจัยในส่วนของการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลนั้นทุกงานวิจัยที่กล่าวมารวมถึงงานวิจัยนี้ต่างก็พบว่า ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลยิ่งสูง ค่า IC_{50} ที่ได้จะยิ่งต่ำ จากการทบทวนวรรณกรรมไม่พบว่ามีการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดสอบวิธีนี้กับงานวิจัยอื่นๆ อาจด้วยเหตุผลในลักษณะทำนองเดียวกับของ DPPH assay (Tan & Lim, 2015) ที่ได้กล่าวไปแล้ว

สำหรับ ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay ใช้วัดความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น และรากของต้นสาบเสือ *(C. odorata)* ในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 37^{O} C ของสาร Peroxyl radical ซึ่งถูกกระตุ้นโดย สาร 2,2´-azobis-(2amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) โดยใช้ Fluorescein wavelength ที่ 485 nm excitation และ ที่ 540 nm emission โดยทำการเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ วิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมวิธีหนึ่งในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช ผัก และผลไม้ ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยมากมาย (Ma et al., 2011; Oueslati et al., 2012; Wang et al., 2012; Boudjou et al., 2013; Malta et al., 2013) ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งกลุ่มที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ (Schaich et al., 2015) จากการวิจัยนี้ ใบของสาบเสือที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งอนุมูล Peroxyl (111 ไมโครโมล TEAC/กรัม ของสารสกัด) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลการวิจัยในส่วนของวิธีการนี้กับงานวิจัยอื่นๆ ที่ใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เทียบเคียงตัวเดียวกันคือ Trolox และรายงานผลในหน่วยเดียวกัน พบรายงานของ Malta et al. (2013) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ และหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากผลไม้สุกของบราซิล 3 ชนิด คือ Gabiroba (*Campomanesia cambessedeana* Berg), Murici (*Byrsonoma verbascifolia* Rich) และ Guapeva *(Pouteria guardneriana Radlk)* โดยในส่วนของ ORAC assay พบว่า Gabiroba ให้ค่าสูงสุดในบรรดาผลไม้ที่นำมาทดสอบ (8027.5 ไมโครโมล TEAC/100 กรัม ของสารสกัด) ซึ่งน้อยกว่าใบของสาบเสือจากงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าสาบเสือเป็นวัชพืชที่น่าสนใจ เพราะมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล Peroxyl ได้ดีกว่าผลไม้บางชนิดตามรายงานก่อนหน้านี้

31-58.indd 49 11/4/16 4:33:48 PM

สุดท้าย FRAP (Ferric reducing/antioxidant potential) assay เป็นวิธีการหนึ่งในการตรวจหาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยดูประสิทธิภาพของตัวอย่างในการ Reduce ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex (สีเหลือง) ไปเป็น Ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) (สีน้ำเงิน) FRAP assay เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช ผัก และผลไม้ ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยมากมาย (Maksimovi, 2008; Rawat et al., 2011; Ma et al., 2011; Sowndhararajan & Kang, 2013; Sati et al., 2013; Kenny et al., 2014; Nwaehujor et al., 2014) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดใบสาบเสือมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ ซึ่งการที่สารสกัดใบสาบเสือแสดงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้สูงสุดน่าจะสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในส่วนใบสูงสุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ เช่นกัน ซึ่งก็ตรงกับที่ Govindan & Muthukrishnan (2013) อธิบายว่า คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด เช่นเดียวกับ Du et al. (2014) ที่ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ และศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ของสารสกัดผลมิราเคิล (Miracle berry) ซึ่งเป็นผลไม้พื้นเมืองของประเทศกานา ในส่วนวิธี FRAP assay พบว่าผลมิราเคิลให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมล็ด โดยอธิบายว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสะสูงนั้นมาจากปริมาณฟีนอลิกรวมที่สูงกว่า และสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไปทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมีผลให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ที่จะเกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง ซึ่งตรงกับงานวิจัยอื่นๆ (Andarwulan et al., 2010, Sowndhararajan & Kang, 2013) ที่ให้ข้อสรุปในลักษณะนี้เช่นเดียวกัน

ผลการวิจัยจากการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระทั้งสี่วิธีเป็นไปในแนวทางเดียวกันโดยแสดงให้เห็นว่าใบของต้นสาบเสือ โดยเฉพาะที่สกัดด้วยเอทานอล แสดงการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ (ลำต้นและราก) และเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ (Boudjou et al., 2013) การที่ใบของต้นสาบเสือแสดงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ได้ดีที่สุด อาจจะเนื่องมาจากการที่ใบมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ โดยทั่วไปปริมาณฟีนอลิกรวมจะเป็นตัวบ่งชี้ได้ถึงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืช (Lie et al., 2008; Govindan & Muthukrishnan, 2013) Ma et al. (2011) ก็รายงานว่าปริมาณฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืช สารประกอบฟีโนลิกหรือสารประกอบฟีนอลรวมเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป โดยเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีสารประกอบภายในกลุ่มมากกว่า 8,000 ชนิด สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ กลุ่มแรกคือกลุ่มที่มีหมู่ฟีนอลหนึ่งกลุ่มเป็นกลุ่มที่มีโครงสร้างง่ายๆ (มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่) กลุ่มที่สอง จะเป็นกลุ่มที่มีหมู่ฟีนอลมากกว่าหนึ่งกลุ่ม (Tan & Lim, 2015) สารนี้สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) และพบได้บริเวณของช่องว่างภายในเซลล์ (Cell vacuole) (Soontornnon, 2008) สารประกอบฟีโนลิกหรือสารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะ เป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) (Ma et al., 2011) นอกจากนั้นยังมีสารอื่นๆ เช่น Simple phenol, Phenyl

propanoid, Phenolic quinine และ Polyphenolic ซึ่งได้แก่พวก Lignin, Tannin เป็นต้น และยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น (Sowndhararajan & Kang, 2013) สารประกอบฟีโนลิกหรือสารประกอบฟีนอลรวมหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และแทนนิน เป็นต้น (Chung et al., 1998) นอกจากรายงานเรื่องคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีโนลิกมีคุณสมบัติ ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านการเกิดภูมิแพ้ และสามารถกระตุ้นการเกิดภูมิคุ้มกันได้ (Tan & Lim, 2015) สารประกอบฟีโนลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูล Peroxyl (Packer et al., 1999) โดยมีกลไก 2 แบบ คือเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีโนลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีโนลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (Quercetin) สารประกอบฟีโนลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอน หรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีพด้วย หน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans & Miller, 1997; Soontornnon, 2008) งานวิจัยสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษาจากสารสกัดพืชจึงมักจะต้องทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมหรือสารประกอบฟีนอลรวมเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเสมอ (Kumbhare et al., 2012; Liu et al., 2011; Rawat et al., 2011; Wang et al., 2012; Boudjou et al., 2013; Gharibi et al., 2013; Malta et al., 2013; Benayad et al., 2014; Forville de Andrade et al., 2014; Skotti et al., 2014; Tan & Lim, 2015)

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากใบของต้นสาบเสือ *(C. odorata)* ด้วยเอทานอลแสดงคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ (ลำต้นและราก) ของต้นและเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ ยืนยันด้วยผลการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระหลายๆ วิธีที่ยืนยันผลตรงกันในการศึกษาครั้งนี้ และการที่ใบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอาจเป็นเพราะว่าใบมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด

31-58.indd 51 11/4/16 4:33:48 PM

References

Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O. & Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry,* 119 (1), 114-122.

Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B. & Wijaya, N. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry,* 121 (4), 1231-1235.

Benayad, Z., Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez-Cordoves, C. & Es-Safi, N.E. (2014). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan Opuntia ficus-indica flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products,* 62, 412-420.

Boudjou, S., Oomah, B.D., Zaidi, F. & Hosseinian, F. (2013). Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chemistry,* 138 (2-3), 1543-1550.

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. & Akpulat, H.A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. millefolium Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology,* 87 (2-3), 215-220.

Chung, K.T., Wong, T.Y., Huang, Y.W. & Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 38, 421-464.

Department of Agricultural Extension of Thailand. (1994). *Herbal folk to prevention and elimination of pesticides.* (in Thai)

Du, L., Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W. & Xu, Z. (2014). Antioxidant-rich phytochemicals in miracle berry *(Synsepalum dulcificum)* and antioxidant activity of its extracts. *Food Chemistry,* 153, 279-284.

Erdemoglu, N., Turan, N.N., Akkol, E.K., Sener, B. & Abacıoglu, N. (2009). Estimation of antiinflammatory, antinociceptive and antioxidant activities on *Arctium minus* (Hill) Bernh.ssp. Minus. *Journal of Ethnopharmacology,* 121 (2), 318-323.

31-58.indd 52 11/4/16 4:33:48 PM

Forville de Andrade, E., Leone, R.S., Ellendersen, L.N. & Masson, M.L. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon *(Smallanthus sonchifolius). Industrial Crops and Products,* 62, 499-506.

Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H. & Talebi, M. (2013). Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic Achillea species. *Industrial Crops and Products,* 50, 154-158.

Govindan, P. & Muthukrishnan, S. (2013). Evaluation of total phenolic content and free radical scavenging activity of *Boerhavia erecta. Journal of Acute Medicine,* 3, 103-109.

Hanphakphoom, S., Thophon, S., Waranusantigul, P., Kangwanrangsan, N. & Krajangsang, S. (2016). Antimicrobial activity of *Chromolaena odorata* extracts against bacterial human skin infections. *Modern Applied Science,* 10, 159-172.

Harnying, W. (2006). Free radicals and Antioxidants in mechanism of cancer. *KKU Science Journal,* 34 (3), 199-208. (in Thai)

Huang, B., Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H. & Wang, Y. (2011). Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology,* 49 (1), 185-190.

John, K.M.M., Ayyanar, M., Arumugam, T., Enkhtaivan, G., Jin, K. & Kim, D.H. (2015). Phytochemical screening and antioxidant activity of different solvent extracts from *Strychnos minor* Dennst leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease,* 5 (3), 204-209.

Juárez-Reyes, K., Brindis, F., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverri, J., Bye, R., Linares, E. & Mata, R. (2015). Hypoglycemic, antihyperglycemic, and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata. Journal of Ethnopharmacology,* 161, 36-45.

Kenny, O., Smyth, T.J., Walsh, D., Kelleher, C.T., Hewage, C.M. & Brunton, N.P. (2014). Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. *Food Chemistry,* 161, 79-86.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R. & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing,* 89 (3), 217-233.

31-58.indd 53 11/4/16 4:33:48 PM

Kumbhare, M.R., Guleha, V. & Sivakumar, T. (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in–vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera. Asian Pacific Journal of Tropical Disease,* 2 (2), 144-150.

Lie, H., Qiu, N., Ding, H. & Yao, R. (2008). Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Research International,* 41, 363-370.

Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S. & Liu, J. (2011). The antioxidant and free radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry,* 126 (1), 261-269.

Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Xing, S. & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae,* 129 (1), 102-107.

Maksimovic´, Z. (2008). In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., Asteraceae) herb. *Industrial Crops and Products,* 28 (3), 356-360.

Malta, L.G., Tessaro, E.P., Eberlin, M., Pastore, G.M. & Liu, R.H. (2013). Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. *Food Research International,* 53(1), 417-425.

Mandal, G. & Joshi, S.P. (2014). Invasion establishment and habitat suitability of *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson over time and space in the western Himalayan forests of India. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity,* 7 (4), 391-400.

McFadyen, R.C. & Skarratt, B. (1996). Potential distribution of Chromolaena odorata (siam weed) in Australia, Africa and Oceania. *Agriculture, Ecosystems & Environment,* 59 (1-2), 89-96.

Mohd-Esa, N., Hern, F.S., Ismail, A. & Yee, C.L. (2010). Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry,* 122 (4), 1055-1060.

Nuchadomrong, S. (2006). Value and harmful of Free radical for human. *KKU Science Journal,* 34 (2), 97-102. (in Thai)

31-58.indd 54 11/4/16 4:33:48 PM

Nusaiba, S.A.W. & Murugan, K. (2013). *In vitro* analysis on bactericidal screening and antioxidant potentiality of leaf and root extracts of *Thottea siliquosa* (Lam.) Ding Hou. An ethnobotanical plant. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* 3 (11), 859-865.

Nwaehujor, C.O., Ezeja, M.I., Udeh, N.E., Okoye, D.N. & Udegbunam, R.I. (2014). Antiinflammatory and anti-oxidant activities of *Mallotus oppositifolius* (Geisel) methanol leaf extracts. *Arabian Journal of Chemistry,* 7 (5), 805-810.

Oueslati, S., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Legault, J., Abdelly, C. & Ksouri, R. (2012). Evaluation of antioxidant activities of the edible and medicinal Suaeda species and related phenolic compounds. *Industrial Crops and Products,* 36 (1), 513-518.

Packer, L., Rimbach, G. & Virgili F. (1999). Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine *(Pinus maritima)* bark, pycnogenol. *Free Radical Biology and Medicine,* 27 (5-6), 704-724.

Raksat, P. (2003). *Extraction of antioxidant from mung bean hull.* Thesis for Master of Science in Biotechnology, Kasetsart University. (in Thai)

Rao, K.S., Chaudhury, P.K. & Pradhan, A. (2010). Evaluation of anti-oxidant activities and total phenolic content of *Chromolaena odorata. Food and Chemical Toxicology,* 48 (2), 729–732.

Rawat, S., Bhatt, I.D. & Rawal, R.S. (2011). Total phenolic compounds and antioxidant potential of *Hedychium spicatum* Buch. Ham. ex D. Don in west Himalaya, India. *Journal of Food Composition and Analysis,* 24 (4-5), 574-579.

Rice-Evans, C. & Miller, N. (1997). Measurement of the antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids,* 57 (4-5), 499-505.

Sati, P., Pandey, A., Rawat, S. & Rani, A. (2013). Phytochemicals and antioxidants in leaf extracts of *Ginkgo biloba* with reference to location, seasonal variation and solvent system. *Journal of Pharmacy Research,* 7 (9), 804-809.

Schaich, K.M., Tian, X. & Xie, J. (2015). Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. *Journal of Functional Foods,* 18, 782-796.

31-58.indd 55 11/4/16 4:33:49 PM

Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M. & Tarantilis, P.A. (2014). Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products,* 53, 46-54.

Soontornnon, P. (2008). *Antioxidants in Etlingera elatior (Jack) R.M. Smith.* Thesis for Master of Science in Biochemistry, Prince of Songkla University. (in Thai)

Sowndhararajan, K. & Kang, S.C. (2013). Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. *Saudi Journal of Biological Sciences,* 20 (4), 319-325.

Tan, J.B.L. & Lim Y.Y. (2015). Evaluation of anti-oxidative activity and UV absorption potential of the extracts of Aloe vera L. gel from different growth periods of plants. *Food Chemistry,* 172, 814-822.

Vidović, S., Zeković, Z., Marošanović, B., Todorović, M.P. & Vladić J. (2014). Influence of pre-treatments on yield, chemical composition and antioxidant activity of *Satureja montana* extracts obtained by supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids,* 95, 468-473.

Wang, S.Y., Chen, H., Camp, M.J. & Ehlenfeldt, M.K. (2012). Flavonoid constituents and their contribution to antioxidant activity in cultivars and hybrids of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Food Chemistry,* 132 (2), 855-864.

Yen, G. & Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 43, 27-37.

คณะผู้เขียน

ดร.ปิยาภรณ์ วรานุสันติกูล

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

228-228/1-3 ถนนสิรินธร แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700

e-mail: wpiyaporn@yahoo.com

ดร.สุชาดา โทผล

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

228-228/1-3 ถนนสิรินธร แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700

e-mail: suthophon@yahoo.com

31-58.indd 56 11/4/16 4:33:49 PM

ดร.เจษฎา แพนาค

มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี

199 หมู่ 9 หมู่บ้านไตรรัตน์ ต.ลุ่มสุ่ม อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี 71150

e-mail: jetsada2004@hotmail.com

ดร. นิวัฒน์ กังวานรังสรรค์

ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

e-mail: scnkw@mahidol.ac.th

ดร. ศรีสุดา หาญภาคภูมิ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

228-228/1-3 ถนนสิรินธร แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700

e-mail: srisuda_han@hotmail.com

31-58.indd 57 11/4/16 4:33:49 PM

31-58.indd 58 11/4/16 4:33:49 PM