

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทย Evaluation of the antioxidant activity in Thai herbs

วัชรพล พรหมสุต^{1,2*}, ธนพร อัสวพัฒน์กุล^{1,2}

Watcharapon Promsut^{1*}, Thanaporn Asawapathanakul¹

Received: 29 March 2019 ; Revised: 23 April 2019 ; Accepted: 31 May 2019

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรไทย จำนวน 15 ชนิด ตัวอย่างสมุนไพรสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สารสกัดที่ทดสอบความเข้มข้นร้อยละ 2 ทดสอบหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ 1) วิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ผลการทดลองพบค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบแมงลัก ใบตะไคร้ และใบกะเพรา มีค่าเท่ากับร้อยละ 68.16, 67.68 และ 67.50 ตามลำดับ 2) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบสะเดามีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก สูงสุดเท่ากับ 788.69 mM Fe²⁺/mg และ 3) การวิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยวิธี Folin's method พบว่าสารสกัดจากใบสะเดา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงสุดเท่ากับ 228.36 mgGAE/g การทดสอบความแตกต่างระหว่างประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระในพืชแต่ละชนิดโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ สะเดา แมงลัก

Abstract

The objective of this study was to appraise and investigate the antioxidant properties of fifteen Thai herbal plants. Samples were extracted by 95% ethanol and then diluted to 2% concentration. All samples were evaluated by three techniques as 1) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay, 2) ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay, and 3) total phenolic compound analysis by Folin's method. Results showed that percentage antioxidant index in hairy basal was 68.16%, with lemongrass 67.68% and holy basil 67.50%. The FRAP value of Siamese neem tree was highest at 788.69 mM Fe²⁺/mg, while amount of phenolic compound in Siamese neem tree was highest at 228.36 mgGAE/g. When analyzed with one-way ANOVA, the result was statistically significant at the 0.05 level.

Keywords: antioxidant, Siamese neem tree, hairy basal

¹ สำนักวิชาการ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

² หน่วยปฏิบัติการวิจัยภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชันทางสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

¹ Academic Affairs, Faculty of Veterinary Sciences, Mahasarakham University, Mueang District, Maha Sarakham, Thailand. 44000

² Stress and Oxidative Stress in Animals Research Unit, Faculty of Veterinary Sciences, Mahasarakham University, Mueang District, Maha Sarakham, Thailand. 44000

* Corresponding Author: watcharapon.p@msu.ac.th

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในออร์บิทัลวงนอกสุดที่ไม่เสถียรและไวต่อการทำปฏิกิริยากับอะตอมหรือโมเลกุลอื่น อนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และสารประกอบไนโตรเจน (reactive nitrogen species, RNS) ร่างกายได้รับอนุมูลอิสระมาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ จากกระบวนการเกิดอนุมูลอิสระภายในร่างกายและอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย โดยอนุมูลอิสระที่เกิดภายในร่างกายมาจากการบวนการเมตาบอลิซึมและกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ ส่วนอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกมาจากสารเคมีและมลพิษในสิ่งแวดล้อม เช่น ยา สารเคมี รังสี อาหาร คิวบ และมลพิษทางอากาศ เป็นต้น¹ ภาวะที่ร่างกายมีสารอนุมูลอิสระในร่างกายจะส่งผลกระทบต่อเซลล์และกลไกการทำงานของร่างกายให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อของเซลล์และเป็นสาเหตุของการเกิดโรค เช่น โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางระบบประสาท โรคเมเร็ง และเนื้องอก โรคเสื่อมและความแก่ เป็นต้น² โดยปกติร่างกายมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีกลไกในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้หลายกลไก ได้แก่ การดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่มีคุณสมบัติทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน การยับยั้งปฏิกิริยาที่สร้างอนุมูลอิสระ การเสริมฤทธิ์และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์³ โดยร่างกายได้รับสารต้านอนุมูลอิสระมาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ จากกระบวนการสังเคราะห์ภายในร่างกายและได้รับจากภายนอกร่างกาย โดยร่างกายมีการสร้างเอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส เอนไซม์กลูตาไทโอน และเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากภายนอกร่างกาย เช่น อาหาร และยา เป็นต้น โดยพืช ผัก และผลไม้มีองค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เบตาแคโรทีน แคโรทีนอยด์ ซีลีเนียม ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอล เป็นต้น^{3,4,5}

ในประเทศไทยมีพืช ผักและสมุนไพรจำนวนมากและนิยมนำมาบริโภคอย่างแพร่หลาย พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามยังขาดการศึกษาสรรพคุณอีกมาก การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรเพื่อเป็นข้อมูลในการนำสมุนไพรไทยไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ จึงมีความสำคัญ ดังนั้น จุดประสงค์ของการวิจัยนี้ คือ ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทย

จำนวน 15 ชนิด เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร การเลี้ยงสัตว์ และเคมีภัณฑ์ เป็นต้น

วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

แผนการทดลอง

การทดลองนี้ศึกษาสมุนไพร จำนวน 15 ชนิด โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) สารสกัดหยาบจากตัวอย่างสมุนไพรถูกทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ 1) วิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช 2) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ และ 3) การวิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยวิธี Folin's method ทำการทดลองตัวอย่างละ 10 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA)

ตัวอย่างพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรไทย จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ บัวบก (*Centella asiatica*) พริก (*Capsicum frutescens* L.) พริกไทย (*Piper nigrum* Linn.) ขี้เหล็ก (*Senna siamea* (Lamk.) Irwin et Barneby) ข่า (*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.) ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) แมงลัก (*Ocimum basilicum* Linn.) กะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) สะระแหน่ (*Mentha cordifolia*) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) กระชาย (*Boesenbergia rotunda* Linn. Mansf.) มะนาว (*Citrus aurantiifolia*) และสะเดา (*Azadirachta indica* Linn. Urban) โดยเลือกส่วนต่างๆ ของตัวอย่างพืชที่แตกต่างกัน (Table 1)

การสกัดสาร

ตัวอย่างพืชสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด ถูกนำไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างสมุนไพรอบแห้งไปบดด้วยเครื่องบดจนได้ผงบดละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างสมุนไพรบดบรรจุลงขวดหมักและผสมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน เขย่าขวดวันละ 1 ครั้ง นำตัวอย่างไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นสารเพื่อแยกสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้เจือจางความเข้มข้นร้อยละ 2

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิจัยนี้ใช้สถิติในการวิเคราะห์ คือ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และการวิเคราะห์เปรียบเทียบรายคู่ (Post-Hoc) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ $P < 0.05$

Table 1 The parts of the 15 herbs that were selected for evaluation.

Plants	Part of plants
Asiatic pennywort (<i>Centella asiatica</i>)	leaf
Bird pepper (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	fruit
Black pepper (<i>Piper nigrum</i> Linn.)	seed
Cassod tree (<i>Senna siamea</i> (Lamk.) Irwin et Barneby)	leaf
Galanga (<i>Alpinia galanga</i> (Linn.) Swartz.)	rhizome
Ginger (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	rhizome
Hairy basil (<i>Ocimum basilicum</i> Linn.)	leaf
Holy basil (<i>Ocimum sanctum</i> Linn.)	leaf
Horseradish tree (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)	fruit and fruit bark
Kaffir lime (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	fruit bark
Kitchen mint (<i>Mentha cordifolia</i>)	leaf
Lemongrass (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf.)	leaf
Lesser galangal (<i>Boesenbergia rotunda</i> Linn. Mansf.)	rhizome
Lime (<i>Citrus aurantiifolia</i>)	fruit bark
Siamese neem tree (<i>Azadirachta indica</i> Linn. Urban)	leaf

วิธีการทดสอบ

1. การทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay; DPPH assay)

เติมสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรลงใน microplate และเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.004 โมลาร์ ในอัตราส่วน 1:1 เขย่าให้สารทั้งสองเข้ากันและนำไปเก็บในที่มืด 25 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ค่าการดูดแสงที่วัดได้จะนำไปเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัดที่ทดสอบและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (percentage of antioxidant inhibition; %AI) ตามสมการที่ (1) ทั้งนี้หากสารสกัดที่ทดสอบมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสีจะลดลง ทำการทดลอง 10 ครั้ง

$$\%AI = \frac{OD_{control} - OD_{sample}}{OD_{blank}} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ $OD_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ สารละลาย ซึ่งไม่ได้เติมสารมาตรฐาน หรือสารสกัด

OD_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย ซึ่งเติมสารมาตรฐานหรือสารสกัด

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power assay; FRAP assay)

เตรียม FRAP reagent โดยนำอะซีเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอช (pH) 3.6 ผสมกับ สารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) ในกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ไว้สำหรับทดสอบ จากนั้นผสมสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรที่ต้องการทดสอบหรือสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 100-1000 มิลลิโมลาร์ กับ สารละลาย FRAP reagent เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน 6 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ทำการทดลอง 10 ครั้ง

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin's method

ผสมสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรที่ต้องการทดสอบหรือสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารละลาย Folin ciocaltue reagent เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 60 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยเทียบ

กับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของกรดแกลลิก ทำการทดลอง 10 ครั้ง

ผลการศึกษา

1. การทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay; DPPH assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพร 15 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 เพื่อหาค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (percentage of antioxidant inhibition; %AI) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากใบแมงลัก ใบตะไคร้ และใบกะเพรา มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับร้อยละ 68.16±1.30, 67.68±1.22 และ 67.50±3.40 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบแมงลัก ใบตะไคร้ ใบกะเพรา กับวิตามินซีที่ความเข้มข้น 2 มก./มล. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric ion Reducing Antioxidant Power Assay; FRAP assay)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพร 15 ชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ด้วยวิธี FRAP assay พบว่า สารสกัดจากใบสะเดา มีค่า FRAP value เท่ากับ 788.69±11.17

mM Fe²⁺/mg ซึ่งมีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมุนไพรทั้ง 14 ชนิด และวิตามินซี ความเข้มข้น 0.2 มก./มล. ซึ่งมีค่าเท่ากับ 216.01±0.83 mM Fe²⁺/mg นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากเมล็ดพริกไทย มีค่าเท่ากับ 752.47±17.90 mM Fe²⁺/mg ใบขี้เหล็ก เท่ากับ 753.41±10.51 mM Fe²⁺/mg เปลือกมะกรูด เท่ากับ 497.19±21.20 mM Fe²⁺/mg ใบสะระแหน่ เท่ากับ 306.78±8.75 mM Fe²⁺/mg ใบตะไคร้ เท่ากับ 251.15±11.67 mM Fe²⁺/mg และใบกะเพรา เท่ากับ 237.03±12.84 mM Fe²⁺/mg ซึ่งสูงกว่าวิตามินซี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin's method

จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากสารสกัดในพืชทั้ง 15 ชนิด โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน คือ กรดแกลลิก (gallic acid) พบว่า สารสกัดจากใบสะเดามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 228.36±4.96 mgGAE/g ซึ่งมีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสมุนไพรทั้ง 14 ชนิด และวิตามินซี ความเข้มข้น 0.2 มก./มล. นอกจากนี้สารสกัดจากใบสะเดามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 211.87±4.74 mgGAE/g ซึ่งสูงกว่าวิตามินซี ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 149.90±2.62 mgGAE/g อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

Table 2 The result of antioxidant activity in the 15 herbal plants.

Samples	DPPH		FRAP value		Total Phenolic Content	
	(%AI)	(mean±SD)	(mM Fe ²⁺ /mg)	(mean±SD)	(mgGAE/g)	(mean±SD)
Asiatic pennywort	60.63 ± 2.69 ^g		91.33 ± 16.21 ^l		29.23 ± 0.93 ^{hi}	
Bird pepper	61.12 ± 1.18 ^g		256.34 ± 12.90 ^e		71.81 ± 1.31 ^e	
Black pepper	61.52 ± 3.29 ^g		752.47 ± 17.90 ^b		107.69 ± 14.59 ^d	
Cassod tree	65.78 ± 1.37 ^{cde}		753.41 ± 10.51 ^b		211.87 ± 4.74 ^b	
Galanga	65.44 ± 1.19 ^{def}		91.79 ± 10.65 ^l		23.93 ± 13.86 ⁱ	
Ginger	63.66 ± 1.12 ^{ef}		106.21 ± 7.82 ^k		27.07 ± 6.25 ^{hi}	
Hairy basil	68.16 ± 1.30 ^{ab}		182.95 ± 10.47 ⁱ		31.32 ± 1.07 ^{ghi}	
Holy basil	67.50 ± 3.40 ^{abcd}		237.03 ± 12.84 ^f		38.27 ± 4.86 ^{gh}	
Horse radish tree	64.25 ± 1.60 ^f		119.39 ± 8.81 ^j		39.32 ± 5.92 ^{gh}	
Kaffir lime	61.76 ± 1.03 ^g		497.19 ± 21.20 ^c		81.60 ± 7.10 ^e	
Kitchen mint	66.68 ± 1.06 ^{bcd}		306.78 ± 8.75 ^d		42.33 ± 2.96 ^{fg}	
Lemon grass	67.68 ± 1.22 ^{abc}		251.15 ± 11.67 ^e		34.15 ± 5.46 ^{ghi}	
Lesser galangal	41.97 ± 1.92 ⁱ		6.70 ± 3.63 ^m		38.67 ± 0.13 ^{gh}	
Lime	54.39 ± 2.08 ^h		203.52 ± 17.92 ^h		50.09 ± 4.41 ^f	
Siamese neem tree	67.04 ± 0.97 ^{bcd}		788.69 ± 11.17 ^a		228.36 ± 4.96 ^a	
Ascorbic acid	69.34 ± 4.46 ^a		216.01 ± 0.83 ^g		149.90 ± 2.62 ^c	

Data were expressed the mean ± standard deviation (SD). Different superscripts letters in the same column that the values were significant different ($P < 0.05$)

วิจารณ์และสรุปผล

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทยจำนวน 15 ชนิด ด้วยวิธีการทดสอบต่างๆ พบว่าพืชแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันเนื่องจากมีปริมาณของสารที่เป็นองค์ประกอบต่างกัน โดยสารองค์ประกอบของพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอล⁵ ซึ่งพบได้ทั้งส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ เปลือกลำต้น ราก เหง้า ผล ดอก และเมล็ด ซึ่งแต่ละส่วนจะมีองค์ประกอบของสารที่แตกต่างกัน ดังนั้นควรมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรแต่ละชนิดเพื่อหาสารออกฤทธิ์ที่จำเพาะในสมุนไพรต่อไป ซึ่งจากการทดลองพบว่าสะเดาและขี้เหล็กมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยจากการศึกษาของ Akeel และคณะในปี 2017 พบว่าเปลือกสะเดามีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน โดยมีองค์ประกอบของสารที่มีรสขมและสารประกอบฟีนอล⁶ นอกจากนี้ยังพบ rutin และ quercetin เป็นองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ⁷ ส่วนขี้เหล็กมีองค์ประกอบทางเคมี คือ สาร barakol และสาร ฟลาโวนอยด์⁸ สารออกฤทธิ์ของพริกไทยดำ คือ piperine และ piperettine, piperanine, piperylene, chavicine, piperoleines A, B และ C ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา⁸ นอกจากนี้กะเพราและแมงลักมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งกะเพราและแมงลักมีองค์ประกอบของสาร ฟลาโวนอยด์ และน้ำมันหอมระเหยมีสาร eugenol เป็นองค์ประกอบซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการออกซิเดชัน^{9,10} ส่วนพืชสมุนไพรอื่น ได้แก่ ขิง^{10,11,12} ข่า¹⁰ ใบบัวบก¹² มะกรูด¹³ มะนาว^{10,13} พริก¹⁴ มะรุม^{10,15} ตะไคร้^{10,11} และสะระแหน่¹⁰ ก็ได้มีการรายงานการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสรรพคุณด้านอื่นๆ ด้วย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทย 15 ชนิด โดยใช้วิธีการสกัดแบบใช้แอลกอฮอล์ ซึ่งการใช้แอลกอฮอล์จะมีความไวในการละลายมากกว่าน้ำ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และระเหยได้ง่าย จึงเหมาะสำหรับการนำมาเป็นตัวทำละลายในกรณีที่ต้องการความเข้มข้นของสารสกัดในปริมาณมาก การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธีซึ่งแต่ละวิธีจะมีกลไกการทำปฏิกิริยาที่ต่างกัน โดยวิธี DPPH assay เป็นวิธีการทำลายอนุมูลอิสระด้วยอนุภาคของ DPPH ซึ่งเป็นวิธีอย่างง่าย สะดวก และรวดเร็ว แต่มีข้อเสีย คือ การเกิดปฏิกิริยาก่อนข้างซ้ำทำให้ค่าที่วัดได้มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง วิธี FRAP assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นวิธีอย่างง่ายแต่

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่เกี่ยวข้องกับสถานะของร่างกาย และวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin's method นั้น เป็นการหาปริมาณสารฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบของพืช ซึ่งเป็นการหาปริมาณโดยรวมเท่านั้นและเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว การทดลองนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอย่างง่าย ดังนั้นควรมีการศึกษาเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์และองค์ประกอบหลักของตัวอย่างพืชสมุนไพร เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนทั้งหน่วยปฏิบัติการวิจัยภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชันทางสัตว์ที่สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

1. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*. 2001 Mar 1;54(3):176-86.
2. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 2010 Jul;4(8):118.
3. Baiano A, Del Nobile MA. Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2016 Sep 9;56(12):2053-68.
4. Kasote DM, Katyare SS, Hegde MV, Bae H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International journal of biological sciences*. 2015;11(8):982.
5. บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 2556;21(3):275-86.
6. Al Akeel R, Mateen A, Janardhan K, Gupta VC. Analysis of anti-bacterial and anti oxidative activity of *Azadirachta indica* bark using various solvents extracts. *Saudi journal of biological sciences*. 2017 Jan 1;24(1):11-4.
7. Chaisawangwong W, Gritsanapan W. Quality assessment and scavenging activity of Siamese neem flower extract. *Natural product research*. 2013 Mar 1;27(4-5):394-401.

8. ภโวทัย พาสณาโสภณ. สารออกฤทธิ์ในสมุนไพรวารสารวิทยาลัยพยาบาลพระปกเกล้า จันทบุรี 2559; 27(1):120-131.
9. Kelm MA, Nair MG, Strasburg GM, DeWitt DL. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn. *Phytomedicine*. 2000 Mar 1;7(1):7-13.
10. อเนก หาลี และ บุญยกฤต รัตนพันธ์. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 2560;40(2):283-293.
11. Kruawan K, Kangsadalampai K. Antioxidant activity, phenolic compound contents and antimutagenic activity of some water extract of herbs. *Thai J Pharm Sci*. 2006 Jan;30:28-35.
12. จรัสรัตน์ ปานโคก, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณีฐฐา เลหากุลจิตต์. ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 2555;43(2)พิเศษ:381-384.
13. Guimarães R, Barros L, Barreira JC, Sousa MJ, Carvalho AM, Ferreira IC. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: grapefruit, lemon, lime and orange. *Food and Chemical Toxicology*. 2010 Jan 1;48(1):99-106.
14. Gurnani N, Gupta M, Mehta D, Mehta BK. Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Taibah University for Science*. 2016 Oct 1;10(4):462-70.
15. Jayawardana BC, Liyanage R, Lalantha N, Iddamal-goda S, Weththasinghe P. Antioxidant and antimicrobial activity of drumstick (*Moringa oleifera*) leaves in herbal chicken sausages. *LWT-Food Science and Technology*. 2015 Dec 1;64(2):1204-8.