

## ผลของสารสกัดด้วยน้ำต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ทางชีวภาพ ของไซ้จากธรรมชาติและการเลี้ยง

### Effects of Water Extraction on Total Flavonoid Content and Biological Activities between Natural and Cultured *Wolffia globosa* (Roxb.) Hartog & Plas

กัญญารัตน์ รักษาแก้ว<sup>1</sup>, ธนากรณ ดำสุด<sup>2</sup>, วรณิณี จันทร์แก้ว<sup>3</sup>

Kanyarat Rucksakaew<sup>1</sup>, Thanakorn Damsud<sup>2</sup>, Wanninee Chankaew<sup>3</sup>

(Received: Jun 23, 2019; Revised: Sep 26, 2019; Accepted: Oct 11, 2019)

#### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ทางชีวภาพของไซ้จากธรรมชาติและการเลี้ยง ซึ่งไซ้จากธรรมชาติได้เก็บตัวอย่างมาจากอำเภอเขาค้อ จังหวัดพิจิตร นำไซ้จากธรรมชาติมาทำการเลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลไก่เพื่อได้เป็นไซ้จากการเลี้ยงทำการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะที่แตกต่างกัน (อุณหภูมิ/เวลา) 5 วิธี ได้แก่ 4 °C/24 h, 25 °C/12 h, 50 °C/6 h, 75 °C/3 h และ 100 °C/1.5 h หลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ทางชีวภาพในด้าน การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสผลการศึกษาพบว่าไซ้จากธรรมชาติและการเลี้ยงมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกันทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดในสารสกัดไซ้จากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 100°C/1.5 h (27.249±0.10 mg OE/g extract) ในส่วนของฤทธิ์ยับยั้ง DPPH radical และ ABTS radical พบว่าสารสกัดไซ้จากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 75°C/3 h สามารถยับยั้งได้ดีที่สุดซึ่งมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.017±0.00 และ 0.016±0.00 mg/mL ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มอลเตสและซูเครส พบว่าสารสกัดไซ้จากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 100 °C/1.5 h และ 4 °C/24 h มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุดมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 8.346±0.03 และ 1.723±0.02 mg/mL ตามลำดับนอกจากนี้จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่า IC<sub>50</sub> ของฤทธิ์ทางชีวภาพและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าสารฟลาโวนอยด์มีส่วนสำคัญในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสมากที่สุดทั้งนี้ผลที่ได้จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสารสกัดจากไซ้ที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้

**คำสำคัญ:** ไซ้, สารฟลาโวนอยด์, สารต้านอนุมูลอิสระ, แอลฟาไกลูโคซิเดส

#### Abstract

The aim of this study was to compare the total flavonoid content and biological activities between natural and cultured *Wolffia globosa*. Natural *W. globosa* was collected from Khao Chai Son district, Phatthalung province (8°9'41"N, 99°43'31"E). Cultured *W. globosa* was cultured in a laboratory by chicken manure. Total flavonoid content (TFC) was analyzed by aluminum chloride colorimetric assay method.

<sup>1</sup> คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya

<sup>2</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

<sup>2</sup> Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya



Additionally, biological activities were measured by DPPH, ABTS radical scavenging assay, and alpha glucosidase inhibition, determined from the extracted with different conditions, it is to say at 4 °C/24 h, 24 °C/12 h, 50 °C/6 h, 75 °C/3 h and 100 °C/1.5 h. The results found that the TFC and the biological activities were significantly different between extraction method ( $p < 0.05$ ). The highest of TFC found was in 100 °C/1.5 h (27.249±0.10 mg OE/g extract). The highest activity of scavenging DPPH and ABTS radical were found in *W. globosa* from natural (75 °C/3 h method) with  $IC_{50} = 0.017 \pm 0.00$  and  $0.016 \pm 0.00$  mg/ml, respectively. The highest inhibition of maltase and sucrase activities was found in 100 °C/1.5 h and 4 °C/24 h method of *W. globosa* from natural with  $IC_{50} = 8.346 \pm 0.03$  and  $1.723 \pm 0.02$  mg/ml, respectively. In addition, according to Pearson's correlation coefficient between all extract with  $IC_{50}$  of all biological activities, TFC were contribution major in its alpha glucosidase inhibition. This results obtained in this study clearly indicate that *W. globosa* has a significant potential to be used as natural antioxidants and, consequently, to be developed as health product.

**Keywords:** Water Meal, Flavonoids, Antioxidant Activities, Alpha Glucosidase

## บทนำ

ไผ่น้ำหรือ ผ่า หรือไผ่น้ำ ไผ่แทน เป็นพืชน้ำในวงศ์ Lumnaceae เป็นพืชดอกที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลก มักพบลอยอยู่บนผิวน้ำ เจริญได้ดีในแหล่งน้ำนิ่งคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง มีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 5-6 ค่าความเข้มแสง 5,000-10,000 ลักซ์ (Panwanitdumrong, 2009) นิยมรับประทานกันมากในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของไทย โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตมาจากธรรมชาติ นิยมนำมาทำแกงเรียกว่าแกงไผ่น้ำหรือแกงผ่า (Saengthongpinit, Sricharoen, & Krangpreecha, 2017) จากข้อมูลทางด้านโภชนาการจาก Nutrition Division (2001) พบว่า ไผ่น้ำเป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะโปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส บีตา-แคโรทีน วิตามินบีหนึ่ง โยอาหาร และมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ Ruekaewma, Piyatiratitivorakul, & Powtongsook (2015) พบว่าไผ่น้ำยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายต่างๆ สูง และ Panwanitdumrong (2009) ทดลองเลี้ยงไผ่น้ำในห้องปฏิบัติการ พบว่าไผ่น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เมื่อทดลองเลี้ยงไผ่น้ำเป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณบีตา-แคโรทีนในไผ่น้ำสูงที่สุดที่อายุการเลี้ยง 24 วัน

ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำพืชผักหรือพืชสมุนไพรต่างๆ มาเป็นตัวช่วยในการยับยั้งกระบวนการเกิดโรคได้หลายโรค เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และมะเร็ง เนื่องจากในพืชดังกล่าวมีองค์ประกอบทางเคมีหลายกลุ่มที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น สารกลุ่มโพลีฟีนอลและฟิโตนอล ซึ่งสารเหล่านี้จะไปจับกับอนุมูลอิสระไม่ให้อันตรายต่อเซลล์ได้ (Kratchanova, Denev, Ciz, Lojek, & Mihailov, 2010) สำหรับโรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคเรื้อรังที่ยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จะทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนกับอวัยวะต่างๆ (Kamtchouing et al., 2006) การรักษาโรคเบาหวานเป็นการรักษาที่มุ่งเน้นการลดระดับกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยให้ใกล้เคียงปกติและป้องกันโรคแทรกซ้อนในระยะยาว โดยการควบคุมอาหารและการออกกำลังกายควบคู่ไปกับการใช้ยา ในปัจจุบันยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานนั้นมีราคาแพง และต้องรับประทานเป็นเวลานาน ถ้าใช้ติดต่อกันนานๆ มักไม่แสดงผลและสูญเสียความสามารถในการควบคุมโรค มีอาการข้างเคียงและทำลายตับ (Buddhakala, Talubmook, Posri, & Buatone, 2015) มีรายงานว่าสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดจึงทำให้มีความสนใจในการใช้สมุนไพรในการรักษาควบคู่ไปกับยาแผนปัจจุบัน เนื่องจากในตัวยาสสมุนไพรมีผลข้างเคียงน้อย (Rao, Prabhu, & Pandey, 2010) ทั้งนี้ไผ่น้ำจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจซึ่งเป็น

ที่ทราบกันดีว่าไช้หน้าเป็นพืชน้ำที่เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางธรรมชาติที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่งที่มีสารออกฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ซึ่งสารกลุ่มนี้เป็นสารที่สามารถนำมาใช้ป้องกันและรักษาโรคได้เช่นเดียวกับพืชสมุนไพรที่ใช้บริโภคในชีวิตประจำวัน แต่การใช้ประโยชน์จากไช้หน้ามีข้อจำกัดหลายอย่าง ยกตัวอย่างเช่นปัญหาในการเก็บรักษาและปัญหาในเรื่องของปริมาณและคุณภาพของผลผลิตโดยไช้หน้าในธรรมชาติไม่สามารถควบคุมผลผลิต คุณภาพและสารปนเปื้อนจากแหล่งน้ำได้นอกจากนี้ข้อมูลการศึกษาทางด้านฤทธิ์ทางชีวภาพของไช้หน้ามีค่อนข้างน้อยซึ่งไช้หน้าที่นำมาศึกษาส่วนใหญ่เป็นไช้หน้าที่ได้มาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งนี้ Raksakaew, Penpapai, & Chankaew (2018) ได้รายงานฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำของไช้หน้าที่อุณหภูมิต่างกันสามวิธีโดยได้เก็บจากธรรมชาติซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจมาก อย่างไรก็ตามเพื่อให้มีข้อมูลสำหรับการนำไช้หน้าไปใช้ประโยชน์ที่มากยิ่งขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดด้วยน้ำที่ต่างกันจำนวน 5 สภาวะ และเปรียบเทียบแหล่งที่มาของไช้หน้าจากธรรมชาติและ การเลี้ยงด้วยปุ๋ยคอกของสารสกัดด้วยน้ำต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเบาหวานของไช้หน้า

### วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไช้หน้า (*Wolffia globosa*) จากธรรมชาติและ การเลี้ยง
2. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของไช้หน้า (*W. globosa*) จากธรรมชาติและ การเลี้ยง

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างไช้หน้าจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาจากอำเภอเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง (8°9'41"N, 99°43'31"E) มาล้างทำความสะอาด หลังจากนั้นแบ่งไช้หน้าออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกนำมาทำการเลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลไก่เพื่อได้เป็นไช้หน้าจากการเลี้ยง ซึ่งทำการเลี้ยง 21 วัน และส่วนที่สองนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C จากนั้นนำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า

#### การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำตัวอย่างไช้หน้าจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงมาสกัดด้วยน้ำโดยการชั่งผงไช้หน้ามา 20 g เติมน้ำลงไปปริมาตร 200 mL และนำมาสกัดโดยใช้วิธีการสกัดที่ต่างกัน (อุณหภูมิ/เวลา) 5 วิธี ได้แก่ 4 °C/24 h, 25 °C/12 h, 50 °C/6 h, 75 °C/3 h และ 100 °C/1.5 h ด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) สำหรับการสกัดด้วยน้ำที่วิธี 4 °C/24 h นำไปแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C แล้วจึงนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ทำการสกัดซ้ำจากตัวอย่างเดิมจำนวน 3 ซ้ำ โดยสารสกัดที่ได้จะนำไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งและบันทึกน้ำหนักสารสกัดที่ได้

**การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid contents)** ตามวิธีการของ Chang, Yang, Wen, & Chern, (2002)

ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric assay โดยการเติมตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 0.02 mL ใส่ในภาชนะทดลองที่มี 10 % Aluminum chloride ปริมาตร 0.02 mL 1 MPotassium acetate ปริมาตร 0.02 mL และน้ำกลั่นปริมาตร 0.180 mL เขย่าให้เข้ากัน 30 sec บ่มทิ้งไว้ 30 min ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน Quercetin และคำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วย mg QE/g extract



### การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

1. การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ดัดแปลงตามวิธีการของ Shimada, Fujikawa, Yahara, & Nakamura (1992)

โดยการเติมสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.2 mL ลงในสารละลาย 0.1 mMDPPH ปริมาตร 0.2 mL ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ในที่มืด 30 min วัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยใช้ Ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณ % inhibition ตามสมการที่ (1)

$$\% \text{ inhibition} = \left[ \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \right] \times 100 \quad (1)$$

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Scavenging activity of ABTS radical ดัดแปลงจากวิธีการของ Reet al. (1999)

เตรียม 7 mM ABTS และ 140 mM potassium persulfate แล้วผสม 7 mM ABTS ปริมาตร 2 mL กับ 140 mM Potassium persulfate ปริมาตร 35.5  $\mu$ L ในขวดสีชา บ่มทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 h ที่อุณหภูมิห้องจะได้ Stock ABTS radical cation ที่มีสีน้ำเงินอมเขียว ก่อนนำมาใช้งานจะต้องเจือจาง Stock ABTS radical cation ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ค่าดูดกลืนแสง เท่ากับ  $0.70 \pm 0.05$  (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน) เตรียมตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 mL ในหลอดทดลอง ผสมกับสารละลาย ABTS<sup>+</sup> ปริมาตร 0.9 mL เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 min หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม และใช้ trolox เป็นสารมาตรฐาน นำค่าที่ได้มาคำนวณ % inhibition ตามสมการที่ (1)

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ดัดแปลงตามวิธีการของ Damsud, Grace, Adisakwattana, & Phuwapraisirisan (2014)

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเบาหวาน โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) จากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทส (maltase) และซูเครส (sucrase) โดยเตรียมเอนไซม์อย่างหยาบ (rat intestinal acetone power) (Sigma-Aldrich) ซึ่งเอนไซม์อย่างหยาบจำนวน 1 g เติมนลงใน 0.9% Sodium chloride จำนวน 30 mL นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 30 min เก็บสารละลายส่วนใสแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ เติมน 0.1 M Phosphate buffer pH 6.9 ปริมาตร 0.050 mL เติมนตัวอย่างสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.010 ml เติมนสารละลายเอนไซม์อย่างหยาบ (crude enzyme) ปริมาตร 0.040 mL บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 min เติมนซับสเตรต (substrate) โดยใช้ 0.58 mM Maltose และ 20 mM Sucrose ละลายใน 0.1 M Phosphate buffer pH 6.9 ปริมาตร 0.050 mL บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 20 และ 60 min วัดความเข้มข้นของกลูโคสโดยเติม glucose liquicolor ปริมาตร 0.100 mL นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm นำค่าที่ได้ไปคำนวณ % inhibition ตามสมการที่ (1)

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาทดสอบค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT (Duncan Multiple Range test) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีความเป็นอิสระต่อกัน (Independent sample T-Test) ของข้อมูลที่ได้จากธรรมชาติและการเลี้ยง และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการวิเคราะห์ Pearson's correlation coefficients โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

**ผลการวิจัย**

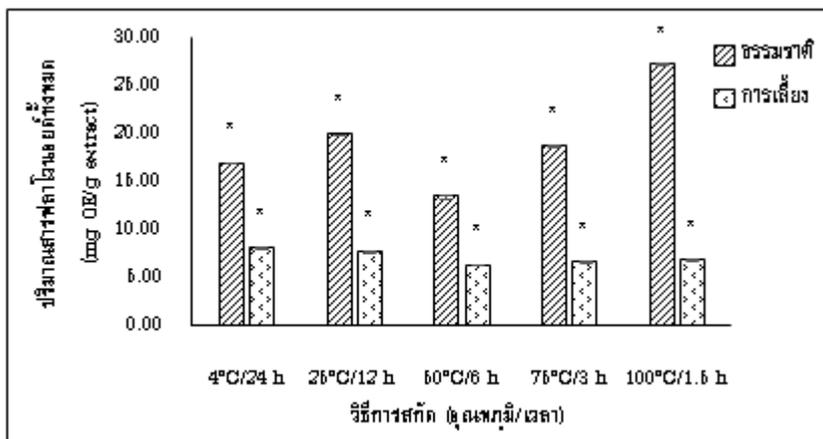
**ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

ผลการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน Quercetin ( $y=2.734x$ ,  $R^2=0.993$ ) จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน 5 วิธี มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) โดยปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงมีปริมาณสูงที่สุดในไข่น้ำที่สกัดด้วยวิธี 100 °C/1.5 h และ 4 °C/24 h เท่ากับ  $27.249\pm 0.10$  และ  $8.059\pm 0.120$  mg OE/g extract ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งเมื่อนำปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกันทั้ง 5 วิธีมาเปรียบเทียบกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) (ภาพที่ 1)

**ตารางที่ 1** ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

วิธีการสกัด (อุณหภูมิ/เวลา)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg OE/g extract)	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
4 °C/24 h	16.886±0.02 <sup>b</sup>	8.059±0.13 <sup>d</sup>
25 °C/12 h	19.836±0.02 <sup>d</sup>	7.727±0.06 <sup>c</sup>
50 °C/6 h	13.362±0.14 <sup>a</sup>	6.271±0.04 <sup>a</sup>
75 °C/3 h	18.715±0.04 <sup>c</sup>	6.614±0.06 <sup>b</sup>
100 °C/1.5 h	27.249±0.10 <sup>e</sup>	6.762±0.10 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p<0.05$ )



**ภาพที่ 1** การเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

หมายเหตุ: \* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) ที่วิธีการสกัดเดียวกัน



## การศึกษากิจกรรมทางชีวภาพ

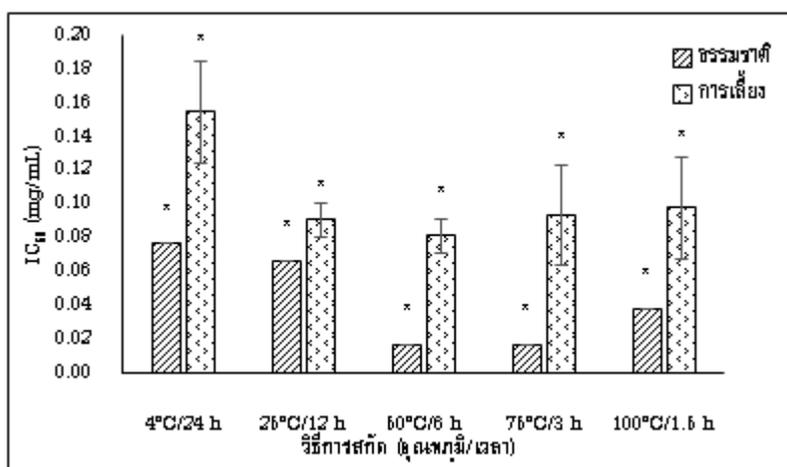
### 1. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 50 °C/6 h มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.017 \pm 0.00$  และ  $0.082 \pm 0.012$  mg/mL ตามลำดับ แต่ยังสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ต่ำกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid (ตารางที่ 2) ซึ่งเมื่อนำค่า  $IC_{50}$  ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติมาเปรียบเทียบกับ การเลี้ยง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 2) และสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำกว่าสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากการเลี้ยง

**ตารางที่ 2** ค่า  $IC_{50}$  ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน

วิธีการสกัด (อุณหภูมิ/เวลา)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
4 °C/24 h	$0.077 \pm 0.00^a$	$0.155 \pm 0.03^b$
25 °C/12 h	$0.067 \pm 0.00^d$	$0.091 \pm 0.01^b$
50 °C/6 h	$0.017 \pm 0.00^b$	$0.082 \pm 0.01^b$
75 °C/3 h	$0.017 \pm 0.00^b$	$0.094 \pm 0.03^b$
100 °C/1.5 h	$0.038 \pm 0.00^c$	$0.098 \pm 0.03^b$
Ascorbic acid	$0.009 \pm 0.00^a$	$0.007 \pm 0.00^a$

หมายเหตุ: อักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ; \* Raksakaewet al. (2018)



**ภาพที่ 2** เปรียบเทียบค่า  $IC_{50}$  ของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยง

หมายเหตุ: \* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่วิธีการสกัดเดียวกัน

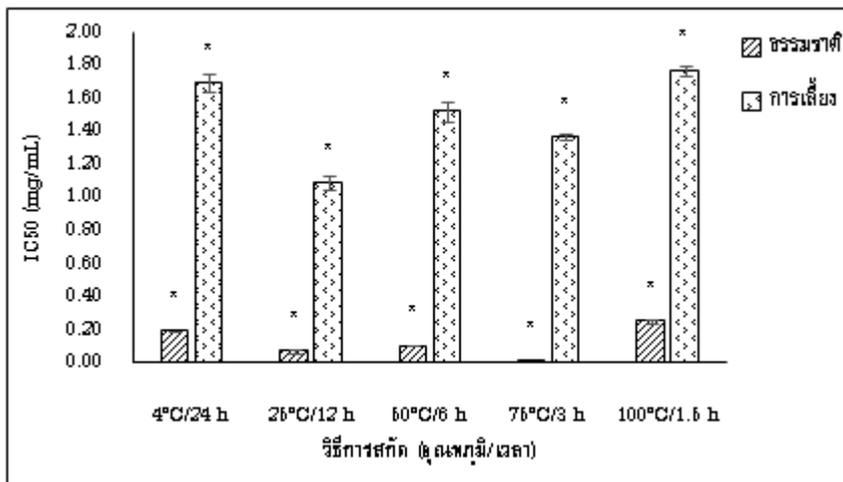
**2. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระวิธี Scavenging activity of ABTS radical**

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้หน้าจากธรรมชาติที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดด้วยน้ำของใข้หน้าจากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 75 °C/3 h มีความสามารถในการยับยั้ง ABTS<sup>•+</sup> ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำของใข้หน้าจากการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 25 °C/12 h ซึ่งมีค่า  $IC_{50} = 0.016 \pm 0.00$  และ  $1.092 \pm 0.04$  mg/mL ตามลำดับ แต่ยังมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐาน Trolox (ตารางที่ 3) และพบว่าค่า  $IC_{50}$  ของใข้หน้าจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงทุกวิธีการสกัดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 3)

**ตารางที่ 3** ค่า  $IC_{50}$  ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระวิธี Scavenging activity of ABTS radical ของสารสกัดด้วยน้ำของใข้หน้าจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน

วิธีการสกัด (อุณหภูมิ/เวลา)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
4°C/24 h	0.193±0.00 <sup>a</sup>	1.694±0.05 <sup>e</sup>
25°C/12 h	0.071±0.01 <sup>c</sup>	1.092±0.04 <sup>b</sup>
50°C/6 h	0.103±0.00 <sup>d</sup>	1.518±0.06 <sup>d</sup>
75°C/3 h	0.016±0.00 <sup>a</sup>	1.365±0.02 <sup>c</sup>
100°C/1.5 h	0.251±0.01 <sup>f</sup>	1.769±0.03 <sup>e</sup>
Trolox	0.040±0.00 <sup>b</sup>	0.044±0.00 <sup>a</sup>

หมายเหตุ: อักขรที่ต่างกันในแต่ละตัวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ; \* Raksakaewet al. (2018)



**ภาพที่ 3** การเปรียบเทียบค่า  $IC_{50}$  ของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สารสกัดด้วยน้ำของใข้หน้าจากธรรมชาติและจากการเลี้ยง

หมายเหตุ: \* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่วิธีการสกัดเดียวกัน



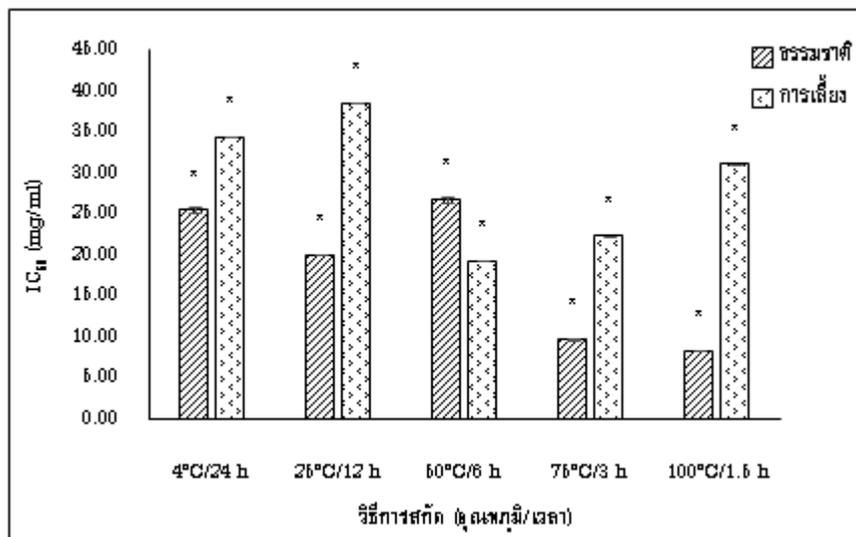
### 3. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเบาหวาน โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$ -Glucosidase) ชนิดมอลเทส (maltase) และซูเครส (sucrase) พบว่าความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส ชนิดมอลเทส ของสารสกัดด้วยน้ำของใช้จากธรรมชาติ และการเลี้ยงที่ใช้วิธีสกัดต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดด้วยน้ำของใช้ที่สกัดจากธรรมชาติด้วยวิธี  $100\text{ }^{\circ}\text{C}/1.5\text{ h}$  มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $\text{IC}_{50} = 8.346 \pm 0.033\text{ mg/mL}$ ) ส่วนใช้จากการเลี้ยงพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใช้ที่สกัดด้วยวิธี  $50\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ h}$  มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $\text{IC}_{50} = 19.380 \pm 0.004\text{ mg/mL}$ ) (ตารางที่ 4) และพบว่าค่า  $\text{IC}_{50}$  ของใช้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยงทุกวิธีการสกัดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 4)

**ตารางที่ 4** ค่า  $\text{IC}_{50}$  ความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดมอลเทสและซูเครสของสารสกัดด้วยน้ำของใช้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน

วิธีการสกัด (อุณหภูมิ/เวลา)	$\text{IC}_{50}$ (mg/ml) ชนิดมอลเทส		$\text{IC}_{50}$ (mg/ml) ชนิดซูเครส	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
$4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$	$25.541 \pm 0.34^d$	$34.484 \pm 0.11^d$	$1.723 \pm 0.02^a$	$17.265 \pm 0.07^e$
$25\text{ }^{\circ}\text{C}/12\text{ h}$	$20.042 \pm 0.01^c$	$38.600 \pm 0.07^e$	$4.220 \pm 0.05^c$	$8.117 \pm 0.08^d$
$50\text{ }^{\circ}\text{C}/6\text{ h}$	$26.859 \pm 0.36^e$	$19.380 \pm 0.00^a$	$5.115 \pm 0.55^d$	$7.859 \pm 0.10^c$
$75\text{ }^{\circ}\text{C}/3\text{ h}$	$9.790 \pm 0.15^b$	$22.362 \pm 0.03^b$	$2.152 \pm 0.02^a$	$4.764 \pm 0.06^b$
$100\text{ }^{\circ}\text{C}/1.5\text{ h}$	$8.346 \pm 0.03^a$	$31.144 \pm 0.02^c$	$3.098 \pm 0.04^b$	$2.455 \pm 0.01^a$

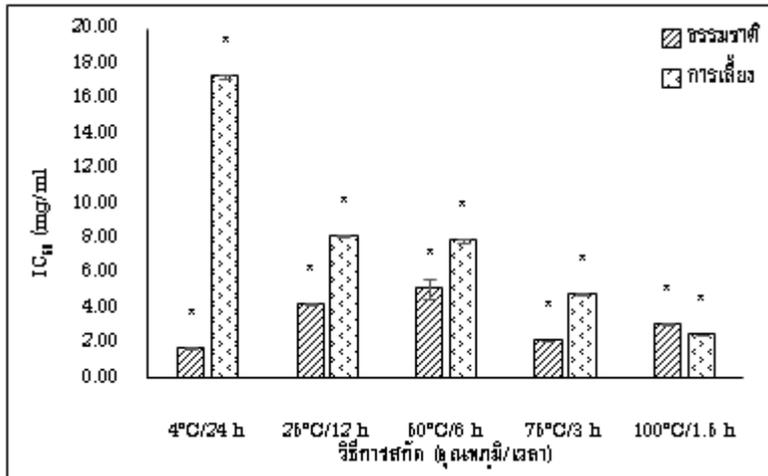
หมายเหตุ: อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



**ภาพที่ 4** การเปรียบเทียบค่า  $\text{IC}_{50}$  ความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดมอลเทสของสารสกัดด้วยน้ำใช้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยง

หมายเหตุ \* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่วิธีการสกัดเดียวกัน

ความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส ชนิดยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส ชนิดซูเครสของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยง ที่ใช้วิธีสกัดต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดด้วยน้ำของใข้ที่สกัดจากธรรมชาติด้วยวิธี  $4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$  มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ส่วนใข้จากการเลี้ยงพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใข้ที่สกัดด้วยวิธี  $100\text{ }^{\circ}\text{C}/1.5\text{ h}$  มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด โดยมีค่า  $\text{IC}_{50} = 1.723 \pm 0.02$  และ  $19.380 \pm 0.004\text{ mg/mL}$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และพบว่าค่า  $\text{IC}_{50}$  ของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงทุกวิธีการสกัดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบค่า  $\text{IC}_{50}$  ความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดซูเครสของสารสกัดด้วยน้ำใข้จากธรรมชาติและจากการเลี้ยง

หมายเหตุ \*มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่วิธีการสกัดเดียวกัน

## อภิปรายผล

### ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากผลการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติที่ใช้วิธีการสกัดต่างกันพบว่า สารสกัดใข้จากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี  $100\text{ }^{\circ}\text{C}/1.5\text{ h}$  มีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ  $27.249 \pm 0.10$  สอดคล้องกับการศึกษาของ Praychoen, Praychoen & Phongtongpasuk (2013) ซึ่งรายงานว่าการให้ความร้อนสูงกว่า  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  มีผลให้สารฟลูเคอเนมและกิจกรรมต้านอนุมูลลดลงแต่สารฟลาโวนอยด์บางกลุ่มมีความคงตัวต่อความร้อนซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lou, Hsu, & Ho (2014) พบว่าสารฟลาโวนอยด์บางชนิดสกัดออกมาด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างกัน  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  และ  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  คือ Naringin, Hesperidin และ 3', 5'-di-C- $\beta$ -glucopyranosylphloretin (DGPP) ทั้งนี้จากการตรวจสอบเอกสารพบว่ายังไม่มีรายงานการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใข้ที่สกัดด้วยน้ำ อย่างไรก็ตามปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดด้วยน้ำทั้งจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงมีปริมาณมากกว่าสารสกัดด้วยเอทานอลของพืชน้ำสกุลริคเซีย (*Ricciafluitans*) ซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ  $10.6 \pm 4.1\text{ }\mu\text{g/mg extract}$  (Turkoglu, & Parlak (2014) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zakaria, Ibrahim, Sulaiman, & Supardy (2011) ที่กล่าวว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้จากพืชมีแนวโน้มที่จะละลายน้ำได้เนื่องจากมักเป็นสารจำพวกโพลีโพลีไซต์



## การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

### 1. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระวิธี DPPH radical scavenging

จากผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน พบว่าสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 50 °C/6 h มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.017 \pm 0.00$  และ  $0.082 \pm 0.012$  mg/mL ตามลำดับ และสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำกว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากการเลี้ยงซึ่งหมายความว่ามีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะทางกายภาพของสิ่งแฉะลอมที่ไข่น้ำเจริญอยู่ เช่น อุณหภูมิ คุณภาพน้ำ และสารอาหารในน้ำมีความแตกต่างกัน ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีภายในเซลล์แตกต่างกันทำให้ความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระต่างกัน อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษานี้พบว่าสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 50 °C/6 h มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าไข่น้ำชนิด *W. globosa* ที่สกัดด้วย Hexane และ Acetone:Methanol (1:1) (AcMeOH) ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $77.57 \pm 0.83$  และ  $35.81$   $\mu$ g/mL ตามลำดับ (Meechai, 2010) ไข่น้ำชนิด *W. globosa* แบบสดและแบบลวกในสารละลายไซโตคลอโรฟอร์มที่สกัดด้วย 95% Ethanol ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 16.5 และ 33.4 mg/mL ตามลำดับ (Saengthongpinit et al., 2017)

### 2. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระวิธี Scavenging activity of ABTS radical

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติที่ใช้วิธีการสกัดต่างกัน พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 75 °C/3 h มีความสามารถในการยับยั้ง ABTS<sup>•+</sup> ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 25 °C/12 h ซึ่งมีค่า  $IC_{50} = 0.016 \pm 0.00$  และ  $1.092 \pm 0.04$  mg/mL ตามลำดับ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำทั้งจากธรรมชาติและการเลี้ยงมีความสามารถในการยับยั้ง ABTS<sup>•+</sup> ได้ดีกว่าไข่น้ำชนิด *W. globosa* แบบสดและแบบลวกในสารละลายไซโตคลอโรฟอร์มที่สกัดด้วย 95% Ethanol ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 20.5 และ 24.1 mg/mL ตามลำดับ (Saengthongpinit, Sricharoen, & Krangpreecha, 2017) และไข่น้ำชนิด *W. arrhiza* ทั้งแบบสด แบบแห้งและแบบแช่เยือกแข็งหลังการละลายน้ำแข็งที่ไม่ผ่านการสกัด ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $4.39 \pm 0.04$ ,  $6.50 \pm 0.06$  และ  $5.82 \pm 0.06$  mg/mL ตามลำดับ (Niyanuch, 2010)

### 3. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเบาหวาน โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ( $\alpha$  - Glucosidase) ชนิดมอลเทส (maltase) และซูเครส (sucrase) พบว่าความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดมอลเทสของสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติที่สกัดด้วยวิธี 100 °C/1.5 h มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $IC_{50} = 8.346 \pm 0.033$  mg/mL) ส่วนสารสกัดไข่น้ำจากการเลี้ยงที่สกัดด้วยวิธี 50 °C/6 h มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $IC_{50} = 19.380 \pm 0.004$  mg/mL) เมื่อพิจารณาฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทส พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำจากธรรมชาติมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดของไข่น้ำที่ได้จากการเลี้ยงเนื่องจากมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yin, Zhanga, Fenga, Zhanga, & Kanga (2014) พบว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 37 ชนิด ที่สกัดแยกเป็นสารบริสุทธิ์ได้จากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสทั้งชนิดมอลเทสและซูเครสซึ่งมีความสัมพันธ์กับการศึกษาในผักสลัดน้ำที่พบว่ามีสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูคือสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก (Damsud & Kaewpiboon, 2016) จากผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำของไข่น้ำทั้งจากธรรมชาติมีความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดมอลเทสได้ดีกว่าส่วนสกัด 90% Methanol ของผักสลัดน้ำที่มีศักยภาพยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้เล็กของหนูชนิดมอลเทสได้ดีที่สุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $12.32 \pm 5.21$  mg/mL (Damsud & Kaewpiboon, 2016)

ความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดซูเครสของสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงที่ใช้วิธีสกัดต่างกัน โดยสารสกัดด้วยน้ำของใข้ที่สกัดจากธรรมชาติด้วยวิธี 4 °C/24 h มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $IC_{50} = 1.723 \pm 0.02$  mg/mL) ส่วนใข้จากการเลี้ยงพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใข้ที่สกัดด้วยวิธี 100 °C/1.5 h มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ( $IC_{50} = 19.380 \pm 0.004$  mg/mL) และมีแนวโน้มว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดซูเครส คือ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์เนื่องจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) พบว่าสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใข้ที่สกัดด้วยวิธี 100 °C/1.5 h มีความสัมพันธ์เชิงลบกับความสามารถในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดซูเครส ( $r = -0.893$ ) ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Lou et al. (2014) พบว่าสารฟลาโวนอยด์ชนิด Naringin, Hesperidin และ 3', 5'-di-c- $\beta$ -glucopyranosylphloretin (DGPP) สามารถสกัดออกมาได้ในอุณหภูมิสูง ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสชนิดซูเครสได้ดีกว่าส่วนสกัด 90% Methanol ของผักสลัดน้ำ ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.54 \pm 1.53$  mg/mL) (Damsud & Kaewpiboon, 2016) และส่วนสกัดขึ้น Methanol ของขมิ้นอ่อน ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $25.32 \pm 8.36$  mg/mL) (Damsud, Chanwun, Srimek, & Songsang, 2017) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารขี้ผึ้งนั้นสามารถจับกับโครงสร้างหรือตรงบริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site) ของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากลำไส้หนูได้ดี (Borges, Da Silveira Gomes, & Carvalho, 2006) เนื่องจากสารขี้ผึ้งส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์หรือฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ที่มีน้ำตาลติดอยู่กับโครงสร้าง (Thanakosai & Phuwapraisirisan, 2013)

## สรุป

จากการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ทางชีวภาพของใข้จากธรรมชาติและการเลี้ยงพบว่ามีความแตกต่างกัน โดยสารสกัดด้วยน้ำของใข้จากธรรมชาติมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าการเลี้ยงและมีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าใข้มีความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ เนื่องจากสารสกัดด้วยน้ำของใข้สามารถยับยั้งการทำงานของแอลฟาไกลูโคซิเดส ทำให้ชะลอการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดจากข้อมูลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าใข้มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเป็นตัวช่วยลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสำหรับการรักษาโรคเบาหวานได้

## ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาชนิดของสารพิษเคมีที่สกัดออกมาในทุกช่วงอุณหภูมิ
2. ควรมีการวิเคราะห์ GC - MS (gas chromatography - mass spectrometry) ของสารสกัดในแต่ละวิธี เพื่อให้ทราบชนิดและปริมาณของกลุ่มสารที่พบในสารสกัดแต่ละสภาวะ
3. ควรมีการศึกษาในตัวอย่างละลายอินทรีย์ชนิดอื่นเพื่อค้นหาตัวอย่างละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญในใข้
4. ควรมีการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับการนำสารสกัดจากใข้ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ตลอดจนนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคต

## รายการอ้างอิง (References)

Borges de Melo, E., Da Silveira Gomes, A. & Carvalho, I. (2006).  $\alpha$ - and  $\beta$ -Glucosidase inhibitor: chemical structure and biological activity. *Tetraedron*, 62(44), 10277-10302.



- Buddhakala, N., Talubmook, C., Posri, S. & Buatone, S. (2015). Effects of Ginger Extract in the Treatment of Diabetic Rats. *RMUTP Research Journal Special Issue The 5<sup>th</sup> Rajamangala University of Technology National Conference*, 302-311.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Damsud, T., Grace, M.H., Adisakwattana, S. & Phuwapraisirisan, P. (2014). Orthosiphon A from the aerial parts of *Orthosiphonaristatus* is putatively responsible for hypoglycemic effect via alpha-glucosidase inhibition. *Natural Product Communication*, 9, 639-641.
- Damsud, T. & Kaewpiboon, C. (2016). In Vitro  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of the Watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) Extracts. *Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)*, 11(2) , 65-74.
- Damsud, T., Chanwun, T., Srimek, N. & Songsang, S. (2017). Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of Young Jackfruit (*Artocarpusheterophyllus*) Extract. *KKU Science Journal*, 45(3), 543-550.
- Kamtchoung, P., Kahpui, S.M., Dzeufiet, P.D., Tédong, L., Asongalem, E.A. & Dimo, T. (2006). Anti-diabetic activity of methanol/methylene chloride stem bark extracts of *Terminaliasuperba* and *Canariumschweinfurthii* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(3), 306-309.
- Kratchanova, M., Denev, P., Ciz, M., Lojek, A. & Mihailov, A. (2010). Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. *ActaBiochimicaPolonica*, 57(2), 229-234.
- Lou, S.N., Hsu, Y.S. & Ho, C.T. (2014). Flavonoid compositions and antioxidant activity of calamondin extracts prepared using different solvents. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 290-295.
- Meechai, P. (2010). *Antioxidant activities and minerals contents of local edible aquatic plants in the northeastern of Thailand*. Master's Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University. (in thai)
- Niyanuch, U. (2010). *The Postharvest Changes of Composition and Antioxidant Activity of Wolffiaarrhiza (Linn) Wimm*. Master's Thesis, Department of Food Technology, Faculty of Technology, KhonKaen University (in Thai) .
- Nutrition Division (2001). *Nutritive Values of Thai Foods*. Nutrition Division, Department of Health. Ministry of Public Health (in Thai)
- Panwanitdumrong, K. (2009). *Studies on Factors Effecting Growth of Wolffia (Wolffiaarrhiza (L.) Wimm.) and Methodology for Mass Production Culture*. Master's Thesis, Department of Fishery Management, Faculty of Fisheries, Kasetsart University (in Thai)
- Praychoen, P., Praychoen, P. & Phongtongpasuk, S. (2013). Effect of thermal treatment on phytochemical content and antioxidant activity of GacJuice. *Burapha Science Journal*, 18, 90-96.



- Rao, P., Prabhu, P.P. & Pandey, S. (2010). Anti-diabetic activity of methanol/methylene chloride extract of *Terminaliasuperba* leaves on streptozotocin induced diabetes in rat. *International Journal of PharmTech Research*, 2(4) , 2415-2419.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Raksakaew, K., Penpapai, P. & Chankaew, W. (2018). Antioxidant activity of aqueous extracts from water meal (*Wolffiaglobosa* (Roxburgh) Den Hartog & Van der Plas) . In *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Endemic Botanical Conference of Thailand* (pp. PC06:1-7). Chiang Rai: Mae FahLuang University (in Thai)
- Ruekaewma, N., Piyatiratitivorakul, S. & Powtongsook, S. (2015). Culture system for *Wolffiaglobosa* L. (Lemnaceae) for hygiene human food. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 37, 575-580.
- Saengthongpinit, W., Sricharoen, B. & Krangpreecha, M. (2017). Effect of Blanchingin Sodium Chloride Solution on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Water Meal (*Wolffiaglobosa*) . *The 55<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference* (pp. 671-677). Bangkok: Kasetsart University (in Thai) .
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
- Thanakosai, W. & Phuwapraisirisan, P. (2013). First indentification of alpha-glucosidase inhibitors from okra (*Abelmoschusesculentus*) seeds. *Natural product communications*, 8, 1085-1088.
- Türkoğlu, S. & Parlak, A.E. (2014). Determination of total phenolic and total flavonoid contents and antioxidant capacities of an aquatic plant (*Ricciafluitans*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 31, 35-40.
- Yin, Z., Zhanga, W., Fenga, F., Zhanga, Y. & Kanga, W. (2014).  $\alpha$ -Glucocidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3, 136-174.
- Zakaria, N.A., Ibrahim, D., Sulaiman, S.F. & Supardy, N.A. (2011). Assessment of antioxidant activity, total phenolic content and invitro toxicity of Malaysian red seaweed, *Acanthophoraspicifera*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, 182-191.