

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
ของสารสกัดพืชหางนกยูง

Decomposition Antioxidant, Antimicrobial Activities,
Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content of
Delonix regia (Boj. ex Hook.) Raf. Extracts

สุภกร บุญยีน*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ปาริยา ณ นคร และนिरมล ศากยวงศ์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Supakorn Boonyuen*

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Pariya Na Nakorn and Niramol Sakayawong

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Klong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ปัจจุบัน สมุนไพรและเครื่องเทศถูกนิยมนำมาสกัดด้วยสารประกอบอินทรีย์หรือน้ำ เพื่อใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหรือใช้ทางการแพทย์ ด้วยสมบัติของสารสกัดที่มีสารประกอบพอลิฟีนอลที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกไม้ เนื้อไม้ และดอกของต้นหางนกยูง ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เมทานอล เฮกเซน เมทิลีนคลอไรด์ และเอทิลอะซิเตท การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารสกัดถูกทดสอบโดยใช้สารละลาย 2,2-ไดฟีนิล-1-พิกิลไฮดราซิล-ไฮเดรต (DPPH) เป็นอนุมูลอิสระ และการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดใช้วิธีโฟลีนซิโอแคลตู ในขณะที่การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใช้วิธีของดาร์ว จากผลการวิจัยพบว่าเมทานอลและเอทิลอะซิเตท เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้ดี โดยเฉพาะในการสกัดจากดอกหางนกยูงโดยให้ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประสิทธิภาพสูงมากที่สุด ($IC_{50} = 39.07 \pm 0.64$ ppm) รวมทั้งปริมาณฟีนอลทั้งหมด และ

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 193.565 ± 2.855 mg GAE/g sample dry wt. และ 196.444 ± 0.419 mg QE/g sample dry wt. ตามลำดับ และส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกัน และมากกว่าสารสกัดในส่วนอื่นของพืชหางนกยูง อีกทั้งสารสกัดจากดอกหางนกยูงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ สารสกัดจากส่วนของพืชชนิดใดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณมาก โดยสารสกัดนั้นมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งแบคทีเรียได้ในปริมาณมากเช่นกัน

คำสำคัญ : สารประกอบฟีนอลทั้งหมด; สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด; ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The antioxidant properties, total phenolic content and total flavonoid content of different extracting parts, including flowers, bark and wood of *Delonix regia* (Boj. ex Hook.) Raf., with different solvents (hexane, methanol, dichloromethane and ethyl acetate), were examined using the stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-hydrate (DPPH) as free radical scavenging method, the Folin-Ciocalteu method, respectively. Total flavonoid was analyzed by the Down's method. Methanol and ethyl acetate extracts gave the strongest antioxidant capacity, with highest IC_{50} of 39.07 ± 0.64 ppm. Ethyl acetate extract exhibited the highest content of phenolic and flavonoid compounds especially from the flowers part. The total phenols were found as 193.565 ± 2.855 mg GAE/g sample dry wt. and the total flavonoid were detected as 196.444 ± 0.419 mg QE/g sample dry wt. On the basis of results obtained, ethyl acetate and methanol have a potential use as solvent to extract the active compounds. The flower part extracts exhibited the greatest amount of both phenolic and flavonoid compounds, that results the great value for antioxidant activity and have ability to inhibit bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In general, the greater content of antioxidant compound found, the better antimicrobial activities were observed.

Keywords: total phenol; total flavonoid; antioxidation activity

1. คำนำ

หางนกยูง [*Delonix regia* (Boj. ex Hook.) Raf.] เป็นพืชที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่สมัยโบราณ เพื่อใช้ในการรักษาโรค มีสรรพคุณขับไล่หิด ระบุ รักษาอาการท้องร่วง และโรคบิด จากรายงานของ Jin Feng Hua และคณะ (2006) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของต้นหางนกยูงเป็นสารในกลุ่ม homoisoflavonoids สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Parekh

และคณะ (2005) ที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลในส่วนของใบของต้นหางนกยูงมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ นอกจากนี้สารสกัดจากฝักของหางนกยูงมีฤทธิ์ในการยับยั้งรา *Candida albicans* และ *Aspergillus niger* (Sushakar et.al, 2006) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการก่อโรค Candidiasis cryptococcosis และ Aspergillosis โดยทำให้ผู้ป่วยเป็นโรคมุ้มน้ำคั่งในปอด จากงานวิจัยของ Farrukh Aqil และคณะ

(2004) ได้รายงานผลงานวิจัยของเนื้อไม้ส่วนลำต้นของหางนกยูงที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β -lactamase จากแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่แพร่กระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ มักพบที่ผิวหนังและจมูกของมนุษย์และสัตว์ ก่อให้เกิดโรค เช่น ฝี หนอง ปอดอักเสบ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้าง enterotoxin ออกมาในอาหาร ซึ่งทนความร้อนได้พอสมควร เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเชื้อเจริญอยู่หรือไม่เชื้อแต่มีพิษอยู่ จะทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย โดยอาการมักเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลันส่วนมากไม่มีไข้ ในรายที่มีอาการรุนแรงอาจช็อกได้ (สมหมาย และคณะ, 2553)

ผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการใช้สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของหางนกยูง เพื่อใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคหลายชนิด ประกอบกับต้นหางนกยูงเป็นพืชที่เป็นสัญลักษณ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เพื่อให้เห็นคุณค่าของพืชหางนกยูง งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการสกัดหยาบจากหางนกยูงและติดตามปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยมุ่งศึกษาในแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยได้เลือกสกัดสารจากส่วนของดอก เปลือกไม้ และเนื้อไม้ของหางนกยูง เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการหาสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าหรือดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางเภสัชวิทยา ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทางการแพทย์ต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 กลุ่มตัวอย่าง

หางนกยูงที่นำมาศึกษาได้เก็บตัวอย่างบริเวณด้านหน้าตึกโดมบริหารของ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2557 โดยเก็บตัวอย่างส่วนของเนื้อไม้ เปลือกไม้ และดอกของหางนกยูง *Delonix regia* (Boj. ex Hook.) Raf. ซึ่งได้นำมาตรวจสอบเอกลักษณ์สมุนไพรจากการดูลักษณะภายนอก และเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชมาตรฐานของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ นำตัวอย่างที่เก็บได้มาล้างให้สะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาบดหยาบ แล้วนำไปบดให้ละเอียด เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้น

เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ คือ แบคทีเรีย *Escherichia coli* (TISTR 780) และแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (TISTR 885)

การเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย โดยตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด คือ เนื้อไม้ เปลือกไม้ และดอกของหางนกยูง นำล้างให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งสองตำแหน่ง จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเครื่องอบ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

2.2 การสกัดสารสำคัญจากตัวอย่าง

ตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัด ได้แก่ เมทานอล เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และเมทิลีนคลอไรด์ โดยนำตัวอย่างทั้ง 3 ส่วน ชั่งด้วยเครื่องชั่ง 50.00 กรัม เติมตัวทำละลาย 450 มิลลิลิตร จากนั้นแช่และเขย่าด้วยอัตราเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman® No. 4 และล้างเศษตกค้างด้วยสารละลายที่ใช้ในการสกัด จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เก็บสารละลายที่สกัดได้ลงในภาชนะและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการสลายตัว

ของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (total phenolic compound, TPC) (Pitchaporn *et al.*, 2014)

สารสกัดหยาบที่ได้ถูกนำมาศึกษาโดยใช้วิธีฟอลินชิโอแคลทูดัดแปลงตามวิธีของ Pitchaporn และคณะ (2014) ด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ความเข้มข้น 10 % โดยปริมาตร ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดจากตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 % โดยน้ำหนัก ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และนำปราชจากไอออนปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา ณ อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 731 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลเป็น blank นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานเป็น มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ($\mu\text{g GAE/mg dry wt.}$)

2.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid compound, TFC) (Onanong *et al.*, 2011)

โดยวิธี Down's method และดัดแปลงตามวิธีของ Onanong และคณะ (2011) โดยเติมน้ำปราชจากไอออน 1.25 มิลลิลิตร ในขวดสีชา เติมสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ตามด้วยสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 5 % โดยน้ำหนัก ปริมาตร 75 ไมโครลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้

5 นาที จากนั้นเติมอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ความเข้มข้น 10 % โดยน้ำหนัก ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เจือจางด้วยน้ำปราชจากไอออนปริมาตร 275 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดตัวอย่างเป็น blank นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานควิซิดิน และรายงานผลเป็น มิลลิกรัมของควิซิดินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ($\mu\text{g QE/mg dry wt.}$)

2.5 การตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดด้วยวิธี DPPH assay

ดัดแปลงตามวิธีของ Sharma และ Bhat (2009) โดยเติมสารละลายอนุมูลอิสระเสถียร DPPH 0.08 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และเจือจางด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ปรับความเข้มข้นช่วง 10-100 ppm) รวมทั้งปรับปริมาตรให้เป็น 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลเป็น blank แทนสารสกัดตัวอย่างเพื่อคำนวณค่า A_B นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณร้อยละของความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระจาก DPPH [free radical scavenging activity (%)] ดังสมการ

$$\% \text{ FRSA} = \frac{(A_B - A_S) \times 100}{A_S} \quad (1)$$

เมื่อ A_B คือ absorbance of blank, A_S คือ absorbance of sample

การทดสอบหาความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ให้ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ในการศึกษาหาค่า IC_{50} ได้ทดสอบโดยเตรียมสารละลายตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 50, 100 ppm โดยเติมในสารละลาย DPPH ที่มีปริมาตรเท่ากัน และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระแล้วสร้างความสัมพันธ์ ระหว่าง ร้อยละการยับยั้ง และความเข้มข้นของสารตัวอย่าง โดยกราฟเส้นตรงที่ได้จะถูกนำมาหาค่าสมการเชิงเส้นและคำนวณ เพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ใช้เพื่อให้ร้อยละ การยับยั้งเป็น 50 ค่าความเข้มข้นดังกล่าว คือค่า IC_{50} ดังรายงานผลในตารางที่ 1

2.6 ศึกษาความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Yuen and Eric, 2014)

แบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* และแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* (MSSA) ถูกนำมากระตุ่นให้เจริญบนอาหารแข็ง nutrient agar นำเชื้อทดสอบที่เตรียมความเข้มข้นไว้ 10^5 - 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อ และใช้วิธีการ spread plate technique จากนั้นรอให้เชื้อแห้ง แล้วนำแผ่น sterile blank disk (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) วางในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อข้างต้นแล้วกดเบา ๆ หยดสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงบน sterile blank disk โดยหยดตรงกลางแผ่นในลักษณะตั้งตรง เพื่อให้สารกระจายได้สม่ำเสมอ โดยใช้ตัวทำละลายสารตัวอย่างทุกชนิดเป็นเมทานอล solvent control และใช้สารละลาย penicillin เป็น positive control จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เมื่อบ่มเชื้อจนครบ

16 ชั่วโมงแล้ว อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีแบคทีเรียเจริญเติบโต (inhibition zone) และหักลบกับตัวทำละลายแล้วจึงรายงานผลในหน่วยเซนติเมตร

ตารางที่ 1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 % (IC_{50}) (n = 3)

ส่วนประกอบของพืช	ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	IC_{50} (ppm)
ดอกหางนกยูง	เมทานอล	75.26±0.544
	เฮกเซน	540.30±0.54
	เอทิลอะซิเตท	39.07±0.64
	เมทิลีนคลอไรด์	208.29±1.20
เนื้อไม้หางนกยูง	เมทานอล	304.21±0.47
	เฮกเซน	2987.33±1.56
	เอทิลอะซิเตท	356.81±1.93
	เมทิลีนคลอไรด์	1079.33±0.30
เปลือกไม้หางนกยูง	เมทานอล	63.63±0.50
	เฮกเซน	155.07±0.24
	เอทิลอะซิเตท	114.05±0.35
	เมทิลีนคลอไรด์	176.06±0.47

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการสกัดสารประกอบฟีนอลทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกไม้ ดอก และเนื้อไม้ของหางนกยูง ซึ่งในการวิจัยนี้ได้สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน คือ เมทานอล เอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้ปรากฏว่าส่วนต่าง ๆ ของหางนกยูง และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใน

ดอกหางนกยูงที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 193.565 มิลลิกรัม กรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (mg GAE/g dry wt.) ส่วนการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ดอกหางนกยูงที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด

เช่นกัน เท่ากับ 196.444 มิลลิกรัม คิวชิตินต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (mg QE/g dry wt.) และการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH พบว่าดอกหางนกยูงที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 76.604 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (n = 3)

ส่วนประกอบของพืช	ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	TPC (mg GAE/g dry wt.)	TFC (mg QE/g dry wt.)	FRSA (%)
ดอก หางนกยูง	เมทานอล	112.401±0.017	88.457±0.732	61.496±0.043
	เฮกเซน	31.082±0.042	142.338±0.397	27.671±0.172
	เอทิลอะซิเตต	193.565±0.364	196.444±0.154	76.604±0.039
	เมทิลีนคลอไรด์	41.735±0.763	133.399±0.0483	37.272±0.057
เนื้อไม้ หางนกยูง	เมทานอล	55.205±0.643	60.447±0.996	27.355±0.274
	เฮกเซน	11.266±0.687	160.935±0.453	9.713±0.016
	เอทิลอะซิเตต	42.180±0.597	112.306±0.721	26.390±0.009
	เมทิลีนคลอไรด์	29.260±0.079	151.369±0.678	17.896±0.016
เปลือกไม้ หางนกยูง	เมทานอล	159.759±0.893	163.916±0.438	67.353±0.007
	เฮกเซน	76.871±0.392	128.409±0.993	43.314±0.043
	เอทิลอะซิเตต	101.538±0.427	157.870±0.832	48.994±0.293
	เมทิลีนคลอไรด์	60.658±0.039	102.640±0.196	42.987±0.311

ผลการวิจัยนี้พบว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเมทานอล สามารถสกัดสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้ดี และส่งผลต่อประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างแต่ละชนิด โดยจากผลการวิจัยยังยืนยันว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตมีความสามารถในการสกัดสารมีขั้วประเภทฟีนอลและฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของความมีขั้วของตัวทำละลาย (Parekh, *et al.*, 2005)

ผลของ IC₅₀ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสาร ซึ่งในการวิเคราะห์จะทำการตรวจวัดด้วยวิธี DPPH และใช้วิตามินซี เป็นสารมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบผลการวิจัยแสดงในตารางที่ 1 ผลการวิจัยแสดงว่าดอกหางนกยูงที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตให้ค่า IC₅₀ ต่ำที่สุด เท่ากับ 39.07±0.64 ppm กรณีเนื้อไม้ที่ได้จากการสกัดด้วยเฮกเซน ให้ค่า IC₅₀ สูงที่สุด เท่ากับ 2,987.33±1.56 ppm ทั้งนี้ แสดงให้

เห็นว่าในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารดังกล่าวจะไม่ถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว จากผลการวิจัยดังกล่าว สอดคล้องกับรายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบก่อนหน้านี้ การใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วในการสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางยามักนิยมใช้ เอทิลอะซิเตทหรือแอลกอฮอล์ ดังมีรายงานการเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารจากพืชเพื่อใช้ทางยา (Aqil, *et al.*, 2005)

ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่นำมาศึกษา พบว่าในทุกตัวอย่างให้ค่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีในตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่าง ๆ ของพืชที่นำมาศึกษา พบว่าในส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากดอกจะให้ค่า IC_{50} ต่ำที่สุด 39.07 ± 0.64 ppm ในขณะที่สารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อไม้จะให้ค่าสูงที่สุด ซึ่งแสดงถึงการมีประสิทธิภาพต่ำที่สุด โดยให้ค่า 356.81 ± 1.93 ppm จากผลการวิจัยดังกล่าวจะเป็นตัวช่วยในการคัดเลือกส่วนของพืชเพื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์และหาสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำไปใช้ต่อไป

3.2 ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลและเอทิลอะซิเตท

การที่สารสกัดจากเมทานอลและเอทิลอะซิเตทให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในปริมาณที่สูง ผู้วิจัยจึงเลือกตัวอย่างที่ได้จากการสกัดหยาบของตัวทำละลายทั้งสองชนิด มาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* โดยเชื้อทั้งสองเป็นตัวแทนของแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกตามลำดับ พบว่าตัวอย่างสารสกัดเอทิลอะซิเตทดอกหางนกยูงสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* และมี inhibition zone สูงที่สุด ส่วนเปลือกไม้หางนกยูงให้

ค่า inhibition zone รองลงมา ส่วนเนื้อไม้หางนกยูงจะมี inhibition zone น้อยที่สุด

ผลการวิจัยดังกล่าวมีความสอดคล้องกับประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบในตัวอย่างของสารสกัดหยาบที่ได้ ดังนั้นประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจึงน่าจะสัมพันธ์กับปริมาณของสารที่ตรวจพบในพืชหางนกยูง ซึ่งจากผลการวิจัยสารสกัดหยาบของดอกหางนกยูงมีประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระสูง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง และให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้เช่นกัน โดยให้ค่า inhibition zone ดังแสดงในตารางที่ 3 ทั้งนี้ผลการวิจัยดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Sudhakar, *et al.*, 2006; Parekh and Chanda, 2007; Jirum and Srihanam, 2012; Veigas, *et al.*, 2012; Manu Kumar and Vanitha, 2014)

4. สรุป

ดอกหางนกยูงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (TPC) และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) สูงที่สุด รวมทั้งมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอสสูงที่สุด โดยพิจารณาในกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษา และยังให้ค่า IC_{50} ต่ำสุด โดยตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารสำคัญออกจากดอกหางนกยูงได้ดีที่สุด คือ เอทิลอะซิเตท แสดงค่า IC_{50} , TPC และ TFC เป็น 39.07 ± 0.64 ppm, 193.565 mg GAE/g dry wt. และ 196.444 mg QE/g dry wt. ตามลำดับ สารสกัดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งแบคทีเรียในปริมาณที่สูงเช่นกัน โดยในตัวอย่างที่กล่าวมาข้างต้นให้ค่า inhibition zone สำหรับ *S. aureus* และ *E. coli* เป็น 1.97 ± 0.18 และ

1.81±0.11 cm ตามลำดับ เพื่อเป็นการนำสารสกัดจากดอกหางนกยูงไปใช้ ต้านอนุมูลอิสระไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชและทางการแพทย์ต่อไป

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการทดลองการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* (n = 3)

ส่วนประกอบของพืช	ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	Inhibition zone (cm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
เปลือกไม้หางนกยูง	methanol	1.71±0.07	1.59±0.04
	ethyl acetate	1.57±0.11	1.35±0.14
เนื้อไม้หางนกยูง	methanol	1.31±0.14	1.32±0.04
	ethyl acetate	1.46±0.04	1.32±0.04
ดอกหางนกยูง	methanol	1.74±0.04	1.65±0.04
	ethyl acetate	1.97±0.18	1.81±0.11

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้สนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ทุนสนับสนุนการวิจัย ม.ธ. และ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือเพื่อให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ ศูนย์เครื่องมือรวม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

6. รายการอ้างอิง

ขวัญดาว แจ่มแจ้ง, 2555, สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชร, ว.มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม 13(2): 32-41.
ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549,ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืช

สมุนไพรไทยบางชนิด, ว. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 8(2): 76-88.

สมหมาย ปะติตั้งโช, 2553, การต้านอนุมูลอิสระและการต้านการเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดพญาวานร, ว.มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ วิชาการ 125: 123-136.

Parekh, J., Jadeja, D. and Chanda, S., 2005, Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity, J. Turk Biol. 29: 203-210.

Aqil, F., Sajjad, M., Owaisi, M. and Ahmad, I., 2005, Effect of certain bioactive plant extracts on clinical isolates of β -lactamase producing methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, J. Basic Microbiol. 45: 106-114.

Sudhakar, M., Rao, C.V., Rao, P.M., Raju, D.B. and Venkateswarlu, Y., 2006, Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*, Fitoterapia 77: 378-380.

Parekh, J. and Chanda, S.V., 2007, *In vitro* antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants, J. Turk Biol. 31: 53-58.

Jirum, J. and Srihanam, P., 2012, Oxidants and antioxidants: Sources and mechanism, ISSN 2229-2276.

Veigas, J.M., Divya, P. and Neelwarne, B., 2012, Identification of previously unreported pigments among carotenoids and anthocyanins in floral petals of *Delonix regia* (Hook.) Raf., Food Res. Int. 47: 116-123.

- Manu Kumar, H.M. and Vanitha, M.T., 2014, Comparative evaluation of *in vitro* anthelmintic potency of *Delonix regia* (Rafin.) and *Caesal pinapulcherrima* (Linn.) flower extracts by aqueous and methanol as a solvent, IJPRD 5(12): 33-40.
- El-Sayed, A.M., Ezzat, SM., Salama, M.M. and Sleem, A.A., Hepatoprotective and cytotoxic activities of *Delonix regia* flower extracts, Pharmacognosy J. 3(19): 49-56.
- Pitchaporn, W., Naret, M. and Sirithon, S., 2014, Effects of different treatments on the antioxidant properties and phenolic compounds of rice bran and rice husk, Food Chem. 157: 457-463.
- Onanong, K., Sirithon, S., Natthida, W. and Naret, M., 2011, Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand, J. Funct. Foods 3: 88-99.
- Sharma, O.P. and Bhat, T.K., 2009, DPPH antioxidant assay revisited, Food Chem. 113: 1202-1205.
- Yuen, P.T. and Eric, W.C.C., 2014, Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and *Piper betle*, Food Biosci. 6: 17-23.