

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนผักขำ

Antioxidant Activity of Hot Water Extract of *Momordica cochinchinensis* Lour. (Spreng.) Young Leaves and Stems

อชิดา จารุโชติกมล*, ปวีตรา พูลบุตร, คณิงนิตย์ คำภากุล,
วรารณณ์ ยุกบลพาส, ภุริดา นาสิงบุตร, กนกนุช จันทะคาม,
อารภาภิษฐ์ บัวเขียว, เกสรารณณ์ งามญาติ และฐิติพร พลศรี

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Achida Jaruchotikamol*, Pawitra Pulbutr, Kanuengnit Kamphakul,
Waraphorn Yubonpas, Phurida Nasingbut, Kanoknook Chantacarm,
Arphaphit Bourkhiao, Kesaraporn Ngamyart and Thitiporn Polsri

Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Khamriang, Kantarawichai, Maha Sarakham 44150

บทคัดย่อ

ผักขำ (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) เป็นพืชใช้บริโภคที่พบมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีสรรพคุณลดไข้ รักษาการอักเสบ และโรคผิวหนัง ผักขำส่วนผลและเมล็ดมีฤทธิ์ต่าง ๆ ได้แก่ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาฤทธิ์ของยอดอ่อนผักขำเมื่อสกัดด้วยน้ำยังมีน้อยมาก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนผักขำ 3 ส่วน เปรียบเทียบส่วนยอดอ่อนกับส่วนผลอ่อนและผลสุก โดยใช้พืชสดมาสกัดเพื่อเลียนแบบการปรุงอาหารของผักขำคือการลวกและการต้ม พบว่าส่วนยอดอ่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนผลอ่อนและผลสุก โดยสารสกัดส่วนยอดอ่อนในการทดสอบ DPPH assay พบค่า IC_{50} เท่ากับ 23.06 ± 10.28 $\mu\text{g/mL}$ วิธี FRAP assay ค่า VCEAC, TEAC และ FRAP value เท่ากับ 18.75 ± 1.86 , 28.87 ± 1.16 , 54.05 ± 5.02 g/100 g extract ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในการประเมินผลของสารสกัดด้วยน้ำร้อนของยอดอ่อนผักขำที่เตรียมมาจากพืชสดและอบแห้ง พบว่าสารสกัดที่เตรียมจากพืชสดมีฤทธิ์ที่ดีกว่า (ABTS assay, ค่า $IC_{50} = 10.83 \pm 3.84$ และ 51.76 ± 4.57 $\mu\text{g/mL}$, ตามลำดับ) สรุปผลการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนผักขำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงมาก โดยเฉพาะเมื่อเตรียมจากพืชสด การบริโภคพืชนี้จึงน่าจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ควรมีการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและความเป็นพิษเพิ่มเติมในระดับต่อไป

คำสำคัญ : ยอดอ่อน; ผักขำ; สารสกัดน้ำร้อน; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

Abstract

Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng. (MC) is an edible plant widely found in Southeast Asia. This plant is used for treatment of fever, inflammation, and skin infections. The pulp and seed of MC possess several activities such as anticancer, antioxidant, etc. However, only a few studies of the young leaves and stems of MC and aqueous extract have been evidenced so far. The present study aimed to investigate the antioxidant activities of hot water extract from three parts of MC [young leaves and stem (YLS), unripe pulp (URP), and ripe pulp (RP)] and to compare their activities. Fresh MC was extracted according to the cooking method (blanched and boiled). YLS showed a higher antioxidant activity than URP and RP with an IC_{50} value of 23.06 ± 10.28 $\mu\text{g/mL}$ in DPPH assay. For FRAP assay, the VCEAC, TEAC and FRAP values of the YLS are 18.75 ± 1.86 , 28.87 ± 1.16 and 54.05 ± 5.02 g/100 g extract, respectively. These antioxidant activities correlated with total phenolic and flavonoid contents. Evaluation of the YLS extracted from fresh and dry plant found that the extract of fresh material had better activities (ABTS assay; IC_{50} value = 10.83 ± 3.84 and 51.76 ± 4.57 $\mu\text{g/mL}$, respectively). In conclusion, these studies revealed the high antioxidant activities of the MC hot water extract of YLS especially, prepared from fresh plant. Thus, taking this edible plant as food is likely to be benefit for the health. Further pharmacological study and toxicological test should be determined.

Keywords: young leaf and stem; *Momordica cochinchinensis*; hot water extract; antioxidant activity; phenolic compound and flavonoid

1. บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) ได้แก่ superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$) และ alkoxy ($RO^{\cdot}$) เป็นต้น เป็นสารที่ไม่เสถียร สามารถทำลายไขมัน โปรตีน สารพันธุกรรม เซลล์ และเนื้อเยื่อ เป็นสาเหตุของความเสื่อมของร่างกายทำให้เกิดภาวะแก่ รวมถึงเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน โรคการเสื่อมของระบบประสาท โรคเบาหวาน โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง เป็นต้น [1-3] อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ทั้งในกระบวนการทำงานปกติของร่างกายและเมื่อได้รับสารเคมี-ยา-มลภาวะจากสิ่งแวดล้อม มี

การควบคุมปริมาณของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่มีอยู่แล้วในร่างกาย ได้แก่ glutathione, superoxide dismutase, catalase, uric acid, bilirubin เป็นต้น [4,5] อย่างไรก็ตาม ก็ยังจำเป็นที่ต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเพิ่มเติม เพื่อเสริมการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายดังกล่าว และยังช่วยป้องกันอันตรายของอนุมูลอิสระที่เกิดจากการได้รับสารเคมีและมลภาวะในชีวิตประจำวัน [6-8] สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติสามารถพบได้ในพืชผัก ผลไม้ หรือสมุนไพรต่าง ๆ พืชข้าวหรือ Gac (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) เป็นพืชตระกูล

แต่งที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืช พบในประเทศเวียดนาม อินเดีย บังคลาเทศ ลาว พม่า ไทย และจีน นิยมนำมาประกอบเป็นอาหาร [9] สรรพคุณพบว่า รากและใบเมื่อนำมาต้มน้ำดื่มช่วยแก้ไข้ ถอนพิษ แก้ปวดเมื่อย ขับเสมหะ เมล็ดคั่วและบดเป็นผงแห้งผสมกับน้ำมันทาช่วยแก้แอกเสบวมข้ำ รักษาโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกื้อน [10] สารสกัดของฟักข้าวส่วนผลและเมล็ดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายฤทธิ์ เช่น ต้านมะเร็ง [11-13] ปรับระบบภูมิคุ้มกัน [14] ต้านอักเสบ [15] และต้านอนุมูลอิสระ [16,17] สำหรับสารสำคัญในฟักข้าว พบว่าผล เมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวส่วนใหญ่มีสารกลุ่ม carotenoids (β -carotene, α -carotene, lutein และ lycopene) [9,17-19] เมล็ดและรากของฟักข้าวมีสาร saponin และ momordin [20,21] และเปลือกผล เนื้อผล เยื่อหุ้มเมล็ด และเมล็ดมีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อยู่หลายชนิด [17] งานวิจัยส่วนใหญ่ของฟักข้าวเป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มีการศึกษาน้อยมากที่สกัดฟักข้าวโดยการใช้ น้ำ ซึ่งการสกัดฟักข้าวด้วยน้ำเป็นวิธีที่มีความคล้ายคลึงกับการนำฟักข้าวมาประกอบอาหาร อีกทั้งการศึกษาฤทธิ์ของยอดอ่อนฟักข้าวยังมีอยู่จำกัด การศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟักข้าวส่วนยอดอ่อนเปรียบเทียบกับส่วนผลอ่อนและผลสุก พืชส่วนดังกล่าวนิยมนำมาใช้ประกอบอาหาร ได้แก่ ยอดอ่อนนิยมนำมาลวกเป็นผักรับประทานกับน้ำพริก ผลอ่อนและผลสุกนิยมนำมาต้มเป็นแกงรับประทาน ดังนั้นจึงการสกัดพืชตัวอย่างด้วยวิธี hot water extraction เพื่อเลียนแบบการปรุงอาหารข้างต้น นอกจากนี้ยังได้หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดทั้งสามส่วน อีกทั้งได้ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ โดยศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนฟักข้าวใน 2 รูปแบบ คือ

สารสกัดที่เตรียมจากพืชสดหรือจากพืชอบแห้ง ซึ่งการอบแห้งจะทำให้เลียนแบบเป็นชาขงสำหรับดื่ม ผลการศึกษารังนี้ทำให้ทราบว่าส่วนของสารสกัดน้ำร้อนของฟักข้าวที่มีฤทธิ์ที่ดี ทราบแนวทางการนำฟักข้าวไปใช้ประโยชน์เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งเป็นข้อมูลในการส่งเสริม สนับสนุนการบริโภค หรือการพัฒนาพืชพื้นบ้านของไทยชนิดนี้ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมี

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH; Sigma, USA), s-6-methoxy-2, 5, 7, 8-tetramethoxychromane-2-carboxylic acid (Trolox; Aldrich, USA), 2, 4, 6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), gallic acid, quercetin, 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS; Fluka, Japan), ascorbic acid (Asc), Folin-Ciocalteu reagents (Carlo erba reagent, Italy) สารเคมีทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองเป็นสารเคมีมาตรฐานจากบริษัท

2.2 พืชตัวอย่าง

ฟักข้าวที่ใช้ในการศึกษารังนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.พัชริน ส่องศรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์โดย ผศ.ดร.วันดา ไทรชมภู คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม รหัสพืชตัวอย่าง ฟักข้าวส่วนยอดอ่อนและผลอ่อนสายพันธุ์ราชบุรี คือ MSU_PH-CUR-MC1 และฟักข้าวส่วนผลสุกสายพันธุ์นครปฐม คือ MSU_PH-CUR-MC2 โดยเก็บฟักข้าวส่วนยอดอ่อน ผลอ่อน และผลสุกในช่วงเดือนสิงหาคม-ตุลาคม พ.ศ. 2556 (พืชก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำร้อนจะเป็นรูปแบบสด) นอกจากนี้ฟักข้าวเฉพาะส่วนยอดอ่อนจะเก็บอีกครั้งในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (พืชก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำร้อนมีทั้งรูปแบบ

สดและอบแห้ง) เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดที่สกัดเลียนแบบการลวกกินสดและการชงชา

โดยมีรายละเอียดส่วนที่นำมาทดสอบดังต่อไปนี้ (1) ยอดอ่อน คือ ส่วนเฉพาะใบและยอดของเถาอ่อนที่เด็ดได้ด้วยมือ (2) ผลอ่อน คือ ส่วนเฉพาะเนื้อผลสีขาวอมเขียวที่มีส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและส่วนเมล็ดอ่อนสีขาว (เปลือกภายนอกจะมีสีเขียว) และ (3) ผลสุก คือ ส่วนเฉพาะเนื้อผลที่มีสีเหลืองส้มจนถึงแดง (เปลือกภายนอกจะมีสีเหลืองหรือแดง เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดงสด และเมล็ดแข็งมีสีน้ำตาล)

2.3 การสกัดพืชตัวอย่าง

คัดเอาส่วนเน่าเสียออก ล้างด้วยน้ำสะอาดจำนวน 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง เลือกเอาส่วนพืชตามที่กำหนดข้างต้น จากนั้นสกัดโดยใช้วิธีการต้ม (decoction) ที่อุณหภูมิ 100 °C ในตัวทำละลาย deionized distilled water ดังรายละเอียดดังนี้

2.3.1 พืชรูปแบบสดที่นำมาสกัด มี 3 ส่วน

(1) ยอดอ่อน นำยอดอ่อนสดมาหั่นให้มีขนาด 1 cm หรือเล็กกว่า สกัดโดยวิธีการต้มในน้ำที่ต้มเดือด ใช้เวลาแช่ไม่เกิน 5 นาที ทิ้งให้เย็น นำกากตัวอย่างพืชที่ได้ไปปั่นหยาบ คั้นด้วยตะแกรง กรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น จำนวน 2 รอบ และนำของเหลวที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้ Buchner funnel อีก 2 รอบ

(2) ผลอ่อน นำผลอ่อนสดมาปอกเปลือกออก หั่นเนื้อผลทั้งผลให้มีขนาด 1×1 cm หรือเล็กกว่า สกัดโดยวิธีการต้มนาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นหยาบ นำสารสกัดและกากตัวอย่างพืชที่ได้มาคั้นด้วยตะแกรง กรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น จำนวน 2 รอบ กรองต่อด้วยสำลี 2 รอบ นำของเหลวที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้ Buchner funnel อีก 2 รอบ

(3) ผลสุก นำผลสุกสดมาปอกเปลือกและผ่าเอาเมล็ดออก หั่นเนื้อผลให้มีขนาด 1×1 cm

หรือเล็กกว่า สกัดโดยวิธีการต้มนาน 30 นาที นำสารสกัดและกากตัวอย่างพืชที่ได้มาปั่นหยาบ คั้น และกรองเช่นเดียวกับวิธีการสกัดส่วนผลอ่อน

2.3.2 พืชรูปแบบอบแห้งที่นำมาสกัด มี 1 ส่วน คือ ยอดอ่อน นำมาหั่นเป็นท่อนยาวประมาณ 15-20 cm อบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 40 °C จนกระทั่งแห้งสนิท จากนั้นนำยอดอ่อนที่แห้งแล้วมาบด นำไปต้ม 5 นาที และแช่กากพืชทิ้งไว้ต่อไปจนครบ 30 นาที (ทำให้เหมือนการชงชา) นำกากพืชมาทำซ้ำอีก 4 รอบ นำของเหลวที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น จำนวน 2 รอบ และกรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้ Buchner funnel อีก 2 รอบ

สารสกัดเหลวที่ได้จะถูกทำให้แห้งโดยเครื่อง freeze dryer บันทึกข้อมูลของสารสกัดแห้งและหา % yield เก็บสารสกัดไว้ในภาชนะปิดสนิทและที่บ่มแสงที่อุณหภูมิ -20 °C โดย % yield และลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้สำหรับพืชรูปแบบสด 3 ส่วน ได้แก่ ยอดอ่อน ผลอ่อน และผลสุก เท่ากับ 1.51 % (ผงหยาบสีเขียวปนเหลือง) 1.07 % (ผงหยาบสีขาวนวล) และ 1.63% (ผงหยาบมีสีส้ม) ตามลำดับ ในขณะที่พืชรูปแบบอบแห้ง คือ ยอดอ่อน เท่ากับ 3.64 % (ผงหยาบสีเขียวปนน้ำตาล)

2.4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 DPPH assay [22]

นำสารละลาย 63.4 μ M DPPH ปริมาตร 180 μ L มาทำปฏิกิริยากับสารทดสอบปริมาตร 20 μ L ใน 96-well plate บ่มในที่มืด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ณ เวลาการทำปฏิกิริยา 30 นาที ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณอนุมูลอิสระ DPPH ที่ยังคงเหลืออยู่ หากสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ลดลง คำนวณค่าร้อยละความ สามารถในการเข้าจับและยับยั้งอนุมูลอิสระที่เสถียร DPPH (%inhibition)

ดังสมการ %inhibition = $[(OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}) \div OD_{\text{control}}] \times 100$ โดยรายงานผลเป็นร้อยละความสามารถในการเข้าจับและยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงสุด (maximum response, R_{max}) และความเข้มข้นของสารที่สามารถเข้าจับและยับยั้งอนุมูลอิสระที่เสถียร DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) เปรียบเทียบผลการทดลองกับสารมาตรฐาน คือ ascorbic acid (Asc)

2.4.2 FRAP assay [23]

นำสารละลาย FRAP reagent (acetate buffer, TPTZ, ferric chloride solution อัตราส่วน 10 : 1 : 1 ตามลำดับ) ปริมาตร 180 μL มาทำปฏิกิริยากับสารทดสอบปริมาตร 20 μL ใน 96-well plate บ่มในที่มืด และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ณ เวลาของการทำปฏิกิริยาที่ 15 นาที นำค่าที่ได้มาวาดกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสาร รายงานผลด้วยค่าความชันของเส้นกราฟ (slope) คำนวณค่าเปรียบเทียบผลที่ได้กับสารมาตรฐาน คือ ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสมมูลกับ Asc (ascorbic equivalent antioxidant capacity, AEAC), trolox (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) และ FeSO_4 (FRAP value)

2.4.3 ABTS assay [24]

เตรียมสารละลาย ABTS reagent โดยผสม 7 mM ABTS (ใน 95 % ethanol) 10 mL กับ 51.4 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (ใน DI) 0.5 mL ตั้งเก็บไว้ในที่มืด 12-16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเจือจาง ABTS reagent ด้วย 95 % ethanol ด้วยสัดส่วน 1 : 30 และปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ของ ABTS reagent ให้อยู่ในช่วงประมาณ 0.7 ± 0.2 [25] ด้วย 95 % ethanol ในการทดสอบให้นำสารละลาย ABTS reagent ที่เตรียมไว้ปริมาตร 200 μL มาทำปฏิกิริยากับสารทดสอบปริมาตร 20 μL ใน 96-well plate บ่ม

ในที่มืด และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ณ เวลาของการทำปฏิกิริยาที่ 5 นาที วิธีนี้เป็นวิธีวัด $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ที่คงเหลืออยู่ หากสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ลดลง คำนวณค่า % inhibition รายงานผลเป็นค่า IC_{50} เปรียบเทียบผลการทดลองกับสารมาตรฐาน คือ Asc

2.5. การทดสอบหาสารสำคัญ

2.5.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

[26]

ใช้ Folin-ciocalteu colorimetric method โดยมี gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ขั้นตอนการทดสอบ คือ นำสารทดสอบปริมาตร 20 μL ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 10 % Folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 100 μL จากนั้นเติม 7.5 % sodium carbonate ปริมาตร 80 μL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของ gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาวาดกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสาร จะได้สมการเส้นตรง เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณ gallic acid equivalent (GAE) ของสารสกัด ในหน่วย $\mu\text{g GAE/mg extract}$

2.5.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม [27]

ใช้ aluminium chloride colorimetric method โดยมี quercetin เป็นสารมาตรฐาน ขั้นตอนการทดสอบ คือ นำสารทดสอบปริมาตร 50 μL ทำปฏิกิริยากับ 10 % aluminium chloride ปริมาตร 10 μL เติม 95 % เอทานอล ปริมาตร 150 μL และ 1 M sodium acetate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) ปริมาตร 10 μL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของ quercetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาวาดกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น

ของสาร จะได้ผลการเส้นตรง เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณ quercetin equivalent (QE) ของสารสกัดในหน่วย $\mu\text{g QE/mg extract}$

2.6. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลแสดงด้วยค่า $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ ($n=2-3$) ใช้โปรแกรม GraphPad Prism version 6 ในการคำนวณหา IC_{50} และใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Student's t-test หรือ one-way analysis of variance (one-way ANOVA), Bonferroni post-hoc test สำหรับกลุ่มตัวอย่าง 2 หรือมากกว่า 2 กลุ่ม ตามลำดับ และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย Pearson correlation test และการทดสอบโดยใช้ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ 0.05 หากค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างทางสถิติ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดจากฟักข้าวรูปแบบสด

3.1.1 DPPH assay

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนของฟักข้าวด้วย DPPH assay พบว่าสารสกัดมี radical scavenging activity ต่อสาร DPPH สารสกัดส่วนยอดอ่อน ผลอ่อน และ Asc มี R_{max} เท่ากับร้อยละ 103.33 $\pm$ 7.01, 77.54 $\pm$ 9.77 และ 95.78 $\pm$ 1.52 ตามลำดับ มี IC_{50} เท่ากับ 23.06 $\pm$ 10.28, 153.80 $\pm$ 6.16 และ 2.04 $\pm$ 0.53 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่ง IC_{50} ของส่วนยอดอ่อนมีค่าน้อยกว่าส่วนผลอ่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) และส่วนผลอ่อนมีค่า IC_{50} แตกต่างจาก Asc ($p < 0.001$) ดังแสดงในตาราง 1 สรุปว่าสารสกัดส่วนยอดอ่อนมีฤทธิ์

เป็น radical scavenger ที่ดีกว่าส่วนผลอ่อน สารสกัดน้ำร้อนจากฟักข้าวส่วนผลสุกไม่นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ในครั้งนี้อาจเกิดจากการตกตะกอนของสารละลายระหว่างการทำปฏิกิริยาแม้จะทดสอบในความเข้มข้นต่ำ ๆ คือ 50 $\mu\text{g/mL}$

Asc จัดเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเป็น radical scavenger ที่แรงมาก ซึ่งค่า IC_{50} ของ Asc ในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 2.04 $\pm$ 0.53 $\mu\text{g/mL}$ [22,28] เมื่อพิจารณาค่า R_{max} พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนของฟักข้าวส่วนยอดอ่อนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ถึงร้อยละ 100 เช่นเดียวกับ Asc ในขณะที่ส่วนผลอ่อนมีฤทธิ์ต่ำกว่า (ค่า R_{max} ประมาณร้อยละ 70-80) การศึกษาที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay เช่นเดียวกันของ Uddin และคณะ ที่ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเมทานอลของฟักข้าวส่วนใบได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 38.73 mg/mL [29] และการศึกษาของ Kubola และ Siriamornpun ที่ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเมทานอลของฟักข้าวส่วนเนื้อผลอ่อนได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 2.35 mg/mL [17] ซึ่งค่า IC_{50} ทั้ง 2 งานวิจัย ดังกล่าวมีค่าสูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำของฟักข้าว น่าจะออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล

3.1.2 FRAP assay

พบว่าการเกิดปฏิกิริยาของสารทดสอบเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อคำนวณค่าสมมูลกับสารมาตรฐานต่าง ๆ ค่า VCEAC, TEAC และ FRAP value ส่วนยอดอ่อนมีความแตกต่างจากส่วนผลอ่อนและผลสุกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ดังแสดงในตาราง 1 จากการทดสอบด้วย FRAP assay นี้สรุปได้ว่าสารสกัดส่วนยอดอ่อนมีฤทธิ์เป็น reducing agent ที่ดีกว่าส่วนผลอ่อนและผลสุก และสารสกัดด้วยน้ำของฟักข้าวส่วนยอดอ่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเป็น reducing agent ได้ประมาณ 1/5 - 1/2 เท่าของสาร

มาตรฐาน (w/w) ผลการทดลองด้วยวิธี FRAP assay
นี้เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการทดสอบด้วยวิธี
DPPH assay

สารสกัดส่วนยอดอ่อนมีปริมาณสาร
ประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าส่วนผลอ่อนและผลสุก
($p < 0.001$) (ตาราง 1)

3.1.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม
(total phenolic compound)

3.1.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total
flavonoid)

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay (IC_{50}) และ FRAP assay (VCEAC, TEAC และ FRAP value) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม

ส่วนของ ผักข้าว	DPPH assay	FRAP assay			Total phenolic ($\mu\text{g GAE/mg}$ extract)	Total flavonoid ($\mu\text{g QE/mg}$ extract)
	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	VCEAC (g/100 g extract)	TEAC (g/100 g extract)	FRAP value (g/100 g extract)		
ยอดอ่อน	23.06 $\pm$ 10.28	18.75 $\pm$ 1.86	28.87 $\pm$ 1.16	54.05 $\pm$ 5.02	159.34 $\pm$ 1.02	15.08 $\pm$ 0.71
ผลอ่อน	153.80 $\pm$ 6.16	1.20 $\pm$ 0.04	1.92 $\pm$ 0.13	3.75 $\pm$ 0.17	11.80 $\pm$ 0.74	0.27 $\pm$ 0.07
ผลสุก	not determined	0.17 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.06	0.787 $\pm$ 0.20	9.88 $\pm$ 0.27	0.38 $\pm$ 0.14

ตารางที่ 2 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay

Assays	ยอดอ่อน		ผลอ่อน		ผลสุก	
	Total phenolic ($\mu\text{g GAE/mg}$ extract)	Total flavonoid ($\mu\text{g QE/mg}$ extract)	Total phenolic ($\mu\text{g GAE/mg}$ extract)	Total flavonoid ($\mu\text{g QE/mg}$ extract)	Total phenolic ($\mu\text{g GAE/mg}$ extract)	Total flavonoid ($\mu\text{g QE/mg}$ extract)
DPPH assay (IC_{50})	-1	-1	-1	-1	not determined	
FRAP assay (VCEAC, TEAC, FRAP value)	0.999	0.998	0.999	0.998	0.999	0.998

สารสกัดน้ำผักข้าวส่วนยอดอ่อนมี
ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าส่วนผลอ่อนและผลสุก
($p < 0.001$) (ตาราง 1)

การหาความสัมพันธ์ด้วย Pearson
correlation test ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

รวมหรือฟลาโวนอยด์รวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อ
ทดสอบด้วย 2 วิธี คือ DPPH assay (IC_{50}) และ FRAP
assay (VCEAC, TEAC, FRAP value) พิจารณาจากค่า
สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
พบว่าฤทธิ์มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบ ฟิ

นอลิกและฟลาโวนอยด์รวม (ตาราง 2) เมื่อหาสัดส่วน ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมต่อสารประกอบ ฟีนอลิก รวมของสารสกัดนี้ฟักข้าวส่วนยอดอ่อน ผลอ่อน และผลสุกได้ค่าประมาณ 0.1, 0.02 และ 0.048 ตามลำดับ สารสำคัญที่เป็นไปได้ในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการศึกษาค้นนี้น่าจะเกี่ยวข้องกับ ปริมาณสารดังกล่าวที่มีในส่วนยอดอ่อน

ซึ่งเป็นที่ทราบแล้วว่าสารประกอบ ฟีนอลิกเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยเฉพาะ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ [30] สัดส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่อสารประกอบฟีนอลิกรวมส่วนยอดอ่อนมีค่าสัดส่วนมากกว่าส่วนอื่น ๆ ซึ่งปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีการพิสูจน์แล้วว่ามียับยั้งการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [30] ดังนั้นในการศึกษาค้นนี้จึงเป็นไปได้ว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์น่าจะเป็นสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ยอดอ่อน ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลการศึกษาถึงสารสำคัญในส่วนยอดอ่อนหรือใบฟักข้าว มีเพียงข้อมูลการศึกษาในส่วนเปลือกผล เนื้อผล เยื่อหุ้มเมล็ด เมล็ด ราก ลำต้น และเถาเลื้อย เช่น การศึกษาของ Kubola และ Siriamornpun พบสารสำคัญในเปลือก เนื้อผล และเยื่อหุ้มเมล็ด คือ สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่พบได้ในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อผล (ของผลทุกระยะ) รวมถึงในเยื่อหุ้มเมล็ด ได้แก่ lycopene, β -carotene, lutein กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ในส่วนเปลือกผลและเนื้อผล (ของผลทุกระยะ) รวมถึงเยื่อหุ้มเมล็ด ได้แก่ hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic acid ในขณะที่สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบจะแตกต่างกันไป ดังนี้ ในส่วนเปลือกผล ได้แก่ myricetin, luteolin, quercetin, apigenin ในส่วนเนื้อผลอ่อน ได้แก่ rutin, myricetin, luteolin, quercetin, apigenin, kaemferol ในส่วนเนื้อผลสุก ได้แก่ rutin, myricetin, luteolin, quercetin, apigenin ส่วนเนื้อผลแก่ ได้แก่

rutin, myricetin และในส่วนเยื่อหุ้มเมล็ด ได้แก่ rutin, myricetin, quercetin, apigenin [17] ข้อมูล สารสำคัญในฟักข้าวของการศึกษาอื่น ๆ พบว่าส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดมีสาร α -carotene, fatty acid [19] vitamin E [31] ส่วนเมล็ดมีสาร β -carotene, lycopene, zeaxanthin, β -cryptoxanthin [18] ส่วนราก ลำต้น เถาเลื้อยมีสารกลุ่ม saponins และ momordins [20, 21] การที่สารสกัดน้ำร้อนของฟักข้าวส่วนผลอ่อนและผลสุกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยว่า ส่วนยอดอ่อน อาจเกี่ยวข้องกับความสามารถในการละลายน้ำของสารสำคัญ คือ สารกลุ่มแคโรทีนอยด์มีค่าการละลายน้ำที่ต่ำ ไม่สามารถถูกสกัดออกมาในการสกัดด้วยน้ำ ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่าจะถูกสกัดออกมาได้มากกว่า ดังนั้นการที่ผลของฟักข้าวมีสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มากกว่าสารอื่น ๆ เมื่อสกัดด้วยน้ำจึงอาจทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระออกมาน้อยกว่า ในขณะที่ส่วนยอดอ่อนอาจมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มากกว่า เมื่อสกัดด้วยน้ำจึงปรากฏฤทธิ์นี้ชัดเจนกว่าส่วนผล [26,27]

ผลการทดลองข้างต้นพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนจากยอดอ่อนฟักข้าวที่สกัดจากพืชสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และเพื่อการพัฒนาของยอดอ่อนฟักข้าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่สะดวกในการนำมาใช้ประโยชน์ จึงได้ศึกษาต่อโดยเตรียมยอดอ่อนฟักข้าวในรูปอบแห้ง ก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำร้อนเพื่อเลียนแบบการเตรียมชาขง นำผลการทดลองเปรียบเทียบกับสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนฟักข้าวที่เตรียมจากพืชสด (สกัดด้วยวิธี เดิม) โดยทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay รวมทั้งหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม

3.2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดจากยอดอ่อนฟักข้าวรูปแบบสดและอบแห้ง

3.2.1 DPPH assay

ค่า IC_{50} ของสารสกัดยอดอ่อนผักขำที่สกัดจากพืชสด พืชอบแห้ง และสารมาตรฐาน Asc มีค่าเท่ากับ 19.54 ± 2.00 , 247.80 ± 35.71 , และ 2.51 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดน้ำร้อนที่เตรียมจากพืชสดออกฤทธิ์ได้ดีกว่าสารสกัดที่เตรียมจากพืชรูปแบบอบแห้ง ($p = 0.005$) และไม่แตกต่างจาก Asc ในขณะที่สารสกัดจากพืชรูปแบบอบแห้งออกฤทธิ์ด้อยกว่า Asc อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.004$)

3.2.2 ABTS assay

ค่า IC_{50} ของสารสกัดยอดอ่อนผักขำที่สกัดจากพืชสด พืชอบแห้ง และสารมาตรฐาน Asc มีค่าเท่ากับ 10.83 ± 3.84 , 51.76 ± 4.57 , และ 1.99 ± 0.46 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดน้ำร้อนที่เตรียมจากพืชสดออกฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดที่เตรียมจากพืชรูปแบบอบแห้ง ($p < 0.001$) และไม่แตกต่างจาก Asc ในขณะที่สารสกัดจากพืชรูปแบบอบแห้งออกฤทธิ์ด้อยกว่า Asc ($p < 0.001$) เช่นเดียวกับการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay

3.2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic compound)

สารสกัดน้ำร้อนยอดอ่อนผักขำที่เตรียมจากพืชสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดจากพืชอบแห้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีค่า เท่ากับ 195.62 ± 5.26 และ 55.57 ± 1.29 $\mu\text{g GAE/mg extract}$ ตามลำดับ

3.2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid)

สารสกัดน้ำร้อนยอดอ่อนผักขำที่เตรียมจากพืชสดมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าสารสกัดจากพืชอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) โดยมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ

24.11 ± 1.52 และ 17.49 ± 0.61 $\mu\text{g QE/mg extract}$ ตามลำดับ

ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาของการสกัดอาจส่งผลต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด [32] นอกจากนี้ความร้อนยังส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญทั้งสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ฟลาโวนอยด์รวม [33] ดังนั้นวิธีการอบแห้งพืชด้วยความร้อนในการศึกษาค้นคว้านี้ จึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้อยลง รวมถึงทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมลดลง สำหรับการนำยอดอ่อนผักขำไปใช้ประโยชน์ หากนำมาลวกรับประทานน่าจะให้ประโยชน์มากกว่าการต้มแกง หรือนำมาอบแห้งเป็นใบชา และในการคงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไว้สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดนี้ อาจจำเป็นต้องพิจารณาหาวิธีอื่นที่ใช้ความร้อนน้อยที่สุดต่อไป

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดน้ำร้อนของผักขำส่วนยอดอ่อน (ใบและเถาอ่อน) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าส่วนผลอ่อนและผลสุก โดยเฉพาะเมื่อสกัดจากพืชสด การบริโภคยอดอ่อนผักขำโดยการลวกเป็นผักรับประทานน่าจะให้ประโยชน์ต่อสุขภาพ เนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ [6-8] แม้ว่าการศึกษานี้จะทำให้ทราบว่าสารสกัดผักขำนั้นจะได้ประโยชน์จากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะส่วนยอดอ่อน แต่ควรพิจารณาถึงเรื่องความเป็นพิษของพืชด้วยเช่นกัน จากการศึกษาของ Rahman และคณะ ที่ศึกษาความเป็นพิษจากสารสกัดของผักขำส่วน aerial part (ใบและเถา) ที่สกัดด้วยเมทานอลในเซลล์ brine shrimp nauplii (*Artemia salina*) พบว่าสารสกัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.91 ± 0.79 $\mu\text{g/mL}$ [34] แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วย

เมทานอลสามารถทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ IC_{50} ในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่ามีค่าที่สูงกว่าระดับที่ทำให้เกิดความเป็นพิษข้างต้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Klungsunya และคณะ ที่ศึกษาสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของผักขาวในส่วนต่าง ๆ ของผลสุก ที่ความเข้มข้นสุทธิ $1,000 \mu\text{g/mL}$ เมื่อบ่มนาน 4 ชั่วโมง ไม่พบความเป็นพิษใน TK6-cell (human lymphoblast cell line) [35] เมื่อพิจารณาวิธีการสกัดของการศึกษาในครั้งนี้ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเช่นเดียวกับการศึกษาของ Klungsunya และคณะ [35] ประกอบกับผักขาวทั้งในส่วนยอดอ่อนและผลเป็นส่วนที่ใช้บริโภคอย่างแพร่หลายและไม่พบการเกิดพิษหรืออันตรายจากการบริโภคพืชนี้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าการสกัดด้วยน้ำอาจมีความปลอดภัยกว่า อย่างไรก็ตาม ควรศึกษาเพื่อยืนยันความเป็นพิษของสารสกัดผักขาวด้วยน้ำเพิ่มเติมต่อไป ซึ่งข้อมูลจะช่วยให้มีความมั่นใจในการนำผักขาวมาใช้ประโยชน์มากขึ้น

4. สรุป

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนของยอดอ่อนผักขาวโดยเฉพาะเมื่อสกัดจากพืชสด มีประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม ยังจำเป็นต้องศึกษายืนยันฤทธิ์เพิ่มเติมในเซลล์หรือสัตว์ทดลอง รวมถึงทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดชนิดนี้ การศึกษาถึงสารสำคัญอื่น ๆ ซึ่งจะช่วยให้ทราบชนิดของสารที่มีในสารสกัดน้ำผักขาว โดยเฉพาะในส่วนยอดอ่อน ซึ่งยังไม่มีข้อมูลดังกล่าวในปัจจุบัน นอกจากนี้ควรมีการศึกษาหาวิธีการสกัดที่ใช้ความร้อนต่ำ เพื่อพัฒนาสารสกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สะดวกในการบริโภคโดยยังคงฤทธิ์ที่ดีไว้ได้

5. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ 2557 ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงสำหรับพี่ช้อย่างในการศึกษาครั้งนี้ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.พัชริน ส่องศรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วนิดา ไทรชมภู คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชในการวิจัยครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

- [1] Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F.J.Jr. and Krause, K.H., 2012, Reactive oxygen species: from health to disease, Swiss. Med. Wkly. 142: w13659: 1-14.
- [2] Jiang, T., Sun, Q. and Chen, S., 2016, Oxidative stress a major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease, Prog. Neurobiol. 1468: 1-19.
- [3] Mateen, S., Moin, S., Khan, A.Q., Zafar, A. and Fatima, N., 2016, Increased reactive oxygen species formation and oxidative stress in rheumatoid arthritis, PLoS One 11(4): 1-15.
- [4] Rizzo, A.M., Berselli, P., Zava, S., Montorfano, G., Negroni, M., Corsetto, P. and Berra, B., 2010, Endogenous antioxidants and radical scavengers, Adv. Exp. Med. Biol. 698: 52-67.
- [5] Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. and Zujko, M., 2018, Endogenous non-

- enzymatic antioxidants in the human body, Adv. Med. Sci. 63: 68-78.
- [6] Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, Pharmacogn. Rev. 4: 118-126.
- [7] Rosillo, M., Alarcon, C. and Sanchez, M., 2016, An update on dietary phenolic compounds in the prevention and management of rheumatoid arthritis, Chem. Sci. 7: 2943-2969.
- [8] Basambombo, L., Carmichael, P., Cote, S. and Laurin, D., 2017, Use of vitamin E and C supplements for the prevention of cognitive decline, Ann. Pharmacother. 51: 118-124.
- [9] Vuong, L., Franke, A., Custer, L. and Murphy, S., 2006, *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated, J. Food Compost. Anal. 19: 664-668.
- [10] กรมการแพทย์แผนไทย, 2556, พักข้าว พืชพื้นบ้านมากคุณค่า, หมอชาวบ้าน, กรุงเทพฯ, 48 น.
- [11] Tien, P.G., Kayama, F., Konishi, F., Tamemoto, H., Kasono, K. and Hung, N.T., 2005, Inhibition of tumor growth and angiogenesis by water extract of Gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng), Int. J. Oncol. 26: 881-889.
- [12] Liu, H.R., Meng, L.Y., Lin, Z.Y., Shen, Y., Yu, Y.Q. and Zhu, Y.Z., 2012, *Cochinchina momordica* seed extract induces apoptosis and cell cycle arrest in human gastric cancer cells via PARP and p53 signal pathways, Nutr. Cancer. 64: 1070-1077.
- [13] Zheng, L., Zhang, Y., Liu, Y., Yang X.O. and Zhan, Y., 2015, *Momordica cochinchinensis* Spreng. seed extract suppresses breast cancer growth by inducing cell cycle arrest and apoptosis, Mol. Med. Rep. 12: 6300-6310.
- [14] Xiao, C., Rajput, Z., Bao, G., Hu, S.H. and Soomro, N.A., 2013, Enhancement of the immune responses to vaccination against foot-and-mouth disease in mice by oral administration of quillaja saponaria-A and extracts of cochinchina momordica seed, Span. J. Agric. Res. 11: 84-88.
- [15] Müller-Maatsch, J., Sprenger, J., Hempel, J., Kreiser, F., Carle, R. and Schweiggert, R.M., 2017, Carotenoids from gac fruit aril [*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.] are more bioaccessible than those from carrot root and tomato fruit, Food Res. Int. 99: 928-935.
- [16] Kha, T., Nguyen, M. and Roach, P., 2010, Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder, J. Food Eng. 98: 385-392.
- [17] Kubola, J. and Siriamornpun, S., 2011, Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica*

- cochinchinensis* Spreng), Food Chem. 127: 1138-1145.
- [18] Aoki, H., Kieu, N.T., Kuze, N., Tomisaka, K. and van Chuyen, N., 2002, Carotenoid pigments in GAC fruit (*Momordica cochinchinensis* SPRENG), Biosci. Biotechnol. Biochem. 66: 2479-2482.
- [19] Ishida, B., Turner, C., Chapman, M.H and , McKeon, T.A., 2004, Fatty acid and carotenoid composition of gac (*Momordica cochinchinensis* spreng) fruit, J. Agric. Food Chem. 52: 274-279.
- [20] Song, X. and Hu, S. , 2009, Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs, Vaccine 27: 4883-4890.
- [21] Lin, Z., Liu, X., Yang, F. and Yua, Y.Q., 2012, Structural characterization and identification of five triterpenoid saponins isolated from *Momordica cochinchinensis* extracts by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Int. J. Mass Spectrom. 328-329: 43-66.
- [22] อชิตา จารุโชติกมล, จินตนา ประทุมชาติ, จิราพร พรหมโคตร, ฉวีวรรณ พุ่มเพชร, ศิรินันท์ จันรุ่งคำ, พรทิพย์ วรกิจพูนผล, พรปวีณ์ บรรลึงค์, ปวีตรา พูลบุตร และเบญจมาศ คุณณี, 2561, ผลของไฮโคลอัลลิอินต่อการสลายไขมันและลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 37(2): 245-258.
- [23] อธิกา จารุโชติกมล, พัชรวิทย์ ปั่นเหง่งเพชร, วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์ และวนิดา ไทรชมภู, 2554,ฤทธิ์ต้านไลโปดีเปอร์ออกซิเดชันและต้านออกซิเดชันของสารสกัดผักแพว, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 30(3): 249-261.
- [24] เบญจมาศ คุณณี, อัจฉรา พรหมลาภักษ์, ชญาณิพิมพ์ บุญชู, ธนาวุธ เขาคี, บุญญวัฒน์ บุญระดม, วณิชชกร สิงห์บรรณ, อชิตา จารุโชติกมล, ปวีตรา พูลบุตร, 2562, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอล, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 27(5): in print.
- [25] Cindrić, I. J., Kunštić, M., Zeiner, M., Stinger, G. and Rusak, G., 2011, Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices, Croat. Chem. Acta. 84: 435-438.
- [26] Farasat, M., Khavari-Nejad, R.A., Nabavi, S.M.B. and Namjooyan, F., 2014, Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from northern coasts of the Persian Gulf, Iran. J. Pharm. Res. 13: 163-170.
- [27] Chatatikun, M. and Chiabchalard, A., 2013, Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts, J. Chem. Pharm. Res. 5(4): 97-102.
- [28] Hossain, H., Karmakar, U.K., Biswas, S.K., Shahid-Ud-Daula, A.F., Jahan, I.A., Adnan, T. and Chowdhury, A., 2013, Antinociceptive

- and antioxidant potential of the crude ethanol extract of the leaves of *ageratum conyzoides* grown in Bangladesh, *Pharm. Biol.* 51: 893-898.
- [29] Uddin N., Islam, R., Hasan, N., Hossain, M.S., Roy, A., Hossain, M.M. and Rana, S., 2013, DPPH scavenging assay of eighty-four Bangladeshi medicinal plants, *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 6(5): 66-73.
- [30] Saeed, N., Khan, M. and Shabbir, M., 2012, Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. , *BMC Complem. Altern. Med.* 12: 1-12.
- [31] Burke, D.S., Smidt, C.R. and Vuong, L.T., 2005, *Momordica cochinchinensis*, *Rosa roxburghii*, wolfberry and sea buckthorn-highly nutritional fruit supported by tradition and science, *Curr. Top. Nutraceut. Res.* 3: 259-266.
- [32] Vergara-Salinas, J.R., Pérez-Jiménez, J., Torres, J.L., Agosin, E. and Pérez-Correa, J.R., 2012, Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorized thyme (*Thymus vulgaris*), *J. Agric. Food Chem.* 60: 10920-10929.
- [33] Roshanak, S., Rahimmalek, M. and Goli, S.A., 2016, Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves, *J. Food Sci. Technol.* 53: 721-729.
- [34] Rahman, M., Ahmed, A., Sunny, S. S., Atanu, S. H., Faruque, A. and Rana, S. , 2014, *In vitro* evaluation of cytotoxic and anthelmintic activity of *Luffa acutangula*, *Luffa aegyptiaca* and *Momordica cochinchinensis*, *Br. J. Pharm. Res.* 4: 267-277.
- [35] Klungsupya, P., Saenkhum, J., Muangman, T., Rerk-Am, U., Laovitthayangoon, S. and Leelamanit, W., 2012, Non- cytotoxic property and DNA protective activity against H₂O₂ and UVC of Thai gac fruit extracts in human TK6-cells, *J. App. Pharm. Sci.* 02(04): 04-08.