

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักจ้ำ

Antioxidant and Biological Activities of *Ardisia polycephala* Wall.

บรรพต จอมสุวรรณ^{1*}, ธนศักดิ์ ธาระสาร², ประเสริฐ ไวยะกา³, สุรวุฒิ ไกลลา⁴
Banthot Chomsawan¹, Thanosak Thanasarn², Prasert Waiyaka³, Surawut Jaikla⁴



บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้เพื่อตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพ และตรวจวัดชนิดและปริมาณสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอลในผักจ้ำ โดยตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูล diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) ใช้โทรลอกซ์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน และตรวจวัดชนิดสารสำคัญ โดยการทดสอบคุณสมบัติเชิงคุณภาพด้วยโครมาโทกราฟีแบบผิบบาง ทำการตรวจสอบฟลาโวนอยด์ แทนนิน และโพลีฟีนอล โดยปฏิกิริยาทางเคมีและการทำให้เกิดสี หาปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในรูปกรดแกลลิก โดยเทียบกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH^Y โดยวัดจากค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.035 มก./มล. และเมื่อเทียบความสามารถในการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับโทรลอกซ์ โดยคำนวณเป็นค่า TEAC พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.6857 หน่วย และค่า Specific antioxidant activity มีค่า 0.0173 หน่วยต่อกรัมของสารสกัดแห้ง สารสกัดผักจ้ำที่มีความเข้มข้น 0.1 มก./มล. มีปริมาณโพลีฟีนอลเท่ากับ 0.0397 มก./มล. กลุ่มสารโพลีฟีนอลสำคัญที่ตรวจพบ คือ สารฟีนอลิก แทนนินชนิดรวมตัวแน่น แทนนินที่สลายได้ด้วยน้ำ เออาโรน ซาลโคน ฟลาแวนโนน ฟลาโวน ฟลาโวนอล ฟลาแวนโนล แชนโชน แอนโธไซยานิน แอนโธไซยานิดิน และแคทีชิน ปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัดผักจ้ำมีความสัมพันธ์กับ % Inhibition อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 ($p < 0.01$) เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียพบว่าสมุนไพรดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ผักจ้ำ, โพลีฟีนอล, ดีพีพีเอช

^{1,3} ผู้ช่วยศาสตราจารย์

² อาจารย์

⁴ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

^{1,3} Assistant Professor

² Lecturer

⁴ Technician Lab, Faculty of Science and Technology, Chiang Rai Rajabhat University

* Corresponding Author. Tel. 081-2875495 E-mail: banthod49@gmail.com



Abstract

This study was to investigate antioxidative and biological activities, and active ingredients in *Ardisia polycephala* Wall. (Phuk Jum). The measurement of antioxidation activity was carried out using DPPH as the testing reagent and using Trolox as the standard antioxidant. From the chemical color reactions and TLC., the presence of flavonoid, tannin, and polyphenol was tested and identified. The total polyphenol content in samples was measured by Folin-Ciocalteu method and compared using gallic acid as a standard. The biological activity test on *S. aureus* and *E. coli* by agar disc diffusion method.

The study was found that, the antioxidative activity of Phuk Jum against DPPH showing IC_{50} value of 0.035 mg/ml, and Phuk Jum had a trolox equivalent antioxidative capacity (TEAC) value of 0.6857. But it did not have biological activity. The high proportional correlation was observed between antioxidant activities and total polyphenols ($p < 0.01$). The active ingredients found in this research were phenolic compounds, condensed tannin, hydrolyzable tannin, aurone, chalcone, flavanone, flavone, flavonol, flavanonol, xanthone, anthocyanin, anthocyanidin, and catechin.

Keywords : antioxidant, antioxidative activity, *Ardisia polycephala* Wall., polyphenol, DPPH



ความสำคัญของปัญหา

การดำรงชีวิตของมนุษย์ต้องมีอาหารเป็นสิ่งสำคัญที่สุดโดยเป็นทั้งแหล่งพลังงานและสารอาหารที่สำคัญๆ หลายชนิดที่ร่างกายต้องการ การเลือกรับประทานอาหารที่ดีมีประโยชน์ย่อมทำให้ร่างกายแข็งแรง ดังนั้นค่านิยมหรือวัฒนธรรมการบริโภคอาหารจึงจำเป็นอย่างมากสำหรับผู้คนในปัจจุบัน

คนไทยในอดีตไม่ได้มีปัญหาด้านสุขภาพเหมือนคนไทยในยุคปัจจุบัน ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ต่างกัน คือ การบริโภคอาหาร คนไทยรุ่นก่อนนิยมรับประทานอาหารที่มีผักพื้นบ้านที่ขึ้นตามฤดูกาลเป็นองค์ประกอบแทบทุกมื้อ เช่น แกงผัก แกงแค น้ำพริกผักลวก ลาบรับประทานกับผักสดหลายชนิด ผักพื้นบ้านเป็นแหล่งสารอาหาร คือ เกลือแร่ และวิตามิน เช่นเดียวกับผักตลาดอื่นๆ แต่ปลอดภัยสารพิษ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) เป็นสารที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับสุขภาพ เป็นสารเสริมสุขภาพและมีบทบาทในการรักษาโรค ปัจจุบันเชื่อกันว่าสารเหล่านี้จะปกป้องร่างกายจากโรคหัวใจ โรคมะเร็ง ข้ออักเสบ โรคความดันเลือดสูง และโรคเสื่อมทั้งหลาย ซึ่งทำให้สุขภาพสมบูรณ์ แต่ปัจจุบันคนรุ่นใหม่ไม่ค่อยรับประทานผัก มักรับประทานอาหารที่มีโปรตีนจากเนื้อสัตว์สูง ถ้ารับประทานผักก็จะเป็นผักตลาด ซึ่งเป็นผักมาจากถิ่นอื่น มีการปลูกในเชิงพาณิชย์ต้องใช้สารเคมีทั้งปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

สิ่งที่ขาดไม่ได้ในแต่ละมื้อของอาหารไทยในภาคต่างๆ คือ ผักพื้นบ้านและผักที่เป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา ซึ่งปัจจุบันถูกละเลยจากคนไทยรุ่นใหม่ไม่นิยมรับประทานผัก เพราะไม่เห็นถึงคุณค่าและประโยชน์ของการบริโภคผักเหล่านี้ ซึ่งแท้จริงแล้วผักเหล่านี้ล้วนแต่มีคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพอย่างมาก เช่น มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรช่วยรักษาหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วยต่างๆ ได้ และที่สำคัญในผัก

เหล่านี้มีสารสำคัญ คือ สารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) จัดเป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชันซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยจะช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้มีผลทำลายเซลล์ ซึ่งในทางการแพทย์นั้นสารต้านอนุมูลอิสระนี้สามารถลดสาเหตุของการเกิดโรคหลายๆ โรคได้

วิทยาการใหม่ได้ค้นพบว่าโรคหลายชนิดเกิดขึ้นจากกระบวนการเสื่อมทำลายของเซลล์และอวัยวะต่างๆ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (Free Radicals) ซึ่งอนุมูลอิสระนี้สามารถเกิดขึ้นได้เอง เมื่อร่างกายได้รับสารอินทรีย์บางชนิด และในขณะที่มีออกซิเจนจะทำให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันขึ้นเอง ซึ่งเรียกว่าออกซิเดชัน (Autoxidation) กระบวนการดังกล่าวมักเกิดขึ้นกับไขมัน ดังนั้นจึงเรียกกระบวนการออกซิเดชันนั้นว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid-peroxidation) การเกิดอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากโมเลกุลที่เป็นสารตั้งต้นอาจได้รับความร้อน แสง หรืออิเล็กตรอน จากโมเลกุลที่เป็นสารรีดิวซิง (Reducing Agent) หรืออาจจะเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดที่กระตุ้นให้สารตั้งต้นเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระ ในคนปกติทั่วไปสารอนุมูลอิสระนี้จะเกิดขึ้นเองและสลายตัวไปในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย แต่ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระเพิ่มและสะสมในร่างกายมาก อันเนื่องมาจากพฤติกรรมบริโภคอาหารที่มีสารอนุมูลอิสระสูงเข้าสู่ร่างกาย เช่น ไข่ทอด หมูทอด กุ้งทอด และอาหารที่ทอดด้วยน้ำมันที่ใช้หลายครั้ง หรืออาหารจำพวกปิ้งย่าง เป็นต้น ซึ่งล้วนแต่มีความเสี่ยงต่อการได้รับอนุมูลอิสระสะสมในร่างกาย ถ้าร่างกายสะสมอนุมูลอิสระในปริมาณสูงก็จะก่อให้เกิดความเสียหายและอันตรายต่อร่างกาย อันนำไปสู่ภาวะการเกิดพยาธิสภาพของโรคบางโรคได้ หรือทำให้เซลล์ผิดปกติ โรคที่เกิดจากร่างกายมีอนุมูลอิสระสะสมอยู่ในระดับสูง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ โรคข้ออักเสบ โรคแก่ก่อนวัย โรคต่อกระจาก โรคอัลไซเมอร์ และโรคพาร์กินสัน เป็นต้น ซึ่งแต่ก่อนโรคเหล่านี้พบในคนไทยน้อยมากปัจจุบันเริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้น

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันบรรเทาโรคต่างๆ ข้างต้นได้ สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญๆ ที่พบในผักพื้นบ้าน ได้แก่ เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี และกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

แนวทางในการป้องกันโรคมะเร็ง และโรคอื่นๆ ทางหนึ่ง คือ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักจากงานวิจัยของ Elvira González de Mejía et al. (2006: 1191-1203) ที่ได้ทดลองนำสารสกัดของใบต้น *Ardisia compressa* ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง HT-29 (IC_{50} : 57.9 ± 11.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) และ Caco-2 (IC_{50} : 81.0 ± 27.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) มีฤทธิ์ในการป้องกันโรคมะเร็งได้ เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาเป็นสารป้องกันโรคมะเร็งในอนาคตได้

จากรายงานวิจัยของบรรพต จอมสุวรรณ (2550) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักจ๋า หรือ พิลังกาสา (*Ardisia polycephala* Wall.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากการศึกษาผักพื้นบ้าน 10 ชนิด ผักจ๋าเป็นผักพื้นถิ่นมีรสฝาดนิยมรับประทานเป็นเครื่องเคียงกับน้ำพริก ลาบเนื้อ ลาบหมู และลาบปลา ดังนั้นจึงได้เลือกผักจ๋ามาทำการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักจ๋าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักจ๋า
2. เพื่อตรวจวัดฤทธิ์ทางชีวภาพของผักจ๋าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
3. เพื่อตรวจวัดปริมาณสารโพลีฟีนอลของผักจ๋า



วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและสารเคมี

ผักจ้ำหรือพื้งกาสา (*Ardisia polycephala* Wall.) เก็บโดยการเด็ดยอดใบอ่อนของผักพื้นบ้านที่ก้านยอดให้มีใบอ่อนสดติดอยู่ 3-4 ใบ แล้วใส่ถุงเก็บตัวอย่างแช่น้ำแข็งไว้ และนำไปทดลองภายในเวลา 1 ชั่วโมงเพื่อป้องกันการสูญเสียสารสำคัญ สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ Absolute ethanol (MERCK), Acetone (CARLO ERBA), DPPH (SIGMA), Folin-Ciocalteu reagent (SIGMA), Gallic acid (MERCK), Trolox (Aldrich) และสารเคมีอื่นที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดคุณภาพวิเคราะห์ (analytical grade) หรือเทียบเท่า

การเตรียมสารสกัดจากผักจ้ำ

นำตัวอย่างผักจ้ำสดที่เก็บจากต้นมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บดให้แหลก ซึ่งผักตัวอย่างประมาณ 20 ก. ลงในขวดชมพู่ที่มีเอทานอล 75 มล. ปิดจุกตั้งทิ้งไว้บนเครื่องเขย่า (shaker) นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 ล้างกากตัวอย่างด้วยเอทานอล นำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยที่อุณหภูมิ 45-55°C ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (rotatory evaporator) จนแห้งสนิทได้เป็นส่วนสกัดด้วยเอทานอลสำหรับนำไปทดสอบต่อไป (Savitree Mongkolsilp, et al. 2004)

การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอล

นำสารสกัด เข้มข้น 1 มก./มล. มา 1 มล. ใส่ในหลอดทดลอง เติม Folin-Ciocalteu reagent 0.2 มล. และน้ำกลั่น 2 มล. ผสมให้เข้ากัน เติม 15% โซเดียมคาร์บอเนต จำนวน 1 มล. ตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกับในการทำการกราฟมาตรฐาน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ใช้เอทานอลเป็นแบลนด์ หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในรูปกรดแกลลิก โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Savitree Mongkolsilp, et al. 2004)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ทดสอบความสามารถดักจับอนุมูล DPPH ของสารสกัดตามวิธีการของ Joo-Shin Kim (2005) โดยนำสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ กัน ปริมาตร 1.0 มล. แล้วเติมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 2. มล. ลงไปผสมให้เข้ากัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (positive control) ซึ่งใส่เอทานอล 1 มล. แทนสารสกัดแล้วเติมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 2 มล. ลงไปผสมให้เข้ากัน และชุดควบคุม (negative control) ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดปริมาตร 1 มล. และเอทานอล 2 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตรโดยใช้เอทานอลเท่านั้นเป็น blank นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH (% inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100$$

A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอล และ DPPH

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ DPPH (positive control)

A_2 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และเอทานอล (negative control)

จากนั้นหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH ได้ 50%) จากกราฟระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

การหาค่า Trolox Equivalent Antioxidative Capacity (TEAC) ของสารสกัด

นำสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 0.005–0.045 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. ทำปฏิกิริยากับ DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณหา %Inhibition แล้วเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Trolox กับ %Inhibition หาค่า IC_{50} แล้วคำนวณค่า TEAC ของสารสกัดเทียบกับ Trolox 1 มก. และหาค่า specific antioxidant activity ซึ่งเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการนำค่า TEAC หารด้วยปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมด (ไมตรี และคณะ, 2543)

ผลการทดลองแสดงเป็นค่า mean จากการทดลอง 3 ซ้ำ การหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรค่า IC_{50} ของสารสกัดกับปริมาณโพลีฟีนอล ใช้ Pearson's correlation coefficient analysis โดยการวัด correlation coefficient (r)



ผลการวิจัย

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และตรวจวัดชนิดและปริมาณสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารโพลีฟีนอลกับ %Inhibition ของผักจ้ำ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลการวิจัยมีดังนี้

1. สารสกัดผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH โดยวัดจากค่า IC_{50} เท่ากับ 0.035 มก./มล. และเมื่อเทียบความสามารถในการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับโทรลอกซ์ โดยคำนวณเป็นค่า TEAC พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.6857 หน่วย และค่า Specific antioxidant activity มีค่า 0.0173 หน่วยต่อกรัมของสารสกัดแห้ง
2. สารสกัดผักจ้ำที่มีความเข้มข้น 0.1 มก./มล. มีปริมาณโพลีฟีนอลเท่ากับ 0.0397 มก./มล. เมื่อเทียบเป็นปริมาณ 100 กรัมของผักสด ผักอบแห้ง และสารสกัดแห้ง จะมีปริมาณโพลีฟีนอลเท่ากับ 0.75 8.69 และ 39.65 กรัม ตามลำดับ และผักจ้ำสดมีความชื้นเท่ากับร้อยละ 88.47

สำหรับกลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบในผักจ้ำ ได้แก่ condensed tannin, hydrolyzable tannin, flavanone, flavone, flavonol, xanthone, anthocyanin, anthocyanidin, epigallocatechin gallate, epigallocatechin และ epicatechin gallate

3. ปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัดผักจ้ำ มีความสัมพันธ์กับ %Inhibition อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 ($p < 0.01$) โดยฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH จะสูงขึ้นเมื่อสารสกัดมีปริมาณโพลีฟีนอลมากขึ้น

เมื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด โดยละลายสารสกัดหยาบกลีบด้วย DMSO ความเข้มข้น 100% ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 50% และนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disc diffusion จากการศึกษาพบว่าสารสกัดผักจ้ำไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้



สรุป อภิปรายผล

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในเบื้องต้น ซึ่งอาศัยหลักการคือ เมื่ออนุมูล DPPH ในสารละลายสีม่วงเข้มได้รับอิเล็กตรอนหรือ H จากสารทดสอบจะกลายเป็นสารประกอบ DPPH ที่เสถียรขึ้น และไม่มีสีม่วงเข้มเหมือนกับ DPPH ทำให้ตรวจวัดความสามารถของสารสกัดได้ จากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ลดลง จากการวัดค่า IC_{50} ที่ได้ พบว่าสารสกัดผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH โดยวัดจากค่า IC_{50} เท่ากับ 0.035 มก./มล. และเมื่อเทียบความสามารถในการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับโพลอกร์ โดยคำนวณเป็นค่า TEAC พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.6857 หน่วย และค่า Specific antioxidant activity มีค่า 0.0173 หน่วยต่อกรัมของสารสกัดแห้ง หากเทียบเป็นค่า IC_{50} และ TEAC ผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ได้ดีเมื่อเทียบกับโพลอกร์

เมื่อนำตัวอย่างสารสกัดจากผักจ้ำมาวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลโดยทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu Reagent แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิก จากผลการหาปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัดสารสกัดผักจ้ำที่มีความเข้มข้น 0.1 มก./มล. มีปริมาณโพลีฟีนอลเท่ากับ 0.0397 มก./มล. คิดเป็น 0.75 กรัมต่อ 100 กรัมของผักสด 8.69 กรัมต่อ 100 กรัมของผักอบแห้ง และ 39.65 กรัมต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง

เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ด้วย Pearson's Correlation Coefficient Analysis โดยการวัดค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายใน (Correlation Coefficient; r) ระหว่างค่า %Inhibition พบว่ามีความสัมพันธ์กันโดยมีค่า r เท่ากับ .995 นั่นคือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นเมื่อปริมาณโพลีฟีนอลมีมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ ปณัฐฐา ไชยมุติ (2546: 57) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรพบว่าสารสกัดที่มีสารประกอบโพลีฟีนอลสูงกว่าสารสกัดชนิดอื่นสามารถดักจับอนุมูล DPPH ได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ครั้งนี้ไม่ได้เกิดจากสารโพลีฟีนอลเท่านั้น ยังมีสารอื่นที่อาจออกฤทธิ์ร่วมได้ เช่น เบต้า-แคโรทีน วิตามินอี วิตามิน ซี เอนไซม์แอนติออกซิแดนท์ เป็นต้น ซึ่งจะต้องใช้วิธีแยกวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง เช่น HPLC, GC-MS และ IR ต่อไป

จากผลการตรวจสอบสมบัติเชิงคุณภาพโดย TLC ด้วยการใช้สารสกัดและสารมาตรฐานจุดลงบนแผ่น TLC ใช้แยกด้วยตัวทำละลาย คือ chloroform : ethyl acetate : acetic acid ในอัตราส่วน 5 : 5 : 1 หลังจากนำไปแยกแล้ว นำแผ่น TLC มาฉีดพ่น ด้วย 0.04 % DPPH[•] จะเห็นการเปลี่ยนแปลงในเวลา 2 นาที สารที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะเห็นเป็นสีเหลืองสดบนพื้นแผ่น TLC ที่เป็นสีม่วง โดยการเทียบเท่าค่า R_f อาจระบุชนิดของสารที่เป็นไปได้ 3 ชนิด คือ EGCG, EGC และ ECG ผลการตรวจสอบสมบัติเชิงคุณภาพโดย TLC ที่ได้นี้ไม่ใช่ผลที่แท้จริงเป็นเพียงการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่สกัดจากชาซึ่งมีผู้วิจัยแล้วว่ามีการปลอมปน (G. I. Forrest and D. S. Bendall. 1969: 757-763) ดังนั้นผลนี้ยังใช้ประโยชน์ไม่ได้มาก ยังต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยวิธีอื่นเพิ่มเติม เช่น GC, HPLC และ IR เป็นต้น

จากผลการทดสอบคุณสมบัติของส่วนประกอบที่เป็นสารฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และลิควิโนนในสารสกัดจากผักพื้นบ้าน โดยปฏิกิริยาทางเคมีและการเกิดสีในหลอดทดลองด้วยน้ำยาเคมี ตรวจพบสารสำคัญ คือ condensed tannin, hydrolyzable tannin, flavanone, flavone, flavonol, xanthone, anthocyanin, anthocyanidin, epigallocatechin gallate, epigallocatechin และ epicatechin gallate สังเกตได้ว่าสารสกัดผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง เนื่องจากมีกลุ่มสารโพลีฟีนอลมาก อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์นี้เป็นเพียงการวิเคราะห์ในภาพกว้างๆ ยังไม่จำเพาะเจาะจง จึงทำให้พบกลุ่มของสารทั้งที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและไม่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* จากการศึกษาพบว่าสมุนไพรดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารที่จะออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีน้อยมาก หรือไม่มีเลยควรต้องศึกษาต่อไป

จากการพิจารณาผักจ้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีรสฝาด ซึ่งสอดคล้องกับ Pitchaon Maisuthisakul et al. (2006: 1409-1418) รายงานวิจัยว่าผักที่มีรสฝาดจะมีสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในปริมาณสูง และไม่ตรัสฤทธิ์ดี และคณะ (2543: 75-76) ศึกษาวิจัยพบว่าสมุนไพรมีรสฝาดส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์สูง และมีรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผักจ้ำ ดังต่อไปนี้

ผักจ้ำ (*Ardisia polycephala* Wall.) หรือปลั่งกาสา เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เป็นไม้เขตร้อนและกึ่งร้อน มีทั้งไม้ต้นและไม้พุ่ม ใบเดี่ยวเรียงสลับ เนื้อใบหนาเหมือนแผ่นหนัง ดอกสมมาตรตามรัศมี ผลมักเด่นสะดุดตา มีเมล็ดเดี่ยว ใบมีรสฝาด นิยมรับประทานยอดอ่อน พบสาร fideelin มีฤทธิ์ลดการอักเสบ และสาร rapanone สามารถต้านการเจริญของเชื้อโรคเรื้อน (กระทรวงสาธารณสุข, 2542: 17) จากรายงานวิจัยของ Elvira González de Mejía et al. (2006: 1191-1203) ที่ได้ทดลองนำสารสกัดของใบต้น *Ardisia compressa* ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกในอเมริกาใต้ อยู่ในวงศ์ Myrsinaceae เดียวกับผักจ้ำ และมีลักษณะทางใบ ดอก ผล ก็คล้ายคลึงกันด้วย วิเคราะห์โดย HPLC, MS และ NMR พบว่ามี gallic acid, epicatechin gallate, proanthocyanidin, kaempferol, naringenin และอนุพันธ์ของ ardisin เป็นองค์ประกอบ และได้นำสารสกัดด้วยวิธีบิวทานอลทำให้บริสุทธิ์แล้วทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง HT-29 (IC_{50} : 57.9 ± 11.6 ไมโครกรัม/มล.) และ Caco-2 (IC_{50} : 81.0 ± 27.5 ไมโครกรัม/มล.) ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาไปเป็นสารป้องกันโรคมะเร็งในอนาคตได้ นอกจากนี้ Marco Vinicio Ramirez-Mares et al. (2004: 53-65) ได้นำสารสกัดจาก *Ardisia compressa* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันกับผักจ้ำ ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง HepG2 ในหลอดทดลองพบว่ามีความสามารถในการป้องกันโรคมะเร็งได้



ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยที่ได้ครั้งนี้ทำให้ทราบว่า ผักจ้ำมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารโพลีฟีนอล เราอาจจะนำผลวิจัยนี้เป็นข้อมูลในการพัฒนานำสารสกัดจากผักจ้ำซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและปลอดภัยไปใช้ในการผสมอาหาร เครื่องดื่ม ขนม ของขบเคี้ยว ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทชา อาทิเช่น ชาผักจ้ำ เป็นต้น

จากผลการวิจัยที่ได้ครั้งนี้ เป็นเพียงการหาองค์ความรู้เกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพในผักจ้ำเท่านั้น ในการวิจัยต่อไปเราควรสกัดให้ได้สารสำคัญที่เป็นแอนติออกซิแดนท์จากผักจ้ำ และทำสารนั้นให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปหาสูตรโครงสร้างทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ด้วย ยังมีผักพื้นบ้านที่น่าสนใจ และมีสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ อีกที่ยังไม่ได้สกัดออกมาและไม่ได้ศึกษาวิเคราะห์ เช่น เบต้า-แคโรทีน วิตามิน อี

วิตามิน ซี เอนไซม์ แอนติออกซิแดนท์ ฯลฯ นอกจากนี้ควรมีการศึกษาสภาวะ และกรรมวิธีในการปรุงอาหาร หรือการนำผักพื้นบ้านไปผ่านกระบวนการทำให้สุกด้วยความร้อน เช่น การลวก การนึ่ง การต้ม จะมีผลต่อ ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างไรบ้าง จึงเป็นประเด็นที่น่าจะศึกษาและวิจัยเพิ่มเติมต่อไป



เอกสารอ้างอิง

- บรรพต จอมสุวรรณ. (2550). การตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสารสำคัญของผักพื้นบ้านบางชนิด ในจังหวัดเชียงราย. การศึกษาอิสระ วท.ม. (การสอบวิทยาสตตร์) เชียงราย: มหาวิทยาลัยราชภัฏ เชียงราย.
- ปณัฏฐา ไชยมุติ. (2546). การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรบางชนิด. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (ชีวเคมี) สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,
- ไมตรี สุทธจิตต์ และคณะ. (2543). ความสามารถของสารสำคัญในการต่อต้านออกซิเดชันของสมุนไพรไทย: รายงานการวิจัยแพทย์แผนไทยฉบับสมบูรณ์. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Byong Won Lee et al. (2005). "Antioxidant and cytotoxic activities of xanthenes from *Cudrania tricuspidata*." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 15(24) : 5548–5552.
- Cadenas, E. and Packer, L. (1996). *Handbook of Antioxidants*. New York : Marcel Dekker, Inc..
- Elvira González de Mejía, et al. (2006). "Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase by phenolic compounds in *Ardisia compressa* extracts and their effect on human colon cancer cells." *Food and Chemical Toxicology*, 44(8): 1191–1203.
- Gurpreet Kaur et. al. 2006. "Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers", *Journal of Ethnopharmacology*. 108(3): 340–348.
- Marco Vinicio Ramirez–Mares, Sonia Chandra and Elvira Gonzalez de Mejia. (2004). "In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 554(1–2): 53–65.
- Papas, Andreas M. (1999). *Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health*. New York : CRC Press.
- Parsons, Andrew F. (2000). *An Introduction to Free Radicals Chemistry*. Cambridge : Cambridge Univ. Press.
- Rice–Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1996). "Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids." *Free Radical Biology and Medicine*. 20(7): 933–956.
- Roberfroid, M. B. and Calderon, P. B. (1995). *Free Radicals and Oxidation Phenomena in Biological Systems*. New York: Marcel Dekker, Inc..

- Pitchaon Maisuthisakul, Maitree Suttajit and Rungnaphar Pongsawatmanit. (2006). "Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants." *Food Chemistry*, 100 (4): 1409–1418.
- Savitree Mongkolsilp, et al. (2004). "Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Medicinal Plants Used in Primary Health Care," *SWU J Pharm. Sci.*, 9(1): 32–35.
- Shin Kim, Joo. (2005). "Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of the E Vitamer Fraction in Rice Bran," *Journal of Food Science*. 70, Nr.3: C208–C213.