การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชวงศ์มะม่วง

เพ็ญพิลาส ประกอบปราณ[1], สมฤทัย สุขีเกตุ[1], พิมพ์วลัญช์ กิตติไกวัล[2], กมลลักษณ์ ธิติกุลประเสริฐ[3], วรรณิษา เอี่ยมสอาด[4], โสภณวิชญ์ จงเจริญยานนท์[5], พิมพ์ญาฎา จินดาโชตสิริ[6], เมธัส รุจิธานนท์[7], รพิรัตน์ พิพิธพัฒนากร[8], และ สมาน แก้วไวยุทธ[9*]

[1]ปั้นหมอ อะคาเดมี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
[2]โรงเรียนมาแตร์เดอีวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
[3]โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย
[4]โรงเรียนบัณฑิตศึกษาลัย จังหวัดพิจิตร ประเทศไทย
[5]โรงเรียนเลิร์นสาธิตพัฒนา จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
[6]โรงเรียนสาธิตนานาชาติมหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม ประเทศไทย
[7]โรงเรียนอัสสัมชัญ บางรัก จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
[8]โรงเรียนสาธิตนานาชาติมหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม ประเทศไทย
[9]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
**Corresponding author: fscismk@gmail.com*

บทคัดย่อ

โดยปกติแล้วใบพืชแห้งภายในพื้นที่เกษตรกรรมมักถูกทิ้งให้เป็นขยะชีวมวลหรือนำไปใช้เพื่อการผลิตปุ๋ยหมักเท่านั้น ซึ่งถือเป็นการใช้ประโยชน์ที่ยังไม่เต็มประสิทธิภาพ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่เศษวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวเพื่อประเมินศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นในอนาคต การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบพืช 3 ชนิด ได้แก่ มะยงชิด (*Bouea oppositifolia* (Roxb.) Meisn.), มะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale* L.) และมะม่วง (*Mangifera indica*) โดยใช้ตัวทำละลายน้ำและเมทานอล สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging assays

ผลการทดลองพบว่า ตัวทำละลายเมทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์สูงกว่าน้ำอย่างมีนัยสำคัญในพืชทุกชนิด ในการทดสอบวิธี DPPH สารสกัดเมทานอลของใบมะยงชิดมีฤทธิ์สูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0160 µg/ml ขณะที่สารสกัดน้ำของใบมะม่วงหิมพานต์โดดเด่นที่สุดในกลุ่มสกัดน้ำมีค่าการยับยั้ง 81.88% สำหรับการทดสอบวิธี ABTS พบว่าสารสกัดเมทานอลและน้ำจากใบมะม่วงหิมพานต์ มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด (0.0145 และ 0.0269 µg/ml ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าใบมะม่วงหิมพานต์มีสารสำคัญที่ละลายน้ำได้ดี และมีประสิทธิภาพสูงใกล้เคียงกับเมทานอล สรุปได้ว่าใบพืชทั้ง 3 ชนิด โดยเฉพาะใบมะม่วงหิมพานต์ มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสำหรับอุตสาหกรรมสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ: พืชวงศ์มะม่วง / ดีพีพีเอช / เอบีทีเอส / อนุมูลอิสระ / ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Evaluation of antioxidant activity of Anacardiaceae plant extracts

Penpilas Prakobpran[1], Somruethai Sukeekate[1], Pimwalan Kittikaiwan[2], Kamonlak Thitikulprasroeth[3], Wannisa Aimsaard[4], Soponwit Jongjaroenyanon[5], Pimyada Jindachotsiri[6], Metas Rujithanon[7], Rapirat Pipitpattanakorn[8], and Smarn Kaewviyudth[9]*

[1]Punmor Academy, Bangkok, Thailand
[2]Mater Dei School, Bangkok, Thailand
[3]Triamudomsuksapattanakarn Nonthaburi School, Nonthaburi, Thailand
[4]Bundhitsuksalai School, Phichit, Thailand
[5]Learn Satit Pattana School, Bangkok, Thailand
[6]Mahidol University International Demonstration School, Nakhon Pathom, Thailand
[7]Assumption College, Bangkok, Thailand
[8]Mahidol University International Demonstration School, Nakhon Pathom, Thailand
[9]Faculty of Science, Kasetsart University, Thailand
**Corresponding author: fscismk@gmail.com*

Abstract

Dry agricultural leaves are typically discarded as biomass or underutilized as compost. This study aims to enhance the value of such waste by evaluating the antioxidant potential of plants in the Anacardiaceae family for future high-value product development. This study aimed to compare the antioxidant activities of leaf extracts from three plant species: *Bouea oppositifolia* (Roxb.) Meisn., *Anacardium occidentale* L., and *Mangifera indica*. Extractions were performed using water and methanol at 60°C for 1 hour. The antioxidant potential was evaluated using DPPH and ABTS radical scavenging assays.

The results demonstrated that methanol was significantly more effective than water in extracting bioactive compounds across all species. In the DPPH assay, the methanolic extract of *B. oppositifolia* exhibited the highest potency with an IC_{50} of 0.0160 µg/ml. Conversely, the aqueous extract of *A. occidentale* showed superior performance among water-based extracts, achieving 81.88% inhibition. For the ABTS assay, *A. occidentale* extracts (both methanol and water) yielded the lowest IC_{50} values at 0.0145 and 0.0269 µg/ml, respectively. This indicates that *A. occidentale* leaves contain highly potent water-soluble antioxidants comparable to those extracted by methanol. In conclusion, all three species, particularly *A. occidentale*, demonstrate significant potential as natural antioxidant sources for health-related industrial applications.

Keywords: Anacardiaceae family / DPPH / ABTS / Radical / Antioxidant activity

1. บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญกับการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรคเชิงรุกมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-communicable diseases; NCDs) เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคเบาหวาน ซึ่งมีสาเหตุสำคัญมาจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) ภาวะดังกล่าวเกิดจากความไม่สมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระ (Free Radicals) และความสามารถของระบบต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย โดยอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยว จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลสำคัญในเซลล์ เช่น โปรตีน ลิพิด และสารพันธุกรรม (DNA) ส่งผลให้เซลล์เกิดความเสียหายและนำไปสู่ความเสื่อมสภาพของอวัยวะต่างๆ

แม้ว่าร่างกายจะสามารถสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้เอง แต่ปัจจัยภายนอกในวิถีชีวิตปัจจุบัน ทั้งมลพิษทางอากาศ รังสีอัลตราไวโอเลต และความเครียดสะสม เป็นตัวเร่งให้เกิดอนุมูลอิสระเกินขีดความสามารถที่ร่างกายจะกำจัดได้ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติ โดยเฉพาะพฤกษเคมีกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) จึงเป็นแนวทางสำคัญที่ช่วยลดความเสี่ยงดังกล่าว [1, 2] ซึ่งพืชในวงศ์มะม่วง (Anacardiaceae) เป็นพืชเศรษฐกิจที่พบได้แพร่หลายในประเทศไทย เช่น มะม่วง (*Mangifera indica*) มะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale* L.) และมะยงชิด (*Bouea oppositifolia* (Roxb.) Meisn.) ซึ่งมีรายงานว่าพืชในวงศ์มะม่วงอุดมไปด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารฟีนอล ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ แอนทราควิโนน ไดเทอร์พีน ไตรเทอร์พีน และแทนนิน แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง [3]

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบพืชแห้งในวงศ์มะม่วง 3 ชนิด ด้วยวิธี DPPH และ ABTS เพื่อสร้างฐานข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์และเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอนาคต

2. วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบพืชวงศ์มะม่วงด้วยตัวทำละลายน้ำ และเมทานอลด้วยวิธี DPPH และ ABTS

2. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดพืชด้วยด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม
3. เพื่อเป็นแนวทางใช้ประโยชน์ และเพิ่มมูลค่าให้กับเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร

3. ขอบเขตของการศึกษา

1. สกัดสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบพืชวงศ์มะม่วงด้วยตัวทำละลายต่างชนิด
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบพืชวงศ์มะม่วงด้วยวิธี DPPH และ ABTS

4. วิธีการศึกษา

4.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บรวบรวมใบพืชวงศ์มะม่วง ได้แก่ มะยงชิด (*Bouea oppositifolia* (Roxb.) Meisn.), มะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale*. L.) และมะม่วง (*Mangifera Indica*) ที่เป็นใบแห้งร่วงหล่นใต้ต้นมาล้างทำความสะอาดเอาสิ่งสกปรกออก ผึ่งให้แห้งสนิทในที่อากาศถ่ายเทสะดวก หลังจากนั้นนำไปบดเป็นผงด้วยเครื่องปั่นแล้วใส่ถุงซิปเพื่อนำไปใช้ในการสกัด

4.2 การสกัดตัวอย่างพืช

การสกัดตัวอย่างจากพืชดัดแปลงวิธีสกัดจาก Houngbeme และคณะ [4] นำผงใบพืชแต่ละชนิดมาสกัดด้วยน้ำ และเมทานอลที่ความเข้มข้น 99.7 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1:20 (บันทึกน้ำหนักพืชแต่ละชนิดที่ใช้ในการสกัด และปริมาณตัวทำละลายที่ใช้) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 บันทึกน้ำหนักสารสกัดที่ได้ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging [5]

ทำการเจือจางสารสกัดพืชแต่ละชนิดด้วยวิธี serial dilution ที่ความเข้มข้น 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 และ 1:1024 (sample : solvent) ด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับสารสกัด จากนั้นนำสารสกัดใบพืชแต่ละชนิดที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 20 µL ผสมกับ 0.15 mM DPPH ปริมาตร 80 µL เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ซึ่งใส่เป็นตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับสารสกัดปริมาตร 20 µL แทนสารสกัดลงในไมโครเพลท ทิ้งไว้ที่มืดในอุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate Reader (Tecan Spark™ 10M) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH (%Inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายและ DPPH

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดและ DPPH

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

4.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay: (ABTS assay) [5]

เตรียม ABTS stock solution โดยนำ 7 mM ABTS ผสมกับ 2.45 mM potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องในที่มืด 12-16 ชั่วโมง นำ ABTS stock solution มาเจือจางด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.7±0.2

ทำการเจือจางสารสกัดพืชแต่ละชนิดด้วยวิธี serial dilution ที่ความเข้มข้น 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 และ 1:1024 (sample : solvent) ด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับสารสกัด จากนั้นนำสารสกัดพืชแต่ละชนิดที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 20 µL ผสมกับสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 180 µL เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ซึ่งใส่เป็นตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับสารสกัด 20 µL แทนสารสกัดลงในไมโครเพลท แล้วทิ้งไว้ที่มืดในอุณหภูมิห้องนาน 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate Reader (Tecan Spark™ 10M) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS (% Inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายและ ABTS

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดและ ABTS

จากนั้นหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ 50%) จากกราฟระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

5. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay ของสารสกัดใบพืช 3 ชนิด ได้แก่ มะยงชิด (*Bouea oppositifolia* (Roxb.)Meisn.), มะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale.* L.) และมะม่วง (*Mangifera Indica*) ที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอล ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าตัวทำละลายเมทานอล (MeOH) มีประสิทธิภาพในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญในพืชทุกชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มที่ระดับความเจือจางสูง สารสกัดด้วยเมทานอลยังคงรักษาค่าการยับยั้ง (% Inhibition) ได้ดีกว่า (ดังตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Do และคณะ (2014) ที่ระบุว่าตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น เมทานอลและเอทานอล สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่าน้ำ [6] เนื่องจากมีค่าความต่างศักย์ในการละลายสารพฤกษเคมีที่กว้างกว่า เมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าสารสกัดจากเมทานอลของพืชทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน โดยมีลำดับความแรงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดไปยังน้อยสุด ได้แก่ ใบมะยงชิด (BO), ใบมะม่วง (MI) และใบมะม่วงหิมพานต์ (AO) ซึ่งมีค่า IC_{50} 0.0160, 0.0166 และ 0.0185 µg/ml ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในส่วนของสารสกัดด้วยน้ำ (Water Extract) พบว่าสารสกัดน้ำจากใบมะม่วงหิมพานต์ (AO) มีฤทธิ์โดดเด่นที่สุด โดยมีค่า % Inhibition สูงถึง 81.88±0.001% ที่ความเจือจาง 1:2 ซึ่งสูงกว่าสารสกัดน้ำของใบมะม่วงและมะยงชิดในช่วงความเข้มข้นเดียวกันอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Andarwulan และคณะ (2012) รายงานว่าสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณสารในกลุ่ม flavonoids ได้แก่ quercetin, kaempferol และ myricetin โดยเฉพาะ quercetin คิดเป็นร้อยละ 87 ของ flavonoids ทั้งหมด [7] และงานวิจัยของ Kongkachuichai และคณะ (2015) ได้ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านภาคใต้พบว่า ยอดมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงกว่าผักพื้นบ้านชนิดอื่นๆ [8] ซึ่งค่าปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์โดยรวมที่สูงขึ้นมักมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยทั่วไปจะบริจาคอะตอมไฮโดรเจนให้กับอนุมูลอิสระเพื่อทำให้เสถียร [9]

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบพืช 3 ชนิดจากตัวทำละลายน้ำและเมทานอล ด้วยวิธี DPPH Assay

ชนิดพืช (Plant Species)	ตัวทำละลาย (Solvent)	% Inhibition (at 1:2 dilution)	AEAC[1] (µg/ml Ascorbic acid)	IC_{50}[2] (µg/ml)
มะยงชิด (BO)	water	73.48±0.007	9.96±0.002	0.1334
	Methanol	83.95±0.001	8.44±0.001	0.0160
มะม่วงหิมพานต์ (AO)	water	81.88±0.001	10.21±0.003	0.0227
	Methanol	84.24±0.001	9.31±0.003	0.0185
มะม่วง (MI)	water	79.56±0.002	10.86±0.005	0.0282
	Methanol	84.24±0.001	9.31±0.002	0.0166

[1] AEAC : Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity (คำนวณจากค่าเฉลี่ยที่ความเข้มข้นสารสกัดสูงสุด)

[2] IC_{50} : ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (คำนวณโดย Linear Regression Analysis)

ในส่วนการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ของสารสกัดใบพืช 3 ชนิดด้วยตัวทำละลายน้ำและเมทานอล พบว่าทุกตัวทำละลายในพืชทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง เมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดจากเมทานอลและน้ำของใบมะม่วงหิมพานต์มีค่า IC_{50} ต่ำสุดคือ 0.0145 และ 0.0269 µg/ml รองลงมาคือใบมะยงชิด 0.0147 และ 0.0564 µg/ml และใบมะม่วง 0.0170 และ 0.0792 µg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งค่า IC_{50} ยิ่งต่ำแสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญในใบมะม่วงหิมพานต์มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีและยังมีฤทธิ์สูงใกล้เคียงกับการใช้ตัวทำละลายเมทานอล นอกจากนี้ สารประกอบโพลีฟีนอลส่วนใหญ่ที่พบในธรรมชาติมีหมู่ฟังก์ชันซึ่งเป็นสารประกอบที่ชอบน้ำและสามารถสกัดได้ง่ายในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงอีกด้วย [10]

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบพืช 3 ชนิดจากตัวทำละลายน้ำและเมทานอล ด้วยวิธี ABTS Assay

ชนิดพืช (Plant Species)	ตัวทำละลาย (Solvent)	% Inhibition (at 1:2 dilution)	TEAC[1] (µg/ml Trolox)	IC_{50}[2] (µg/ml)
มะยงชิด (BO)	water	94.31±0.001	9.81±0.001	0.0564
	Methanol	95.29±0.001	8.41±0.001	0.0147
มะม่วงหิมพานต์ (AO)	water	96.10±0.001	9.34±0.001	0.0269
	Methanol	95.65±0.000	9.29±0.000	0.0145
มะม่วง (MI)	water	94.36±0.001	9.98±0.003	0.0792
	Methanol	95.45±0.003	9.27±0.001	0.0170

[1] TEAC : Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (คำนวณจากค่าเฉลี่ยที่ความเข้มข้นสารสกัดสูงสุด)

[2] IC_{50} : ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (คำนวณโดย Linear Regression Analysis)

6. สรุปผลการศึกษา

ตัวทำละลายเมทานอล (MeOH) มีประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าตัวทำละลายน้ำในการสกัดพืชทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดด้วยเมทานอลสามารถรักษาค่าการยับยั้ง (% Inhibition) ได้ดีแม้ในระดับความเจือจางสูง สอดคล้องกับคุณสมบัติของเมทานอลที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว ซึ่งสามารถสกัดสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้กว้างและมีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำ เมื่อนำสารสกัดพืชมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay สารสกัดเมทานอลของพืชทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน โดยมีลำดับความแรงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (พิจารณาจากค่า IC_{50}) จากมากไปน้อยคือ ใบมะยงชิด (0.0160 µg/ml), ใบมะม่วง (0.0166 µg/ml) และใบมะม่วงหิมพานต์ (0.0185 µg/ml) อย่างไรก็ตาม สำหรับการสกัดด้วยน้ำ ใบมะม่วงหิมพานต์แสดงฤทธิ์โดดเด่นที่สุดด้วยค่าการยับยั้งสูงถึง 81.88±0.001% ที่ระดับการเจือจาง 1:2 ซึ่งสูงกว่าพืชชนิดอื่นอย่างชัดเจน เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Assay ผลการทดสอบสอดคล้องกับวิธี DPPH คือ สารสกัดเมทานอลและน้ำจากใบมะม่วงหิมพานต์ มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด (0.0145 และ 0.0269 µg/ml ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญในใบมะม่วงหิมพานต์มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีและมีประสิทธิภาพสูงใกล้เคียงกับเมทานอล รองลงมาคือใบมะยงชิดและใบมะม่วง ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการนำใบพืชแห้งที่เป็นขยะเหลือทิ้งจากการเกษตรดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสุขภาพและเครื่องสำอางให้เกิดมูลค่าต่อไป

เอกสารอ้างอิง

[1] Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, *20*(7), 933-956.

[2] Topcu, G., & Ertas, A. (2007). Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *ARKIVOC*, *2007*(7), 195-208.

[3] Lamkhwan, N., Sriraksa, A., Sinakkharanan, N., Jutiviboonsuk, A., Yanaso, S., Sawasdee, K., & Seekhaw, P. (2025). Phytochemical screening, total phenolic and flavonoid contents, antioxidant, tyrosinase inhibitory, and HaCaT cell cytotoxic activities of leaf extracts from *Bouea oppositifolia* (Roxb.) Meisn. *Thai Science and Technology Journal*, *33*(2).

[4] Houngbeme, A. G., Barry, M. S., Olaye, T., Soumah, F. S., Dioukhane, K., Bah, F., Sylla, M. S., Dogocher, A., Sow, T. D., Tounkara, S., & Gbaguidi, F. A. (2025). Phytochemical and pharmacognostic characterization of two plants used in West Africa for the alternative management of stomatological infections. *International Journal of Pharmacognosy*, 12(6), 522-533. https://doi.org/10.21276/ijp.2025.12.6.10

[5] Khongkarat, P., Phuwapraisirisan, P., & Chanchao, C. (2022). Phytochemical content, especially spermidine derivatives, presenting antioxidant and antilipoxygenase activities in Thai bee pollens. *PeerJ*, *10*, e13506.

[6] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, *22*(3), 296-302.

[7] Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R. A., Rahmat, H., Roto, A. V., & Bolling, B. W. (2012). Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods*, *4*(1), 339-347.

[8] Kongkachuichai, R., Chareonsiri, R., Yakoh, K., Kringkasemsee, A., & Insung, P. (2015). Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from southern Thailand. *Food Chemistry*, *173*, 838-846.

[9] Fathi Hafshejani, S., Lotfi, S., Rezvannejad, E., Mortazavi, M., & Riahi-Madvar, A. (2023). Correlation between total phenolic and flavonoid contents and biological activities of 12 ethanolic extracts of Iranian propolis. *Food Science & Nutrition*, *11*(7), 4308-4325.

[10] Jaengklang, C., Muangman, T., Pathtubtim, I., & Jaroennon, P. (2024). Development of dosage form of Ya Kae Fok Buam Mueai Khop, a Thai traditional formula, and its phytochemical contents and anti-inflammatory activity. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*, *17*(2), 33-43.