http://journal.rmutp.ac.th/

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกุ่มบก

สุรัชนา ดาทอง และ สุธิรา มณีฉาย*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

รับบทความ 2 ธันวาคม 2562 แก้ไขบทความ 28 เมษายน 2563 ตอบรับบทความ 30 เมษายน 2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากกุ่มบก โดยนำใบ ดอก และกิ่งมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องสกัดแบบซอห์กเล็ท เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตต การศึกษาพบว่าใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่งใบที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (157.13±0.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} 1.49±0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ABTS (IC_{50} 0.84±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงสุด ผลของตัวทำละลายพบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด สำหรับปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เอทิลอะซิเตตให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

คำสำคัญ กุ่มบก; ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์; ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

** ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทร: +669 632 4549, ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์: suthira.m@msu.ac.th*

http://journal.rmutp.ac.th/

Antioxidant Activities of *Crateva adansonii* DC. subsp. *trifoliata* (Roxb) Jacobs

Suratchana Dathong and Suthira Maneechai*

Faculty of Science, Mahasarakham University
Khamriang Sub-district, Kantarawichai District, Mahasarakham 44150

Received 2 December 2019; Revised 28 April 2020; Accepted 30 April 2020

Abstract

The aim of this research was determine total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity by DPPH and ABTS assay from leaves, flower and stem of *Crateva adansonii* DC. subsp. *trifoliate* (Roxb) Jacobs that was extracted by Soxhlet method using ethanol, dichloromethane and ethyl acetate as solvent. Leaves extract showed the highest total phenolic content and antioxidant activity. Ethanolic leaf extract showed the highest total phenolic content (157.13±0.32 mg GAE/g extract) and antioxidant activity by DPPH assay (53.64±3.78% (IC_{50} = 1.49±0.02 mg/ml)) and ABTS assay (76.51±0.97% (IC_{50} = 0.84±0.01 mg/ml)). When we considering solvent effect found that ethanolic extract showed the highest total phenolic content and antioxidant activity. Total flavonoid content, ethyl acetate extract showed the highest total flavonoid content. Total phenolic content significantly correlated with antioxidant activity.

Keywords : *Crateva adansonii* DC. subsp. *trifoliate* (Roxb) Jacobs; Total Flavonoid Content; Total Phenolic Content; Antioxidant Activity

*** Corresponding Author. Tel.: +669 632 4549, E-mail Address: suthira.m@msu.ac.th***

1. บทนำ

อนุมูลอิสระคืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวหรือไม่ครบคู่อยู่ในวงรอบของอะตอม จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ต้องไปแย่งจับกับอิเลกตรอนของโมเลกุลอื่น และว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ส่งผลต่อการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระมีแหล่งกำเนิดทั้งจากปัจจัยภายในและภายนอกร่างกาย โดยปกติอนุมูลอิสระเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้วและมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระออกไป แต่ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากปัจจัยภายนอกมากเกินไปเช่น รังสียูวี ควันไฟ มลพิษต่างๆ อาจจะส่งผลเสียต่อสุขภาพ ซึ่งปัจจุบันแสงแดดและมลภาวะส่งผลให้มีอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุและทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งโรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และยังมีบทบาทสำคัญในการเกิดริ้วรอยก่อนวัยด้วย [1]

สารต้านอนุมูลอิสระมี 2 กลุ่มคือ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติเป็นสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล แคโรทีนอยด์และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งสามารถพบได้ในพืช ผัก และผลไม้ สารประกอบฟลาโวนอยด์ จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ประเภทโพลีฟีนอล สูตรโครงสร้างเป็นวงแหวนแอโรมาติก แบบ C6-C3-C6 ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ โดยสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลมีสรรพคุณหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ โรคหัวใจและระบบไหลเวียนของโลหิต [2] โดยกุ่มบก (*Crateva adansonii* DC. subsp. *trifoliata* (Roxb.) Jacobs) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Capparaceae กุ่มบก พบว่าพืชในสกุลนี้หลายชนิดมีการนำไปใช้เป็นพืชสมุนไพรและมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น การศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ *Crataeva magna* Lour DC [3], [4] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกต้น *Crateva adansonii* DC. [5] และมีการศึกษาสารพฤกษเคมี ความเป็นพิษจากเปลือกและใบของต้น *C. adansonii* DC. [6] พบสาร Lupeol ที่แยกจากใบ สารนี้สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี [7] และสารสกัดจากใบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพได้ [8] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยการศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งจากสารสกัด *Crateva nurvala* พบว่ามีฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งตับได้ดี [9] และสารสกัดจากเปลือก *Crateva religiosa* พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ [10] จะเห็นได้ว่าพืชในสกุลนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์อื่นๆที่ดี แต่ยังไม่มีการศึกษาสารสกัดจากกุ่มบก ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้ จะทำการศึกษาสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเพิ่มคุณค่าของพืชสมุนไพรไทยให้มากขึ้น สามารถนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ทางด้านอื่นๆ ต่อไป

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 ตัวอย่างพืชและวิธีเตรียมสารสกัด

เก็บตัวอย่างกุ่มบกจากเขตพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ ตรวจเอกลักษณ์ด้วยรูปวิธานและเก็บตัวอย่างพรรณไม้แห้งไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (หมายเลข MSUT_7072) นำส่วนต่างๆ ของกุ่มบกซึ่งได้แก่ใบ ดอก และกิ่ง มาทำเป็นชิ้นเล็กแล้วทำให้แห้งโดยการตากแดดและอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้งสนิท จากนั้นนำมาบดโดยใช้เครื่องบดแบบหยาบ ชั่งตัวอย่างพืช 50 กรัม การเตรียมสารสกัดโดยใช้เครื่องสกัดแบบซอห์กเล็ท ซึ่งเป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง ใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และไดคลอโรมีเทน ทำการสกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองและระเหยตัวทำละลายและหาปริมาณร้อยละสุทธิของสารสกัด (% yield) ดังสูตร

$$\text{ผลผลิตร้อยละ} = \frac{\text{ผลผลิตจริง}}{\text{ผลผลิตตามทฤษฎี}} \times 100 \quad (1)$$

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ใช้วิธี Folin-Ciocalteu [11] ทำได้โดยการผสมสารสกัด 400 ไมดครลิตร กับสารละลาย Na_2CO_3 1.6 มิลลิลิตร (เตรียมได้จาก Na_2CO_3 7.5% ในน้ำ DI) เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 2 มิลลิลิตร (เจือจาง 10 เท่าในน้ำ DI) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงผลในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ใช้วิธี Aluminium Chloride Colorimetric [12] ทำได้โดยผสมสารละลายสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กับ 95% เอทานอล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม 10% Aluminium Chloride ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติม 1 โมลาร์ Potassium Acetate ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ใช้เคอร์ซิตินสารมาตรฐาน นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์ซิติน แสดงผลในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH Assay

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายเมทานอล นำสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร และสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันโดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 200 ไมโครลิตร บ่มสารละลายในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้เมทานอลเป็น Blank [13]

ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0.0625 – 0.00195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) บันทึกผลค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณหาค่า % inhibition จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(A_B - A_E)/A_B] \times 100 \quad (2)$$

โดยที่

A_B คือ ค่าดูดกลืนแสงของ blank และ A_E ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัด

ABTS Assay

เตรียมสารละลาย ABTS•+ ได้จากการนำ ABTS ละลายด้วยน้ำ DI ให้ได้ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ แล้วนำสารละลาย ABTS มาผสมกับสารละลาย 2.45 มิลลิโมลาร์ $K_2S_2O_8$ ในอัตราส่วนสารละลาย ABTS 1 ส่วน ต่อ $K_2S_2O_8$ 2 ส่วน นำไปตั้งไว้ในที่มืดที่สภาวะอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย ABTS•+ มาเจือจางด้วยเอทานอลและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.7±0.02

นำสารละลาย ABTS•+ ปริมาตร 280 ไมโครลิตร และสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มสารละลายในที่มืดที่สภาวะอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 743 นาโนเมตร และใช้เอทานอลเป็น Blank [14]

ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0.125 – 0.003906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) บันทึกผลค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณหาค่า % Inhibition

การวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ การหาร้อยละ (%) การหาค่าเฉลี่ย (x) การหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์เอ็กเซล (Microsoft Excel) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยใช้การวิเคราะห์ One-way ANOVA และคำนวณค่าสหสัมพันธ์ (Correlation) ใช้ด้วยโปรแกรม SPSS

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

3.1 ปริมาณสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกุ่มบก

การหาปริมาณร้อยละน้ำหนักสุทธิของสารสกัด พบว่า ส่วนของดอกที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณร้อยละน้ำหนักสุทธิมากที่สุดคือ 16.29±0.72% เมื่อพิจารณาจากทั้ง 3 ตัวทำละลายพบว่า เอทานอลให้ปริมาณร้อยละน้ำหนักสุทธิมากที่สุด รองลงมาคือไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตตตามลำดับ (ตารางที่ 1)

3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีกรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค โดยคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิค ($Y=0.016x+0.0186$; $r^2=0.999$) จากผลการทดลองในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างพืชที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด พืชที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากใบ ดอก และกิ่ง พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากกิ่ง และสารสกัดจากดอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุด

ตารางที่ 1 ปริมาณของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ส่วนของพืช	ปริมาณสารสกัด					
	เอทานอล		ไดคลอโรมีเทน		เอทิลอะซิเตต	
	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสุทธิ	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสุทธิ	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละน้ำหนักสุทธิ
ใบ	4.50±0.07	9.01±0.15	1.71±0.29	3.43±0.58	1.51±0.06	3.02±0.12
ดอก	8.14±0.36	16.29±0.72	1.45±0.03	2.90±0.05	0.98±0.13	1.97±0.25
กิ่ง	1.14±0.11	2.27±0.23	0.30±0.01	0.60±0.01	0.30±0.03	0.60±0.07

3.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์ซิติน คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของเคอร์ซิติน ($Y=0.0125x+0.0007$; $r^2=0.999$) จากผลการทดลองในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างใบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 112.71±0.54 mg QE/g extract แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างพืชที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด พืชที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัด

จากใบ ดอก และกิ่ง พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากกิ่ง และสารสกัดจากดอกมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากส่วนต่างๆของพืชในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	Total phenolic Content (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด)	Total Flavonoid Content (มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด)
ใบ	เอทานอล	157.13±0.32^{j}	32.99±0.42^{c}
	ไดคลอโรมีเทน	35.75±0.31^{b}	87.00±0.39^{e}
	เอทิลอะซิเตต	40.12±0.31^{d}	112.71±0.54^{i}
ดอก	เอทานอล	62.85±0.44^{f}	25.91±0.23^{b}
	ไดคลอโรมีเทน	24.07±0. 29^{a}	85.82±0.39^{d}
	เอทิลอะซิเตต	38.72±0.23^{c}	89.53±0.24^{f}
กิ่ง	เอทานอล	81.49±0.30^{h}	6.97±0.41^{a}
	ไดคลอโรมีเทน	43.89±0.14^{g}	106.01±0.92^{h}
	เอทิลอะซิเตต	69.62±0.30^{e}	102.46±0.24^{g}

หมายเหตุ : แสดงค่าเป็น Mean±SD , n=3

: ตัวอักษร a, b, c, d, e, f, g, h และ i ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถ้าสารสกัดมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่า 50% จะนำมาหาค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลในตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบส่าสารสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 53.64±3.78% (IC_{50} เท่ากับ 1.49±0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ สารสกัดจากดอกและกิ่งที่สกัดด้วยเอทานอล (ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 18.02±1.56% และ 17.06±1.29% ตามลำดับ) โดยสารที่สกัดจากใบด้วยเอทิลอะซิเตตและสารที่สกัดจากดอกด้วยไดคลอโรมีเทนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด สารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.05±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH มาหาค่าสหสัมพันธ์ พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางบวกโดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.969

3.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถ้าสารสกัดมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่า 50% จะนำมาหาค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลในตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจาก

ใบที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 76.51±0.97% (IC_{50} เท่ากับ 0.84±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ สารสกัดจากกิ่งและดอกที่สกัดด้วยเอทานอล (ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 40.19±0.99% และ 31.76±1.21% ตามลำดับ) สารสกัดจากกิ่ง ใบ และดอกที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด สารมาตรฐานวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.06±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS มาหาค่าสหสัมพันธ์ พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางบวกโดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.961

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	DPPH		ABTS	
		ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%)	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	เอทานอล	53.64±3.78^{f}	1.49±0.02	76.51±0.97^{g}	0.84±0.01
	ไดคลอโรมีเทน	2.92±0.33^{a,b}	-	9.25±1.32^{a}	-
	เอทิลอะซิเตต	1.84±0.69^{a}	-	18.91±1.34^{c,d}	-
ดอก	เอทานอล	18.01±1.56^{e}	-	31.76±1.21^{e}	-
	ไดคลอโรมีเทน	1.16±0.44^{a}	-	8.79±0.80^{a}	-
	เอทิลอะซิเตต	4.79±0.42^{b,c}	-	20.03±1.00^{d}	-
กิ่ง	เอทานอล	17.06±1.29^{e}	-	40.19±0.99^{f}	-
	ไดคลอโรมีเทน	6.15±0.75^{c,d}	-	11.87±0.74^{b}	-
	เอทิลอะซิเตต	7.51±0.89^{d}	-	18.00±0.56^{c}	-
วิตามินซี			0.05±0.00		0.06±0.00

หมายเหตุ : ค่าเป็น Mean±SD , n=5

: ตัวอักษร a, b, c, d, e, f และg ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางบวกโดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.969 และ 0.961 ตามลำดับ (p=0.000) สำหรับสารประกอบฟลาโวนอยด์ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยทั้ง 2 วิธี พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทางลบโดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ -0.651 และ -0.704 ตามลำดับ

4. สรุปและอภิปรายผล

สารสกัดเอทานอลให้ปริมาณร้อยละน้ำหนักสุทธิของสารสกัดมากที่สุดรองลงมาคือ ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกุ่มบกส่วนใหญ่เป็นสารประกอบที่มีขั้ว และเมื่อนำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกพบว่าสารสกัดเอทานอลก็ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการละลายสูงในตัวทำละลายที่มีขั้ว

[15] ส่งผลให้สารสกัดเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดมาก ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์พบในสารสกัดเอทิลอะซิเตตมากที่สุด รองลงมาคือไดคลอโรมีเทนและเอทานอลตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ใน *Lippia multiflora* โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตตให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากสุด (71.17± 0.2 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด) ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างต่ำและใกล้เคียงกัน [16]

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในส่วนใบ ดอก และกิ่งของกุ่มบกที่สกัดด้วยเอทานอล ไดคอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตตพบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือกิ่งและดอกตามลำดับ การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในส่วนใบ ดอกและกิ่งของกุ่มบกที่สกัดด้วยเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตตพบว่าสารสกัดจากกิ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือใบและดอกตามลำดับ โดยสารสกัดทั้ง 9 ตัวอย่างถือว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน [17]

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกุ่มบกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำ สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดจากเปลือกต้นและใบของ *Crateva adansonii* ที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญ [5]-[8] และเมื่อพิจารณาสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบพืชสกุล *Crateva* พบว่ามีสารกลุ่มของอัลคาลอยด์และเทอร์พีนอยด์เป็นองค์ประกอบมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ [4]-[10] ซึ่งพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันมักจะมีสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบคล้ายๆ กัน จึงมีความเป็นไปได้ที่กุ่มบกจะมีสารสำคัญในกลุ่มอัลคาลอยด์และเทอร์พีนอยด์มากกว่าสารสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งอัลคาลอยด์และเทอร์-พีนอยด์จะมีความความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านมะเร็งและต้านเนื้องอกมากกว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [18] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาสารสำคัญจาก *Crateva adansonii* คือสาร Lupeol เป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ที่แยกจากใบ พบว่าสารนี้สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งต่างๆ ได้ดี [7], [19], [20] ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านมะเร็งและต้านเนื้องอกของสารสกัดจากกุ่มบกเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในเรื่องฤทธิ์ทางชีวภาพของกุ่มบกต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคามและมหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้การสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

[1] B. N. Ames, M. K. Shigenaga and T. M. Hagen, "Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging," in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, pp. 7915-7922, 2015.

[2] T. Wang, Q. Li and K. Bi, "Bioactive flavonoids in medicinal plants: structure, activity and biological fate," *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 12-23, 2018.

[3] R. Meera and S. Venkataraman, "Characterization and Evaluation of Antioxidant Activity of *Crataeva magna* Lour (DC)," *Journal of Global Pharma Technology*, vol. 9, no. 9, pp. 1-7, 2017.

[4] J.Abirami, G.Jothi and P. Brindha, "Microscopic, physicochemical and phytochemical screening of *Crateva magna* (LOUR) DC. (LEAF)," *International Journal of Current Pharmaceutical Research,* vol. 9, no. 5, pp. 201-204, 2017.

[5] N. E. Udeh and S. O. Onoja, "Analgesic and free radical scavenging activities of hydromethanolic extract of *Crateva adansonii* stem bark," *Journal of Intercultural Ethnopharmacology,* vol. 4, no. 3, pp. 224-227, 2015.

[6] T.N.Amos, L. Bashir, S. E.Saba, M. A. Saba, B. M. Mohammed, I.H.Abdulsalam and G.J.Josiah, "Phytochemicals and Acute Toxicity Profile of Aqueous and Methanolic Extracts of *Crateva adansonii* Leaves in Swiss Albino Rats," *Asian Journal of Biochemistry*, vol. 10, no. 4, pp. 173-179, 2015.

[7] M. K. Tchimene, C. O. Nwaehujor, M. Ezenwali, C. C. Okoli and M. M. Iwu, "Free Radical Scavenging Activity of Lupeol Isolated from the Methanol Leaf Extract of *Crateva adansonii* Oliv. (Capparidaceae)," *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, vol. 8, no. 3, pp. 419-426, 2016.

[8] C. O. Ajanaku, J. O. Echeme, R. C. Mordi, O. O. Ajani, J. A. O. Olugbuyiro, T. F. Owoeye, O. S. Taiwo and J. U. Ataboh, "Phytochemical Screening and Antimicrobial Studies of *Crateva adansonii* Leaf Extract," *Covenant Journal of Physicl & Life Sciences (CJPL)*, vol. 4, no. 2,pp. 35-41, 2016.

[9] S. N. Hade, P. A. Joshi, H. H. Pilley, V. P. Wadegaonkar and P.A.Wadegaonkar, "Evaluation of *Crataeva nurvala* extracts as antioxidant, antiproteolytic and cytotoxic against hepato-carcinoma and mouse melanoma cell lines," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 6, no. 9, pp. 189-196, 2016.

[10] N. A. Wagay, N. A. Khan and S. P. Rothe, "Profiling of secondary metabolites and antimicrobial activity of *Crateva religiosa* G. Forst. Bark - A rare medicinal plant of Maharashtra India," *International Journal of Biosciences*, vol. 10, no. 5, pp. 343-354, 2017.

[11] S. Dudonne, X.Vitrac, P. Coutiere, M.Woillez and J-M.Merillon, "Comparative

study of antioxidant properties and Total phenolic content of 30 plant extract of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 57, no. 5, pp. 1768-1774, 2009.

[12] C.Prommuak, W.De-Eknamkul and A.Shotipruk, "Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extracts," *Separation and Purification Technology,* vol. 62, no. 2, pp. 444-448, 2008.

[13] K.Likhitwitayawuid, C.Klongsiriwet, V. Jongbunprasert and B. Sritularak, "Flavones with free radical scavenging activity from *Goniothalamus tenuifolius," Archives of Pharmacal Research*, vol. 29, no. 3, pp. 199-202, 2006.

[14] B. Payet, J. Smadja and A. S. C Sing, "Assessment of Antioxidant Activity of Cane Brown Sugars by ABTS and DPPH Radical Scavenging Assays: Determination of Their Polyphenolic and Volatile Constituents," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 26, pp. 4-9, 2005.

[15] M. S. Mohsen and S. M. A. Ammar, "Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts," *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 595-598, 2009.

[16] C. M. Dabire, R. K. Bationo, A. Hema, R. C. H. Nebie, E. Pale, S. P. Dhanabal and M. Nacro, "Total phenolics content, flavonoids profiling and antioxidant activity of *Lippia multiflora* leaves extracts from Burkina Faso," *Asian Journal of Plant Science and Research*, vol. 5, no. 5, pp. 28-33, 2015.

[17] S. Maneechai and P. Rinthong, "Total phenolic and total flavonoid contents, free radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory potential from the methanolic extracts of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. And *Acacia concinna* (Willd.) DC. Flowers," *KKU Science Journal,* vol. 44, no. 1, pp. 142-152, 2016.

[18] S. Madla and P. Graidist, "Several Alkaloids Derived from Plants and Their Underlying Molecular Mechanisms of Action in the Fight Against Cancer," *Songklanagarind Medical Journal,* vol. 35, no. 1, pp. 83-94, 2017.

[19] S. Rauth, S. Ray, S. Bhattacharyya, D. G. Mehrotra, N. Alam, G. Mondal, P. Nath, B. Roy, J. Biswasa and N. Murmu, "Lupeol evokes anticancer effects in oral squamous cell carcinoma by inhibiting oncogenic EGER pathway," *Molecular and Cellular Biochemistry,* vol. 417, no. 1, pp. 97-110, 2016.

[20] P. Daisy, R. Anita and C. Ignatius, "In vitro evaluation of anticancer potentials of lupeol isolated from *Elephantopus scaber* L. on MCF-7 cell line," *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research,* vol. 5, no. 4, pp. 179–184, 2014.