

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ปริมาณความชื้นในใบและรากกระพังโหมสด

เมื่อนำใบและรากกระพังโหมสด ไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อน จนกระทั่งอุณหภูมิคงที่ และนำมาหาปริมาณความชื้นในตัวอย่าง ได้ผลดังตารางที่ 2 ตารางที่ 2 ปริมาณความชื้นในตัวอย่างใบและรากกระพังโหม

ตัวอย่างพืช	ปริมาณความชื้น (กรัมต่อ100กรัมตัวอย่าง)
ใบกระพังโหม (L)	79.82 ± 0.36 ^b
รากกระพังโหม (R)	60.14 ± 0.82 ^a

จากตารางที่ 2 พบว่าความชื้นในใบและรากกระพังโหมมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$) โดยใบกระพังโหมจะมีปริมาณความชื้นมากกว่ารากกระพังโหม

4.2 ปริมาณผลผลิตที่สกัดได้จากใบและรากกระพังโหม

ในการหาปริมาณผลผลิตที่สกัดได้จากใบและรากกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกัน 3 วิธี คือ การผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง การอบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน 2 ชนิด คือ น้ำและสารละลาย 70 % เอทานอล ซึ่งปริมาณผลผลิตที่สกัดได้จากใบและรากกระพังโหม แสดงได้ดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ตารางที่ 3 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของใบกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ปริมาณผลผลิตที่สกัดได้ (กรัม ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง)
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ	LW	5.11 ± 0.21 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	LHW	11.35 ± 0.42 ^d
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	LFW	17.88 ± 1.04 ^f
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	70%เอทานอล	LE	9.25 ± 0.32 ^c
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	LHE	6.36 ± 0.20 ^b
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	LFE	13.50 ± 0.57 ^e

ตัวอักษรที่ต่างกัน (a-f) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$)

จากตารางที่ 3 พบว่า วิธีการทำแห้งและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณผลผลิตที่สกัดได้จากใบกระพังโหม (p < .05) โดยที่ปริมาณผลผลิตที่สกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีปริมาณสูงที่สุด และสารสกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีปริมาณผลผลิตที่สกัดได้ต่ำที่สุด

ปริมาณผลผลิตที่สกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหม ที่ทำแห้งด้วยลมร้อนและการทำแห้งแบบเยือกแข็ง มีปริมาณสารสกัดที่ได้สูงกว่าที่สกัดด้วย 70% เอทานอล ประมาณ 1.5 เท่า ในขณะที่ปริมาณสารสกัดที่ได้ใน 70% เอทานอล ของใบกระพังโหมที่ผ่านกรรมวิธี 1 คั้น จะมีปริมาณสูงกว่าในสารสกัดด้วยน้ำ ประมาณ 1.8 เท่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของสภาพผิวของตัวทำละลายทั้งสอง และความแตกต่างของสารประกอบที่ถูกสกัดออกมา อาจกล่าวได้ว่าสารที่มีอยู่ในใบกระพังโหมที่มีการกำจัดน้ำอิสระบางส่วนออกไปโดยการทำแห้งด้วยลมร้อนและการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะมีองค์ประกอบของสารที่มีสภาพผิวค่อนข้างสูง จึงถูกสกัดด้วยน้ำได้ดีกว่า 70 % เอทานอล และจะเห็นได้ว่าสอดคล้องกับใบกระพังโหมที่ผ่านกรรมวิธี 1 คั้น ที่อุณหภูมิห้องซึ่งยังคงมีน้ำอิสระในเซลล์ยึดกับโมเลกุลของสารที่มีสภาพผิวที่สูงเหล่านี้ไว้ได้ดี ทำให้สารสกัด 70% เอทานอลจะมีปริมาณสารสกัดที่ได้ (9.25 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง) ซึ่งสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำประมาณ 2 เท่า (5.11 กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง)

เปรียบเทียบการทำแห้งทั้งสองวิธี พบว่า ปริมาณสารสกัดในใบกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะมีปริมาณสารสกัดมากกว่าใบกระพังโหมที่ผ่านการอบแห้งด้วยลมร้อน ทั้งในสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการใช้ความร้อนจะทำให้สารบางชนิดสลายตัวไป

ตารางที่ 4 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของรากกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (กรัม ต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง)
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ	RW	12.06 ± 0.27 ^c
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	RHW	16.21 ± 1.07 ^d
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	RFW	17.37 ± 0.46 ^d
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	70%เอทานอล	RE	9.08 ± 0.23 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	RHE	9.01 ± 0.91 ^a
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	RFE	10.40 ± 0.17 ^b

ตัวอักษรที่ต่างกัน (a-e) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < .05)

จากตารางที่ 4 พบว่าวิธีการทำแห้งและชนิดของตัวทำละลายมีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณผลผลิตที่สกัดได้ ($p < .05$) ในรากกระพังโหม โดยที่สารสกัดด้วยน้ำของรากกระพังโหมจะมีปริมาณผลผลิตที่สกัดได้สูงกว่าที่สกัดด้วย 70% เอทานอล ในทุกตัวอย่าง โดยที่สารสกัดด้วยน้ำของรากกระพังโหมที่ผ่านการอบแห้งด้วยลมร้อนและการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะมีปริมาณผลผลิตที่สกัดได้มากที่สุด ในขณะที่สารสกัดด้วย 70% เอทานอลของรากกระพังโหมที่ผ่านการแห้งด้วยลมร้อนและการfreeze-drying จะมีปริมาณผลผลิตที่สกัดได้ต่ำสุด การที่สารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณมากกว่าสารสกัดด้วย 70% เอทานอล อาจบ่งชี้ได้ว่าองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในรากกระพังโหมน่าจะมีสภาพขั้วสูง และละลายได้ดีในน้ำ จึงสามารถถูกสกัดออกมาได้มากกว่า 70% เอทานอล

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบและรากกระพังโหม

เมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบและรากกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกัน มาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยทำปฏิกิริยากับสารละลายฟอลินในสถานะที่เป็นเบส โดยรายงานผลในรูปของปริมาณกรดแกลลิก (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อน้ำหนัก 1 กรัม ตัวอย่างแห้ง) ได้ผลดังตารางที่ 5 และตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดของใบกระพังโหมที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกันและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)
freeze-drying	น้ำ	LW	2.07 ± 0.06 ^b
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	LHW	2.12 ± 0.22 ^b
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	LFW	5.30 ± 0.26 ^d
freeze-drying	70%เอทานอล	LE	2.71 ± 0.06 ^c
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	LHE	1.67 ± 0.12 ^a
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	LFE	6.98 ± 0.17 ^e

อักษรที่ต่างกัน (a-e) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$)

จากตารางที่ 5 พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วงระหว่าง 2.07 – 5.30 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อน้ำหนัก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ต่ำกว่าในสารสกัดด้วย 70% เอทานอล (1.67-6.98 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อน้ำหนัก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง) ยกเว้นสารสกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหมอบแห้งด้วยลมร้อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สูงกว่าในสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang

และ Halliwell (2001) พบว่าสารละลายเอทานอลเป็นตัวทำลายในการสกัดฟลาโวนอยด์จากชาได้ดีกว่าสารละลายเมทานอลและเอซีโตน นอกจากนี้รายงานวิจัยของ Yu et al. (2005) พบว่าเอทานอลและเมทานอลจะสกัดสารประกอบฟีนอลิกในผิวของถั่วลิสงได้ดีกว่าน้ำ และ Jung et al. (2006) เปรียบเทียบอิทธิพลของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดสารประกอบจากใบชิงป่า พบว่าสารสกัดเอทานอลจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอล

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งทั้งสองวิธี พบว่า ปริมาณสารสกัดของใบกระพังโหมมที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดทั้งในส่วนที่สกัดด้วยน้ำและส่วนที่สกัดด้วย 70% เอทานอล สามารถอธิบายได้ว่าการใช้ความร้อนจะมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเกิดการสลายตัวไป อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารในเซลล์พืชถูกทำลายในระหว่างการทำแห้ง ซึ่งเอนไซม์ที่ผนังเซลล์พืชอาจกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาไฮโดรไลติก ซึ่งจะไปทำลายสารด้านการเกิดออกซิเดชันในตัวอย่างพืช แต่อย่างไรก็ตามการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะใช้อุณหภูมิต่ำมาก ดังนั้นเอนไซม์อาจจะยังไม่ทำงานจึงสามารถป้องกันการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการทำแห้งแบบลมร้อน เมื่ออุณหภูมิสูงสารประกอบโพลีฟีนอลจะสามารถสลายตัวเปลี่ยนไปเป็นสารอื่นซึ่งไม่มีฤทธิ์ในการด้านการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Osman et al. (2009) รายงานว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบสดของกระพังโหมม (*Paederia foetida* L.) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 62.64 มิลลิกรัมกรดเฟอรูลิกต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าใบกระพังโหมมแห้งที่มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 35.52 มิลลิกรัมกรดเฟอรูลิกต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม

ตารางที่ 6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดของรากกระพังโหมมที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกันและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิก ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)
ึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ	RW	0.36 ± 0.06 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	RHW	2.70 ± 0.02 ^d
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	RFW	4.05 ± 0.09 ^c
ึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	70%เอทานอล	RE	0.38 ± 0.02 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	RHE	0.80 ± 0.13 ^b
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	RFE	1.28 ± 0.17 ^c

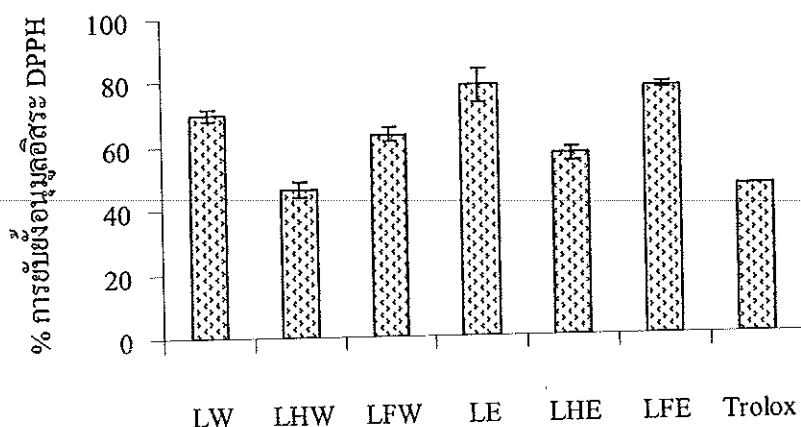
อักษรที่ต่างกัน (a-e) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$)

จากตารางที่ 6 พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของรากกระพังโหม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 0.36 – 4.05 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อน้ำหนัก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของรากกระพังโหม มีค่าอยู่ในช่วง 0.38 – 1.28 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อน้ำหนัก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง โดยที่สารสกัดด้วยน้ำจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ประมาณ 3 เท่า เป็นการบ่งชี้ว่า ในรากกระพังโหม อาจจะมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกที่มีสภาพขั้วค่อนข้างสูง จึงละลายได้ดีในน้ำมากกว่าในสารละลาย 70% เอทานอล ซึ่งความมีขั้วจะลดลง ซึ่งจะให้ผลที่ต่างจากสารสกัดจากใบกระพังโหม

รากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่างกัน พบว่า รากกระพังโหมที่อุณหภูมิห้องจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทั้งในสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอลต่ำที่สุด และไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การทำแห้งแบบเยือกแข็งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด และมากกว่าการทำแห้งด้วยการอบลมร้อนประมาณ 1.5 เท่า อาจกล่าวได้ว่าเมื่ออุณหภูมิสูง สารประกอบ โพลีฟีนอลอาจเกิดการสลายตัวเปลี่ยนไปเป็นสารอื่นทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกในรากกระพังโหมที่ผ่านการอบด้วยลมร้อนต่ำกว่าการทำแห้งแบบเยือกแข็งซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Osman et al. (2009)

4.4 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 1,1-ไดฟีนิล-2-พิกริลไฮดราซิล (DPPH)

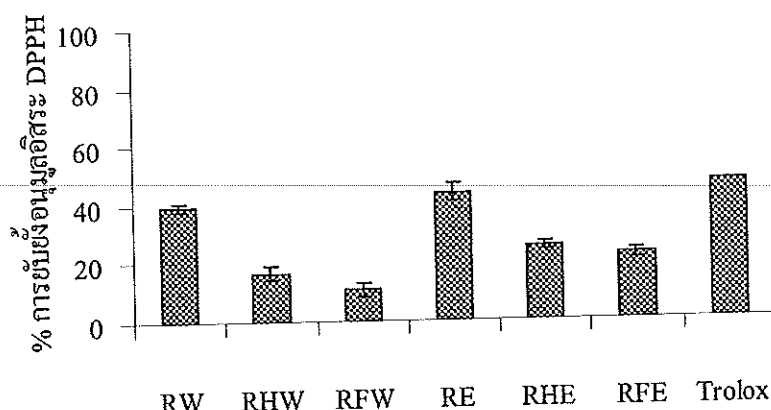
เมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอลของใบและรากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการต่างกัน ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีม่วง ซึ่งสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากจะทำให้สีม่วงจางหายไปได้เร็ว โดยรายงานผลในรูปเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 0.2 mM ได้ผลดังภาพที่ 4 และภาพที่ 5



LW = ใบสดผึ่งลมสกัดด้วยน้ำ LE = ใบสดผึ่งลมสกัดด้วย 70% เอทานอล
 LHW = ใบอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วยน้ำ LHE = ใบอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วย 70% เอทานอล
 LFW = ใบทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วยน้ำ LFE = ใบทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วย 70% เอทานอล

ภาพที่ 4 การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากใบกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

จากภาพที่ 4 สารสกัดจากใบกระพังโหมมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกัน โดยที่สารสกัดด้วย 70% เอทานอล จะมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ผันแปรอยู่ในช่วง 56.60 – 78.23% ซึ่งสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ 46.49 – 69.87% แต่อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดของใบกระพังโหมจะสูงกว่าสารละลายมาตรฐาน Trolox (0.2 mM) และเมื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการทำแห้งจะพบว่า สารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของใบกระพังโหมที่ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 69.87% และ 78.23 % ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอลของใบที่ทำแห้งแบบเยือกแข็ง เท่ากับ 63.26% และ 77.23% ตามลำดับ ซึ่งจะมี ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงกว่าใบกระพังโหมที่ผ่านการอบด้วยลมร้อน เท่ากับ 46.49% และ 56.60% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Osman et al. (2009) ซึ่งรายงานว่ สารสกัดเมทานอลของใบกระพังโหมสามารถยับยั้งการฟอกจางสีของเบต้าแคโรทีนในกรดลิโนเลอิก มีค่าเท่ากับ 78.13% และสูงกว่าในใบกระพังโหมที่ทำให้แห้งโดยการผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน (66.67%)



RW = รากสดที่ต้มสกัดด้วยน้ำ RE = รากสดที่ต้มสกัดด้วย 70% เอทานอล
 RHW = รากอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วยน้ำ RHE = รากอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วย 70% เอทานอล
 RFW = รากทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วยน้ำ RFE = รากทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วย 70% เอทานอล

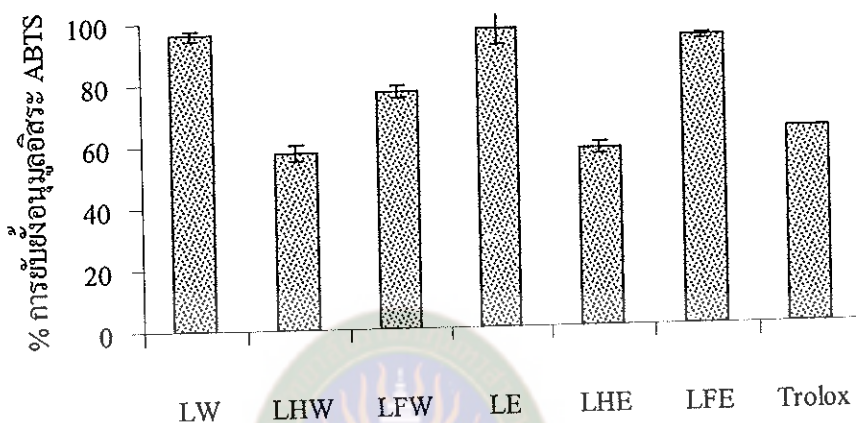
ภาพที่ 5 การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากรากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

จากภาพที่ 5 สารสกัดจากรากกระพังโหม มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 10.59 – 43.57% ซึ่งต่ำกว่าสารสกัดจากใบกระพังโหม และเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของรากกระพังโหม จะพบว่า สารสกัดด้วย 70% เอทานอลจะมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าในสารสกัดด้วยน้ำ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดของรากกระพังโหมจะมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่าสารละลายมาตรฐาน Trolox (0.2 mM)

สารสกัดของรากกระพังโหมที่ต้มที่อุณหภูมิห้อง ทั้งในส่วนสกัดด้วยน้ำและสกัดด้วย 70% เอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่ารากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งทั้งสองวิธี ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการทำแห้งโดยทั่วไปมีหลายปัจจัย เช่น สภาพะในการเก็บรักษา การแปรรูปและการเตรียมตัวอย่างมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีรายงานพบว่ากิจกรรมการต้านการเกิดออกซิเดชันในตัวอย่างแห้งจะลดลงเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระเกิดการสลายตัวในระหว่างกระบวนการทำแห้งของผัก (Kaur and Kapoor, 2002)

4.5 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺

เมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของใบและรากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS และรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ได้ผลดังภาพที่ 6 และภาพที่ 7



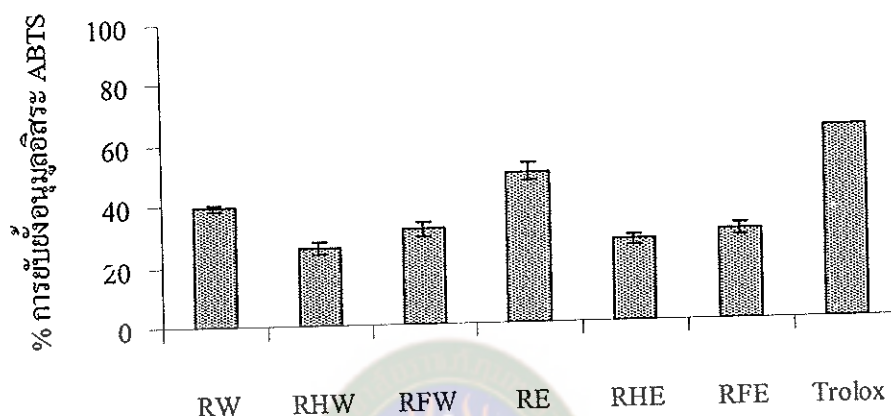
LW = ใบสดผึ่งลมสกัดด้วยน้ำ LE = ใบสดผึ่งลมสกัดด้วย 70% เอทานอล
 LHW = ใบอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วยน้ำ LHE = ใบอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วย 70% เอทานอล
 LFW = ใบทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วยน้ำ LFE = ใบทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วย 70% เอทานอล

ภาพที่ 6 การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ของสารสกัดจากใบกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

จากภาพที่ 6 สารสกัดของใบกระพังโหมทุกตัวอย่างมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS อยู่ในช่วงระหว่าง 57.28% – 96.83% ซึ่งมีปริมาณต่างกัน สารสกัดของใบกระพังโหมผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าใบกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งทั้งสองวิธี และสูงกว่าสารละลายมาตรฐาน Trolox เข้มข้น 0.2 mM ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Osman et al. (2009) ที่พบว่า ใบสดของ *Paederia foetida* L. ซึ่งสกัดด้วยเมทานอลต่อน้ำ (1:10) มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ (70-76%) ซึ่งสูงกว่าใบแห้ง (65-68%)

สารสกัดด้วย 70% เอทานอล มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดด้วย 70% เอทานอลของใบกระพังโหมผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง และใบกระพังโหมที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่สารสกัดจากใบกระพังโหมที่อบแห้งด้วยลมร้อนมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ต่ำสุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารสกัดของใบกระพังโหมที่

สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน และผลของความร้อนจะทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในใบกระพังไหมสลายตัวไป ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Amin et al. (2004) ซึ่งพบว่าผักแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ที่แตกต่างกันและความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันจะลดลงเมื่อผักชนิดต่าง ๆ ผ่านการให้ความร้อนทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลลดลง



RW = รากสดผึ่งลมสกัดด้วยน้ำ RE = รากสดผึ่งลมสกัดด้วย 70% เอทานอล
 RHW = รากอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วยน้ำ RHE = รากอบแห้งด้วยลมร้อนสกัดด้วย 70% เอทานอล
 RFW = รากทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วยน้ำ RFE = รากทำแห้งแบบเยือกแข็งสกัดด้วย 70% เอทานอล

ภาพที่ 7 การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ของสารสกัดจากรากกระพังไหมที่ผ่านการทำแห้งและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

จากภาพที่ 7 สารสกัดจากรากกระพังไหมทุกตัวอย่าง มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล ABTS⁺ ต่ำกว่าสารสกัดจากใบกระพังไหม และต่ำกว่าสารละลายมาตรฐาน Trolox (0.2 mM) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดรากกระพังไหม พบว่า สารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของรากกระพังไหม มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ไม่แตกต่างกัน ยกเว้น รากกระพังไหมผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง ที่สกัดด้วย 70% เอทานอล มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ (49.64%) ซึ่งสูงกว่าในสารสกัดด้วยน้ำ (39.15%)

4.6 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนโดยวิธี FRAP

เมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของใบและรากกระพังไหมผ่านวิธีการทำแห้งต่างกัน มาทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ โดยรายงานผลเป็น ไมโครโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อน้ำหนัก 1 กรัม ตัวอย่างแห้ง ได้ผลดังตารางที่ 7 และตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนของสารสกัดจากใบกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้ง และสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (ไมโครโมลเฟอร์รัสซัลเฟต ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ	LW	8.37 ± 0.47 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	LHW	16.65 ± 2.63 ^b
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	LFW	34.11 ± 2.64 ^c
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	70%เอทานอล	LE	21.66 ± 2.18 ^b
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	LHE	18.52 ± 2.67 ^b
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	LFE	86.84 ± 14.10 ^d

อักษรที่ต่างกัน (a-d) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$)

จากตารางที่ 7 เมื่อเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าสารสกัดด้วย 70% เอทานอล มีความสามารถในการรีดิวซ์ สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ประมาณ 2 เท่า อย่างไรก็ตามสารสกัดด้วยน้ำของใบกระพังโหมที่ผ่านการอบแห้งด้วยลมร้อน มีความสามารถในการรีดิวซ์ใกล้เคียงกับสารสกัดด้วย 70% เอทานอล และเมื่อพิจารณาผลของวิธีการทำแห้ง จะพบว่า ใบกระพังโหมที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งจะมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าการอบแห้งด้วยลมร้อนประมาณ 2 เท่า สำหรับสารสกัดด้วยน้ำ ในขณะที่สารสกัดด้วย 70% เอทานอล ของใบกระพังโหมทำแห้งแบบเยือกแข็งมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าใบอบแห้งด้วยลมร้อนประมาณ 4 เท่า

ตารางที่ 8 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนของสารสกัดจากรากกระพังโหมสดเปรียบเทียบกับส่วนที่ผ่านวิธีการทำแห้งต่างกันและสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

วิธีการทำแห้ง	ตัวทำละลาย	สัญลักษณ์	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (ไมโครโมลเฟอร์รัสซัลเฟต ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง)
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	น้ำ	RW	3.90 ± 0.39 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	น้ำ	RHW	8.95 ± 0.33 ^c
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	น้ำ	RFW	11.73 ± 1.54 ^d
ผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง	70%เอทานอล	RE	4.51 ± 0.33 ^a
อบแห้งด้วยลมร้อน	70%เอทานอล	RHE	4.55 ± 0.39 ^a
ทำแห้งแบบเยือกแข็ง	70%เอทานอล	RFE	6.92 ± 0.84 ^b

อักษรที่ต่างกัน (a-d) แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$)

จากตารางที่ 8 เปรียบเทียบผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของ รากกระพังโหมมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนสูงกว่าสารสกัดด้วย 70% เอทานอล ประมาณ 2 เท่า และเมื่อพิจารณาผลของวิธีการทำแห้ง พบว่ารากกระพังโหมที่ผ่านการทำแห้งแบบ เยือกแข็งจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนสูงที่สุดในขณะที่รากกระพังโหมฝั่งลมที่ อุณหภูมิห้อง มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนต่ำสุด และรากกระพังโหมที่ทำแห้งแบบ เยือกแข็งจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออนสูงกว่าการแห้งด้วยลมร้อนประมาณ 1.5 เท่า ทั้ง ในสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วย 70% เอทานอล

4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน

มีรายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า สารประกอบ โพลีฟีนอลมีความสัมพันธ์กับความสามารถใน การต้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากผัก ผลไม้ และเมล็ดพืช (Velioğlu et al., 1998) ในขณะที่ รายงานวิจัยของคนอื่น ไม่มีความสัมพันธ์กัน (Dasgupta and De, 2007; Amin et al., 2004) วิธี DPPH, ABTS⁺ และ FRAP เป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้วัดความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของสารต้าน อนุมูลอิสระ ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด

สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากใบและ รากกระพังโหม มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS⁺ และ ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน แสดงได้ดังตารางที่ 9 และตารางที่ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถ ในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบกระพังโหม

ผลลัพธ์	สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (r)	ระดับนัยสำคัญ
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	1.000	-
ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	0.877	.05
ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ⁺	0.962	.01
ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน	0.915	.05

จากตารางที่ 9 พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดของใบกระพังโหมมี ความสัมพันธ์กับกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ($r = 0.877$) และ ABTS ($r = 0.962$) ในขณะที่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกสูงมากกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

ไอออน ($r = 0.915$) สามารถอธิบายได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีมากเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน 1 ตัว หรือให้ไฮโดรเจนอะตอมซึ่งเป็นปฏิกิริยารีดักชัน ในการศึกษาครั้งนี้มีความสัมพันธ์อย่างสูงระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งสองชนิด เป็นการบ่งชี้ว่าสารประกอบที่อยู่ในสารสกัดจากใบกระพังใหม่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS⁺ และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Velioglu et al. (1998) ที่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์จากธัญพืชและเมล็ดที่ให้น้ำมัน

ในงานวิจัยของคนอื่น ๆ จะพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออน เช่น Amous et al. (2000) รายงานว่ามีความสัมพันธ์อย่างสูงระหว่างการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH กับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนในไวน์ ในขณะที่ Wong et al. (2006) รายงานว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มีความสัมพันธ์อย่างสูงกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออนในสารสกัดด้วยน้ำของพืชชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ Pulido et al. (2000) รายงานว่า ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ไอออนของสารต้านอนุมูลอิสระจะเกี่ยวข้องกับผลลัพธ์จากวิธีอื่นๆ ที่ใช้ประเมินความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในหลาย ๆ วิธี

ตารางที่ 10 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรากกระพังใหม่

ผลลัพธ์	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	ระดับนัยสำคัญ
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	1.000	-
ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	0.371	-
ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ⁺	-0.006	-
ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออน	0.988	.01

จากตารางที่ 10 พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากรากกระพังใหม่ ไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS⁺ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรากกระพังใหม่ มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงมากกับความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไอออน ($r = 0.988$) สามารถอธิบายได้ว่า ในสารสกัดจากรากกระพังใหม่มีสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี แต่ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำ ทั้งนี้ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน 1 ตัว หรือให้ไฮโดรเจนอะตอม

ซึ่งเป็นปฏิกริยารีดักชัน อย่างไรก็ตามสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ อาจจะไม่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารพอลิฟีนอลมีโครงสร้างใหญ่จึงอาจทำให้เกิดความเกาะเกาะของหมู่ฟังก์ชัน

(Wong et al., 2006)

กิจกรรมการต้านการเกิดออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอล หาได้หลายวิธีที่มีผลลัพธ์ที่คล้ายคลึงกับการใช้วิธีวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารพอลิฟีนอลซึ่งเสมือนว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการทำนายความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของสารเหล่านี้ ในความเป็นจริงแล้วเป็นการยากมากที่จะกล่าวถึงกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเป็นของสารตัวใดตัวหนึ่งหรือบางส่วนของที่มีฤทธิ์ ทั้งนี้เนื่องจากในสารสกัดจะมีองค์ประกอบของสารหลายชนิด



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY