

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม ของผลผักหวานป่า

ANTIOXIDANT ACTIVITY TOTAL PHENOLIC AND TOTAL FLAVONOID CONTENTS OF *MELIANTHA SUAVIS* FRUIT

วาสนา ประภาเลิศ^{1*} วิมลรัตน์ พจน์ไตรทิพย์² และ ศศิพร ปะนันชัย³

Wasana Prapalert^{1*}, Wimonrat Phottraithip², and Sasiporn Pananchai³

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

³ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University

²Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University

³Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University

*corresponding author e-mail: wassana_pra@g.cmru.ac.th

(Received: 7 August 2023; Revised: 12 February 2024; Accepted: 19 February 2024)

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลผักหวานป่า โดยนำเนื้อผลผักหวานแห้งไปแช่หมักด้วยเมทานอล หลังจากกระเหยตัวทำละลายออกแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH) และวิธีเอบีทีเอส (ABTS) โดยใช้วิตามินซีและโทรลออกซ์เป็นสารมาตรฐาน จากการศึกษ พบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และเอบีทีเอส โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 32.78 และ 30.06 mg/mL ซึ่งมีค่าเทียบเท่าวิตามินซี (VCEAC) เท่ากับ 1.52 และ 1.00 mg vitamin C/g extract ตามลำดับ และ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าโทรลออกซ์ (TEAC) เท่ากับ 1.83 และ 0.66 mg Trolox/g extract ตามลำดับ สารสกัดมีปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 209.0 ± 44.6 mg GAE/g extract และ 109.5 ± 49.5 mg QE/g extract ตามลำดับ สารสกัดจากผลผักหวานป่ามีสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก จึงควรได้รับการพัฒนาและนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม เช่น ผงชาชง หรือนำไปประยุกต์เป็นส่วนผสมในอาหารอื่นๆ

คำสำคัญ: ผักหวาน การต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม

Abstract

This research is aimed to study the antioxidant activity of *Melientha suavis* fruit pulp extract. The dried fruit pulp was macerated with methanol. After solvent evaporation, the extract was tested for antioxidant activity by using DPPH and ABTS methods which determined using vitamin C and Trolox as standards. The result showed that the extract exhibited antioxidant activity against DPPH and ABTS with IC_{50} values of 32.78 and 30.06 mg/mL, respectively, which calculated as Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) values were 1.52 and 1.00 mg vitamin C/g extract, respectively. The antioxidant activity showed Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) values of 1.83 and 0.66 mg Trolox/g extract, respectively. Total phenolic and total flavonoid contents were 209.0 ± 44.6 mg GAE/g extract and 109.5 ± 49.5 mg QE/g extract, respectively. The fruit extract was found to contain antioxidant compounds phenolics and flavonoids with a high antioxidant activity value. Therefore, it should be developed and used as food products, beverages such as tea powder, or applied as an ingredient in other foods.

Keywords: *Melientha suavis*, Antioxidant, Total phenolic, Total flavonoid

บทนำ

ผักหวานป่า (*Melientha suavis*) เป็นพืชหรือผักที่ขึ้นอยู่ในป่า เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ใบสีเขียวอ่อน เมื่อแก่จะเป็นสีเขียวเข้ม ผักหวานป่าจะออกดอกเป็นช่อยาว ผลจะเป็นรูปไข่ ผลอ่อนเป็นสีเขียวเมื่อแก่จะเป็นสีเหลือง รากของผักหวานป่า นำมาต้มน้ำดื่มเป็นยาลดไข้ แก้พิษถอนพิษ แก้อ่อนในกระหายน้ำส่วนยางของผักหวานป่าใช้กวาดลิ้น แก้ลิ้นเป็นฝ้าขาวได้ (กัญจนและคณะ, 2542) เนื่องจากผักหวานป่ามีรสชาติหวานอร่อย จึงเป็นผักป่าที่ได้รับความนิยมนำมาใช้ประกอบอาหาร ยอด ใบ และดอกอ่อนของผักหวานปานิยมนำมาแกงใส่ไข่มดแดงหรือผัดน้ำมัน ต้ม ลวก นึ่งกินกับน้ำพริก (นิคดา และคณะ, 2548) นอกจากจะเก็บมารับประทานแล้วยังเก็บมาขายเพื่อสร้างรายได้ให้กับครอบครัวจึงทำให้ผักหวานป่ากลายเป็นที่นิยมมากขึ้น แต่จะหารับประทานได้บางช่วงเท่านั้น เพราะผักหวานป่าจะให้ผลผลิตในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม จึงทำให้ผักหวานป่ามีราคาสูงกว่าผักหวานบ้าน ใบของผักหวานป่ายังมีสารอาหารที่สำคัญ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใย (Tianpech et al., 2008) วิตามินเอ วิตามิน บี2 วิตามินซี แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม เหล็ก ทองแดง และสังกะสี (Sridonpai et al., 2022) เป็นต้น ในผักหวานป่า 100 กรัม มีปริมาณวิตามินบี 2 ถึง 1.65 มิลลิกรัม ผักหวาน

ปาจึงมีส่วนช่วยป้องกันและรักษาโรคตาได้ โดยโรคตาที่พบบ่อยมักเกิดกับเยื่อบุลูกตาและความเสื่อมของจอตา เพราะนอกจากวิตามินบี 2 จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนพลังงานแล้วการได้รับวิตามินบี 2 และวิตามินอีมีประโยชน์ในการลดอาการเมื่อยล้าตา ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดต้อกระจก รวมถึงวิตามินเอที่มีมากในผักหวานก็ยังช่วยลดการเสื่อมของจอตาได้ (กองบรรณาธิการหนังสือสุขภาพ, 2555) ทั้งยังใช้เป็นยาแก้อักเสบ ยาลดไข้และยังช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ดีอีกด้วย ในชาผักหวานป่าพร้อมดื่มช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าชาใบหม่อนและชาดอกคำฝอย ทั้งยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล มีสารคอลลาเจน ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของผิวหนังและมีโคเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการสร้างพลังงานของเซลล์ด้วย (ทัทยา, 2554) มีการวิจัยเพื่อศึกษาถึงองค์ประกอบทางพฤกษเคมีในใบผักหวานป่า พบว่า มีสารประกอบแอลคาลอยด์คาร์โบไฮเดรต คูมารินส์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนินส์ (Charoenchai et al., 2013) รวมถึงสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้แก่ เบต้าคริปโตแซนทิน แอลฟา และเบต้าแคโรทีน (Sridonpai et al., 2022) ในสารสกัดเอทานอลจากส่วนใบพบสารต้านออกซิเดชันและมีคุณสมบัติเป็นสารกันแดด ได้แก่ กรดซินนามิก 4-ไฮดรอกซี-3-เมทอกซีซินนามิกแอลกอฮอล์ 2-เมทอกซีไฮโดรควิโนน แอลฟาโทโคเฟอรอล และเบต้าแคโรทีน (Sansomchai et al., 2021) ในใบผักหวานป่ายังพบสารฟลาโวนอยด์คริโซรีโอล (Chrysoeriol) ซึ่งแสดงฤทธิ์เป็นสารกำจัดศัตรูพืชตามธรรมชาติ โดยในงานวิจัยของ Rattanaphan et al. (2022) ได้ศึกษาความเป็นพิษต่อหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius)) พบว่า มีความเป็นพิษต่อหนอนสูง (24- และ 48-h LD₅₀ มีค่า ~6.99 และ 6.51 µg/larva ตามลำดับ)

ปัจจุบันผู้คนได้ให้ความสนใจในการรับประทานอาหารและใช้ประโยชน์จากสมุนไพรมากขึ้น โดยเฉพาะสมุนไพรเพื่อสุขภาพและการชะลอวัยที่มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยลดสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายได้ (Sridonpai et al., 2022) เนื่องจากในทุกๆ วันร่างกายของเราได้ดำเนินกิจกรรมต่างๆ มากมายไม่ว่าจะเป็นหายใจ กินข้าว เล่นกีฬา เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนมีส่วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งทำให้เซลล์เสื่อมสภาพได้ในแต่ละวัน สารต้านอนุมูลอิสระนี้คือสารที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือเรียกอีกอย่างว่าสารที่ยับยั้งไม่ให้เซลล์ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน หากเซลล์ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนก็จะทำให้เซลล์เสื่อมสภาพหรือเสียหายได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) มีความสำคัญต่อส่วนต่างๆ ของร่างกาย ฉะนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีส่วนช่วยให้เซลล์ต่างๆ ของร่างกายไม่เสื่อมสภาพหรือเสียหายมากขึ้นและช่วยให้ร่างกายไม่เจ็บป่วยได้ง่าย จึงได้มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาถึงปริมาณและฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันจากพืช ผัก ผลไม้ต่างๆ เช่น ในงานวิจัยของ Fu et al. (2011) ได้รายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในผลไม้ 62 ชนิดที่นิยมรับประทานในประเทศจีน อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าได้มีงานวิจัยหลายฉบับที่ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในใบผักหวานป่า (Sansomchai et al., 2021; Sridonpai et al., 2022) และมีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบผักหวานป่า (Charoenchai et al., 2013; Rattanaphan et al., 2022; Sansomchai et al., 2021; Sridonpai et al., 2022) แต่ยังไม่มียางานวิจัยที่มุ่งเน้นศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลผักหวานป่า อีกทั้งเนื่องจากหลังการเก็บเกี่ยวแล้วจะพบว่า มีผลผักหวานจำนวนมากที่ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากผลผักหวานป่า เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลผักหวานป่าอีกทั้งเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างรายได้ให้กับชาวบ้านต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดผลผักหวานป่า

นำผลผักหวานป่าที่แก่จัดจนสุก มาล้างน้ำทำความสะอาดด้วยน้ำ 2–3 ครั้ง แยกเปลือกออกให้หมด แยกเมล็ดผลผักหวานป่าออกโดยการคั้นเอาเนื้อที่มีน้ำของผลผักหวานป่าปนอยู่ด้วยกัน (Fruit pulp mixed with juice) เก็บใส่ถุงซิปล็อก แล้วนำไปแช่แข็งที่ 0°C เป็นเวลา 3 วัน นำไปทำแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) เพื่อให้ได้เนื้อผลผักหวานป่าแบบแห้ง จากนั้นนำเนื้อผลผักหวานป่าแห้ง 10 g มาสกัดด้วยเมทานอล 99.7% ปริมาตร 100 mL โดยหมักไว้เป็นเวลา 1 วัน กรองเอากากออก นำกากมาหมักซ้ำอีก 2 รอบ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) จนได้สารสกัดผลผักหวานป่า เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 0°C

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

เตรียมสารละลายสารสกัดผลผักหวานป่า สารละลายมาตรฐานโทรลลอกซ์ และสารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 0.10731 g/mL 1.261 mg/mL และ 1.287 mg/mL ตามลำดับ นำไปเจือจางให้ได้ 10 ความเข้มข้น การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงมาจากวิธีของ Thongchai et al. (2009) โดยปิเปตต์สารละลายสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 20 μ L มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 180 μ L บนไมโครเวลเพลท เขย่าเป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ส่วนสารละลายมาตรฐานโทรลลอกซ์และวิตามินซีทดสอบได้เช่นเดียวกับสารละลายสารสกัด นำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH radical scavenging) ดังสมการที่ 1 แล้วนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับ

รอยละการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำสมการเส้นตรงไปคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชไดร้อยละ 50 (50% inhibitory concentration; IC₅₀) นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลออกซ์และวิตามินซี โดยคำนวณในรูปของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชเทียบเท่าวิตามินซี (Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity; VCEAC) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชเทียบเท่าโทรลออกซ์ (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC)

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s)/A_0] \times 100 \quad (1)$$

โดย A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีฟิฟิเอชกับตัวทำละลาย

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีฟิฟิเอชกับสารสกัด

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ดัดแปลงมาจากวิธีของ Xiao et al. (2020) โดยเตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM ปริมาตร 25 mL กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 2.45 mM ปริมาตร 25 mL ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ คือ น้ำกลั่น นำสารละลายทั้ง 2 ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เปิดต่อมา 180 µL ผสมกับน้ำกลั่น 20 µL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.8–1.0 ก่อนนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายสกัดผลผักหวานป่า สารละลายมาตรฐานโทรลออกซ์และวิตามินซี โดยใช้ความเข้มข้น 0.10731 g/mL 1.261 mg/mL และ 1.485 mg/mL ตามลำดับ นำไปเจือจางให้ได้ 10 ความเข้มข้น

การทดสอบทำได้โดยเปิดสารละลายสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 20 µL ทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS 180 µL บนไมโครเวลเพลท เขย่าเป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง ส่วนสารละลายมาตรฐานโทรลออกซ์และวิตามินซีทดสอบได้เช่นเดียวกับสารละลายสารสกัด นำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ค่า IC₅₀ VCEAC และ TEAC

4. การหาปริมาณฟีนอลรวมโดยวิธี Folin–Ciocalteu Colorimetric method

หาปริมาณฟีนอลรวมด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.02–0.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใช้ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมสารละลาย 10% v/v Folin–Ciocalteu reagent ปริมาตร 70 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 3.75% w/v ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง

ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับความเข้มข้นกรดแกลลิก ทดสอบสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 0.1438 mg/mL แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลรวมเทียบจากกราฟมาตรฐาน

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมโดยใช้วิธี Aluminium trichloride Colorimetric assay

หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีทิน (Quercetin) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีทินที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.02–0.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5% w/v ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตตเข้มข้น 1 M ปริมาตร 6 ไมโครลิตร และน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 94 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์ซีทิน ทดสอบสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 0.1438 mg/mL แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเทียบจากกราฟมาตรฐาน

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดผลผักหวานป่า

จากการนำผลแก่ของผักหวานป่า 750.23 กรัม ไปล้างน้ำทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า แล้วนำไปแกะเปลือกและแยกเมล็ดออกโดยบีบและคั้นเอาแต่น้ำและน้ำ (Fruit pulp mixed with juice) ทำให้ได้เนื้อผลผักหวานป่า 301.22 กรัม คิดเป็นร้อยละ 40.15 ของผลสด ที่มีลักษณะเป็นเนื้อผสมน้ำผลไม้สีส้ม จากนั้นนำเนื้อผลผักหวานป่าที่ได้ใส่ถุงซิปล็อกและนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ 0°C นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรือฟรีซดราย (Freeze Drying) พบว่า ได้เนื้อผลผักหวานป่าแห้ง 73.37 กรัม คิดเป็นร้อยละ 24.36 ของเนื้อผลผักหวาน (ร้อยละ 9.78 ของผลสด) ลักษณะเป็นผงสีส้ม

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

นำเนื้อผลผักหวานป่าแห้งจำนวน 10.0781 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ปริมาตร 100 mL แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน ได้สารสกัดผลผักหวานป่าที่มีลักษณะของเหลวหนืดมีสีน้ำตาลเข้ม ปริมาณ 7.4562 กรัม คิดเป็นร้อยละ 7.23 ของผลสด จากนั้นนำสารสกัดผลผักหวานป่าไปทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันโดยทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วคำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระนำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าได้สมการ $y=1.4757x+1.6304$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9949 ซึ่งแสดงเป็นค่า IC_{50} ได้เท่ากับ 32.78 mg/mL การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่า ได้สมการ $y=1106.7x-5.1646$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9968 ซึ่งแสดง

เป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 0.05 mg/mL การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ พบว่า ได้สมการ $y=787.4x+5.4616$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9962 ซึ่งแสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 0.06 mg/mL

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS นำสารสกัดผลึกหวานปามา ทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร นำค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ได้สมการ $y=1.3235x+ 10.217$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9977 คำนวณเป็นค่า IC_{50} ได้เท่ากับ 30.06 mg/mL การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานวิตามินซี ได้สมการ $y= 1890x-0.9489$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9998 แสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 0.03 mg/mL การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ ได้สมการ $y= 2190.7x-2.7258$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9933 แสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 0.02 mg/mL

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS เป็นการนำสมการที่ได้จากกราฟมาใช้ในการคำนวณ ซึ่งรายงานเป็นค่า IC_{50} (ความเข้มข้นของสารที่ทดสอบที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 %) ซึ่งในการคำนวณ กำหนดให้ค่า y ในสมการมีค่าเท่ากับ 50 คือ การที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระนี้ยังสามารถแสดงในรูปแบบการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีและโทรลอกซ์ โดยคำนวณออกมาในรูปของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity; VCEAC) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าโทรลอกซ์ (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC) โดยแสดงในรูปปริมาณเทียบเท่ามิลลิกรัมสารมาตรฐานต่อสารสกัด 1 กรัม ซึ่งจากการคำนวณ พบว่า การทดสอบโดยวิธี DPPH สารสกัดผลึกหวานปามีค่า VCEAC หรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยสมมูลกับวิตามินซี ในรูปของมิลลิกรัมวิตามินซีต่อสารสกัด 1 กรัม เท่ากับ 1.52 mg vitamin C/g extract และมีค่า TEAC หรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยสมมูลกับโทรลอกซ์ในรูปของมิลลิกรัมโทรลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม เท่ากับ 1.83 mg Trolox/g extract การทดสอบโดยวิธี ABTS สารสกัดผลึกหวานปามีค่า VCEAC เท่ากับ 1.00 mg vitamin C/g extract และมีค่า TEAC เท่ากับ 0.66 mg Trolox/g extract ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลผักหวานป่า

วิธีที่ใช้ทดสอบ	IC ₅₀ (mg/mL)			VCEAC (mg VC/g)	TEAC (mg/g)
	ผักหวานป่า	วิตามินซี	โธรสลักซ์		
DPPH	32.78	0.05	0.06	1.52	1.83
ABTS	30.06	0.03	0.02	1.00	0.66

4. ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลรวม

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu colorimetric method พบว่า กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ $y=2.7938x+1.799$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9991 เมื่อทดสอบสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 0.1438 mg/mL ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.264 ± 0.018 คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตัวอย่าง (mg Gallic acid equivalent/g extract: mg GAE/g extract) ได้เท่ากับ 209.0 ± 44.6 mg GAE/g extract

5. ผลการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

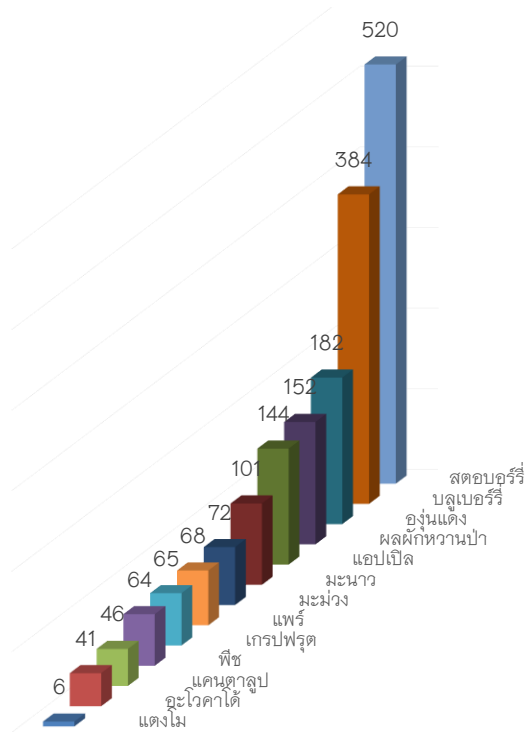
ผลการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium trichloride Colorimetric assay พบว่า กราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ได้สมการ $y=2.6091x+1.776$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9992 เมื่อทดสอบสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น 0.1438 mg/mL ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.219 ± 0.019 คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมของสารสกัดตัวอย่าง (mg Quercetin equivalent/g extract: mg QE/g extract) ได้เท่ากับ 109.5 ± 49.5 mg QE/g extract

อภิปรายผล

จากการนำผลแก่ของผักหวานป่าปิบและคั้นเอาแต่น้ำและน้ำ (Fruit pulp mixed with juice) ได้ปริมาณร้อยละ 40.15 ของผลสดมีลักษณะเป็นเนื้อผสมน้ำผลไม้สีส้ม แต่เนื่องจากเนื้อของผลผักหวานปามีน้ำปนอยู่มากจึงไม่สามารถใช้วิธีการทำแห้งด้วยวิธีการอบแห้งได้ดี จึงนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรือฟรีซดราย (Freeze Drying) ซึ่งเป็นวิธีทำแห้งที่ในปัจจุบันเป็นที่นิยมมากสำหรับผลไม้ เช่น ทุเรียน และมะม่วง เนื่องจากอาหารหรือผลไม้ที่ผ่านกระบวนการฟรีซดราย จะคงสภาพกลิ่น รสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการไว้ใกล้เคียงของสด (The Food Technologist, 2563) หลังจากทำแห้งแล้ว พบว่า ได้เนื้อผลผักหวานป่าแห้ง ร้อยละ 24.36 ของเนื้อผลผักหวาน (ร้อยละ 9.78 ของผลสด) ลักษณะเป็นผงสีส้มถือได้ว่าเนื้อผลผักหวานป่าให้น้ำหนักแห้งในปริมาณสูง สามารถละลายน้ำได้ดี เหมาะที่จะนำไปประยุกต์เป็นเครื่องดื่มพร้อมชง หรือนำไป

เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ต่างๆ และเมื่อสกัดด้วยเมทานอลแล้วได้สารสกัดร้อยละ (ร้อยละ 7.23 ของผลสด)

เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลผักหวานป่าด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH) มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 32.78 mg/mL และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ VCEAC และ TEAC ของสารสกัดผลผักหวานป่า มีค่าเท่ากับ 1.52 mg vitamin C/g extract และ 1.83 mg Trolox/g extract ตามลำดับ ส่วนการทดสอบด้วยวิธีเอบีทีเอส (ABTS) ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระเอบีทีเอสได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 30.06 mg/mL และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ VCEAC และ TEAC ของสารสกัดผลผักหวานป่า มีค่าเท่ากับ 1.00 mg vitamin C/g extract และ 0.66 mg Trolox/g extract ตามลำดับ Floegel et al. (2011) ได้รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากผลไม้หลายชนิดที่นิยมรับประทานในสหรัฐ เช่น แดงโม แคนตาลูป อะโวคาโด แพร์ เกรปฟรุต์ มะนาว แอปเปิ้ล องุ่นแดง บลูเบอร์รี่ และสตอเบอรี่ มีค่า VCEAC เมื่อทดสอบโดยวิธีดีพีพีเอช เท่ากับ 6 46 41 72 101 144 182 348 และ 520 mg VC/100 g fresh weight ตามลำดับ (Floegel et al., 2011) จะเห็นได้ว่าสารสกัดเนื้อของผลผักหวานป่ามีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (VCEAC= 152 mg VC/100 g extract) ที่ดีกว่าแดงโม แคนตาลูป อะโวคาโด แพร์ และเกรปฟรุต์ ดังภาพที่ 1 อีกทั้งในสารสกัดเนื้อของผลผักหวานป่าพบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 209.0 ± 44.6 mg GAE/g extract และ 109.5 ± 49.5 mg QE/g extract ตามลำดับ จึงเหมาะที่จะนำสารสกัดไปใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบอาหารหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวได้ตามความเหมาะสม



ภาพที่ 1 กราฟแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเนื้อผลผักหวานป่าแห้งเปรียบเทียบกับผลไม้บางชนิด (Floegel et al., 2011)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลผักหวานป่าที่สกัดด้วยเมทานอลพบว่า เนื้อของผลผักหวานป่าแห้งให้สารสกัดปริมาณสูงถึงร้อยละ 7.23 ของผลผักหวาน สารสกัดจากผลผักหวานป่าที่ทำแห้งโดยวิธีฟรีสตรายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก (1.52 mg vitamin C/g extract และ 1.83 mg Trolox/g extract ตามลำดับ) มีสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ (209.0 ± 44.6 mg GAE/g extract และ 109.5 ± 49.5 mg QE/g extract ตามลำดับ) จึงควรได้รับการพัฒนาและนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม เช่น ผงชาชง หรือนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารชนิดอื่นๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่ให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กองบรรณาธิการหนังสือสุขภาพ. (2555). **ผักบำรุงสุขภาพ**. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดดูเคชั่น.
- กัญจนนา ตีวิเศษ, ศักดิ์ชัย โปรดธนาสาร, จิราภรณ์ ภิญโญชุตโต, และโณน น้อยแสง. (2542). **ผักพื้นบ้านภาคเหนือ**. (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: องค์การส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ.
- ทัทยา อนุสร. (2554). **ทุกอาหารเป็นยา ถ้ากินเป็น**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: มติชน.
- นิตดา หงษ์วิวัฒน์, ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์, และสุภาพรพรณ เยี่ยมชัยภูมิ. (2548). **ผัก 333 ชนิด คุณค่าอาหารและการกิน**. กรุงเทพฯ: แสงแดด.
- Sansomchai, P., Jumpatong, K., Lapinee, C., & Utchariyajit, K. (2021). *Melientha suavis* Pierre. Extract: antioxidant and sunscreen properties for future cosmetic development. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**, 20(1), e2021008.
- Charoenchai, L., Settharaksa, S., Songsak, T., Ruangrungsri, N., & Kraisintu, K. (2013). Phytochemical Screening Tests of *Melientha suavis* Pierre and *Urophylla siamensis* Hiepko Extracts. **Bulletin of Health, Science and Technology**, 11(2), 13–20.
- Floegel, A., Kim, D–O, Chung, S–J., Koo, S.I., & Chun, O.K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH Assays to Measure Antioxidant Capacity in Popular Antioxidant–Rich US Foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24(7), 1043–1048.
- Fu, L., Xu, B.–T., Xu, X.–R., Gan, R.–Y., Zhang, Y., Xia, E.–Q., & Li, H.–B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, 129(2), 345–350.
- Ruttanaphan T., Thitathan W., Piyasaengthong N., Nobsathian S., & Bullangpoti V. (2022). Chrysoeriol isolated from *Melientha suavis* Pierre with activity against the agricultural pest *Spodoptera litura*. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 9(21). <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00287-2>
- Sridonpai, P., Kongprapun, P., Sungayuth, N., Sukprasansap, M., Chimkerd, C., & Judprasong, K. (2022). Nutritive values and phytochemical compositions of edible indigenous plants in Thailand. **Frontiers in Sustainable Food System**, 6, 870147.
- The Food Technologist. (2563). **การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dried Technology)**. สืบค้นเมื่อ 1 ธันวาคม 2566, จาก <https://www.goodfriendsfood.com/post/freeze-dried-technology>
- Thongchai, W., Liawruangrath, B., & Liawruangrath, S. (2009). Flow Injection Analysis of Total Curcuminoids in Turmeric and Total Antioxidant Capacity Using 2,2'–diphenyl–1–picrylhydrazyl Assay. **Food Chemistry**, 112, 494–499.
- Tianpech, N., Swatsitang, P., & Tanpanich, S. (2008). Antioxidant Capacity and Nutritional Values of Pak–Wan Pa (*Melientha suavis* Pierre.). **Khon Kaen University Science**, 36(Supplement), 75–82.
- Xiao, F., Xu, T., Baiyi Lu, B., & Ruihai Liu, R. (2020). Guidelines for Antioxidant Assays for Food Components. **Food Frontiers**, 1, 60–69.