



การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลชีพจากสารสกัดเอทานอลของผลตะขบป่า

Evaluation of Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activities from Ethanolic Extracts of the *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. Fruits

พัทวัฒน์ สีขาว^{1*} เรณูภา เชื้อบุญมี¹ ปณิธาน สุระยศ¹ สาธิต ฉัตรพันธุ์² และ นฤมล เกื่อนกุล²

Pattawat Seekhaw^{1*}, Renuka Chuaboonmee¹, Panitan Surayot¹, Satit Chadpan² and Naruemol Thurnkul²

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

²สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

¹Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang District Phisanulauk 65000, THAILAND

²Microbiology Department, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang District Phisanulauk 65000, THAILAND

*Corresponding author e-mail: pattawat_apsc@hotmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 22 May, 2020

Revised: 1 June, 2020

Accepted: 23 June, 2020

Available online: 29 June, 2020

DOI: 10.14456/rj-rmutt.2020.12

Keywords: *Flacourtia indica*

(Burm.f.) Merr., phytochemical,

antioxidant activity,

antimicrobial activity

The objectives of this research were to evaluate the preliminary phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts from the peel, pulp, and the seed of *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. Phytochemical screening revealed the presence of phenolics, flavonoids, tannins, saponins, diterpenes, and anthraquinones in the peel extracts; phenolics, flavonoids, and tannins in the pulp extracts; and flavonoids and tannins in the seed extracts. The total phenolics content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of the extracts were determined using the Folin-Ciocalteu and aluminium chloride colorimetric methods (expressed in gallic acid (GAE) and quercetin (QE) equivalent respectively). The highest TPC was found in pulp extract (30.44 ± 0.67 mg GAE/ 100 g DW) and TFC was the greatest amount in seed extract (1093.33 ± 1.53 mg QE/ 100 g DW). The peel extract exhibited the strongest antioxidant properties as shown by DPPH, ABTS, and FRAP assays ($IC_{50} = 0.13 \pm 0.01$, 28 ± 0.01 mg/ml and FRAP value

= 305.04 ± 3.68 mg FeSO₄/100 g DW, respectively). In addition, all extracts (200 mg/ml) showed antimicrobial activity. The peel extract inhibited gram positive bacteria (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus faecalis*), gram negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, and *Serratia marcescens*) and yeast (*Candida albicans*). The pulp extract inhibited the same gram positive bacteria as the peel extract and four gram negative bacteria (*E. coli*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa*, and *S. typhimurium*). The seed extract inhibited three gram positive bacteria (*B. subtilis*, *M. luteus*, and *S. aureus*) and one gram negative bacteria (*E. coli*). These results suggested that the ethanolic extracts of *F. indica* fruits could be the potential source of natural antioxidant and antimicrobial agents for nutraceutical and medical applications.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพของสารสกัดเอทานอลจากผลตะขบป่า (เปลือก เนื้อและเมล็ด) โดยสารสกัดจากเปลือกพบ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ไคเทอรินและแอนทราควิโนน สารสกัดจากเนื้อพบสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแทนนิน พบฟลาโวนอยด์และแทนนินในสารสกัดเมล็ดหาปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) และฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ใช้วิธี Folin-Ciocalteu Reagent และ Aluminium Chloride Colorimetric แสดงผลสมมูลกับ Gallic Acid (GAE) และ Quercetin (QE) ตามลำดับ พบ TPC สูงสุดในสารสกัดเนื้อ (30.44 ± 0.67 mg GAE/ 100 g DW) และ TFC สูงสุดในสารสกัดเมล็ด (1093.33 ± 1.53 mg QE/ 100 g DW) สารสกัดจากเปลือกแสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุดด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP (ค่า IC₅₀ = 0.13 ± 0.01 , 28 ± 0.01 mg/ml และ FRAP value = 305.04 ± 3.68 mg FeSO₄/100 g DW, ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดทุกชนิด (200 mg/ml) แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ สารสกัดเปลือกยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus*

luteus, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus faecalis*) แบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* และ *Serratia marcescens*) และยีสต์ *Candida albicans* สารสกัดเนื้อยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด เช่นเดียวกับสารสกัดเปลือก และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium*) สารสกัดเมล็ดยับยั้ง *B. subtilis*, *M. luteus*, *S. aureus* และ *E. coli* ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลของผลตะขบป่าเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพที่มีศักยภาพสำหรับประยุกต์ใช้ด้านโภชนาการและทางการแพทย์

คำสำคัญ: ตะขบป่า สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ

บทนำ

ตะขบป่า (*Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr.) เป็นไม้ยืนต้นอยู่ในวงศ์ Flacourtiaceae พบในพื้นที่ป่าเต็งรัง ป่าชายหาด ป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าผสมผลัดใบ และบริเวณริมน้ำ ผลสุกมีสีน้ำตาล ลักษณะกลม

หรือรูปไข่ รับประทานได้ เป็นพืชสมุนไพรของไทยที่มีสรรพคุณในการใช้ส่วนต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นใบ เปลือก ลำต้น ผลไม้ รากและส่วนเหนือดินทั้งหมดของพืชสามารถใช้ในการรักษาโรคที่แตกต่างกัน เช่น รากต้มดื่มแก้ริดสีดวง แก่นใช้แก้ท้องร่วง ขับเหงื่อ ขับพยาธิ ทั้งต้นแก้โรคผิวหนัง ใบสด ไล่ในเด็ก แก้โรคปอดอักเสบ แก้ไอ แก้บิดและท้องเสีย ผลสุก กินสดแก้ปวดท้อง แก้ไอ เป็นต้น (1, 2) สารสกัดเมทานอลจากเปลือกและเนื้อของผลตะขบป่าเป็นแหล่งสารพฤกษเคมีที่สำคัญ ได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และคอนเดนส์แทนนิน โดยสารฟีนอลิกหลักที่พบในสารสกัดจากเปลือก ได้แก่ caffeic acid, p-hydroxybenzaldehyde, ferulic acid และ p-coumaric acid ในส่วนสารสกัดจากส่วนเนื้อพบสารฟีนอลิก ได้แก่ caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid และ p-coumaric acid (3) และยังมีรายงานว่าสารสกัดเมทานอลจากผลของตะขบป่าที่ปลูกและบริโภคในประเทศศรีลังกาพบสารฟีนอลิก 35 ชนิด โดยวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค LC-MS (4) สารสกัดเมทานอลจากรากของตะขบป่า แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอลคาลอยด์ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ ไกลโคไซด์ และฟีนอลิก นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์สารสกัดดังกล่าวด้วยเทคนิค GC-MS พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลักคือ 4-benzyol-3-methoxyisocoumarin (5) สารสกัดจากเปลือกต้นและใบพบสารฟีนอลิกและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (6) สารสกัดจากส่วนเหนือดินช่วยป้องกันความเป็นพิษต่อตับที่เกิดจากการได้รับยาพาราเซตามอลเกินขนาดในหนูทดลอง (7) และสามารถใช้ในการรักษาความผิดปกติในตับของหนูทดลองอีกด้วย (8) สารสกัดจากผลสุกแสดงให้ถึงถึงสัญญาณในการใช้รักษาโรคในตับผิดปกติที่เกิดจากการได้รับคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) (9) และยังพบว่าสารสกัดจาก ใบ กิ่งและส่วนเหนือดินแสดงฤทธิ์การต้านมาลาเรีย (10, 11)

ปัจจุบันเกษตรกรไทยหลายรายได้เริ่มมีการเพาะปลูกตะขบป่าในเชิงเศรษฐกิจมากขึ้น เนื่องจากผลมี

รสชาติอร่อยทำให้เป็นที่นิยมแก่ผู้บริโภคเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังการรายงานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับผลของตะขบป่ายังไม่แพร่หลายมากนัก และเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลตะขบป่าเพื่อนำไปต่อยอดทางเศรษฐกิจแก่เกษตรกรผู้ปลูกตะขบป่า ดังนั้นวัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และ Aluminium Chloride Colorimetric ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี (DPPH ABTS และ FRAP) และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ด้วยวิธี disc diffusion จากสารสกัดหยาบเมทานอลของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางโภชนาการหรือนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านโภชนาการและทางการแพทย์ที่มีมูลค่าได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือ

เครื่องมือสำคัญที่ใช้ในการดำเนินการทดลอง ได้แก่ เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator) รุ่น R-300 ยี่ห้อ Buchi บริษัท BUCHI Labortechnik AG ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) รุ่น SevenEasy ยี่ห้อ Mettler Toledo บริษัท ฟิฟิเคมิคอล จำกัด ประเทศไทย เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท รุ่น Spectro star ยี่ห้อ Spectro star nano บริษัท BMG Labtech ประเทศเยอรมัน Micropipette ขนาด 50-200 ไมโครลิตร รุ่น Finnpiptette F2 บริษัท Thermo scientific ประเทศฟินแลนด์

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีดังนี้ 2,2-ไดฟีนิล-1-พิกริลไฮดราซิล, (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl,) (DPPH) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา 2,2-อะซิโน-บิส (3-เอทิลเบนโซโทอะโซลีน-6-ซัลโฟนิค

แอซิด, (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid diammonium salt, (ABTS) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา 2,4,6-ทริส (2-ไพริดีล)-เอส-ไตรอะซีน, (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine, (TPTZ) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา และอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB), Mueller-Hinton Agar (MHA)

การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดสาร

ผลตะขบป่าถูกเก็บมาจากพื้นที่ตำบลวังสำโรง ห้วย อำเภอดงพนาหิน จังหวัดพิจิตร ในวันที่ 1 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2562 ได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชและเก็บรักษาตัวอย่างไว้ ณ ห้องเก็บรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ พิบูลสงคราม (voucher specimen no. PSRU 1011) นำส่วนต่างๆ ของผลตะขบป่าได้แก่ เปลือก เนื้อ และเมล็ด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และบดให้ละเอียด จากนั้นนำส่วนของเปลือก เนื้อ และเมล็ดผงที่ได้อย่างละ 100 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเป็นเวลา 7 วัน กรองสารละลาย (สกัด 2 ครั้ง) นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบเอทานอลของเปลือก เนื้อ และเมล็ด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 1.09, 8.01 และ 9.14 ตามลำดับ เก็บสารสกัดในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4 °C

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอลจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่าโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ประกอบด้วยสารพฤกษเคมี 8 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ไตรเทอร์พีน ไดเทอร์พีน แอลคาลอยด์ และแอนทราควิโนน (12) ดังนี้

การตรวจสอบฟีนอลิก โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้

เย็นและกรอง หยด 2 % เฟอริกคลอไรด์ (2 % FeCl_3) ถ้าสารละลายให้สีน้ำเงินเข้มหรือสีดำแสดงว่าพบฟีนอลิก

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลองเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) 1 ml ใส่ลวดแมกนีเซียม (Mg) ลงไป 2 ชิ้น เล็ก ๆ ถ้าฟองที่เกิดเป็นสีส้มแดงหรือชมพู แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบแทนนิน โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นและกรองสารละลาย จากนั้นนำสารละลายที่ได้หยด 10 % เลดอะซิเตด (10 % $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) ถ้าเกิดตะกอนสีขาวขุ่นแสดงว่าพบแทนนิน

การตรวจสอบซาโปนิน โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นจำนวน 5 ml นำไปอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองสารละลาย เขย่าแรง ๆ หากเกิดฟอง และคงอยู่ประมาณ 10 นาที แสดงว่าพบซาโปนิน

การตรวจสอบไดเทอร์พีน โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นกรองสารละลาย หยด 10 % คอปเปอร์อะซิเตรท (10 % $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) ถ้าสารละลายเกิดสีเขียวมรกตแสดงว่าพบไดเทอร์พีน

การตรวจสอบไตรเทอร์พีน โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที เขย่าแล้วกรอง จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 2 ml เขย่าเบา ๆ ทิ้งไว้สัก 2-3 นาที สังเกตสีของสารละลายชั้นล่างที่เกิดขึ้นหากปรากฏสีน้ำตาลแดงแสดงว่าพบไตรเทอร์พีน

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นและกรองสารละลาย ทดสอบด้วย Wangner's reagent หากเกิดตะกอนสีน้ำตาลแสดงว่าพบสารแอลคาลอยด์

การตรวจสอบแอนทราควิโนน โดยชั่งสารสกัด 100 mg ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 ml อุณหภูมิ 10 นาที เขย่าและกรองจากนั้นเติม 10 % แอมโมเนีย

(10 % NH_3) 2 ml ถ้าขึ้นแอมโมเนียมีสีส้ม แดง ชมพู เหลืองส้ม แสดงว่าพบอนุพันธ์แอนทราซิน

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Reagent เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก (13) โดยใช้กรด แกลลิก (Gallic Acid) เป็นสารมาตรฐาน เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/ml ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่าง 12.5 μl ลงในไมโครเพลท 96 well ตามด้วยน้ำกลั่น 12.5 μl และ โฟลิน-ซีโอแคลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu reagent) 12.5 μl ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติม 7.5 % โซเดียมคาร์บอเนต (7.5 % NaCO_3) 125 μl ตามด้วยน้ำกลั่น 100 μl เขย่าตั้งทิ้งไว้ 90 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากสมการเส้นตรง ($y=mx+c$) ของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid) ในหน่วยของ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง (Milligram Gallic Acid Equivalents/100 gram of dried weight, mg GAE/100 g DW)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก (14) โดยใช้เคอร์เซติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1.00 mg/ml ปริมาตร 125 μl ใส่ลงบนไมโครเพลท 96 well เติมน้ำ 5 % โซเดียมไนไตรต์ (5 % NaNO_2) ปริมาตร 12.5 μl ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติมน้ำ 10 % อะลูมิเนียมคลอไรด์ (10 % AlCl_3) ปริมาตร 37.5 μl จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ครั้ง คำนวณหา

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากสมการเส้นตรง ($y=mx+c$) ของกราฟมาตรฐานเคอร์เซตินในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง (Milligram Quercetin Equivalents/100 gram of dried weight, mg QE/100 g DW)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจาก (15) เตรียมสารละลายตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่าเริ่มที่ความเข้มข้น 10 mg/ml จากนั้นทำการเจือจางสารละลายในความเข้มข้นที่เหมาะสม ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่างปริมาตร 100 μl ใส่ลงบนไมโครเพลท 96 well เติมสารละลาย DPPH ที่มี ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 100 μl ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) โดยใช้สูตร ดังนี้

% Radical scavenging

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

เมื่อ A sample คือ ค่า Absorbance (ค่าการดูดกลืนแสง) ที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง
A control คือ ค่า Absorbance (ค่าการดูดกลืนแสง) ที่วัดได้ของสารละลาย DPPH (ไม่ผสมสารตัวอย่าง)

ทำการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC_{50})

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจาก (16) เตรียมสารละลายตัวอย่างเปลือก เนื้อ และ เมล็ดของผลตะขบป่าเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 10 mg/ml จากนั้นทำการเจือจางสารละลายในความเข้มข้นที่เหมาะสม เตรียมสารละลาย $ABTS^{+}$ โดยการผสม 7 mM ABTS 1 ml กับ 2.4 mM โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (2.4 mM $K_2S_2O_8$) 1 ml แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เจือจางสารละลาย $ABTS^{+}$ ด้วยเอทานอล แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงให้ได้ประมาณ 0.7 ที่ความยาวคลื่น 734 nm ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท 96 well เติมสารละลาย $ABTS^{+}$ ปริมาตร 180 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 nm ทำการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (IC_{50})

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Ability Power (FRAP) เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจาก (17) โดยปิเปตสารสกัดตัวอย่างเปลือก เนื้อ และ เมล็ดของผลตะขบป่าที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาตร 20 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท เติม FRAP Reagent ปริมาตร 180 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 nm จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP Value) ของ

สารตัวอย่างจากสมการเส้นตรง ($y=mx+c$) ของกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) แสดงค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg $FeSO_4$ /100 gram of dried weight, mg $FeSO_4$ /100 g DW)

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ด้วยวิธี Disc Diffusion

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion (18) โดยทดสอบฤทธิ์กับแบคทีเรียทดสอบ 9 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ 5 ชนิดคือ *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens* TISTR1354, *Salmonella typhimurium* TISTR1472 และ *Pseudomonas aeruginosa* แบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* TISTR1 9 1 8 , *Streptococcus faecalis* TISTR459 และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Candida albicans* โดยเฉพาะเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) และเพาะเลี้ยงยีสต์ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Malt Extract Broth (YMB) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำให้มีความเข้มข้นเท่ากับความขุ่นของ McFarland Standard scale No. 0.5 จากนั้นใช้ก้านพันสำลี (Cotton Swab) ปลอดเชื้อจุ่มลงไปในสารแขวนลอยเชื้อ แล้วกวาดเชื้อ (Swab Plate) ให้ทั่วผิวน้ำอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ทิ้งให้แห้งประมาณ 3-5 นาที วาง Paper Disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนผิวน้ำอาหาร จากนั้นหยดสารสกัดที่ต้องการทดสอบลงบน Paper Disc ปริมาตร 20 μ l/disc ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 10 นาที ซึ่งมียาปฏิชีวนะ 0.3125 mg/ml Chloramphenicol เป็นตัวควบคุมผลบวก (Positive Control) และ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เป็นตัวทำละลายและตัวควบคุมผลลบ (Negative Control) บ่มที่อุณหภูมิ 30-37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดบริเวณยับยั้ง (Zone

of Inhibition) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (Clear Zone)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าทางสถิติ ด้วยวิธี T-test และ Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 22 ค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มที่มีตัวอักษรต่างกัน (a-b และ c-e) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.01$

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

ในการตรวจสอบสารพฤกษเคมีจากส่วนต่าง ๆ ของผลตะขบป่า ได้แก่ เปลือก เนื้อ และเมล็ด โดยใช้เอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงในการสกัด และยังมีความปลอดภัยเมื่อนำไปประยุกต์ใช้หรือพัฒนาต่อไปได้ ผลตรวจสอบพบว่าสารสกัดเปลือก พบสาร 6 ชนิด คือ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ไตรเทอร์พีน และแอนทราควิโนน สารสกัดเนื้อพบสาร 3 ชนิด คือ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ส่วนสารสกัดเมล็ด พบสาร 2 ชนิดคือ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบเอทานอลของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่า

สารพฤกษเคมี	สารสกัด		
	เปลือกตะขบป่า	เนื้อตะขบป่า	เมล็ดตะขบป่า
ฟีนอลิก	+	+	-
ฟลาโวนอยด์	+	+	+
แทนนิน	+	+	+
ซาโปนิน	+	-	-
ไตรเทอร์พีน	+	-	-
ไดเทอร์พีน	-	-	-
แอลคาลอยด์	-	-	-
แอนทราควิโนน	+	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง ตรวจสอบพบ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่า

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/100 g DW)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg RUE/ 100 g DW)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
			DPPH IC ₅₀ of DPPH (mg/ml)	ABTS IC ₅₀ of ABTS (mg/ml)	FRAP FRAP value (mg FeSO ₄ /100 g DW)
เปลือกตะขบป่า	19.11 ± 0.52 ^a	145.15 ± 3.06 ^c	0.13 ± 0.01 ^c	0.28 ± 0.01 ^c	305.04 ± 3.68 ^c
เนื้อตะขบป่า	30.44 ± 0.67 ^b	51.60 ± 2.65 ^d	5.88 ± 0.04 ^c	4.48 ± 0.02 ^d	95.03 ± 3.82 ^d
เมล็ดตะขบป่า	NT	1093.33 ± 1.53 ^e	0.65 ± 0.05 ^d	1.08 ± 0.02 ^d	297.68 ± 3.69 ^e

*หมายเหตุ NT = not tested

ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในแนวนอน โดย a-b ใช้สถิติ t-test และ c-e ใช้สถิติ DMRT

ตารางที่ 3 ผลทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกตะขบป่า เนื้อตะขบป่า เมล็ดตะขบป่าที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/ml

Microorganism		ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (mean $\pm$ SD) (mm)				
		Positive control	Negative	เปลือกตะขบป่า	เนื้อตะขบป่า	เมล็ดตะขบป่า
		(0.3125 mg/ml chloramphenicol)	control (DMSO)	(200 mg/ml)	(200 mg/ml)	(200 mg/ml)
Gram negative	<i>E. coli</i>	35.4	6.0	7.3 $\pm$ 0.33 ^{ab}	8.66 $\pm$ 0.03 ^{bcd}	8.50 $\pm$ 0.09 ^c
	<i>P. vulgaris</i>	14.5	7.3	6.3 $\pm$ 0.00 ^a	8.66 $\pm$ 0.03 ^{bcd}	7.00 $\pm$ 0.00 ^b
	<i>P. aruginosa</i>	12.5	7.4	8.8 $\pm$ 0.29 ^{bc}	8.16 $\pm$ 0.66 ^{abc}	7.16 $\pm$ 0.10 ^b
	<i>S.typhimurium</i>	32	7.3	10.0 $\pm$ 0.00 ^{cd}	8.83 $\pm$ 0.39 ^{bcd}	7.30 $\pm$ 0.00 ^b
	TISTR1472					
	<i>S. marcescens</i>	25.3	8	7.5 $\pm$ 0.46 ^a	6.50 $\pm$ 0.28 ^a	6.83 $\pm$ 0.29 ^b
	TISTR1354					
Gram positive	<i>B. subtilis</i>	34.3	6.8	10.3 $\pm$ 0.17 ^{de}	9.50 $\pm$ 0.08 ^{cd}	7.50 $\pm$ 0.28 ^b
	<i>M. luteus</i>	38.5	6.8	11.0 $\pm$ 0.00 ^{ef}	9.83 $\pm$ 0.12 ^{cd}	7.00 $\pm$ 0.00 ^b
	TISTR1918					
	<i>S. aureus</i>	27.8	6.0	12.3 $\pm$ 0.58 ^f	9.33 $\pm$ 0.41 ^{cd}	9.00 $\pm$ 0.00 ^c
	<i>S. faecalis</i>	44.3	6.0	10.8 $\pm$ 0.11 ^{ef}	10.16 $\pm$ 0.49 ^d	6.00 $\pm$ 0.00 ^a
	TISTR459					
Yeast	<i>C. albicans</i>	6.0	7.7	8.5 $\pm$ 0.74 ^{bc}	7.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}	7.33 $\pm$ 0.00 ^b

*หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันตามแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

จากข้อมูลการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อราเบื้องต้น จะเห็นว่าสารสกัดทั้งสามส่วนของผลตะขบป่าเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพ โดยเฉพาะพบสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (19) ผลการหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมที่มีอยู่ในสารสกัดตัวอย่างส่วนต่างๆ ของผลตะขบป่าโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu และ Aluminium Chloride Colorimetric ตามลำดับ พบว่าสารสกัดจากเนื้อที่ ความเข้มข้น 1.00 mg/ml มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด 30.44 $\pm$ 0.67 mg GAE/100 g DW ตามด้วยเปลือก 19.11 $\pm$ 0.52 mg GAE/100 g DW (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับ

รายงานของ (4) พบว่าผลของตะขบป่าที่ปลูกและบริโภคในประเทศศรีลังกาประกอบด้วยสารฟีนอลิก 35 ชนิด โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค LC-MS แต่ในส่วนสารสกัดจากเมล็ดไม่ได้ทำการตรวจสอบ เนื่องจากตรวจสอบสารพิษเบื้องต้นไม่พบสารกลุ่มนี้ ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าสารสกัดจากเมล็ดที่ความเข้มข้น 1.00 mg/ml มีปริมาณสูงสุด ตามด้วยเปลือก และเนื้อตามลำดับ (1093.33 $\pm$ 1.53, 145.15 $\pm$ 3.06 และ 51.60 $\pm$ 2.65 mg QE/ 100 g DW) แสดงผลดังตารางที่ 2 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าในส่วนของสารสกัดมีปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นฤทธิ์ทางชีวภาพหนึ่งที่เป็นที่นิยมในการศึกษาเพราะว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุและก่อกลไก

สำคัญในการนำไปสู่ความเสื่อมและการเกิดโรคต่าง ๆ หลายโรคในปัจจุบัน การทดสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่า ในการทดลองนี้เลือกใช้วิธีในการทดสอบที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ DPPH ABTS และ FRAP ซึ่งทั้ง 3 วิธี เป็นเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน สามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ให้ความถูกต้อง DPPH และ ABTS เป็นสารที่นิยมใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร โดยอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้ม เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีม่วงของสารละลายจะจางลง ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS นั้น ใช้หลักการเช่นเดียวกับการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH แต่ในกรณีของ ABTS^{•+} เป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวก อยู่ในสารละลายจะมีสีเขียว เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสีเขียวของสารละลายจะจางลง รายงานผลเป็นค่า IC₅₀ (ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50 %) ส่วนวิธี FRAP เป็นเทคนิคที่แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะใช้หลักการที่แตกต่างไปจากทั้งสองวิธีที่ได้กล่าวมาข้างต้น รายงานผลเป็นค่า FRAP Value คือค่าที่บอกความสามารถในการรีดิวซ์ Fe³⁺-TPTZ ให้เป็น Fe²⁺-TPTZ นั่นคือ FRAP Value สูงก็จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง (20, 21) การวิเคราะห์ความสามารถต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบเอทานอลเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่าด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดทุกส่วนมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยแต่ละส่วนสกัดมีฤทธิ์ที่แตกต่างกัน คือ สารสกัดจากเปลือก มีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ด และเนื้อ ตามลำดับ (IC₅₀ เท่ากับ 0.13 ± 0.01, 0.65 ± 0.05 และ 5.88 ± 0.04 mg/ml ตามลำดับ) เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า

แต่ละส่วนสกัดมีฤทธิ์ที่แตกต่างกันเช่นกัน คือ สารสกัดจากเปลือก มีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ด และเนื้อ ตามลำดับ (IC₅₀ เท่ากับ 0.28 ± 0.01, 1.08 ± 0.02 และ 4.48 ± 0.02 mg/ml ตามลำดับ) ส่วนผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าแต่ละสารสกัดก็มีฤทธิ์ที่แตกต่างกัน คือ สารสกัดจากเปลือก มีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ด และเนื้อ ตามลำดับ (FRAP Value เท่ากับ 305.04 ± 3.68, 297.68 ± 3.69 และ 95.03 ± 3.82 mg FeSO₄/100 g DW ตามลำดับ) จากการวิเคราะห์ผลการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของแต่ละส่วนสกัดของผลตะขบทั้ง 3 วิธี มีความสอดคล้องกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกันว่าทุกส่วนสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ ซึ่งก่อนหน้านี้ (8) ได้รายงานว่าส่วนอื่นของตะขบป่า คือ เปลือกลำต้น และใบก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะพบสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อยู่ โดยมีปริมาณที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาความสัมพันธ์สารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชหลายชนิดว่ามีบทบาทต่อการแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (22) แต่เนื่องจากในงานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาสารสกัดหยาบที่ตรวจหาองค์ประกอบสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้น ไม่สามารถระบุชนิดสารบริสุทธิ์ที่มีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์ ในรายงานนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของแต่ละส่วนผลตะขบป่าเป็นแหล่งของสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลตะขบป่าต่อการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าเปลือกของผลตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* TISTR1918, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* TISTR459 และแบคทีเรีย แกรมลบ 4 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*

TISTR1472, *Serratia marcescens* TISTR1354 และให้ฤทธิ์การยับยั้งยีสต์ *Candida albicans* เนื้อของผลตะขบป่าให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 4 ชนิด และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli*, *Protues vulgaris*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* TISTR1472 ส่วนเมล็ดตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. subtilis*, *M. luteus* TISTR1918, *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ 1 ชนิด คือ *E. coli* ดังตารางที่ 3 จากฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและยีสต์พบว่าเปลือกและเนื้อของผลตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 4 ชนิด และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ทั้งหมด ยกเว้น *P. vulgaris* และ *S. marcescens* TISTR1354 ซึ่งเปลือกของผลตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าเนื้อของผลตะขบป่าที่น่าสนใจคือเปลือกของผลตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งยีสต์ *C. albicans* ส่วนเมล็ดตะขบป่าให้ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด คือ *B. subtilis*, *M. luteus* TISTR1918, *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบเพียง 1 ชนิด คือ *E. coli* จากผลการวิจัยพบปริมาณสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระสูงในเปลือกและเนื้อของผลตะขบป่าซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (23-25) ที่รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ของพืช พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารยับยั้งแบคทีเรียโดยมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ (Cell Wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic Membrane) และเยื่อหุ้มเซลล์ของโปรตีน (Membrane Protein) ของแบคทีเรียซึ่งส่งผลในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ดี นอกจากนี้ (5) ได้รายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากรากของตะขบป่าที่พบสารประกอบ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน โกลโคไซด์ เทอร์ปีนอยด์ และสเตอรอยด์ ที่ส่งผลในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้งแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) และแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas*, *Vibrio*

cholera, *Proteus*) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (26) ที่ทำการศึกษากปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสารนั้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งแบคทีเรียในปริมาณที่สูงเช่นกัน และรายงานของ (27) ยังพบว่าสารสกัดจากใบสตรอว์เบอร์รี่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณของฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ดังนั้นงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงส่วนต่าง ๆ ของผลตะขบป่า (เปลือก เนื้อ และเมล็ด) เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติและสารต้านจุลชีพที่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านโภชนาการ และทางการแพทย์ได้ต่อไป

สรุปผล

ผลจากการศึกษาสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของผลตะขบป่า (เปลือก เนื้อ และเมล็ด) พบสารฟลักซ์เคมี 6 ชนิด ได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ไดเทอร์พีน และแอนทราควิโนน สารสกัดจากเนื้อไม้ปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด สารสกัดจากเมล็ดมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด และสารสกัดจากเปลือกแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดด้วยวิธีที่ทดสอบแตกต่างกัน 3 วิธี (DPPH ABTS และ FRAP) รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ด และเนื้อ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ามีคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียและยีสต์ได้ด้วย แสดงให้เห็นว่าผลของตะขบเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีศักยภาพสามารถที่จะนำไปพัฒนาประยุกต์ใช้ทางด้านโภชนาการและทางการแพทย์ได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้การ

สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงสาขาเคมี สาขาจุลชีววิทยา และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย [อินเทอร์เน็ต]. 2557 [สืบค้นเมื่อวันที่ 8 เม.ย. 2563]. จาก: <http://www.dnp.go.th/botany/mplant/index.aspx>.
2. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ตะขบป่า [อินเทอร์เน็ต]. 2563 [สืบค้นเมื่อวันที่ 8 เม.ย. 2563] จาก : <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=45>.
3. Ndhlala AR, Kasiyamhuru A, Mupure C, Chitindingu K, Benhura MA, Muchuweti M. Phenolic composition of *Flacourtia indica*, *Opuntia megacantha* and *Sclerocarya abirrea*. Food Chem. 2006;103(2007):82-7.
4. Alakolanga AGAW, Siriwardane AMDA. Siriwardane AMDA, Kumar S, Lalith J, Rakesh, et al. LC-MSⁿ identification and characterization of the phenolic compounds from the fruits of *Flacourtia indica* (Burm. F.) Merr. and *Flacourtia inermis* Roxb. Food res Int. 2014;62(2004):388-96.
5. Eramma N, Gayathri D. Antibacterial potential and phytochemical analysis of *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. root extract against human pathogens. Indo Am J Pharm Res. 2013;3(5):3832-46.
6. Swati M, Nath SG, Yatendra K, Kanchan K, Mohan SR, Prakash O. Phytochemical analysis and free-radical scavenging activity of *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. J Pharm Res. 2009;8(2):81-4.
7. Nazneen M, Mazid A, Kundu JK, Bachar SC, Begum F, Dat BK. Protective effects of *Flacourtia indica* aerial parts extracts against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. J Taibah Univ Sci. 2009;2:1-6.
8. Varkey J, Thomas J. Protective effect of *Flacourtia indica* (Brum. f) Merr. in methotrexate induced hepatotoxicity. Pharnanest. 2011;2(2-3):115-23.
9. Biswas A, Battu G. *Flacourtia indica* (burm.f.) prevents CCl₄ induced rat liver damage by augmenting antioxidant enzyme activity. Eur J Pharm Med Res. 2016;3(4):263-70.
10. Kaou AM, Mahiou-Leddett V, Canlet C, Debrauwer L, Hutter S, Laget M, et al. Antimalarial compounds from the aerial parts of *Flacourtia indica* (Flacourtiaceae). J Ethnopharmacol. 2010;130(2):272-4.
11. Sashidhara KV, Singh SP, Singh SV, Srivastava RK, Srivastava K, Saxena JK, et al. Isolation and identification of β -hematin inhibitors from *Flacourtia indica* as promising antiplasmodial agents. Eur J Med Chem. 2013;60:497-502.
12. โชติกา คุณประทุม, ปกิต กำบุญมา, ปญชรัส ศรีสุพรรณวัฒน์, ชนกวร เผ่าศิริ. การตรวจสอบสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากยอดและกิ่งอ่อนสะเดาหวาน. ใน: รายงานการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติและ

- นานาชาติ 2559. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย
บัณฑิตศึกษา ระดับชาติและนานาชาติ 2559; 15
ม.ค.2559; มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น:
มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2559. น. 308-16.
13. Vichit W, Saewan N. Antioxidant activities and cytotoxicity of Thai pigmented rice. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2015;7(7):329-34.
 14. Phattatakorn K, Pajanyor P, Wongtecha S, Prommakool A, Savebowon W. Effect of germination on total phenolic content and antioxidant properties of “Hang” rice. *Int Food Res J.* 2016;23(1):406-9.
 15. Vararat S, Managit C, Iamthanakul L, Soparat W, Kamkean N. Examination of antioxidant activity and development of rice bran oil and gamma-oryzanol microemulsion. *J Health Res.* 2010;24(2):67-72.
 16. Pang Y, Ahmed S, Xu Y, Beta T, Zhu Z, Shao Y, et al. Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red, and black rice. *Food Chem.* 2018;240:212-21.
 17. Kaur M, Asthir B, Mahajan G. Variation in antioxidant, bioactive compounds and antioxidant capacity in germinated and ungerminated grains of ten rice cultivars. *Rice Sci.* 2017;24(6):349-59.
 18. Bhargava S, Dhabhai K, Batra A, Sharma A, Malhotra B. *Zingiber officinale*: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. *J Chem Pharm Res.* 2012;4:360-64.
 19. เจนจิรา จิรัมย์, ประสงค์ สีหนาม. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา [Oxidants and antioxidants: sources and mechanism]. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์.* 2554;1(1):59-70.
 20. สุชาติ มานอก, ปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร [Investigation antioxidant activity by DPPH, ABTS assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-Hom Thepphachit]. *วารสารก้าวหน้าทางโลกวิทยาศาสตร์.* 2558;15(1):106-17.
 21. นพวัฒน์ เพ็งคำศรี, จัตุพล กันทะมูล, ภัทรภรณ์ ไตรวัฒน์กิจ, วชิรวิทย์ วงศ์ชารัฐ, วนิดา ไชยหมั่น, นิภาพร เมืองจันทร์, และคณะ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิง [*Alpinia Conchigera* rhizome extracts]. *วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ.* 2554;6(3):195-201.
 22. Saxena M, Saxena J, Pradhan A. Flavonoid and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2012;16(2):130-4.
 23. ทิฐิมา ภาคภูมิ, กัลยาภรณ์ จันตรี, อรพิน โกมุติบาล. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบพลูเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องสำอาง [Antimicrobial and antioxidant capacity of leaf extract of *Piper betle* Linn. for development to cosmetics]. *วารสารวิจัย มสส สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์.* 2559;9(1):1-20.

24. Hayriye CK, Melissa CN. Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia coli*. Food Biosci. 2015;2:8–16.
25. Windell LR, Demetrio L, Valle J, Jeannie A, Juliana JMP, Esperanza CC. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. Asian Pac J Trop Biomed. 2015; 5(7):532–40.
26. สุภกร บุญยืน.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของสารสกัดพืชหางนกยูง [Decomposition antioxidant, antimicrobial activities, total phenolic content and total flavonoid content of *Delonix regia* (Boj. Ex Hook.) Raf. extracts]. Thai Journal of Science and Technology. 2559;5(1):20-8.
27. Bouyahya A, Moussaoui NE, Abrini J, Bakri Y, Dakka N. Determination of phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf extracts. Br Biotechnol J. 2016;14(3):1-10.