ผลของระยะเวลาในการสกัดพุทราจีนต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวม
The Effect of Extraction Time on Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of Chinese date

จิรวัส ประทุมวัน*, กิติยา มาตจุฬา, กิตติคุณ มัยวงศ์, กิตติศักดิ์ ธงขาว, ธีรนุช สงวนศักดิ์, อภิชญา รัตนวรรณนุกูล
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
*Email : freewingstone017@hotmail.com

บทคัดย่อ

พุทราจีนมีรสหวาน ถูกนำมาใช้ในการแพทย์แผนจีนเป็นเวลานาน เพื่อรักษาปัญหาการนอนไม่หลับ ช่วยบำรุงเลือด บรรเทาอาการโลหิตจาง พุทราจีนเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดสารอนุมูลอิสระ การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในพุทราจีน ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging และ Folin-Ciocalteu ตามลำดับ พบว่าระยะเวลามีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสกัดพุทราจีนเป็นเวลา 45 นาที แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15, 30 และ 60 นาที โดยมีค่าเท่ากับ 19.724±0.372 mg/ml และ 40,677.40±553.21 mg GAE/g extract ตามลำดับ จากการศึกษานี้พบว่าพุทราจีนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและมีสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในชีวิตประจำวันเพื่อดูแลสุขภาพและใช้ในการป้องกันหรือชะลอการเกิดอนุมูลอิสระได้

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พุทราจีน ระยะเวลาในการสกัด สารประกอบฟีนอลิกโดยรวม

Abstract

Chinese date has been used in traditional Chinese medicine over the centuries to treat insomnia and anemia. It contains lots of phenolic compounds such as flavonoid and phenolic acid which act as antioxidant. This study aims to investigate the effect of extraction time on antioxidant activity and total phenolic contents using DPPH Radical Scavenging and Folin-Ciocalteu assay, respectively. The various extraction times showed significant differences in antioxidant activity and total phenolic contents. It was found that the Chinese date extracted for 45 mins showed the highest antioxidant property and total phenolic contents (19.724±0.372 mg/ml and 40,677.40±553.21 mg GAE/g extract, respectively). The Chinese date is a natural source of phenolic compound and able to delay or prevent the formation of free radicals.

Keywords : antioxidant activity, Chinese date, extraction time, total phenolic compound

บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free Radical) เป็นโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็คตรอนเดี่ยวอยู่ในวงนอกสุด (unpaired electron) มีความไม่เสถียร และไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียง โดยอนุมูลอิสระจะแย่งจับหรือรับเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียง ทำให้โมเลกุลข้างเคียงมีการสูญเสียอิเล็กตรอน กลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ และเกิดต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ หากสารอนุมูลอิสระนี้เกิดมากขึ้น อาจสร้างความเสียหายต่อร่างกาย และสามารถพัฒนาให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น มะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น (Lobo et al., 2010) โดยปกติแล้วสารอนุมูลอิสระนั้นสามารถเกิดได้เองภายในร่างกายของเราในระหว่างกระบวนการเผาผลาญพลังงานตามปกติของร่างกาย และจากแหล่งภายนอก ได้แก่ มลพิษในอากาศ ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว แสงแดด ดังนั้นร่างกายจึงต้องการสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารที่สามารถมายับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอหรือยับยั้งความเสียหายของเซลล์ที่เกิดขึ้นจากสารอนุมูลอิสระ ร่างกายสามารถได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากการที่สร้างขึ้นเองภายในร่างกาย และจากอาหารที่รับประทานเข้าไป โดยเฉพาะพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพร (Hajhashemi et al., 2010)

พุทราจีน (Chinese date) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ziziphus jujuba* Mill. มีลักษณะรี ผิวสีแดงคล้ำ วาวเล็กน้อย เนื้อสีเหลืองอมน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นหอมเล็กน้อย รสหวาน ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย อีกทั้งยังถูกนำมาใช้ในการแพทย์แผนจีนเป็นเวลานาน เพื่อรักษาปัญหาการนอนไม่หลับ โรคภูมิแพ้ ช่วยบำรุงเลือด บรรเทาอาการโลหิตจาง (สมคิด ปิยะมาน และคณะ, 2554) พุทราจีนอุดมไปด้วยเส้นใยอาหาร วิตามินหลายชนิด ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินบี และแร่ธาตุต่าง ๆ รวมถึงกรดไขมันชนิดที่ดีต่อสุขภาพ นอกจากนี้พุทราจีนยังเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (Xue et al., 2021) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิระ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าระยะเวลามีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมา หากใช้ระยะเวลาในการสกัดนานขึ้น จะทำให้สามารถได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกออกมาเพิ่มขึ้นด้วย (Azahar et al., 2017, Che Sulaiman et al., 2017) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในพุทราจีน เพื่อเป็นข้อมูลเกี่ยวกับการใช้พุทราจีนเพื่อการรักษาสุขภาพ และเพื่อประโยชน์ในการศึกษาต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพุทราจีนด้วยวิธี DPPH radical scavenging

2. เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในพุทราจีนด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

ทบทวนวรรณกรรม

อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออนซึ่งมีอิเล็กตรอนเดี่ยวในวงนอกสุด (unpaired electron)) มีความไม่เสถียร และไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียง อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่

แล้ว มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ คือการเกิดขึ้นต่อเนื่องไม่มีที่สิ้นสุด โดยอนุมูลอิสระจะแย่งจับหรือรับเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียง ทำให้โมเลกุลข้างเคียงมีการสูญเสียอิเล็กตรอน กลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ โดยตัวที่ถูกดึงอิเล็กตรอนไปก็จะกลายเป็นอนุมูลอิสระแทนซึ่งจะไปดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นไปเรื่อย ๆ ก่อให้เกิดการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ ขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาและเกิดอนุมูลอิสระจะทำให้เซลล์เสื่อมตามมา และสามารถพัฒนาให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น มะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น

อนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์เกิดจาก (Lobo et al., 2010) เกิดภายในร่างกายของเราเอง เป็นผลจากในร่างกายของเรามีกระบวนการเผาผลาญอาหาร (metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกาย ที่ต้องดำเนินการตามปกติ (Hajhashemi et al., 2010) ได้รับมาจากนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัยด้วยกัน เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ จากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆกลับมาใช้ซ้ำ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

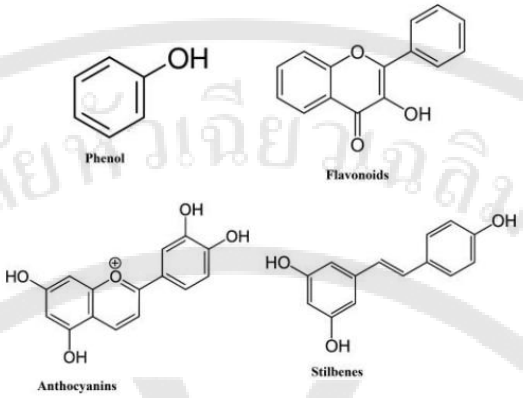
สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถมายับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ 1) การกำจัดอนุมูลอิสระโดยตรง (free radical scavenger) เป็นกลไกที่จะยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน ทำให้อนุมูลอิสระมีความสเถียรมากขึ้น 2) การกำจัดออกซิเจน (oxygen scavenger) เป็นกลไกที่จะยับยั้งอนุมูลอิสระโดยทำปฏิกิริยากับซิงเกลทออกซิเจน เพื่อกำจัดหรือป้องกันการเกิดออกซิเจน ที่เป็นปัจจัยหนึ่งของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน 3) สารคีเลต (chelating agents) เป็นกลไกที่จะยับยั้งอนุ มูลอิสระโดยการกำจัดไอออนโลหะที่เป็นปัจจัยให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ Fe^{2+} และ Cu^{2+} (สุรีวัลย์ ดวงจิตต์ และคณะ, 2562)

สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งชนิดที่ได้จากธรรมชาติและแบบสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในอาหารและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ เช่นวิตามินอี วิตามินซี สารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และสารกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งได้รับจากการรับประทานผัก ผลไม้ และธัญพืชต่าง ๆ (Kwasniewska et al., 2023) และสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate และ tertiary butylhydroquinone (TBHQ) ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน อันเป็นสาเหตุให้อาหารมีรสชาติ กลิ่นและสีที่เปลี่ยนแปลงไป แม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์จะมีความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ และนิยมใช้อย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามการใช้สารสังเคราะห์ยังมีข้อจำกัดด้านความปลอดภัยในการบริโภคระยะยาวและผลต่อสุขภาพ (Lourenço et al., 2019)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร เมล็ดธัญพืช ซึ่งเป็น secondary metabolites ที่พบได้ทั่วไปในพืช ถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และช่วยป้องกันรังสียูวี เชื้อโรคหรือแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูอิสระ มีบทบาทช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ ในร่างกาย สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกอย่างน้อง 1 วง ต่อกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ สารประกอบฟีนอลิกสามารถจำแนกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ 1) กรดฟีนอลิก

(phenolic acid) 2) สตีลบีนส์ (stilbene) 3) ลิกแนน (lignin) 4) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และ 5) แทนนิน (tannin) โดยสารประกอบฟีนอลิกทกลุ่มใหญ่ที่พบคือ สารประกอบกลุ่มกรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Rupasinghe et al., 2014, Rahman et al., 2021)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: De Souza, E.L., De Albuquerque, T.M.R., Dos Santos, A.S., Massa, N.M.L., & Alves, J.L.D.B. (2018). Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 1-15.

พุทราจีน (Chinese date)

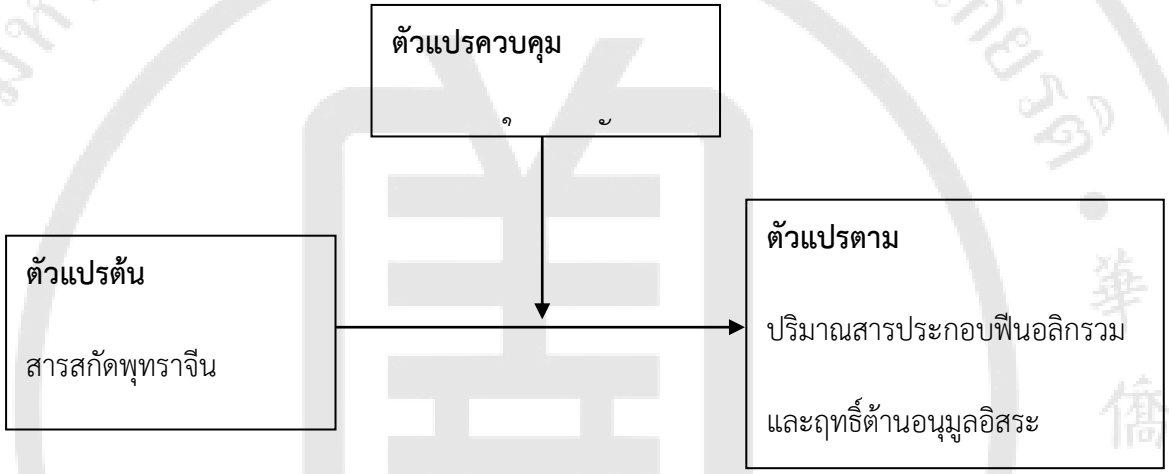
พุทราจีน หรือ ต้าเจ่า ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ziziphus jujuba* Mill. มีลักษณะรี ผิวสีแดงคล้ำ วาวเล็กน้อย เนื้อสีเหลืองอมน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นหอมเล็กน้อย รสหวาน มีฤทธิ์อุ่น จัดอยู่ในกลุ่มสมุนไพรบำรุงพลัง (ชี่) สรรพคุณบำรุงลมปราณม้าม ตับ สมอง ช่วยขับปัสสาวะ เสริมสร้างเลือด บรรเทาอาการโลหิตจาง แก้นอนไม่หลับ คลายอาการวิตกกังวล เสียใจ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยปกติจะใช้พุทราจีนจำนวน 10-30 กรัม ผ่านำเมล็ดออกก่อนนำมาต้ม สารสกัดน้ำมีสรรพคุณบรรเทาอาการเลือดคั่ง โดยส่วนใหญ่พุทราจีนจะเป็นส่วนประกอบในตำรับยาต่าง ๆ ไม่นิยมใช้เดี่ยว (วิชัย โชควิวัฒน และคณะ, 2551, สมคิด ปิยะมาน และคณะ, 2554) พุทราจีนอุดมไปด้วยเส้นใยอาหาร วิตามินหลายชนิด ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินบี และแร่ธาตุต่าง ๆ รวมถึงกรดไขมันชนิดที่ดีต่อสุขภาพ นอกจากนี้พุทราจีนยังเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (Xue et al., 2021) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพุทราจีนได้มีการศึกษาเป็นจำนวนมาก Xue et al. (2009) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกและเนื้อของพุทราจีน พบว่า เปลือกของพุทราจีนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเนื้อพุทราจีน 5-6 เท่า และพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Zhang et al. (2021) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพุทราจีนสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่าสายพันธุ์ Qingxuyuanzao มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 16.33 mg GAE/g dry weight

นอกจากนี้ Lin et al. (2020) แสดงให้เห็นว่า การสกัดเนื้อติดเปลือกของพุทราจีนด้วย 50% เอทานอลที่อุณหภูมิ 60°C มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าเมล็ดของพุทราจีน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.3 ± 0 mg/mL และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 38.3 ± 0.4 mgGAE/g dry weight

สมมติฐาน

ระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมในพุทราจีน

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 2 กรอบแนวคิดการวิจัย

วิธีการวิจัย

ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย

1. พุทราจีน ซื้อจากร้านขายยาจีน จำนวน 200 กรัม

การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง นำพุทราจีน 22 กรัม มาทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วแช่ในน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาทีเมื่อครบเวลานำมาต้มเป็นเวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที หลังจากต้มแล้ว นำสารสกัดที่ได้กรองด้วยผ้าขาวบางจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ทำการแยกตะกอนแล้วนำสารสกัดเก็บไว้ที่ 4°C ในขวดสีชาจนกว่าทำการวิเคราะห์

การทดสอบสมมติฐาน

นำสารสกัดมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น โดยทำแบบ Two fold dilution ให้ได้ทั้งหมด 7 ความเข้มข้น เพื่อนำไปหาค่า IC_{50}

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 1.6 mM นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 µg/mL และเตรียมสารสกัดพุทราจีนที่ใช้เวลาในการสกัดแตกต่างกัน โดยนำสารสกัดพุทราจีนปริมาตร 200 µL ทำปฏิกิริยากับ

DPPH ปริมาตร 1800 µL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) จากนั้นนำมาคำนวน IC_{50} (50% Inhibitory Concentration) และ TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = \frac{\text{O.D. control} - \text{O.D. sample}}{\text{O.D. control}} \times 100$$

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยวิธี Folin–Ciocalteu โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid ความเข้มข้น 500 mg/dL นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 250, 150, 100, และ 50 mg/dL และเตรียมสารสกัดพุทราจีนที่ใช้เวลาในการสกัดแตกต่างกัน โดยนำสารสกัดพุทราจีนปริมาตร 125 µL ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 500 µL จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 7% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 1.25 mL และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาหาค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่าง โดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน gallic acid จะได้ค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิก ในหน่วย mgGAE/g extract

การวิเคราะห์ทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และใช้สถิติ one-way ANOVA ในการเปรียบเทียบผลของเวลากับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดพุทราจีน กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 (p-value < 0.05) โดยโปรแกรมวิเคราะห์สำเร็จรูป GraphPad Prism version 9

ผลการวิจัย

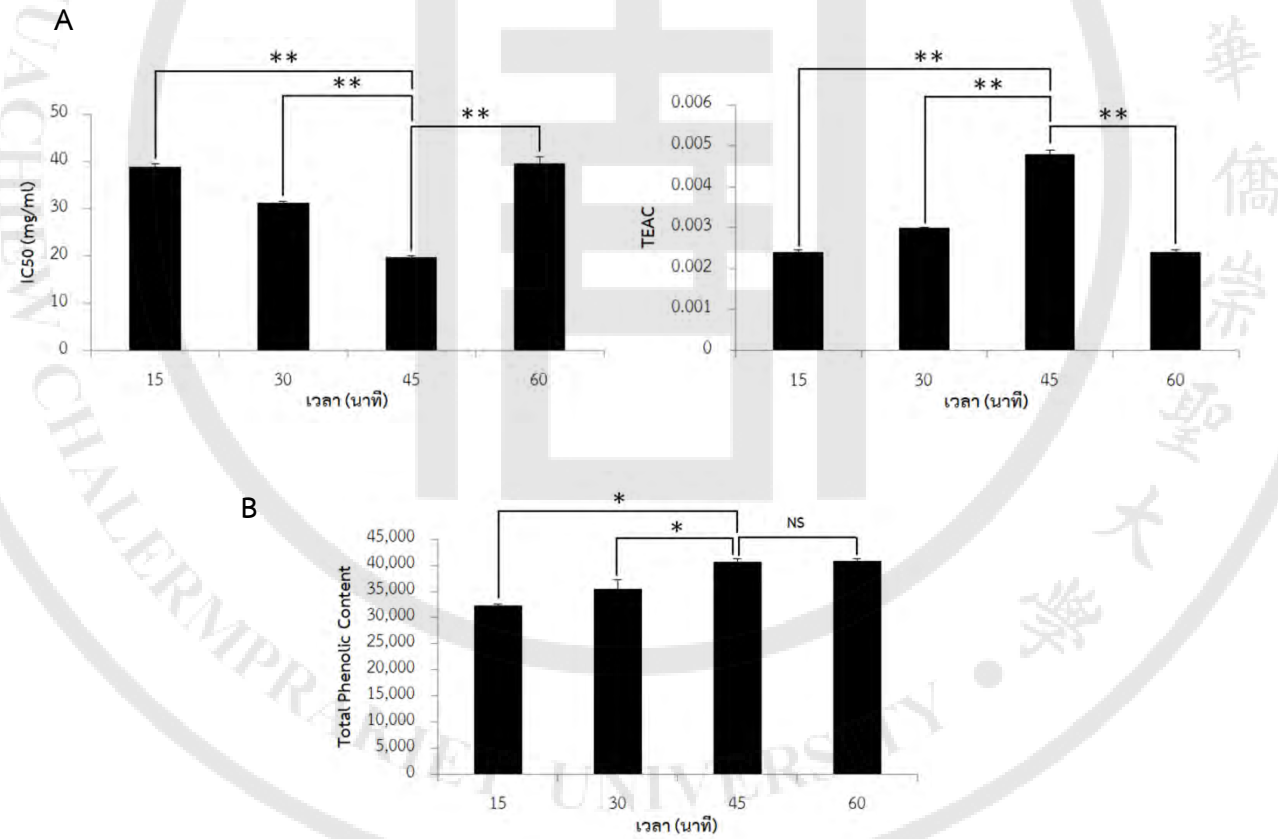
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดพุทราจีน โดยนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาปริมาณของสารในสมุนไพรที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% หรือ 50% Inhibitory Concentration (IC_{50}) พบว่าสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที มีค่า IC_{50} อยู่ที่ 38.850±0.609, 31.291±0.248, 19.724±0.372 และ 39.667±1.449 mg/mL จะเห็นว่าสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 45 นาทีมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ดีที่สุด รองลงมาคือ ที่เวลา 30, 15 และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สารสกัดพุทราจีนที่เวลา 45 นาที เปรียบเทียบกับสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15, 30 และ 60 นาที พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.0001

จากนั้นนำค่า IC_{50} คำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรเทียบกับสารละลายมาตรฐาน trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity: TEAC) พบว่า สารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที มีค่า TEAC เท่ากับ 0.0024±5.8x10^{-5}, 0.0030±5.3x10^{-19}, 0.0048±1.0x10^{-4} และ 0.0024±5.8x10^{-5} ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 45 นาทีมีค่า TEAC สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 30, 15 และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 45 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15, 30 และ 60 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.0001 แสดงดังตารางที่ 1

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมในสารสกัดสมุนไพรจีน 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดพุทราจีน สารสกัดตังกุยและสารสกัดเก๋ากี้ พบว่าช่วงเวลาของสารสกัดพุทราจีนที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมเรียงจากมากไปน้อย คือ ที่เวลา 60, 45, 30 และ 15 นาที ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 60 นาที เปรียบเทียบกับสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 45 นาที พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 60 และ 45 นาที กับสารสกัดพุทราจีนที่เวลา 15 และ 30 นาที พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.05

ตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพุทราจีน

เวลา	**ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ**		**ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม**
(นาที)	**IC_{50} (mg/mL)**	**TEAC**	**(mg GAE/g extract)**
15	38.850±0.609	0.0024±5.8x10^{-5}	32,412.64±232.79
30	31.291±0.248	0.0030±5.3x10^{-19}	35,573.05±1,713.28
45	**19.724±0.372**	**0.0048±1.0x10^{-4}**	40,677.40±553.21
60	39.667±1.449	0.0024±5.8x10^{-5}	40,822.81±398.79



ภาพที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการสกัดพุทราจีนกับ (A) ค่า IC_{50} และ TEAC และ (B) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สรุปผลการวิจัย

การสกัดพุทราจีนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดนานขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากขึ้นด้วย เช่นเดียวกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น โดยการสกัดพุทราจีนเป็นเวลา 45 นาที จะทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกสกัดออกมาในปริมาณสูง และสามารถยับยั้งอนุมูล DPPH ได้

อภิปรายผลการวิจัย

พุทราจีนเป็นสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง ได้แก่ catechin, caffeic acid, chlorogenic acid, epicatechin, ferulic acid, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, phlorizin และrutin (San et al., 2010, Zhao et al., 2014) งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมในสารสกัดพุทราจีน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกัน ได้แก่ น้ำกลั่น ที่เวลาต่างกัน คือ 15 นาที 30 นาที 45 นาที และ 60 นาที พบว่า สารสกัดพุทราจีนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมสูง (Xue et al., 2009, Zhang *et al*., 2021) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lin et al. (2020) พบว่าการสกัดเนื้อติดเปลือกของพุทราจีนด้วย 50% เอทานอลที่อุณหภูมิ 60°C มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากน้ำกลั่นที่อุณหภูมิเดียวกัน และพุทราจีนที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 60°C มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ในการศึกษานี้เมื่อสกัดพุทราจีนเป็นเวลา 45 นาที จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด การศึกษาของ Soares dos Reis et al. (2018) และ Hagar et al. (2021) พบว่าระยะเวลาในการสกัดที่นานขึ้น ทำให้มีการสกัดสารประกอบฟีนอลิกปริมาณเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรมีการดูดซับน้ำได้อย่างเต็มที่ ทำให้สารที่อยู่ในสมุนไพรถูกละลายออกมาได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 15 และ 30 นาที เป็น 45 นาที มีผลทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 60 นาที พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาในสารสกัดข้าวเหนียวดำพบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ มีค่าเพิ่มขึ้นในระยะแรกของการให้ความร้อน จาก 30 เป็น 40 นาที และมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง เมื่อใช้ระยะเวลานานขึ้นเป็น 50 และ 60 นาที โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 40 นาที (สุไฮนีย์ เบญจเหม และคณะ, 2557)

เอกสารอ้างอิง

วิชัย โชควิวัฒน, เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, อุทัย โสธนะพันธุ์. จรัส ตั้งอร่ามวงศ์, สว่าง กอแสงเรือง และคณะ. (บรรณาธิการ). (2551). ตำรับยาจีนที่ใช้บ่อยในประเทศไทย เล่ม 2. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์.

สมคิด ปิยะมาน (บรรณาธิการ). (2554). สมุนไพรจีนในเวชปฏิบัติ. นนทบุรี: วิทยาลัยการแพทย์แผน ไทยและการแพทย์ทางเลือก.

สุรีวัลย์ ดวงจิตต์, กรกนก สุวรรณราช, กุลภัสสร์ กิตติพินิจนันท, พิชญ์นรี องค์วิสุทธิ์, สุรีวัลย์ บำรุงไทย, ธนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์, พรวนิช เจริญพุทธคุณ, วริษฎา ศิลาอ่อน. (2562). บทบาทของสารต้านอนุมูล

อิสระจากธรรมชาติสำหรับประยุกต์ใช้ทางผิวหนัง: คุณสมบัติ ประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และระบบนำส่งรูป แบบใหม่. ว. เภสัชศาสตร์อีสาน, 15 (1), 21-48.

สุไฮนีย์ เบญจเหม, เทวี ทองแดง คาร์ริลา, เนตรนภิส อ่องสุวรรณ. (2557). ผลของวิธีการให้ความร้อนและระยะเวลาต่อคุณภาพของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Azahar, N.F., Gani, S.S.A., & Mohd Mokhtar, N.F. (2017). Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions of Curcuma Zedoaria leaves using response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11, 96.

Che Sulaiman, I.S., Basri, M., Fard Masoumi, H.R., Chee, W.J., Ashari, S.E., & Ismail, M. (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal,* 11, 54.

De Souza, E.L., De Albuquerque, T.M.R., Dos Santos, A.S., Massa, N.M.L., & Alves, J.L.D.B. (2018). Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities–A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 1-15.

Hagar, A., Fatihah, N., Abd Rani, N.F., Ibrahim, M., Ramli, N., Ahmed, I., Jalil, A., Jalil, M., Anuar, M.N.N., & Anuar, N. (2021). Optimization of extraction temperature and time on phenolic compounds and antioxidant activity of malaysian propolis trigona spp. Aqueous extract using response surface methodology. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 25, 649-660.

Hajhashemi, V., Vaseghi, G., Pourfarzam, M., & Abdollahi, A. (2010). Are antioxidants helpful for disease prevention?. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 5 (1), 1-8.

Kwasniewska, M., Pikala, M., Grygorczuk, O., Waskiewicz, A., Stepaniak, U., Pajak, A., Kozakiewicz, K., Nadrowski, P., Zdrojewski, T., Puch-Walczak, A., Tykarski, A., & Drygas, W. (2023). Dietary Antioxidants, Quality of Nutrition and Cardiovascular Characteristics among Omnivores, Flexitarians and Vegetarians in Poland—The Results of Multicenter National Representative Survey WOBASZ. *Antioxidants*, 12*,* 222.

Lin, Y.S., Lin, W.S., Tung, J.W., Cheng, Y.C., Chang, M.Y., Chen, C.Y., & Huang, S.L. (2020). Antioxidant Capacities of Jujube Fruit Seeds and Peel Pulp. *Applied Sciences, 10*, 6007.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118-26.

Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M., & Alves, V.D. (2019) Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. Molecules, 24 (22), 4132.

Rahman, M.M., Rahaman, M.S., Islam, M.R., Rahman, F., Mithi, F.M., Alqahtani, T., Almikhlafi, M.A., Alghamdi, S.Q., Alruwaili, A.S., Hossain, M.S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T.B., & Uddin, M.S. (2021). Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*, 27 (1), 233.

Rupasinghe, H.P.V., Nair, S.V.G., & Robinson, R.A. (2014). Chapter 8-Chemopreventive Properties of Fruit Phenolic Compounds and Their Possible Mode of Actions. *Studies in Natural Products Chemistry* (pp. 229-266). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

San, B., & Yildirim, A.N. (2010). Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (Ziziphus jujuba Miller) selections. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (7), 706-710.

Soares dos Reis, C. de M.A., Vanderlei Aparecido de Lima, L.D. da S., Cadorin Oldoni, T.L., Pereira, C., & Carpes, S.T. (2018). Optimization of phenolic compounds extraction with antioxidant activity from açaí, blueberry and goji berry using response surface methodology. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30 (3), 180–189.

Xue, X., Zhao, A., Wang, Y., Ren, H., Du, J., Li, D., & Li, Y. (2021). Composition and content of phenolic acids and flavonoids among the different varieties, development stages, and tissues of Chinese Jujube (Ziziphus jujuba Mill.). *PLoS* ONE, 16 (10).

Xue, Z., Feng, W., Cao, J., Cao, D., & Jiang, W. (2009). Antioxidant activity and total phenolic contents in peel and pulp of Chinese jujube (Ziziphus jujuba Mill) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 33, 613-629.

Zhang, Y., Sun, X., Vidyarthi, S.K., & Zhang, R. (2021). Active components and antioxidant activity of thirty-seven varieties of Chinese jujube fruits (Ziziphus jujuba Mill.). *International Journal of Food Properties*, 24 (1), 1479-1494.

Zhao, H.X., Zhang, H.S., & Yang, S.F. (2014). Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Science and Human Wellness*, 3, (3–4), 183-190.