พฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชที่มีสรรพคุณทางยา
Phytochemicals and Biological ActivitiesofMedicinal Plants

วาสนา เนียมแสวง
Wasana Naiumsawang
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University, Thailand.
Corresponding author; E-mail : *wasana@webmail.npru.ac.th*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดจากพืชที่มีสรรพคุณทางยา 15 ชนิด ได้แก่ พลู สีเสียดไทย หมากเหลือง สมอพิเภก เงาะ อบเชย ยูคาลิปตัส มังคุด สมอไทย กานพลู มะขามป้อม ขี้เหล็ก สาบเสือ ขิง และมะรุมโดยการเตรียมตัวอย่างพืชด้วยวิธีการสกัดร้อนและสกัดเย็น พบว่าสารสกัดจากพลูมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 874.09 ± 34.76 มิลลิกรัม สมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม และ 758.68 ± 53.05 มิลลิกรัม สมมูลของคาเทซินต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดจากหมากเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 1,280.95 ± 134.07 มิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม นอกจากนี้สารสกัดจากหมากเหลืองยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้สูงที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* การศึกษาในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากหมากเหลืองเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติแหล่งใหม่ที่ใช้สำหรับการป้องกันโรคที่คุกคามต่อชีวิต นอกจากนี้เปลือกของหมากเหลืองอาจมีประสิทธิภาพที่จะพัฒนาเป็นวัตถุเจือปนอาหารเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหารได้

คำสำคัญ: สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านจุลชีพ

Abstract

This research aims to examine and compare the total phenolic and total flavonoids contents, antioxidant and antimicrobial activities of 15 medicinal plant crude extracts including *P. betle* L, *A. catechu, C. lutescens, T. belerica, N. lappaceumL, C. iners, E. globulus Labill, G. mangostana* L, *T. chebula* Retz, *S. aromaticum, P. emblica* L, *C. siamea* Lam, *E. odoratum* L, *Z. officinale* and *M. oleifera* Lam. The crude extracts were obtained from liquid extraction method with hot or cold processes.

The crude extract of *P. betle* L showed the highest of both total phenolic and total flavonoid contents in the values of 874.09 ± 34.76 mgGAE/1 g and 758.68.09 ± 53.05 mg CE/1g, respectively. The determination of antioxidant capacity using DPPH assay revealed that crude extract of *C. lutescens* was strongest DPPH radical scavenging activity at 1,280.95 ± 134.07 mg Trolox/1 g. In addition, the crude extract of *C. lutescens* exhibited the highest antimicrobial activity against *E. coli* with MIC value of 50 μg/mL but was not active to *S. aureus.* The present study suggests that the extracts of *C. lutescens* are a new source of natural antioxidant for prevention of life threatening disease. In addition, the bark of *C. lutescens* may have the potential to be developed into food additive option for prevention of food spoilage.

Keywords: Phenolic compounds, Flavonoids, Antioxidant, Antimicrobialagents

บทนำ

ปัจจุบันมนุษย์ให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้น พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง เป็นต้น ในขณะที่การรับประทานอาหารประเภทพืชผักและผลไม้มีความเสี่ยงน้อยกว่าเนื่องจากในพืชผักและผลไม้มีวิตามินและเกลือแร่ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ข้อเสียของการรับประทานเนื้อสัตว์นั้นเกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารที่เรียกว่า “อนุมูลอิสระ” (free radical) เป็นจำนวนมาก [1] โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญในร่างกาย รวมถึงมลภาวะต่าง ๆ อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของผนังเซลล์ ก่อให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ เช่น หัวใจขาดเลือด โรคเสื่อมของระบบต่าง ๆ ในร่างกายและอาจพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้ ร่างกายของเราจึงมีกลไกในการควบคุมผลผลิตของสารอนุมูลอิสระเพื่อไม่ให้ลุกลามโดยมีการกำจัดอนุมูลอิสระให้มีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นจึงต้องรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปเสริม ซึ่งสารนี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ เสริมฤทธิ์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ได้แก่ propylgallate, Butylated hydroxytoluene (BHT) และอื่นๆ [2] ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ มีทั้งเอนไซม์และวิตามิน เช่น วิตามินซีและวิตามินอี เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด [3] ในปัจจุบันจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดความเสี่ยงจากเชื้อก่อโรคในอาหารช่วยถนอมอาหาร และทดแทนสารเคมีต่าง ๆ ที่อาจเกิดผลข้างเคียงกับผู้บริโภค

พืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ พลูมีสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) และน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูมี

ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis, Escherichia coli และ Salmonella* sp. มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา มะรุมมีสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ และมีรายงานว่าน้ำคั้นสดจากมะรุมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ได้ กานพลูมีสารสำคัญคือยูจีนอล (eugenol) สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด และมีผลต้านเชื้อราและยีสต์ที่ทำให้อาหารเสียได้ อบเชยมีสารกลุ่มน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบหลักเป็น cinnamaldehyde มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E.coli* และพบสารกลุ่มชาลโคน คือ methylhydroxy chalcone polymer มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ [4] สีเสียดไทยมีสารกลุ่มแทนนิน (tannin) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน [5] หมากเหลืองมีสารแทนนิน ฟีนอลิก (phenolics) และมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *B.cereus* และ *E.coli* ได้ [6] สมอพิเภกและมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิก เช่น กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดเอลลาจิก (ellagic acid) และสารกลุ่มแทนนิน [7] สมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* และ *E. coli* ATCC 25922 [8] ยูคาลิปตัสในส่วนของใบมีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [9] มังคุดในส่วนของเปลือกมีสารออกฤทธิ์แซนโทน (xanthone) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* เชื้อสาเหตุการเกิดหนอง และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้เป็น 3 เท่าของแอสไพริน [10] ขิงและสาบเสือมีสารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ สารแทนนินและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [11] เงาะและขี้เหล็กเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้กำจัดเชื้อโรค

S. aureus และ *E. coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบได้ในร่างกายของมนุษย์ โดย *S. aureus* พบได้ตามผิวหนังและรูจมูก เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่ผิวหนังบาดแผล และอาหารเป็นพิษ ส่วน *E. coli* พบได้ในระบบทางเดินอาหาร เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และเชื้อบางสายพันธุ์ก่อโรคอุจจาระร่วง [8] มีรายงานการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่ม [12] และจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย บางชนิดก่อโรคทางเดินอาหาร เช่น *S.aureus* และ*E. coli*O157:H7 ที่เป็นแบคทีเรียสาเหตุการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในหลายประเทศทั่วโลก ผู้ที่ติดเชื้อจะมีอาการท้องเสียถ่ายอุจจาระเป็นน้ำหรืออาการลำไส้ใหญ่อักเสบมีเลือดออก (haemorrhagic colitis : HC) โดยเฉพาะเด็กเล็กและผู้สูงอายุมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดกลุ่มอาการฮีโมไลติกยูรีมิก (hemolytic uremic syndrome: HUS) หรือที่เรียกว่ากลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกยูรีเมียตามมาทำให้เสียชีวิตได้ [13]

จากสรรพคุณของสมุนไพรไทยที่กล่าวมาทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ พลู *(Piper betle L.)* สีเสียดไทย *(Acacia catechu)* หมากเหลือง *(Chrysalidocarpus lutescens)* สมอพิเภก *(Terminalia belerica)* เงาะ *(Nephelium lappaceum* L.*)* อบเชย *(Cinnamomum iners)* ยูคาลิปตัส *(Eucaly ptusglobulus* Labill) มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz) กานพลู *(Syzygium aromaticum)* มะขามป้อม *(Phyllanthus emblica* L.) ขี้เหล็ก (*Cassia siamea* Lam) สาบเสือ *(Eupatorium odoratum* L.) ขิง *(Zingiber officinate)* และมะรุม *(Moringa oleifera* Lam)

วิธีการวิจัย

นำพืชสมุนไพรลักษณะแห้ง ได้แก่ สมอพิเภก (ผล) สมอไทย (ผล) หมากเหลือง (ผล) อบเชย (เปลือก) สีเสียดไทย (เนื้อไม้) จากร้านขายยาแผนโบรานเป้าอันตึ้ง อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2561 นำมาทำการบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา และเก็บไว้ในถุงพลาสติก พืชสมุนไพรลักษณะสด ได้แก่ ขี้เหล็ก (ใบ) กานพลู (ใบ) มะรุม (ใบ) สาบเสือ (ใบ) พลู (ใบ) เงาะ (เปลือกผล) มังคุด (เปลือกผล) มะขามป้อม (ผล) และขิง (เหง้า) จากตลาดบน ตลาดล่างนครปฐม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐมและยูคาลิปตัส (ใบ) จากอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี ช่วงเดือนเมษายน พ.ศ.2561 นำตัวอย่างสดทั้งหมดมาล้างทำความสะอาดผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UF 30 ประเทศเยอรมันนีที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง หรือจนแห้งสนิท แล้วนำมาบดเป็นผง เก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิท

ทำการสกัดร้อนซึ่งเป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง เหมาะสำหรับการสกัดสารองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อน และไม่เหมาะกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีสารที่ระเหยง่ายเป็นองค์ประกอบ [14] ความร้อนจะช่วยในการสกัดให้สารออกมาจากพืชและละลายอยู่ในน้ำ และตัวทำละลายได้ดีขึ้นโดยนำตัวอย่างพืชบดละเอียด ได้แก่ ขี้เหล็ก กานพลู มะรุม ยูคาลิปตัส สาบเสือ พลู มะขามป้อม เงาะ มังคุด และขิงมาทำการสกัดด้วยซอกเลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอลเกรดวิเคราะห์ (AR) บริษัท Carlo Erba ประเทศไทย ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนผงสมุนไพรต่อเอทานอล 1 : 10 เมื่อได้สารสกัดแล้วทำการกรองแยกสารสกัดออกจากกาก นำสารสกัดไประเหยแห้งตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) ยี่ห้อ heidolph รุ่น Hei-CHILL 250 ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจากนั้นนำสารสกัดใส่ในภาชนะที่ปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีสกัดเย็น โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายวิธีนี้สารสกัดจะไม่ถูกความร้อน ทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลงใช้สกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน หรือต้องการรักษาพวกวิตามินต่างๆ โดยนำตัวอย่างพืชที่บดละเอียด ได้แก่ สมอพิเภก สมอไทย หมากเหลือง อบเชยและสีเสียดไทยใส่ลงในขวดปริมาตร ตัวอย่างละ 50 กรัม เติมเอทานอล 500 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนผงสมุนไพรต่อเอทานอล 1:10 ให้ท่วมตัวอย่างแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน แยกสารละลายที่สกัดได้มากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ทำการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลจนครบ 3 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจะได้สารสกัดหยาบเอทานอลใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe et al. [15] โดยใช้กรดแกลลิกเกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์เป็นสารมาตรฐาน และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/1gof crude extract) การตรวจหาสารประกอบฟีนอลิกเบื้องต้นโดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu เกรดวิเคราะห์บริษัท Merck ประเทศเยอรมันนี มาทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานและสารสกัด ผลบวกจะให้เป็นสีน้ำเงิน - ฟ้า โดยนำสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ มา 125 ไมโครลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 125 ไมโครลิตรทิ้งไว้นาน 6 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนตเกรดวิเคราะห์ บริษัท Univar ประเทศออสเตรเลีย ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,250 ไมโครลิตร

และเติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density: OD) ที่ความยาวคลื่น 790 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Colorimetric assay ตามวิธีของ Wolfe et al. [15] โดยใช้คาเทชิน (catechin) เกรดวิเคราะห์บริษัท Merck ประเทศเยอรมันนีเป็นสารละลายมาตรฐาน และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อสารสกัด 1 กรัม Total flavonoid content (mg CE/1g of crude extract) การตรวจสอบสารประกอบฟลาโวนอยด์เบื้องต้น โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เกรดวิเคราะห์ บริษัท Univar ประเทศออสเตรเลีย ถ้ามีฟลาโวนอยด์สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีแดง โดยนำสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ มา 250 ไมโครลิตรเติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 1,250 ไมโครลิตร ตามด้วยโซเดียมไนเตรทเกรดวิเคราะห์ บริษัท Merck ประเทศเยอรมันนี ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตรทิ้งไว้นาน 5 นาที ตามด้วยอะลูมิเนียมคลอไรด์เกรดวิเคราะห์ บริษัท Univar ประเทศออสเตรเลีย ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้นาน 6 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร นำมาวัดค่า OD ทันทีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Anna et al.[16] โดยใช้ทรอลอกซ์(trolox)เกรดวิเคราะห์บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมันนี เป็นสารละลายมาตรฐานและรายงานผลเป็นมิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg trolox / 1g of crude extract) โดยนำสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ มา 50 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 2, 2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) เกรดวิเคราะห์บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมันนีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.95 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงทิ้งไว้นาน 30 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของทรอลอกซ์คำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) โดยเพาะเชื้อที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ในอาหาร Nutrient broth (NB) บริษัท Himedia ประเทศอินเดียนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บตะกอนชะด้วย Normal saline solution (NSS) ปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ 10^8CFU / ml จุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อและบิดสำลีกับผนังหลอดทดลองให้หมาดๆ และป้ายบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar (NA) บริษัท Himedia ประเทศอินเดีย ให้เจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 4 หลุม เตรียมการเจือจางสารสกัดสมุนไพรโดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีระดับความเข้มข้นของสารกัดเท่ากับ 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หยอดสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดปริมาตร 50 ไมโครลิตรโดยมีแอมพิซิลลิน (ampicillin) บริษัท Syva Laboratorios S.A. ประเทศสเปน ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็มเป็นตัวควบคุมผลบวก และน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุมผลลบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่เกิดขึ้นรอบหลุม (inhibition zone) รายงานค่าเฉลี่ย MIC ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากพืชสมุนไพรจำนวน 15 ชนิด พบว่าสารสกัดจากพืชทั้งหมดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากพลูมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 874.09±34.76 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม และสารสกัดจากพลูมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 758.68±53.05 มิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือสีเสียดไทยและหมากเหลือง (Table 1)

Table 1. Phytochemical analysis of 15 plant extracts

Plant extracts	Total phenolic content (mg GAE/1g of crude extract)	Flavonoid content (mg CE/1g of crude extract)
P. betle L.	874.09±34.76	758.68±53.05
A. catechu	868.96±59.08	682.50±59.73
C. lutescens	791.26±36.18	469.96±16.68
T. belerica	502.58±29.73	30.69±1.71
N. lappaceum L.	363.22±29.26	62.92±0.22
C. iners	279.86±15.32	157.34±10.14
E. globulus Labill.	272.46±89.97	37.57±2.76
G. mangostana L.	262.48±7.68	111.87±3.98
T. chebula Retz.	261.33±21.57	20.81±1.41
S. aromaticum	216.80±34.80	66.81±4.17
P. emblica L.	214.73±17.33	16.00±1.04
C. siamea Lam	191.56±27.50	104.33±6.10
E. odoratum L.	157.45±10.75	35.96±2.80
Z. officinale	84.76±1.80	28.79±2.25
M. oleifera Lam	71.03±9.63	34.71±8.06

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีความแตกต่างกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พื้นที่การปลูกรวมถึงสภาพภูมิประเทศ [11] และปริมาณฟลาโวนอยด์จะมีน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มย่อยของสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ทั้งในพืชสมุนไพร ผักและผลไม้ [17]

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากหมากเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดเท่ากับ 1,280.95±134.07 มิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันกับสารละลายมาตรฐานวิตามินซีและดีกว่าสารละลายมาตรฐาน BHT และวิตามินอี รองลงมาคือสมอพิเภกและสีเสียดไทยเท่ากับ 1,109.85±36.76 และ 952.72 ±26.54 มิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ (Table 2) สารสกัดจากหมากเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของขวัญเรือน [18] ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากผลหมากที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลหมาก พบว่าหมากมีสารกลุ่ม F6 (สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ แทนนิน และโพลิฟีนอล) ให้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์บีเอชที

Table 2. Antioxidant properties of 15 plant extracts by DPPH

Plant extracts / Control	DPPH (mg trolox/1g of crude extract)
P. betle L.	853.21±11.01
A. catechu	952.72±26.54
C. lutescens	1,280.95±134.07
T. belerica	1,109.85±36.76
N. lappaceum L.	691.99±62.96
C. iners	612.53±96.11
E. globulus Labill.	159.60±3.20
G. mangostana L.	384.44±41.17
T. chebula Retz.	576.99±53.53
S. aromaticum	506.79±145.36
P. emblica L.	563.62±127.00
C. siamea Lam	104.22±1.19
E. odoratum L.	61.67±2.40
Z. officinale	857.79±26.71
M. oleifera Lam	44.09±5.58
Vitamin C	1,358.35±73.99
Vitamin E	377.18±11.34
BHT	352.93±8.86

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากหมากเหลืองที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เกิดโซนใสเท่ากับ 3.75±0.66 และ 7.25±0.43 มิลลิเมตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญ *E. coli* ได้ (Figure 1) ส่วนสีเสียดไทยและพลูไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง (Table 3) และสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*

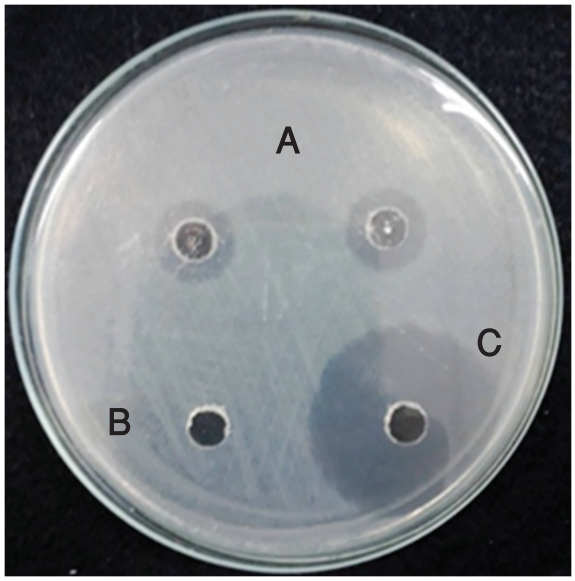

Figure 1. Inhibition zone of *C. lutescens* (A = plant extract, B =Negative control, C = Positive control)

Table 3. The antimicrobial activity of tree plant extracts in the inhibition of *E.* coli by agar well diffusion

Plant extracts / Control	MIC (μg/ml)			
	12.5	25	50	100
C. lutescens	0.00±0.00	0.00±0.00	3.75±0.66	7.25±0.43
A. catechu	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
P. betle L.	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Ampicillin	25.91±1.09	25.91±1.09	25.91±1.09	25.91±1.09
Sterile water	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

สารสกัดจากหมากเหลืองสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภา [6] ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพและประสิทธิภาพในการตกตะกอนกับไอออนโลหะของสารสกัดแทนนินจากพืชบางชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากหมากเหลืองสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ในขณะที่สีเสียดไทย

และพลูไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ จากการศึกษาของ นนทกรณ์ และคณะ [19] พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากลูกสุกรที่มีอาการท้องร่วงโดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.156-0.312 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจากการศึกษาของ Valsaraj et al. [20] พบว่าสารสกัดจากลำต้นแห้งสีเสียดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญ *S. aureus* ได้จากผลการวิจัยการที่สารสกัดหยาบเอทานอลจากพืชไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้นั้นอาจเนื่องมาจากสารสกัดที่ใช้มีความเข้มข้นต่ำเกินไปและปริมาณของสารออกฤทธิ์ในพืชที่มีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อายุ ฤดูกาล และส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ เมล็ด และผล [21]

สรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดจากพืชที่มีสรรพคุณทางยา 15 ชนิด ได้แก่ พลู สีเสียดไทย หมากเหลือง สมอพิเภก เงาะ อบเชย ยูคาลิปตัส มังคุด สมอไทย กานพลู มะขามป้อม ขี้เหล็ก สาบเสือ ขิง และมะรุมพบว่าสารสกัดจากพลูมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดเท่ากับ 874.09±34.76 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม และ 758.68±53.05 มิลลิกรัมสมมูลของคาเทซินต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ สารสกัดจากหมากเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับ 1,280.95±134.07 มิลลิกรัมของทรอลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม และมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coil* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อนุเคราะห์การใช้เครื่องมือสกัดสาร และสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมที่อนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

1. ศรัญญา มณีทอง. 2559. การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์, บุรีรัมย์.
2. Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food: Practical Applications. CRC Press, New York.
3. Habila, J.D., Bello, I. A., Dzikwi, A. A., Musa, H. and Abubakar, N. 2010. Total Phenolics and Antioxidant activity of *Tridax procumbens* Linn. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 4 (3) : 123-126.
4. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. สารสกัดและประโยชน์. [online] เข้าถึงได้จาก:http://www.medplant.mahidol.ac.th.
5. ศิริมา สุวรรณกูฏ. สีเสียดไทย : สมุนไพรแก้ท้องร่วง. [online]เข้าถึงได้จาก:http://www.phargarden.com/attachments/article-20101125154 556.pdf.
6. วิภา พลันสังเกตุ. 2551. ฤทธิ์ต้านจุลชีพและประสิทธิภาพในการตกตะกอนกับไอออนโลหะของ

สารสกัดแทนนินจากพืชบางชนิด.รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

7. ประสบอร รินทอง วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล จิตราพร ทองอันตัง ธัญญภรณ์ โชติการณ์ และภัสรา ประยงค์เพชร. 2560. *คุณสมบัติทางกายภาพและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดตรีผลาที่ผลิตด้วยเทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอย.* การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 13 วันที่ 7-8 กันยายน 2560. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม.
8. วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ พัชรี กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2559. ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. *วารสาร มฉก.วิชาการ.* 19 (38) : 35-48.
9. กรกนก โภยนอก และวนิดา หยั่งบุญ. 2558. *ผลของยูคาลิปตัสต่อการต้านออกซิเดชันและผลทางชีวภาพของปลวก.* ปัญหาพิเศษทางชีววิทยา ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา, นครราชสีมา.
10. ธิดา ไชยวังศรี. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ. *วารสารนเรศวรพะเยา.* 5(3): 333-342.
11. เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2560. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ.* 40 (2): 283-293.
12. จารวี สุขประเสริฐ. 2547. *การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไวน์.* วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพมหานคร.
13. ICMSF. 1996. *Microbiological Specifications of Food Pathogens.* Micro-organisms in Foods: Vol.5. London, UK.1st ed. Blackie Academic and Professional.
14. ศักดิ์ชัยบดี สังข์แก้ว.เทคนิคการสกัดแบบซอกเลต (Soxhlet Extraction). [online] available : hettp://share.psa.ac.th/blog/sci-discus. 2560
15. Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51: 609-614.
16. Anna, C.L., Azevedo, M.T.P., Fiore, M.F., Lorenzi, A.S., Kastovsky, J. and Komarek, J. 2011. A Subgeneric Diversity of Brasilonema (Cyanobacteria, Scytonemataceae). *Revista Brasileira de Botanica.* 34: 51-62.
17. วลัยพร สินสวัสดิ์นฎาภัสส์ คุ้มกลาง และพรชัย สินสวัสดิ์. 2556. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในใบรางจืดสดและแห้ง. รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ, พระนครศรีอยุธยา.
18. ขวัญเรือน สินสายออ. 2557. *การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากผลหมากที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.* วิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์, ปทุมธานี.

19. นนทกรณ์ อุรโสภณ ปาจารีย์ ทองงอก วัชรพงษ์ วัฒนกูล อารีวัง มณีรัตน์ และอินทร์ ศาลางาม. 2546. การศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้ออีโคไลชนิดก่อโรคในทางเดินอาหาร. *สัตวแพทยสาร.* 5(1-2): 27-37.

20. Valsara, R., Pushpangadan, P., Smitt, U.W, Adsersen, A., Nyman, U. 1997. Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. *Journal of Ethnopharmacol*. 58(2): 75-83.

21. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2547. *เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง*. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.