



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ปริมาณสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae)
และวงศ์ใกล้เคียงเพื่อการลดการติดบุหรี่

พัทธชัย ปิ่นนาค

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ปีงบประมาณ 2560

พ.ศ. 2561

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ปริมาณสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae)
และวงศ์ใกล้เคียงเพื่อการลดการติดบุหรี่



พัทธชัย ปิ่นนาค

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์ ปีงบประมาณ 2560
พ.ศ. 2561

ปริมาณสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) และวงศ์ใกล้เคียงเพื่อการลดการติดบุหรี่

พัทธชัย ปิ่นนาค

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ และศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวัน โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% (v/v) และวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีส่วนสำคัญในการลดการติดบุหรี่ ได้แก่ Luteolin apigenin และ quercetin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่า สารสกัดปิ่นนากลั้ว และบัวตองด้วยเอทานอล 95% จะมีผลผลิตร้อยละมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 11.79 และ 11.66 ตามลำดับ สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันในช่วง 0.416±0.038 ถึง 0.936±0.209 µgGAE/mg extract เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Follin-Ciocalteu colorimetric และเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก สารสกัดจากกะเม็ง ชี่ไถ่ย่าน และ ปิ่นนากลั้ว มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 2.902±0.160, 2.139±0.042 และ 2.127±0.165 µg QE/mg extract ตามลำดับ ($p<0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี aluminium chloride colorimetric และเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน สารสกัดหญ้าดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 135.96 µg/ml เมื่อทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging โดยมีเคอร์เซตินเป็นกลุ่มควบคุมบวก สารสกัดสาบเสือมีปริมาณ luteolin มากที่สุด เท่ากับ 30,424.02 µg extract แต่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดมี apigenin และ quercetin ในปริมาณน้อย

คำสำคัญ: พืชวงศ์ทานตะวัน หญ้าดอกขาว อนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 โครงการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) รหัสโครงการ 2560A16302060

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่างๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัย ราชภัฏอุตรดิตถ์และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคลากรหลายฝ่ายที่สละเวลาให้คำแนะนำ

ผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวกมลน ลาภพาณิชย์กุล ผู้ดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญด้วย เทคนิค HPLC ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่และนักศึกษา หลักสูตรชีววิทยา ที่มีส่วนร่วมอำนวยความสะดวกและร่วมดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการทำวิจัย และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องต่าง ๆ และสถานที่สำหรับการวิจัยครั้งนี้

พัทธชัย ปิ่นนาค

กัญยาน

2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ของงานวิจัย	4
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	5
การเลิกสูบบุหรี่ (smoking cessation)	5
การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากพืช	6
อนุมูลอิสระ (free radical)	9
สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)	11
สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid compound)	12
พืชวงศ์ทานตะวัน	15
การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัด	19
หญ้าดอกขาว	
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	21
การเตรียมสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	22
การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้ Follin-Ciocalteu Colorimetric method	22

สารบัญ

	หน้า
การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้ Aluminum Chloride Colorimetric method	23
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity	23
การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันโดยวิธี HPLC	24
บทที่ 4 ผลการวิจัย	25
ชนิดของพืชวงศ์ทานตะวัน	25
ปริมาณของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	25
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	26
ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	26
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	28
ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยเทคนิค HPLC	29
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์	34
สรุปผลการวิจัย	34
วิจารณ์ผลการวิจัย	34
ข้อเสนอแนะ	38
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก ข้อมูลพืชวงศ์ทานตะวัน	45
ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	57
ภาคผนวก ค ผลผลิตที่เกิดขึ้นในช่วงที่ได้รับทุน	65
ประวัตินักวิจัย	77

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชวงศ์ทานตะวัน	17
4.1 ปริมาณของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	25
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	27
4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน	27
4.4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50 เปอเซ็นต์	28
4.5 ปริมาณ luteolin, apigenin และ quercetin ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวัน	33



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แผนภาพแสดงส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่องมือ High Performance Liquid Chromatography	8
2.2 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟีนอลิก	13
2.3 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์	14
4.1 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน luteolin	29
4.2 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน apigenin	30
4.3 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน quercetin	30
4.4 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐานผสม luteolin, apigenin และ quercetin	31
4.5 โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบม่วง และ retention time ที่บ่งชี้ถึง luteolin, apigenin และ quercetin ตามลำดับ	32
1 ภาคผนวก ก กะเม็ง (<i>Eclipta prostrata</i>)	46
2 ภาคผนวก ก กระดุมทอง (<i>Melampodium divaricatum</i>)	47
3 ภาคผนวก ก ชี้ไก่ย่าน (<i>Mikania cordata</i>)	48
4 ภาคผนวก ก ดินตุ๊กแก (<i>Tridax procumbens</i>)	49
5 ภาคผนวก ก บัวตอง (<i>Tithonia diversifolia</i>)	50
6 ภาคผนวก ก ปิ่นนกลี (<i>Bidens Pilosa</i>)	51
7 ภาคผนวก ก ผักคราดหัวแหวน (<i>Spilanthes oleracea</i>)	52
8 ภาคผนวก ก สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King & H. Rob.)	53
9 ภาคผนวก ก สาบแร้งสาบกา (<i>Ageratum conyzoides</i>)	54
10 ภาคผนวก ก สาบเสือ (<i>Chromolena odorata</i>)	55
11 ภาคผนวก ก หญ้าดอกขาว (<i>Vernonia cinerea</i> (L.))	56
1 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบแร้งสาบกา	59
2 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดปิ่นนกลี	59

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบเสือ	60
4 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกระเม็ง	60
5 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกระดุมทอง	61
6 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดขี้ไถย่าน	61
7 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบม่วง	62
8 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดฝักคราดหัวแหวน	62
9 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดบัวตอง	63
10 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดหญ้าดอกขาว	63
11 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดตีนตุ๊กแก	64



บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

หญ้าดอกขาว (*Vernonia cinerea* (L.) Less) เป็นพืชสมุนไพรไม้ล้มลุกปีเดียวที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหญ้าดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดเชื้อซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthananut et al, 2009; Leelarungrayub et al, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าหญ้าดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรี่ได้ในคนที่ติดบุหรี่ ทำให้ลดปริมาณการสูบบุหรี่ลงจนเลิกบุหรี่ได้ในที่สุด (Leelarungrayub et al, 2010) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ในการช่วยลดการติดเชื้อในหนูขาวเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) ปัจจุบันการศึกษาการลดการสูบบุหรี่ในหญ้าดอกขาว พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์ยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum et al, 2015) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สารสำคัญในตัวทำละลายอื่นๆ นั้นยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก ไม่ว่าจะเป็น น้ำ เอทิลอะซิเตท อีเธอร์ หรือ เฮกเซน หญ้าดอกขาวเป็นพืชในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) พืชใบเลี้ยงคู่ที่มีสมาชิกมากที่สุดในโลก มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก แต่จะพบมากในเขตร้อนถึงอบอุ่น ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ประมาณ 260 ชนิด หลายชนิดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (พิมวดี, 2555) เช่น ทานตะวัน รักเร่ บานชื่น กระจูดหมาก ขี้ไก่ย่าน สาบเสือ กระจูดทองเหลือง เป็นต้น (มุสดี และคณะ, 2552) เป็นพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาหลายๆ โรค อาทิ การรักษาอาการอักเสบ การติดเชื้อ ใช้มาลาเรีย พยาธิ อากาการปวด มะเร็ง และโรคทางระบบทางเดินอาหาร (Marcelino de Avila et al, 2015; Oliveira et al, 2011; Hormaza, 2015; Igual, 2013; Waboa et al, 2013; Habiba and Waheed, 2013; Dewan et al, 2013; Toyang et al, 2013) นอกจากนี้พืชในอันดับ (order) เดียวกันกับพืชวงศ์ทานตะวันก็มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยเช่นกัน (Meragelman et al, 2006; Güvenç et al, 2012)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัดของพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาใช้ในการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการช่วยลดการติดบุหรี่ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ
2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ

ขอบเขตของการวิจัย

1. ขอบเขตด้านพื้นที่
พืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ ที่พบในเขตพื้นที่จังหวัดอุดรธานี
2. ขอบเขตด้านเนื้อหา
การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัดของพืชในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ ที่พบในเขตพื้นที่จังหวัดอุดรธานี เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาใช้ในการช่วยลดการติดบุหรี่ โดยมีขอบเขตในการศึกษาดังนี้ คือ
 - 2.1 ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ
 - 2.2 วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์โกฐกัณฐะ

ทฤษฎี

หญ้าดอกขาวเป็นพืชสมุนไพรไม้ล้มลุกปีเดียวที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหญ้าดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดบุหรี่ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthanakit *et al*, 2009; Leelarungrayub *et al*, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าหญ้าดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรืได้ในคนที่ติดบุหรี่ ทำให้ลด

ปริมาณการสูบบุหรี่ลงจนเลิกบุหรี่ได้ในที่สุด (Leelarungrayub *et al*, 2010) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ในการช่วยลดการติดบุหรี่ในหนูขนาดเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินิกและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) ปัจจุบันการศึกษาการลดการสูบบุหรี่ในหนูตัวดอกขาว พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และ กลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์การยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum *et al*, 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยอาทิ *Michauxia* sp. เป็นพืชในวงศ์แคมพานูลาซีอี (Campanulaceae) ซึ่งอยู่ในอันดับเดียวกันกับวงศ์ทานตะวันมีฤทธิ์การสมานแผลและต้านการอักเสบ (Güvenç *et al*, 2012) และ *Acicarpha tribuloides* พืชในวงศ์คาร์ริเซอราซีอี (Calyceraceae) จัดอยู่ในอันดับเดียวกันกับวงศ์ทานตะวัน มีฤทธิ์การยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในมาโครฟาจที่กระตุ้นด้วย LPS (Meragelman *et al*, 2006)

สมมุติฐาน

พืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์ใกล้เคียงมีสารสำคัญ ซึ่งมีการรายงานว่าเป็นสารออกฤทธิ์ในการลดการติดบุหรี่ได้เช่นเดียวกับหนูตัวดอกขาว

กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย



ประโยชน์ของงานวิจัย

1. ได้ฐานข้อมูลสารสำคัญสำหรับการลดอาการติดบุหรีในพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวัน
2. ตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับชาติหรือนานาชาติ
3. ได้องค์ความรู้ซึ่งจะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อต่อยอดวิจัยในระดับสูงต่อไป

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

การเลิกสูบบุหรี่ (smoking cessation)

การสูบบุหรี่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ประชากรโลกเสียชีวิตก่อนวัยอันควรหรือเกิดภาวะทุพพลภาพที่รุนแรงและยาวนาน เนื่องจากการสูบบุหรี่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคชนิดเฉียบพลันและเรื้อรังมากมายทั้งต่อตัวผู้ป่วยเองและผู้ใกล้ชิดที่ได้รับควันบุหรี่ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง โรคถุงลมโป่งพอง โรคมะเร็งที่อวัยวะต่างๆ และการสูบบุหรี่ยังจัดเป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ของการเจ็บป่วยและเสียชีวิตที่ป้องกันได้ (Steinberg *et al*, 2008) จำนวนผู้เสียชีวิตจากบุหรี่มีมากกว่า 5 ล้านคนและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี สำหรับการรักษาผู้ติดบุหรี่มี 2 แนวทางคือ การรักษาโดยไม่ใช้ยา (non-pharmacological treatment) ส่วนการรักษาโดยใช้ยา (pharmacological treatment) จะมีการให้นิโคตินทดแทน (nicotine replacement therapy) และการใช้ยาที่ไม่ใช่โคติน (non-nicotine drug)

ในปัจจุบันได้มีความสนใจนำพืชสมุนไพรเพื่อช่วยในการเลิกบุหรี่ โดยมีประโยชน์ในการลดต้นทุน เพิ่มมูลค่าให้กับพืช และการใช้พืชสมุนไพรยังเป็นวิธีที่ค่อนข้างปลอดภัย หน่อดอกขาว (*Vernonia cinerea* Less.) เป็นพืชสมุนไพรล้มลุกปีเดียวในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) ที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหน่อดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดบุหรี่ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthanakul *et al*, 2009; Leelarungrayub *et al*, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าหน่อดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรี่ได้ในคนที่ติดบุหรี่ ทำให้ลดปริมาณการสูบบุหรี่ลงจนเลิกบุหรี่ได้ในที่สุด (Leelarungrayub *et al*, 2010) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ในการช่วยลดการติดบุหรี่ในหนูขาวเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) ปัจจุบันการศึกษาลดการสูบบุหรี่ในหน่อดอกขาว พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญคือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และ กลุ่มเซสควิเทอร์พินอยด์ มีฤทธิ์การยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum *et al*, 2015) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สารสำคัญในตัวทำลายอื่นๆ นั้นยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก ไม่ว่าจะเป็น น้ำเอทิลอะซิเตท อีเธอร์ หรือ เฮกเซน

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากพืช

หลักการแยกสาร (ชูชาติ, 2544; รัชชัย, 2551)

ของเหลวความดันสูงจะสร้างแรงพา (impelling force) ดันสารต่างๆ ในสารตัวอย่างผ่านไปบนตัวกลางที่ไม่เคลื่อนที่ หรือเคลื่อนที่ได้เล็กน้อยที่เรียกว่า “ส่วนอยู่กับที่” หรือ “stationary phase” ซึ่งส่วนอยู่กับที่ จะสร้างแรงหน่วง (retention force) ต่อสารชนิดต่างๆ ซึ่งจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ขนาด รูปร่าง ประจุความจำเพาะ (specificity) การดูดซับ(adsorption) การละลาย (solubility) ดังนั้นความแตกต่างกันของแรงหน่วงจึงทำให้โมเลกุลของสารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ซึ่งบรรจุส่วนอยู่กับที่ ในเวลาหน่วง (retention time) ที่แตกต่างกัน

โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูงแบบคอลัมน์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามชนิดของส่วนเคลื่อนที่ (mobile phase) และส่วนอยู่กับที่โดยเรียกชื่อส่วนเคลื่อนที่ก่อนส่วนอยู่กับที่คือ

1. Liquid-solid chromatography ใช้ของเหลวเป็นส่วนเคลื่อนที่และใช้ของแข็งเป็นส่วนอยู่กับที่ซึ่งแบ่งย่อยออกเป็น 4 ชนิดคือ

1.1 Gel filtration chromatography ใช้ส่วนอยู่กับที่เป็นเม็ดเจลที่มีรูขนาดต่างบรรจุในคอลัมน์ทำให้โมเลกุลของสารที่มีขนาดเล็กเคลื่อนที่เข้าไปในโมเลกุลของเจล เป็นผลให้เคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้ช้ากว่าสารตัวอย่างที่มีโมเลกุลใหญ่กว่า

1.2 Ion exchange chromatography เป็นการใช้ส่วนอยู่กับที่ที่มีประจุแลกเปลี่ยน (counter ion) เมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับโมเลกุลของสารตัวอย่างที่มีประจุ โมเลกุลของสารตัวอย่างนั้น จะถูกจับไว้ในคอลัมน์ หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนคุณสมบัติของของเหลวซึ่งเป็นส่วนเคลื่อนที่ ตัวอย่าง เช่น การเปลี่ยนพีเอช การเพิ่มปริมาณไอออนแลกเปลี่ยน จะทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ในอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับจำนวนประจุและความแรงของประจุที่จับกับส่วนอยู่กับที่

1.3 Affinity chromatography แยกสารออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างของความจำเพาะทางชีวภาพ (biological specificity) โดยการสร้างส่วนอยู่กับที่ที่มีความจำเพาะกับสารที่ต้องการแยกตัวอย่าง เช่น enzyme/substrate, antigen/antibody, hormone/receptor เมื่อส่วนเคลื่อนที่พาโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกผ่านมา ส่วนอยู่กับที่ จะจับเฉพาะโมเลกุลที่มีความจำเพาะไว้ หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนคุณสมบัติของส่วนเคลื่อนที่ ตัวอย่าง เช่น การเปลี่ยนพีเอช เพิ่มความเข้มข้นของเกลือ หรือเติมตัวแย่งจับส่วนอยู่กับที่ลงไป ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของสารที่ต้องการถูกขับไล่ออกมาจากคอลัมน์

1.4 Adsorption chromatography เป็นการแยกสารโดยใช้ส่วนอยู่กับที่ที่เป็นตัวดูดซับ (adsorbent) ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และไม่ละลายในส่วนเคลื่อนที่ ตัวอย่าง เช่น แปะเซลลูโลส MgO , Silicic acid , Magnesium silicate ซึ่งการดูดซับอาศัยความมีสภาพมีขั้ว (polarity)

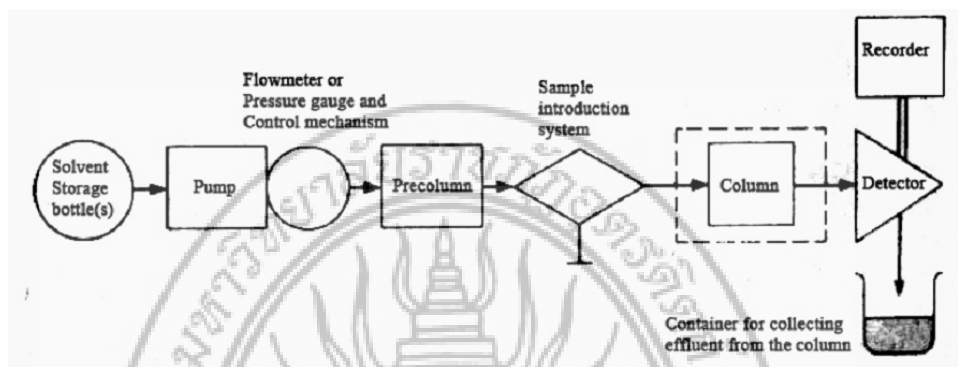
และจำนวนหมู่ที่ทำให้เกิดสภาพมีขั้ว (polarity group) ของส่วนอยู่กับที่และสารตัวอย่าง ส่วนการไล่สารต่างๆ ออกจากคอลัมน์อาศัยการเปลี่ยนสภาพมีขั้วของส่วนเคลื่อนที่ กล่าวคือ ถ้าส่วนเคลื่อนที่มีสภาพมีขั้วสูง สารที่ละลายน้ำได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้เร็วกว่า

2. Liquid-liquid chromatography หรือ partition chromatography เป็นวิธีการแยกสารที่ใช้ของเหลวเป็นส่วนเคลื่อนที่ และใช้ของเหลวที่เคลือบอยู่บนของแข็งเป็นส่วนอยู่กับที่ ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างช้าๆ แยกสารออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างในการละลายของสารตัวอย่างในของเหลวซึ่งเป็นส่วนอยู่กับที่และของเหลวซึ่งเป็นส่วนเคลื่อนที่ นิยมใช้สำหรับแยกสารที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันออกจากกัน ตัวอย่างเช่น การแยกกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ออกจากกันสำหรับของแข็งที่ใช้เป็นตัวค้ำจุน (supporter) นิยมใช้ silicic acid หรือ silica gel แต่อาจใช้โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง แป้ง เซลลูโลส หรือ อะลูมินา แทนได้ ส่วนส่วนอยู่กับที่ที่เคลือบบนของแข็งอาจเป็นน้ำ บัฟเฟอร์กรดแก่ ด่างแก่ แอลกอฮอล์ หรือ ไนโตรมีเทน เป็นต้น โดยปกติจะใช้ส่วนอยู่กับที่ที่มีสภาพมีขั้วสูงเพื่อแยกสารที่มีสภาพมีขั้วสูงออกจากกัน และใช้ส่วนเคลื่อนที่ที่มีสภาพมีขั้วต่ำกว่ามาไล่สารต่างๆ ออกจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพมีขั้วสูงกว่าจะออกมาทีหลัง เรียกวิธีการนี้ว่า “โครมาโทกราฟี แบบปกติ” หรือ “normal phase chromatography” แต่ในบางกรณีจะใช้ส่วนอยู่กับที่ที่มีสภาพมีขั้วต่ำตัวอย่างเช่น สารอินทรีย์ประเภท n-alkyl ซึ่งมีคาร์บอน 8 หรือ 18 โมเลกุล เพื่อแยกสารที่มีสภาพมีขั้วต่ำออกจากกัน และใช้ส่วนเคลื่อนที่ที่มีสภาพมีขั้วสูงกว่าการไล่สารที่ต้องการออกมาจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพมีขั้วต่ำกว่าจะออกมาช้ากว่า ซึ่งเรียกว่า “โครมาโทกราฟีแบบผันกลับ” หรือ “reversed phase chromatography” นอกจากนี้ โครมาโทกราฟี ทั้งสองชนิดยังอาจใช้วิธีการเติมสารที่มีประจุตรงข้ามลงในส่วนเคลื่อนที่ ตัวอย่าง เช่น เติมนิโตรเจน tetramethyl ammonium chloride, trioctylamine, tetrabutyl ammonium chloride ลงในส่วนเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุบวก หรือเติม perchloric acid, sodium alkylsulfonate หรือ methanesulfonic acid ลงในส่วนเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุลบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสาร เรียกวิธีการนี้ว่า “ion-pair chromatography” สำหรับกลไกที่ทำให้สามารถแยกสารได้ดีขึ้นเกิดจากการที่ ไอออนที่มีประจุต่างกันรวมกันกลายเป็นสารที่ไม่มีประจุ หรือมีประจุลดลงแล้วเคลื่อนตัวเข้าสู่ส่วนอยู่กับที่หรือส่วนเคลื่อนที่ที่มีสภาพมีขั้วต่ำทำให้สารตัวอย่างเคลื่อนที่ได้ช้าลง

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (ธวัชชัย, 2551)

HPLC คือ เทคนิคหนึ่งของลิควิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่สามารถแยกได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ เพราะใช้ความดันช่วยและของแข็งที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดเล็กมาก ดังนั้นการใช้ความดันช่วยทำให้ส่วนเคลื่อนที่ไหลได้เร็วขึ้น จะไม่ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง เนื่องจากการทำ HPLC ต้องใช้ความดันช่วยจึงต้องมีเครื่องมือสำหรับปั๊มตัวอีลูท และเนื่องจากปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้มีจำนวนน้อย ดังนั้นหลังจากที่สารตัวอย่างถูกอีลูทออกจากคอลัมน์ต้องมีเครื่องมือที่

เรียกว่า ดีเทคเตอร์ (detector) วัดสารปริมาณน้อยๆ ที่ถูกอีลูทออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนประกอบของเครื่องมือต่างๆ ที่ช่วยในการวิเคราะห์จะรวมกันเข้าเป็นเครื่องมือ 1 ชุดของ HPLC ซึ่งสรุปเป็นแผนภาพได้ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 แผนภาพแสดงส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่องมือ High Performance Liquid Chromatography

ที่มา : ธวัชชัย (2551)

เปรียบเทียบการวิเคราะห์ระหว่างวิธี GC กับ HPLC

ทั้ง GC และ HPLC เป็นเทคนิคของการวิเคราะห์วิธีโครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ที่ใช้เครื่องมือช่วย ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการแยกและประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ทางคุณภาพและทางปริมาณได้ดี ทั้งสองชนิด เมื่อเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของทั้งสองวิธีพบว่า วิธี HPLC มีข้อดีอยู่หลายประการ คือ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ วิธี HPLC ไม่จำเป็นต้องผ่านกระบวนการเตรียมที่ยุ่งยาก ก่อน (pre-treatment) ขอเพียงแต่ให้สารตัวอย่างอยู่ในสภาพที่เป็นของเหลวก็สามารถนำมาฉีดเข้าเครื่อง แล้วทำโครมาโตแกรมได้เลยโดยตรง
2. วิธี HPLC สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารได้มากชนิดกว่าวิธี GC เพราะ HPLC ไม่มีข้อจำกัดว่าต้องเป็นสารที่ระเหยได้ทำให้สามารถใช้ HPLC วิเคราะห์สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ ได้
3. วิธี HPLC มีคอลัมน์ให้เลือกใช้ตามความเหมาะสมของสารตัวอย่างได้มากชนิดกว่า GC ทำให้ใช้ในการวิเคราะห์สารได้มากชนิดกว่า
4. สามารถทำให้การแยกดีขึ้นได้ (high resolution) โดยเปลี่ยนความเข้มข้นหรือชนิดของส่วนเคลื่อนที่ได้ตามความเหมาะสมได้มากมาย

5. การเกิดปฏิกิริยาการแบ่งส่วนหรือดูดซับ ระหว่างสารตัวอย่างกับเฟสอยู่กับที่และส่วนเคลื่อนที่ สามารถเกิดที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นการแยกสารโดยวิธี HPLC จึงใช้งานที่อุณหภูมิปกติของห้องปฏิบัติการได้ ในขณะที่วิธี GC ต้องทำที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิห้อง จึงจำเป็นต้องให้พลังงานความร้อนแก่คอลัมน์ ซึ่งทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธี HPLC

6. ในกรณีที่ต้องการเก็บสารตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์หรือทดสอบด้วยวิธีอื่นให้แน่ใจอีกครั้งหนึ่ง พบว่า วิธี HPLC สามารถทำได้ง่ายกว่าวิธี GC

7. สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์โอออนของสารอินทรีย์ได้สำหรับข้อดีของวิธี GC คือมีความสามารถในการแยกและวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ดี ให้ผลที่เที่ยงตรงและรวดเร็วกว่าวิธี HPLC เครื่องมือมีส่วนประกอบที่ไม่ซับซ้อนและราคาถูกกว่า

การประยุกต์วิธี HPLC ทางการวิเคราะห์ (รัชชัย, 2551)

เนื่องจากโครมาโตแกรมที่ได้ของ HPLC และ GC มีลักษณะเหมือนกัน ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ทางคุณภาพและการวิเคราะห์ทางปริมาณจึงทำได้แบบเดียวกันทุกประการ กล่าวคือ การวิเคราะห์ทางคุณภาพสามารถทำได้โดยเปรียบเทียบค่ารีเทนชันใหม่ หรือรีเทนชันโวลูมของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานหรือโดยต่อเครื่อง HPLC เข้ากับเครื่องมือที่สามารถช่วยในการพิสูจน์ได้ เช่น เครื่อง IR, NMR, และ mass spectrophotometer สำหรับการวิเคราะห์ทางปริมาณสามารถทำได้โดยวัดขนาดของพีกด้วยวิธีการวัดความสูง วัดพื้นที่พีก ใช้เพลนิมิเตอร์ (planimeter) หรือใช้อินทิเกรเตอร์ (integrator) เมื่อทราบขนาดของพีกแล้วสามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้โดยเทียบขนาดของพีกสารตัวอย่างกับพีกสารมาตรฐานซึ่งสามารถทำได้ 3 แบบ คือ วิธีเทียบกับสารมาตรฐานเพียงตัวเดียว (absolute method) วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) และวิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition) หรือใช้วิธี internal normalization หรือใช้วิธี correction factor

อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ อนุมูลอิสระมีสมบัติเหมือนสารทั่วไป คือ มีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ

ความชื้น เป็นต้น อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical (HO[•]), Superoxide anionradical (O₂^{•-}) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก

ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่า ขั้นตอนอินิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป เรียกว่าขั้นพรอพพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้าย เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็นอนุมูลอิสระได้นั้นต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็มีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆ

โทษของอนุมูลอิสระ

ร่างกายของคนมีการสร้างอนุมูลอิสระจำพวกสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species : ROS) เช่น ไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ (H₂O₂), ไฮดรอกซิลแรดิคัล (HO[•]), เพอร์ออกซิลแรดิคัล (ROO[•]) และซูเปอร์ออกไซด์แรดิคัล (O₂^{•-}) ขึ้นมาผ่านกระบวนการหายใจ ในคนปกติร่างกายจะมีระบบสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative defense system) ที่เป็นเอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น superoxide dismutase, catalase และ phospholipase และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ขึ้นมาเพื่อรักษาระดับของสารอนุมูลอิสระและ สารต้านอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับสมดุล แต่ถ้าในสภาวะที่ระดับของสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระไม่อยู่ในระดับสมดุล คือ มีปริมาณของสารอนุมูลอิสระมากเกินไปปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระสภาวะเช่นนี้เรียกว่าเกิด “สภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล” (oxidative stress) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย เช่น โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular) มะเร็ง (Cancer) อัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease) พาร์กินสัน (Parkinson’s disease) หรือแม้แต่การแก่ก่อนวัย (aging) (Nakabeppu *et al.*, 2006; Valko *et al.*, 2007)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ หรือ สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือ สารที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (Halliwell, 2009) สารอนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุล ได้ทั้งชนิดที่พบในเซลล์และชนิดที่เป็นส่วนประกอบ

ของเซลล์สิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย เกิดการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมในเซลล์ รวมทั้งสาเหตุของโรคชรา และโรคมะเร็ง ซึ่งการกลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนท์ มีหลายวิธี เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) เป็นต้น ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ดิสมิวเทส (dismutase) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) คาตาเลส (catalase), เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ไซโทโครม-ซี เปอร์ออกซิเดส (cytochrome C peroxidase) ทองแดง (copper) สังกะสี (zinc) ซีลีเนียม (selenium) โปรตีน (protein) ซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin)

2. ประเภทสารต้านออกซิเดชัน เป็นกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาถูกโซ่ ได้แก่ วิตามินอีเบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ยูบิควิโนน (ubiquinone) กรดยูริก (uric acid) บิลิรูบิน (bilirubin) อัลบูมิน (albumin) หมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl groups) ในกรดอะมิโนซิสเตอีน (cysteine) ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์

นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย สารต้านออกซิเดชัน แบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิดดังนี้

- 1) ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (preventive antioxidant)
- 2) ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (scavenging antioxidant)
- 3) ทำให้ถูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง (chain breaking antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาตินำมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น เช่น สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาจากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ โดยพัฒนามาจากโครงสร้างของวิตามินอีและโครงสร้างสารพอลิฟีนอล (polyphenol) (Spadoni *et al.*, 2006)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่า ละลายน้ำได้ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell

vacuole) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น โมโนเลกุลฟีนอลิกอย่างง่าย (simple monocyclic phenol) ฟีนิวโพรพานอยด์ (phenyl propanoid) ฟีนอลิกควินิน (phenolic quinine) และโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ได้แก่ ลิกนิน (lignin) แทนนิน (tannin) เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีการประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) (ภาพที่ 2.2) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ (ภาพที่ 2.2) กรดฟีนอลิก (ภาพที่ 2.2) และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญ คือ อนุมูล (peroxyl) โดยมีกลไก 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำ เมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียรตั้งนั้น จึงสามารถป้องกันการเกิดขึ้นตอนพรอพากะชันได้นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยัง ทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซีทิน สารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่ง

กรดแกลลิก หรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมี คือ $C_7H_6O_5$ กรดแกลลิกเป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้ไผ่ และพืชอื่นๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของกรด แกลลิก คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid compound)

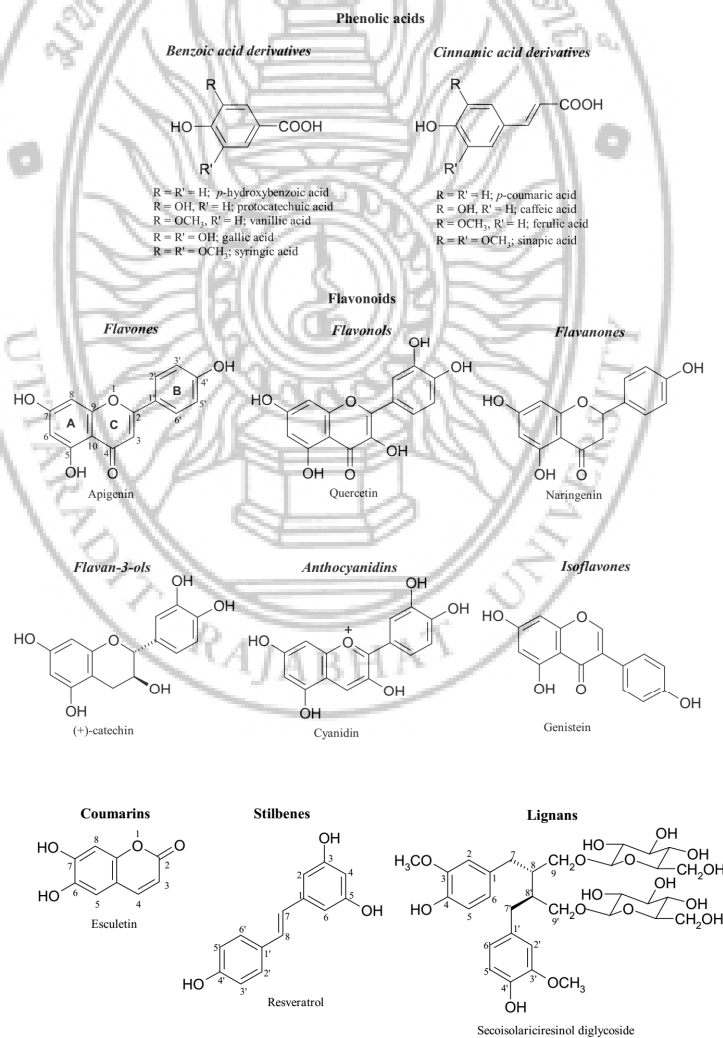
ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่ง จะพบมากในพืชผักและผลไม้มีหน้าที่สองอย่าง คือ เป็นรงควัตถุทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจง และทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์และคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้น ต่อด้านแบคทีเรียและ ไวรัสลดโคเลสเตอรอลและช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซีพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทยและ พวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. แอนโธไซยานิน (anthocyanin) (ภาพที่ 2.3) แอนโธคลอร์ส (anthochlors) และออโรนัส (auronus) แอนโธไซยานิน เป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำ

เงิน ขึ้นกับชนิดของพืช พบในบลูเบอร์รี่ เชอร์รี่ องุ่นแดง หัวหอมกะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโทคลอร์สเป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้

2. ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวนอน (flavonones) ฟลาวัน-3-อล (flavan-3-ol) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และได้ไฮโดร ซาลิโคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม(citrus) ได้แก่ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ

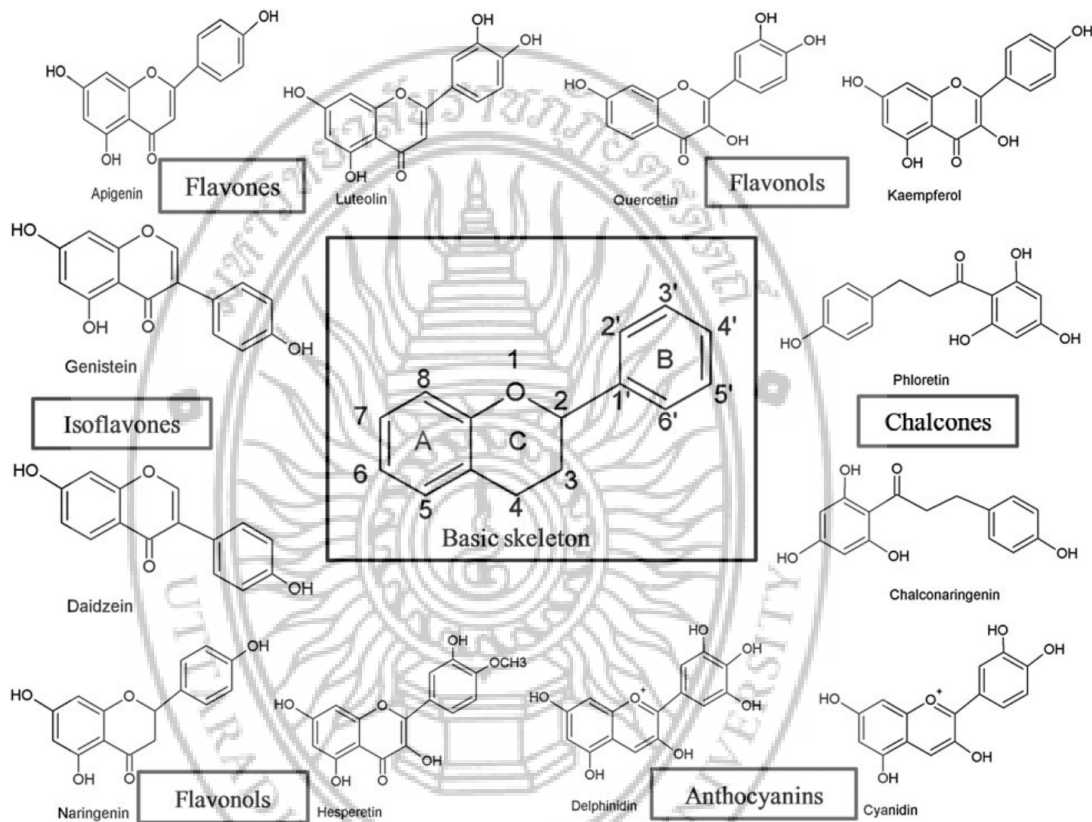
3. ฟลาโวน (flavone) (ภาพที่ 2.3) และฟลาโวนอล (flavonols) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์พบใน บลูเบอร์รี่ เชอร์รี่หวาน บลอคคอลลี หัวหอม ชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูก แพร่แอปเปิ้ลองุ่น เป็นต้น



ภาพที่ 2.2 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟีนอลิก

ที่มา : Pereira (2009)

4. ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid) พบมากในพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone) เทอโรคาร์แปนส์ (terocarpans) ไอโซฟลาวาน (isoflavans) และโรทีนอยด์ (rotenoid) ได้โดยทั่วไปจะรวมถึง เจนิสทิน (genistein) ไบโอชานิน เอ (biochanin a) และ ไดด์ซีน (daidzein)



ภาพที่ 2.3 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา : Panche (2016)

เคอร์เซติน เป็นสารพฤกษเคมีที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{10}O_7$ เป็นสารที่ให้ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูง พบมากในหัวหอม หอมแดง และพืชตระกูลถั่ว ให้ฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรีย และไวรัส ช่วยป้องกันอาการแพ้ ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ในหลอดเลือด และป้องกันหลอดเลือดเลี้ยงสมองอุดตันได้ การรับประทานผักและผลไม้ที่อุดมไปด้วย ในปริมาณสูง มีส่วนสัมพันธ์กับการทำงานของหัวใจที่ดี จากการศึกษาจำนวนมาก พบว่า เคอร์เซตินปกป้องหลอดเลือด (vasoprotective) และช่วยในการทำงานของหลอดเลือด

หัวใจ ช่วยให้ระบบการไหลเวียนและการทำงานของหัวใจดีขึ้นที่มีประสิทธิภาพสูง ช่วยด้านการอักเสบ ด้านแบคทีเรียและไวรัส ตีต่อหัวใจ ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ชะลอการเติบโตของเซลล์มะเร็ง

พืชวงศ์ทานตะวัน

พืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) คำว่า "Asteraceae" มาจาก Aster ซึ่งเป็นสกุลที่เด่นที่สุดของวงศ์นี้ โดยมาจากภาษากรีก ἀστήρ หมายถึง ดาว ชื่อเดิมของวงศ์นี้คือ "Compositae" ซึ่งเป็นการสื่อถึงการมีดอกแบบคอมโพสิท เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในโลก พบเป็นวงศ์ย่อย 12 วงศ์ย่อย ประมาณ 1,700 สกุล 24,000 ชนิด พืชวงศ์นี้มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ประมาณ 260 ชนิด หลายชนิดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (พิมวดี, 2555) เช่น ทานตะวัน รักเร่ บานชื่น กระจุดมหยัก ชี่ไถ่ย่าน สาบเสือ กระจุดมทองเหลือง เป็นต้น (มุสตี และคณะ, 2552) เป็นพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาในหลายโรคและอาการ อาทิ การรักษาอาการอักเสบ การติดเชื้อ ไข้มาลาเรีย พยาธิ อากาการปวด มะเร็ง และโรคทางระบบทางเดินอาหาร (Marcelino de Avila *et al*, 2015; Oliveira *et al*, 2011; Hormaza, 2015; Igual, 2013; Waboa *et al*, 2013; Habiba and Waheed, 2013; Dewan *et al*, 2013; Toyang *et al*, 2013) โดยมีพืชวงศ์ทานตะวัน ที่เลือกศึกษาทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง กระจุดมทอง ชี่ไถ่ย่าน ดินตุ๊กแก บัวตอง ปิ่นนงไส้ ผักคราดหัวแหวน สาบม่วง สาบแรังสาบกา สาบเสือ และหญ้าดอกขาว ดังตารางที่ 2.1

ลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชวงศ์ทานตะวัน

พืชวงศ์ทานตะวัน มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่ม อายุปีเดียวหรือหลายปี บางชนิดมีน้ำยาง ใบเดี่ยวหรือใบประกอบแบบขนนก เรียงแบบสลับ (alternate) หรือแบบตรงข้าม (opposite) ลักษณะเฉพาะของพืชวงศ์นี้ คือ ดอกแบบคอมโพสิท ดอกออกเป็นช่อกระจุกแน่น ล้อมรอบด้วยวงใบประดับ ช่อดอกเป็นรูปแผ่ตามรัศมี (radiate capitulum) รูปดิสคิฟอรัม (disciform capitulum) รูปดิสคอยด์ (discooid capitulum) หรือรูปลิ้น (ligulate capitulum) ในช่อดอกมีดอกชนิดเดียว (homogamous) หรือมีดอกหลายชนิด (heterogamous) วงใบประดับ (involucre) มีชั้นเดียวหรือหลายชั้น กลีบดอก มี 3-6 กลีบ เชื่อมติดกัน กลีบดอกมีสมมาตรตามรัศมี (actinomorphic) หรือมีสมมาตรด้านข้าง (zygomorphic) ดอกเป็นรูปปากเปิด (bilabiate) ดอกรูปคล้ายแบบปากเปิด (pseudobilabiate) รูปลิ้น (ligulate) รูปแผ่ตามรัศมี (radiate) รูปเส้นด้าย (filiform) หรือรูปหลอด (tubular) เกสรเพศผู้ มีอับเรณู 5 อัน เชื่อมกันล้อมรอบก้านชูยอดเกสรเพศเมีย เกสรเพศเมีย มียอด 2 แฉก รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ ผลแห้งเมล็ดล่อน (achene) หรือผลแห้งเมล็ดล่อนปลายมีขน (cypsela) แพนปัส (pappus) มีลักษณะเป็นขนแข็ง (bristle) รยางค์แข็ง (awns) เกล็ด (scales) หรือบางชนิดไม่มีแพนปัส (Gordon, 1995)

การกระจายพันธุ์ (ก่องกานดา, 2548)

มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก แพร่กระจายทั่วไปในที่สูง ที่สูงประมาณ 600-1200 เมตร พบมากในภาคเหนือของประเทศไทย มีสกุลต่างๆ เช่น

สกุล *Bidens* ไม้ล้มลุก ส่วนมากเป็นวัชพืช เช่น ปิ่นนงไส้ *Bidens pilosa*

สกุล *Chromolaena* พบกระจายทั่วไป ตามที่โล่งแจ้งและในป่า เช่น สาบเสือ *Chromolaena odoratum* (L.)

สกุล *Vernonia* สกุลนี้เป็นไม้ต้น พบกระจายทั่วไป ตามที่โล่งแจ้งและในป่า เช่น หญ้าดอกขาว *Vernonia cinerea*



ตารางที่ 2.1 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชวงศ์ทานตะวัน

ชื่อพืช	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	ผู้วิจัย
กะเม็ง	Eclipta	Eclipta prostrate	ใบ	ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินทีเกรส (HIV-1 integrase) ของไวรัสเอชไอวี	Suedee, (2013)
กระดุมทอง	Melampodium	Melampodium divaricatum	ต้นและดอก	ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืช และการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช	ประไพพรรณ (2546)
ขี้ไก่ย่าน	Mikania	Mikania cordata	ใบ	ทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของข้าววัชพืชลดลง	จุฬามาศ และคณะ (2557)
ตีนตุ๊กแก	Tridax	Tridax procumbens	ทั้งต้น	ศักยภาพในการดูดซับและสะสมโลหะหนัก	ยศเวท (2560)
บัวตอง	Tithonia	Tithonia diversifolia	ลำต้น	involved in cellular stress defenses and in adipogenesis of mesenchymal cells.	Giacomo et al. (2015)
ปิ่นนกไต้	Bidens	Bidens pilosa	ทั้งต้น	Antioxidant	Goudoum et al. (2016)
ผักคราดหัวแหวน	Acmella	Acmella oleracea	ทั้งต้น	Antioxidant	Lalthanpuii (2017)

ตารางที่ 2.1 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชวงศ์ทานตะวัน (ต่อ)

ชื่อพืช	สกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	ผู้วิจัย
สาบม่วง	Praxelis	Praxelis clematidea R.M. King & H. Rob.	ใบ ต้น และดอก	Antioxidant	Maia <i>et al.</i> , 2011
สาบแครงสาบกา	Ageratum	Ageratum conyzoides	ทั้งต้น	Anti-inflammatory activity Antioxidant	Galati <i>et al.</i> 2001
สาบเสือ	Chromolaena	Chromolaena odorata	ใบ	Anti-inflammatory activity	Oliveira <i>et al.</i> , 2017
หญ้าดอกขาว	Vernonia	Vernonia cinerea (L.)	ใบ ก้าน และดอก	Antioxidant Smoking cessation	Prasopthum <i>et al.</i> , 2015

การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดหญ้าดอกขาว

ในปัจจุบันได้มีความสนใจนำพืชสมุนไพรเพื่อช่วยในการเลิกบุหรี่ โดยมีประโยชน์ในการลดต้นทุนเพิ่มมูลค่าให้กับพืช และการใช้พืชสมุนไพรยังเป็นวิธีที่ค่อนข้างปลอดภัย หญ้าดอกขาวเป็นพืชสมุนไพรล้มลุกปีเดียวในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) ที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหญ้าดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดยาซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthanakul *et al*, 2009; Leelarungrayub *et al*, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าการเสริมหญ้าดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรี่ได้ในคนที่ติดยา ทำให้ลดปริมาณการสูบบุหรี่ลงจนเลิกบุหรี่ได้ในที่สุด (Leelarungrayub *et al*, 2010) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ในการช่วยลดการติดยาในหนูขาวเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สารสำคัญในตัวทำละลายอื่นๆ นั้นยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก โดย Haque *et al*. (2012) วิเคราะห์สารสกัดหญ้าดอกขาวด้วยวิธี NMR spectroscopy พบ Lupeol, 12-oleanen-3-ol-3 β -acetate, Stigmasterol, β -sitosterol ซึ่งเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์และสเตียรอยด์ Joshi (2014) ได้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนดอกของหญ้าดอกขาวด้วยวิธีการกลั่นและวิเคราะห์องค์ประกอบด้วย GC-FID และ GC/MS พบว่ามีสารกลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์มากถึง 81.2% และ Youn *et al*. (2014) วิเคราะห์สารสกัดในส่วนแยกชั้นในคอลโรฟอร์มจากการสกัดด้วยเมทานอล พบ 4 สารใหม่ในกลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์แลคโตน ปัจจุบันการศึกษารักษาการสูบบุหรี่ในหญ้าดอกขาวทราบแล้วว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และ กลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์การยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum *et al*, 2015)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในหญ้าดอกขาว

จากการศึกษาก่อนหน้าได้มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าดอกขาวอย่างแพร่หลาย โดยสารกลุ่มสำคัญที่พบคือ sesquiterpenoids hirsutinolides (Youn *et al*, 2014) alkaloids (Maheshwari *et al*, 2007) steroids triterpenoids (Haque *et al*, 2012) และ flavonoids (Ketsuwan *et al*, 2017) พบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย ได้แก่ การรักษาอาการอักเสบ การติดเชื้อมะเร็ง ยาพิษ พิษยาพิษ อากาศปวด มะเร็ง และโรคทางระบบทางเดินอาหาร (Avila *et al*, 2015; Oliveira *et al*, 2011; Hormaza, 2015; Igual, 2013; Waboa *et al*, 2013; Habib and Waheed, 2013; Dewan *et al*, 2013; Toyang *et al*, 2013)

ในปัจจุบันได้มีความสนใจนำพืชสมุนไพรเพื่อช่วยในการเลิกบุหรี่ โดยมีประโยชน์ในการลดต้นทุนเพิ่มมูลค่าให้กับพืช และการใช้พืชสมุนไพรยังเป็นวิธีที่ค่อนข้างปลอดภัย หญ้าดอกขาว (*Vernonia cinerea* Less.) เป็นพืชสมุนไพรล้มลุกปีเดียวในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) ที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหญ้าดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดยาซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthanakul *et al*, 2009; Leelarungrayub *et al*, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าหญ้าดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรี่ได้ในคนที่ติด

บุหรื ทำให้ลดปริมาณการสูบบุหรืลงจนเลิกบุหรืได้ในที่สุด (Leelarungrayub *et al*, 2010) อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ในการช่วยลดการติดบุหรืในหนูขาวเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินิกและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) ปัจจุบันการศึกษารลดการสูบบุหรืในหนูตัวดอกขาว พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์การยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum *et al*, 2015)



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. ตู้อบพรรณไม้
2. T90 UV/VIS spectrophotometer, PG instruments limited, United Kingdom
3. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) รุ่น R200 บริษัท BUCHI จำกัด จากประเทศสวิสเซอร์แลนด์
4. กระดาษกรอง Whatman NO. 1
5. ชุดกรองและปั๊มสุญญากาศ
6. เครื่องวิเคราะห์แยกสารความดันสูง HPLC system (LC-20AT; high pressure pump, SIL-20AC HT; auto sampler, SPA-20A; UV/VIS detector, DGU-20As; degasser), Shimadzu,
7. LiChosher[®] RP-18 encapped (5 μ m) LiChroCART[®] (150x4.6mm.), Merck KGaA, Germany

สารเคมี

1. DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Sigma-aldrich, Germany
2. Gallic acid, Merck KGaA, USA
3. Folin ciocalteu reagent, Merck KGaA, Germany
4. Sodium carbonate (Na_2CO_3), Merck KGaA, Germany
5. Quercetin, Merck KGaA, China
6. Aluminium chloride (AlCl_3), Ajax Finechem Pty Ltd, Australia
7. Dimethyl sulfoxide (DMSO), Merck KGaA, USA
8. Potassium acetate (CH_3COOK), Ajax Finechem, Australia
9. 95% Ethanol, RCI Labscan Limited, Thailand
10. 100% Methanol, RCI Labscan Limited, Thailand
11. Ethyl acetate, RCI Labscan Limited, Thailand
12. Luteolin, Merck KGaA, Germany
13. Apigenin, Merck KGaA, Germany

การเตรียมสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

สำรวจพืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) และวงศ์ใกล้เคียง (Asterales) เคียงในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์ จากประชาชนชาวบ้าน หมอยา หรือ ผู้รู้ในชุมชนร่วมสำรวจและเก็บตัวอย่าง โดยเลือกเก็บเฉพาะส่วนของดอก ก้านและใบ นำมาผึ่งลมให้แห้งแล้วนำไปอบที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-7 วัน หรือจนกว่าจะได้น้ำหนักพืชแห้งไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อทำการอบซ้ำ 3 ครั้ง นำพืชแห้งมาปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นแล้วเก็บบรรจุใส่ถุงเพื่อกันความชื้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เตรียมสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยการนำส่วนของดอก ก้าน และใบ หมักในอัตราส่วนพืชแห้ง 50 กรัมต่อตัวทำละลายเอทานอล 95% (v/v) 700 มิลลิลิตร โดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบหมุนวนความเร็ว 120 รอบต่อนาที ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปเก็บไว้ในที่มืดตลอดระยะเวลาการหมัก นำมากรองโดยใช้ชุดกรองและปั๊มสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารสกัดในตัวทำละลายระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) แล้วนำไปชั่งเพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต และเก็บในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รอกการวิเคราะห์ต่อไป

การคำนวณหาผลผลิตเปอเซ็นต์ (%yield)

$$\text{จากสูตร ผลผลิตเปอเซ็นต์} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณพืชที่ใช้ในการสกัด (กรัม)}} \times 100\%$$

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Follin-Ciocalteu Colorimetric method

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Babbar (2011) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu phenol reagent, (Folin-Ciocalteu phenol reagent : water=1:9) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และ sodium carbonate (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 800 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องและมืดเป็นเวลา 30 นาที จากเดิมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในคิวเวตและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer จากนั้นคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสมการของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อส่วนสกัด 1 มิลลิกรัม ($\mu\text{GAE}/\text{mg extract}$)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้วิธี Aluminum Chloride Colorimetric method

หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ดัดแปลงมาจากวิธีของ โดยเตรียมสารละลายเคอร์ซีตินละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ ความเข้มข้นสุดท้าย 120, 60, 30, 15, 7.5 และ 3.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมน้ำสารละลาย มาตรฐานเคอร์ซีติน (quercetin) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 95% methanol ปริมาตร 600 ไมโครลิตร, 4% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminium chloride) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร, โพแทสเซียมอะซิเตท (potassium acetate) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ น้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องและมีดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้น เติมน้ำสกัดความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในคิวเวตและ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีติน แสดง ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในรูปไมโครกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อส่วนสกัด 1 มิลลิกรัม ($\mu\text{QE}/\text{mg extract}$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity

หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong (2006) หากกราฟของระบบ ตัวทำลายทุกความเข้มข้นทั้งหมด 5 จุด ดังนี้ 3, 0.75, 0.1875, 0.0938 และ 0.0469 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร เพื่อคำนวณหาค่าเข้มข้นในการต้านอนุมูลอิสระ 50% (IC_{50}) ทำการปิเปตสารสกัด ปริมาตร 750 ไมโครลิตร เติมน้ำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและมีดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer โดยใช้สารละลาย มาตรฐานเคอร์ซีตินเป็นตัวควบคุมแบบบวก คำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (%free radical scavenging) ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดได้จากสมการของสุชาติดา (2558) และนำไป สร้างสมการเส้นตรงเพื่อคำนวณหา IC_{50}

การคำนวณ %free radical scavenging

$$\% \text{free radical scavenging} = \left| 1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right| \times 100$$

A_{sample} = ค่า absorbance ของตัวอย่างเมื่อผสมกับสารละลาย DPPH

A_{control} = ค่า absorbance ของตัวทำลายของตัวอย่างนั้นเมื่อผสมกับสารละลาย DPPH

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันโดยวิธี HPLC

เตรียมสารละลายมาตรฐานลูทีโอลิน (luteolin) สารละลายมาตรฐานเอพิจินิน (apigenin) และสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (quercetin) ความเข้มข้นสุดท้ายดังต่อไปนี้ 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แยกองค์ประกอบของสารสกัดโดยใช้คอลัมน์ LiChrospher® LichroCART® RP-18 (ขนาด 4.6 × 150 มิลลิเมตร) ใช้พื้นที่ใต้พีค (peak area) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณสารบ่งชี้ในตัวอย่างสารสกัด เตรียมตัวอย่างสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) (acetonitrile เปอเซ็นต์ 35 ใน phosphate buffer เปอเซ็นต์ 0.2 (isocratic) pH 3) กรองด้วย syringe filter 0.2 µm มีปริมาตรสำหรับฉีด (injection volume) เท่ากับ 20 ไมโครลิตร ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง

วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของทั้งเอนไซม์ CYP2A6, MOA-A และ MOA-B ซึ่งเป็นสาระสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเลิกบุหรี่ ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐาน ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin ที่มีอยู่ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยวิธี HPLC โดยใช้สภาวะการทดลอง (condition) ดังต่อไปนี้ในวัฏภาคเคลื่อนที่ทำการไล่ฟองแก๊สด้วย ultrasonic sonicator เป็นเวลา 10 นาที อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ UV detector 352 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ทางสถิติ

แสดงผลเป็นข้อมูลที่เป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน แต่แต่ละครั้งทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) โดยใช้ One way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นรายคู่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

ชนิดของพืชวงศ์ทานตะวัน

ประชากรที่สำรวจพบและใช้ในการศึกษาคือ พืช 11 ชนิดในวงศ์ทานตะวัน ได้แก่ กระจุมทอง กะเม็ง ชี้ไถ่ย่าน ตีนตุ๊กแก บัวตอง ปีนนกลี้นี้ ผักคราดหัวแหวน สาบม่วง สาบแรังสาบกา สาบเสือ และ หญ้าดอกขาว และไม่พบพืชวงศ์ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ทานตะวัน

ปริมาณของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

การสกัดพืชวงศ์ทานตะวันโดยใช้วิธีการหมัก (maceration) ระเหยตัวทำละลายออกด้วย เครื่องระเหยสูญญากาศ (rotary evaporator) ได้สารสกัดสีน้ำตาลเข้ม เหนียว มีปริมาณร้อยละ ผลผลิตดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

ลำดับ	สกุล	ชื่อสามัญ	น้ำหนักพืชแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ผลผลิต ร้อยละ
1	<i>Ageratum</i>	สาบแรังสาบกา	50	2.06	4.11
2	<i>Bidens</i>	ป็นนกลี้นี้	50	5.89	11.79
3	<i>Chromolaena</i>	สาบเสือ	50	3.20	6.40
4	<i>Eclipta</i>	กะเม็ง	50	3.93	7.85
5	<i>Melampodium</i>	กระจุมทอง	50	3.07	6.15
6	<i>Mikania</i>	ชี้ไถ่ย่าน	50	2.46	4.92
7	<i>Praxelis</i>	สาบม่วง	50	1.95	3.90
8	<i>Sphaeranthus</i>	ผักคราดหัว แหวน	50	3.35	6.70
9	<i>Tithonia</i>	บัวตอง	50	5.83	11.66
10	<i>Tridax</i>	ตีนตุ๊กแก	50	1.60	3.20
11	<i>Vernonia</i>	หญ้าดอกขาว	50	3.29	6.58

สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่สกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณมากที่สุด คือ ปั่นนงไส้ มีน้ำหนักสารสกัด 5.89 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.79 รองลงมาคือ สารสกัดบัวตองมีน้ำหนักสารสกัด 5.83 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.66 รองลงมาคือ สารสกัดกะเม็งมีน้ำหนักสารสกัด 3.93 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 7.85 และสารสกัดที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ สารสกัดตีนตุ๊กแกมีน้ำหนักสารสกัด 1.60 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 3.20

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ ปั่นนงไส้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.936 ± 0.209 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract รองลงมา คือ กะเม็ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.898 ± 0.203 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract บัวตอง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.864 ± 0.013 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract ชี่ไถ่ย่าน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.857 ± 0.100 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด คือ สารสกัดผักคราดหัวแหวน เท่ากับ 0.416 ± 0.038 $\mu\text{g GAE}/\text{mg}$ extract (ตารางที่ 4.2) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดเป็นรายคู่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการศึกษาการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ กะเม็ง, ชี่ไถ่ย่าน และ ปั่นนงไส้ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 $\mu\text{g QE}/\text{mg}$ extract ตามลำดับ รองลงมา คือ ตีนตุ๊กแก และกระดุมทอง มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.724 ± 0.056 และ 1.608 ± 0.033 $\mu\text{g QE}/\text{mg}$ extract ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด คือ หน้าดอกขาว มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.681 ± 0.050 $\mu\text{g QE}/\text{mg}$ extract (ตารางที่ 4.3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดเป็นรายคู่โดยใช้ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

ชนิดพืชวงศ์ทานตะวัน	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ($\mu\text{g GAE/mg extract}$)
สาบแร้งสาบกา	0.479 ± 0.138
ปิ่นนกลี	0.936 ± 0.209
สาบเสื่อ	0.795 ± 0.180
กะเม็ง	0.898 ± 0.203
กระดุมทอง	0.600 ± 0.077
ซีไคย่าน	0.857 ± 0.100
สาบม่วง	0.764 ± 0.034
ผักคราดหัวแหวน	0.416 ± 0.038
บัวตอง	0.864 ± 0.013
ตีนตุ๊กแก	0.804 ± 0.102
หญ้าดอกขาว	0.830 ± 0.110

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

ชนิดพืชวงศ์ทานตะวัน	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ($\mu\text{g QE/mg extract}$)
สาบแร้งสาบกา	1.163 ± 0.172^{cde}
ปิ่นนกลี	2.127 ± 0.165^{ab}
สาบเสื่อ	0.860 ± 0.076^{de}
กะเม็ง	2.902 ± 0.160^a
กระดุมทอง	1.608 ± 0.033^{bcd}
ซีไคย่าน	2.139 ± 0.042^{ab}
สาบม่วง	1.148 ± 0.062^{cde}
ผักคราดหัวแหวน	1.109 ± 0.120^{cde}
บัวตอง	0.812 ± 0.094^d
ตีนตุ๊กแก	1.724 ± 0.056^{bc}
หญ้าดอกขาว	0.681 ± 0.050^e

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือ ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง (ชัมยพร, 2560) พบว่า สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันแสดงฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด คือ หญ้าดอกขาว มีค่า IC_{50} เท่ากับ 135.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) รองลงมา คือ กระจุดมทอง สาบม่วง ผักคราดหัวแหวน สาบแร้งสาบกา ชี้ไถ่ย่าน ปั่นนกลั้ สาบเสือ บัวตอง ดินตุ้กแก และกะเม็ง ค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 224.66 - 291.15 $\mu\text{g/ml}$ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่กำลังต่อต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ชนิดพืชวงศ์ทานตะวัน	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สาบแร้งสาบกา	252.20
ปั่นนกลั้	259.49
สาบเสือ	273.90
กะเม็ง	291.15
กระจุดมทอง	224.66
ชี้ไถ่ย่าน	254.93
สาบม่วง	231.24
ผักคราดหัวแหวน	246.54
บัวตอง	274.60
ดินตุ้กแก	279.07
หญ้าดอกขาว	135.96
*เคอร์เซติน	3.49

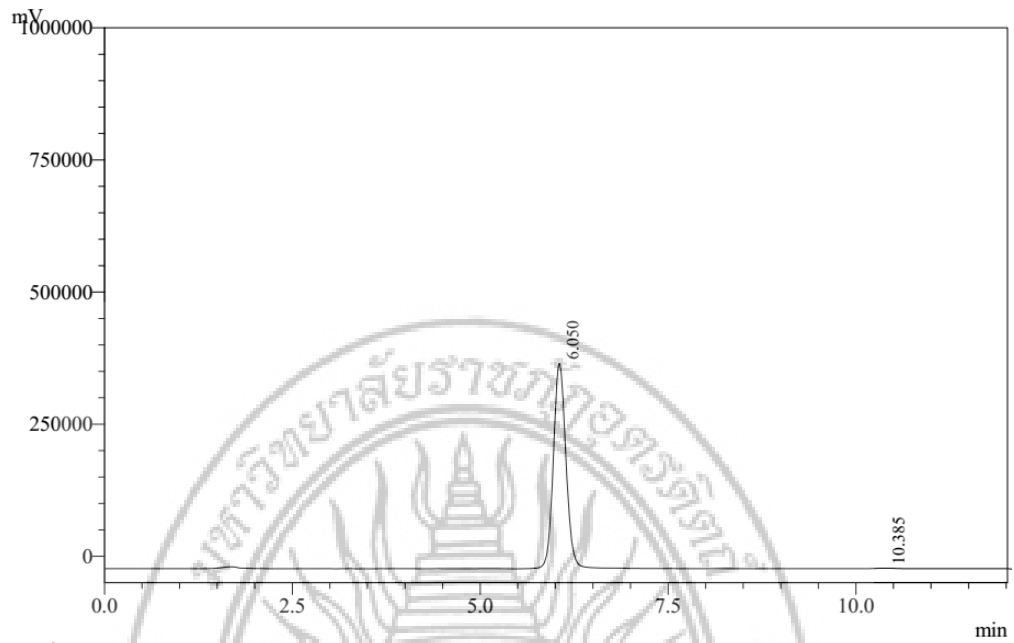
*สารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน

ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยเทคนิค HPLC

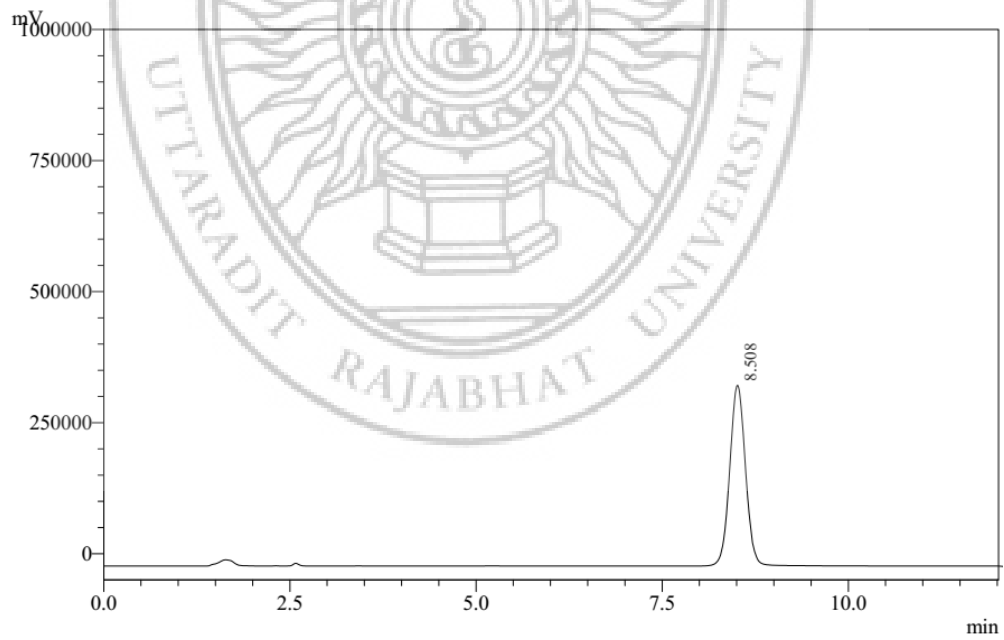
ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐาน เพื่อหาลักษณะจำเพาะของกราฟจากสารมาตรฐานแต่ละชนิด ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin ในสภาวะ mobile phase คือ acetonitrile ร้อยละ 35 ใน phosphate buffer ร้อยละ 0.2 (isocratic) pH 3 อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ UV detector 352 นาโนเมตร พบว่า สารละลายมาตรฐาน luteolin, quercetin และ apigenin มี t_R (retention time) เท่ากับ 5.638 ± 0.003 (ภาพที่ 4.1), 6.050 ± 0.003 (ภาพที่ 4.2) และ 8.508 ± 0.003 นาที (ภาพที่ 4.3) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน luteolin

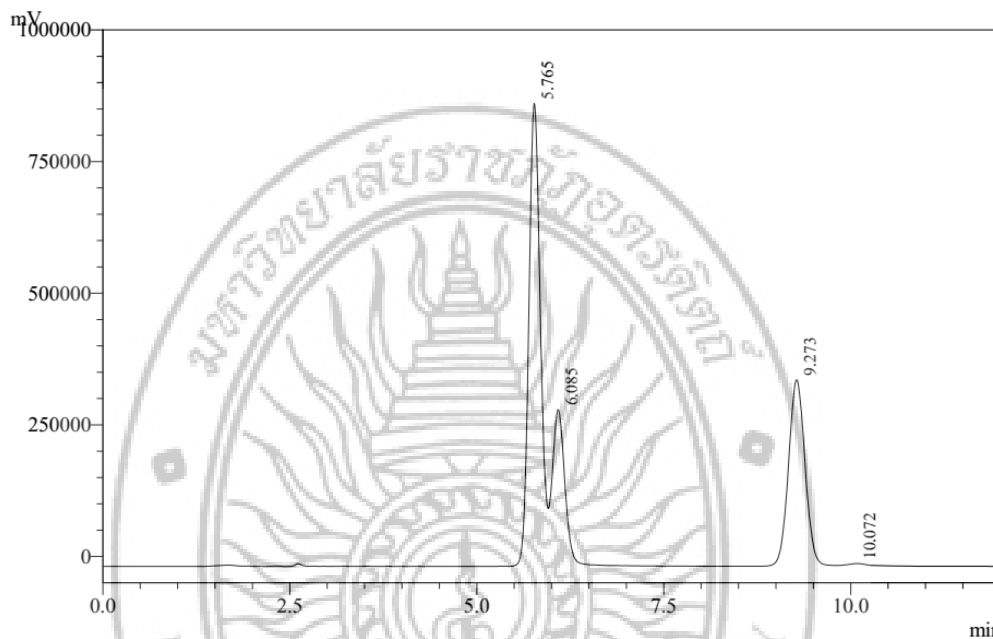


ภาพที่ 4.2 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน apigenin



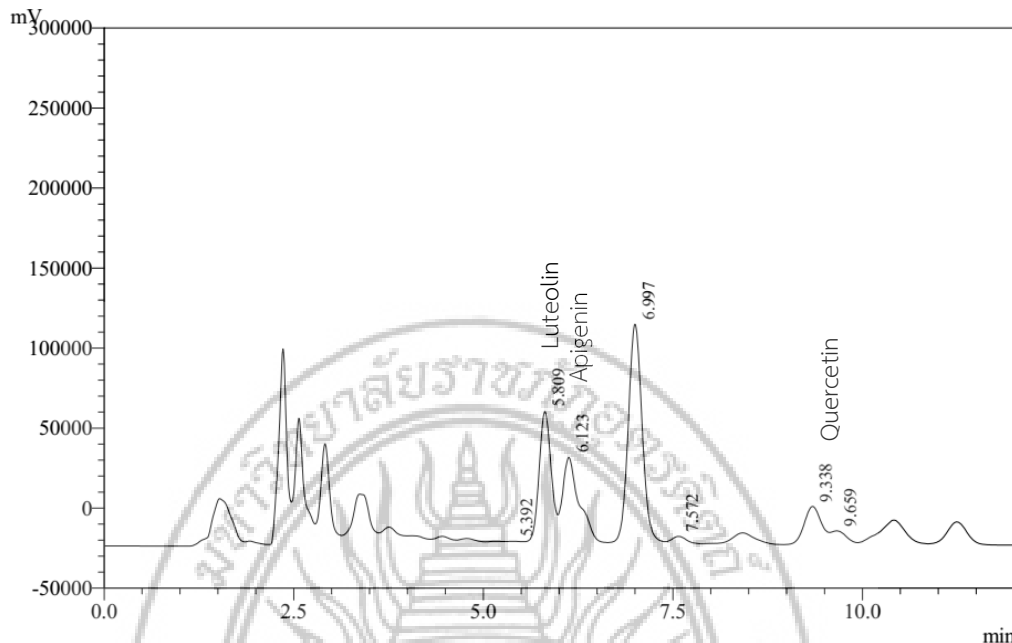
ภาพที่ 4.3 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐาน quercetin

และเมื่อทำการผสมสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดเข้าด้วยกันแล้วทดลองหาลักษณะจำเพาะของโครมาโตแกรม พบว่า สารละลายมาตรฐาน luteolin, apigenin และ quercetin มี t_R เท่ากับ 5.77 ± 0.00 , 6.09 ± 0.00 และ 9.27 ± 0.01 นาที (ภาพที่ 4.4) ตามลำดับ



ภาพที่ 4.4 Retention time (t_R) ของสารละลายมาตรฐานผสม luteolin, apigenin และ quercetin

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวัน พบว่า โครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันแต่ละชนิดแล้วนั้นจะคำนวณปริมาณของสารสำคัญนั้นโดยเลือกใช้พื้นที่ใต้พีค (peak area) ที่มี t_R ตรงกับโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสม luteolin, apigenin และ quercetin ดังภาพที่ 4.5 ซึ่งเป็นตัวอย่างของโครมาโตแกรมของสารสกัดสาบม่วง



ภาพที่ 4.5 โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบม่วง และ retention time ที่บ่งชี้ถึง luteolin, apigenin และ quercetin ตามลำดับ

สารสกัดปืนนกไส้มีปริมาณ luteolin มากที่สุด เท่ากับ 30,424.02 ไมโครกรัมต่อปริมาณสารสกัด 1 กรัม ($\mu\text{g/g}$ extract) รองลงมาคือ สารสกัดผักคราดหัวแหวน มีปริมาณ luteolin เท่ากับ 12,869.21 $\mu\text{g/g}$ extract รองลงมาคือ สารสกัดดินตึกแก มีปริมาณ luteolin เท่ากับ 11,656.80 $\mu\text{g/g}$ extract และสารสกัดที่มีปริมาณ luteolin น้อยที่สุดคือ สารสกัดสาบแร้งสาบกา มีปริมาณ luteolin เท่ากับ 8,590.24 $\mu\text{g/g}$ extract (ตารางที่ 4.5)

สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่ตรวจพบ apigenin ได้แก่ สาบม่วง ชี้ไก่ย่าน บัวตอง และดินตึกแก สารสกัดสาบม่วง ชี้ไก่ย่าน บัวตอง และดินตึกแก มีปริมาณ apigenin อยู่ในช่วง 27.11–38.49 $\mu\text{g/g}$ extract และสารสกัดกระดุมทองมีปริมาณ apigenin น้อยที่สุดเท่ากับ 7.73 $\mu\text{g/g}$ extract (ตารางที่ 4.5)

สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่ตรวจพบ quercetin ได้แก่ ปืนนกไส้ กะเม็ง กระดุมทอง สาบม่วง และหญ้าดอกขาว สารสกัดปืนนกไส้ กะเม็ง กระดุมทอง สาบม่วง และหญ้าดอกขาว มีปริมาณ quercetin อยู่ในช่วง 6.36 - 200.86 $\mu\text{g/g}$ extract (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณ luteolin, apigenin และ quercetin ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวัน

ชนิดพืชวงศ์ทานตะวัน	Luteolin ($\mu\text{g extract}$)	Apigenin ($\mu\text{g extract}$)	Quercetin ($\mu\text{g extract}$)
สาบแรังสาบกา	8590.24	N/A	N/A
ปิ่นนกลี	30424.02	N/A	200.86
สาบเสือ	8914.83	N/A	N/A
กะเม็ง	9554.30	N/A	10.24
กระดุมทอง	9976.54	N/A	34.33
ซีไต้ย่าน	9345.26	27.11	N/A
สาบม่วง	9633.73	38.49	6.36
ผักคราดหัวแหวน	12869.21	N/A	N/A
บัวตอง	8905.06	7.73	N/A
ตีนตุ๊กแก	11656.80	34.10	N/A
หญ้าดอกขาว	9291.46	N/A	6.75

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดปืนนกไล่ และบัวตองด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ จะมีผลผลิตร้อยละมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 11.79 และ 11.66 ตามลำดับ

สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันในช่วง $0.416 \pm 0.038 - 0.936 \pm 0.209$ $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract เมื่อวิเคราะห์ด้วย Follin-Ciocalteu colorimetric method และเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

สารสกัดจากกะเม็ง ขี้ไก่ย่าน และ ปืนนกไล่ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 μg QE/mg extract ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ด้วย aluminium chloride colorimetric method และเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน

สารสกัดหูก้าดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 135.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ เมื่อทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay โดยมีเคอร์เซตินเป็นกลุ่มควบคุมบวก

สารสกัดสาบเสือมีปริมาณ luteolin มากที่สุด เท่ากับ $30,424.02$ μg extract แต่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดมีปริมาณ apigenin และ quercetin ค่อนข้างน้อย

วิจารณ์ผลการวิจัย

ปริมาณผลผลิตร้อยละของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่สกัดด้วย เอทานอล 95เปอร์เซ็นต์พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณมากที่สุด คือ ปืนนกไล่ มีน้ำหนักสารสกัด 5.89 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.79 รองลงมาคือ สารสกัดบัวตองมีน้ำหนักสารสกัด 5.83 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.66 รองลงมาคือ สารสกัดกะเม็งมีน้ำหนักสารสกัด 3.93 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 7.85 และสารสกัดที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ สารสกัดตีนตุ๊กแกมีน้ำหนักสารสกัด 1.60 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 3.20 เนื่องจากงานวิจัยนี้เลือกใช้ส่วนของดอก ก้าน และใบ ของพืชเพื่อนำมาศึกษาวิเคราะห์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีการสร้างและสะสมสารชีวโมเลกุลไว้เป็นจำนวนมาก จึงทำให้ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของวันประเสริฐ และณัฐนันท์ (2561) ที่ทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากลูกใต้ใบ พืชชนิดหนึ่งในวงศ์เปเล้า (Euphorbiaceae) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่า ส่วนของพืชที่มีผลผลิตร้อยละ

ละสูงที่สุดคือ ผล ราก ใบ และลำต้นตามลำดับ ทั้งนี้ป็นนงกไล้ บัวตอง และกะเม็งนั้นจะมีสัดส่วนของ ก้าน และใบค่อนข้างสูง ซึ่งแตกต่างจากตีนตุ๊กแก ซึ่งเป็นพืชที่มีลักษณะเป็นพืชกึ่งเลื้อย มีลำต้นค่อนข้างลีบ และเล็ก ก้านดอกยาว มีดอกเป็นจำนวนมาก ดังนั้นสัดส่วนของส่วนประกอบของพืชที่ใช้จึงมีผลต่อ ปริมาณผลผลิตที่สกัดได้

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไป เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดมากที่สุด คือ ป็นนงกไล้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.936 ± 0.209 $\mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ รองลงมา คือ กะเม็ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.898 ± 0.203 $\mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ บัวตอง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.864 ± 0.013 $\mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ ชีไ้ก่ย่ำน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.857 ± 0.100 $\mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด น้อยที่สุด คือ สารสกัดผักคราดหัวแหวน เท่ากับ 0.416 ± 0.038 $\mu\text{g GAE}/\text{mg extract}$ (ตารางที่ 4.2) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ ทานตะวันทุกชนิด ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p > 0.05$) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ละลาย น้ำได้ดีทำให้ผ่านเข้าเซลล์และสะสมในเซลล์น้อย มีฟีนอล (phenol) ซึ่งมีความสามารถในการให้ ไฮโดรเจน (hydrogen; H) ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมี ความสามารถในการให้อิเล็กตรอน หรือ ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระจะมี ความสัมพันธ์กับจำนวน และตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group; -OH) (Feng and Liu, 2009) เมื่อพิจารณาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแล้วนั้น สารสกัดจากพืชทุกชนิดมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอเซนต์ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความ เข้มข้นแตกต่างกัน หรือตัวทำละลายต่างชนิดกัน อาทิ เอทิลอะซิเตท หรือ เมทานอล เป็นต้น จะ สามารถดึงสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้ค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอเซนต์ ดังเช่นงานวิจัยนี้เลือกใช้ แต่มีผลการศึกษาก่อนหน้านี้จำนวนหนึ่งมีผลการศึกษาที่สอดคล้อง กัน ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอเซนต์ นั้นมีปริมาณ ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น แต่เมื่อทดสอบ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแล้วพบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95เปอเซนต์ มี ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด (Tomsone *et al*, 2012; Do *et al*, 2014)

จากการศึกษาการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสง ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโ

นอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ กะเม็ง, ชี้ไก่ย่าน และ ปีนนกไล่ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 $\mu\text{g QE/mg extract}$ ตามลำดับ รองลงมา คือ ดินตึกแก และกระดุมทอง มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.724 ± 0.056 และ 1.608 ± 0.033 $\mu\text{g QE/mg extract}$ ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด คือ หญ้าดอกขาว มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.681 ± 0.050 $\mu\text{g QE/mg extract}$ (ตารางที่ 4.3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดเป็นรายคู่โดยใช้ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์แตกต่างกัน โดยที่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.127 ± 0.165 - 2.902 ± 0.160 $\mu\text{g QE/mg extract}$ เมื่อพิจารณาประกอบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทั้งนี้สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นหนึ่งในสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging activity) โดยทำหน้าที่ไปจับกับอนุมูลอิสระโดยตรง ในธรรมชาติโดยทั่วไปพบในใบ ดอก ผล และส่วนต่างๆ ของพืช สอดคล้องกับผลการศึกษาของ เอนก และ บุญยกฤต (2560) ความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเนื่องมาจากความแตกต่างของชนิดพันธุ์

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือ ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50 เปอร์เซนต์ โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง (ขมัยพร และคณะ, 2560) พบว่า สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันแสดงฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด คือ หญ้าดอกขาว มีค่า IC_{50} เท่ากับ 135.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร่วมกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหญ้าดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ไม่สอดคล้องกับปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหญ้าดอกขาวนั้นพบค่อนข้างน้อย (0.681 ± 0.050 $\mu\text{g QE/mg extract}$) เมื่อเทียบกับสารสกัดกะเม็ง (2.902 ± 0.160 $\mu\text{g QE/mg extract}$) ตรงกันข้ามกับสารสกัดกะเม็ง ชี้ไก่ย่าน และป็นนกไล่ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ ไม่สอดคล้องกับปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดกะเม็ง (2.902 ± 0.160 $\mu\text{g QE/mg extract}$) ชี้ไก่ย่าน (2.139 ± 0.042 $\mu\text{g QE/mg extract}$) และป็นนกไล่ (2.127 ± 0.165 $\mu\text{g QE/mg extract}$) นั้นพบมาก

ที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงของสารสกัดหญ้าดอกขาวนั้นอาจเป็นเพราะเป็นสารกลุ่มอื่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับการศึกษาของ ชมัยพร และคณะ (2560) ที่แสดงว่า สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในส่วนสกัดของส้มซ่าอาจไม่ใช่สารในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามควรมีการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาทิ luteolin (Romanová *et al.*, 2001; Prasopthum *et al.*, 2015) rhamnetin (Majewska *et al.*, 2011; Olennikov and Chirikova, 2018) เป็นต้น

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยวิธี HPLC โดยใช้สารละลายมาตรฐาน ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin แยกโดยใช้คอลัมน์ LiChrospher® LichroCART® RP-18 (ขนาด 4.6 × 150 มิลลิเมตร) ใน mobile phase คือ acetonitrile ร้อยละ 35 ใน phosphate buffer ร้อยละ 0.2 (isocratic) pH 3 อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ UV detector 352 นาโนเมตร พบว่า สามารถแยกสารละลายมาตรฐาน luteolin, quercetin และ apigenin ซึ่งมีการเตรียมเป็นสารละลายเดี่ยว มี t_R (retention time) เท่ากับ 5.638 ± 0.003 , 6.050 ± 0.003 และ 8.508 ± 0.003 นาที ตามลำดับ และเมื่อเตรียมเป็นสารละลายผสมของสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดข้างต้นแล้ว พบว่า สามารถแยกสารละลายมาตรฐาน luteolin, apigenin และ quercetin มี t_R เท่ากับ 5.77 ± 0.00 , 6.09 ± 0.00 และ 9.27 ± 0.01 นาที ตามลำดับ โดยที่พื้นที่ใต้พีคและ t_R ของสารละลายมาตรฐานทุกชนิดยังคงลักษณะเฉพาะตัวไม่แตกต่างจากการแยกวิเคราะห์แบบสารละลายเดี่ยว เมื่อพิจารณาทั้งปริมาณ luteolin, apigenin และ quercetin ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันแล้ว พบว่า พืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดจะมีปริมาณ luteolin สูง ($8,590.24 - 30,424.02 \mu\text{g}/\text{g}$ extract) แต่กลับมีปริมาณ apigenin และ quercetin ค่อนข้างน้อย หรือตรวจไม่พบในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันหลายๆ ชนิด ได้แก่ สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King & Robinson) สาบแรังสาบกา (*Ageratum conyzoides*) และบัวตอง (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ามีรายงานการพบ apigenin ในสารสกัดเอทานอลของสาบม่วง (Maia *et al.*, 2011) สาบเสือ (Oliveira *et al.*, 2017) หญ้าดอกขาว (Prasopthum *et al.*, 2015) และพบ quercetin ในสารสกัดน้ำเกลือของบัวตอง (Barboza *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตาม ไม่พบสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเมทานอลของหญ้าดอกขาวจากส่วนเปลือกลำต้นและใบด้วยวิธี Hydrochloric Acid Test แต่ตรวจพบไกลโคไซด์ (glycosides) ด้วยวิธี Anthroquinone test Keller-killani test (Haque *et al.*, 2012) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากผลทางตรงจากสถานะในการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ยังไม่เหมาะสมสำหรับแยกองค์ประกอบของสารละลายตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ apigenin และ quercetin ในแบบสารละลายผสมหรือการใช้สถานะเดียวเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นจึงควรพัฒนา

หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารสำคัญเพียงตัวเดียวเท่านั้น นอกจากนี้ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่ใช้ และแหล่งที่พบพืช ก็มีผลต่อปริมาณสารสำคัญด้วยเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรพัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารสำคัญเพียงครั้งละ 1 ชนิดเท่านั้น
2. ควรมีการศึกษาและสำรวจพืชในวงศ์ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ทานตะวันให้ถูกต้องตามหลัก

อนุกรมวิธาน



เอกสารอ้างอิง

- Ávila P.H.M., Ávila R. I., Santos. F. E. X., et al. (2015). **Mucoadhesive formulation of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) reduces intestinal injury from 5-fluorouracil-induced mucositis in mice.** *Toxicology Reports.* 2: 563–573.
- Bremer K. (1995). **Asteraceae, Cladistics & Classification.** *Rhodora.* 97(890): 176-178
- Dewana S. M. R, Amina Md. N., Adnana T., et al. (2013). **Investigation of analgesic potential and in vitro antioxidant activity of two plants of Asteraceae family growing in Bangladesh.** *Journal of Pharmacy Research.* 6(6): 599–603.
- Do Q. M., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismadji S., et al. (2014). **Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*.** *Journal of Food and Drug Analysis.* 22(3): 296-302.
- Feng J. Y. and Liu Z. Q. (2009). **Phenolic and Enolic Hydroxyl Groups in Curcumin: Which Plays the Major Role in Scavenging Radicals?.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57(22): 11041-11046.
- Galati E. M., Miceli N., Taviano M. F., Sanogo R. and Raneri E. (2001). **Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of *Ageratum conyzoides*.** *Pharmaceutical Biology.* 39(5): 336-339.
- Gani A. Md. S. and Devi D. N.. (2015). **Antioxidant Activity of *Eclipta prostrata* (L.) L. using Methanolic extract.** *International Journal of Phytopharmacy.* 5(2): 21-24.
- Giacomo C. D., Vanella L., Sorrenti V., Santangelo R., Barbagallo I., Calabrese G., et al.. (2015). **Effects of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Extract on Adipocyte Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells.** *PLOS ONE.* 10(4): 1-15.
- Goudoum A., Abdou A. B., Ngamo L. S. T., Ngassoum M. B., and Mbofung C. M. F.. (2016). **Antioxidant activities of essential oil of *Bidens pilosa* (Linn. Var. Radita) used**

- for the preservation of food qualities in North Cameroon. *Food Science and Nutrition*. 4(5): 671–678.
- Güvença A., Akkolb E.K., Hürkula M.M., Keleş H.. (2012). **Wound healing and anti-inflammatory activities of the *Michauxia* L'Hérit (Campanulaceae) species native to Turkey.** *Journal of Ethnopharmacology*. 139(2): 401–408.
- Habiba M. and Waheed I.. (2013). **Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract.** *Journal of Ethnopharmacology*. 145(1): 18–24.
- Haque Md. A., Hassan Md. M., Das A., Begum B., Ali Md. Y. and Morshed H.. (2012). **Phytochemical investigation of *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae).** *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2(6): 79-83.
- Hormazaa L. C., Moraa C., Alvarez R., *et al.* (2015). **Chemical composition and antibacterial activity against *Enterobacter cloacae* of essential oils from Asteraceae species growing in the Páramos of Colombia.** *Industrial Crops and Products*. 77: 108–115.
- Igual M. O., Martucci M. E. P., Costa F. B. D., and Leonardo G. N.. (2013). **Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae).** *Biochemical Systematics and Ecology*, 51: 94–97.
- Joshi R. K.. (2014). **Sesquiterpene rich essential oil of *Vernonia cinerea* Less. from India.** *South African Journal of Botany*. 95: 129–130.
- Ketsuwan N., Leelarungrayub J., Kothan S., and Singhatong S.. (2017). **Antioxidant compounds and activities of the stem, flower, and leaf extracts of the anti-smoking Thai medicinal plant: *Vernonia cinerea* Less..** *Drug Design, Development and Therapy*. 11: 383–391.
- Lalthanpuii P.B., Hruaitluangi L., Sailo N., Lalremsanga H. T., and Lalchhandama K.. (2017). **Nutritive value and antioxidant activity of *Acmella oleracea***

- (**Asteraceae**), a variety grown in Mizoram, India. *International Journal of Phytopharmacy*. 7(5): 42-46.
- Leelarungrayub D., Pratanaphon S., Pothongsunun P., Sriboonreung T., Yankai A., and Bloomer R. J.. (2010). ***Vernonia cinerea* Less. supplementation and strenuous exercise reduce smoking rate: relation to oxidative stress status and beta-endorphin release in active smokers.** *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 7(21).
- Maheshwari P., Songara B., Kumar S., Jain P., Srivastava K. and Kumar A.. (2007). **Alkaloid production in *Vernonia cinerea*: Callus, cell suspension and root cultures.** *Biotechnology Journal*. 2(8): 1026-1032.
- Maia G. L., Vdos S. F. S., Aquino P. G., de Araújo Jr. J. X., Tavares J. F., da Silva M. S., *et al.* (2011). **Flavonoids from *Praxelis clematidea* R.M. King and Robinson modulate bacterial drug resistance.** *Molecules*. 16(6): 4828-4835.
- Majewska M., Skrzycki M., Podsiad M. and Czeczot H.. (2011). **Evaluation of antioxidant potential of flavonoids: an in vitro study.** *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 68(4): 611-615.
- Meragelman T.L., Renteria B.S., Silvae G.L., Gil R. R.. (2006). **Modified secoiridoid from *Acicarpa tribuloides* and inhibition of nitric oxide production in LPS-activated macrophages.** *Phytochemistry*. 67(14): 1534-1538.
- Nakabeppu Y., Sakumi K., Sakamoto K., Tsuchimoto D., Tsuzuki T., and Nakatsu Y.. (2006). **Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids.** *Biological chemistry*. 387(4): 373-379.
- Olennikov D. N. and Chirikova N. K.. (2018). **Rhamnetin Glycosides from the Genus *Spiraea*.** *Chemistry of Natural Compounds*. 54(1): 41-45.
- Oliveira P. C., Paula C.A., Rezende S.A., Campos F.T., *et al.* (2011). **Anti-inflammatory activity of *Lychnophora passerina*, Asteraceae (Brazilian “Arnica”).** *Journal of Ethnopharmacology*. 135(2): 393-398.

- Panche A. N., Diwan A. D., and Chandra S. R.. (2016). **Flavonoids: an overview**. Journal of nutritional science. 5(47): 1-15.
- Pereira D. M., Valentão P., Pereira J. A., and Andrade P. B.. (2009). **Phenolics: From Chemistry to Biology**. Molecules. 14: 2202-2211.
- Pinnak P., (2012). **Effect of *Vernonia cinerea* Less. extracts on nicotine withdrawal symptoms in mice (unpublished master's degree thesis)**. Nareasuan University, Thailand.
- Prasopthuma A., Pouyfunga P., Sarapusitb S., *et al.* (2015). **Inhibition effects of *Vernonia cinerea* active compounds against cytochrome P450 2A6 and human monoamine oxidases, possible targets for reduction of tobacco dependence**. Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 30(2): 174–181.
- Spadoni G., Diamantini G., Bedini A., Tarzia G., Vacondio F., Silva C. *et al.*. (2006). **Synthesis, antioxidant activity and structure-activity relationships for a new series of 2-(N-acylaminoethyl) indoles with melatonin-like cytoprotective activity**. Journal of pineal research. 40(3): 259-269.
- Steinberg L.. (2008). **A Social Neuroscience Perspective on Adolescent Risk-Taking**. Dev Rev. 28(1):78-106.
- Suedee A., Tewtrakul S., and Panichayupakaranant P.. (2013). **Anti-HIV-1 integrase compound from *Pometia pinnata* leaves**. Pharmaceutical biology. 51(10): 1256-1261.
- Tomsone L., Kruma Z., and Galoburda R.. (2012). **Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*)**. International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering. 6(4): 236-241.
- Toyanga N.J., Verpoortec R.. (2013). **A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae)**. Journal of Ethnopharmacology. 146(3): 681–723.

Waboa P.J., Paynea VK., Mbogninga T.G., *et al.* (2013). *In vitro* anthelmintic efficacy of *Dichrocephala integrifolia* (Asteraceae) extracts on the gastro-intestinal nematode parasite of mice: *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 3(2): 100–104.

Wongwiwatthananut S., Benjanakaskul P., Songsak T., Suwanamajo S., and Verachai V.. (2009). Efficacy of *Vernonia cinera* for smoking cessation. Journal of Health Research. 23(1): 31-36.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M., and Telser J.. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry and cell biology. 39(1): 44-84.

Youn U. J., Miklossy G., Chai X., Wongwiwatthananut S., Toyama O., Songsak T., *et al.* (2014). Bioactive sesquiterpene lactones and other compounds isolated from *Vernonia cinerea*. Fitoterapia. 93: 194–200.

กองกานดา ชยามฤต และวรดลต์ แจ่มจำริญ. (2548). คู่มือจำแนกพรรณไม้. กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยกรมอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. จุฑามาต ศุภพันธ์ และ วีระเกียรติ ทรัพย์มี. (2557). ผลของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิดต่อการออกและการแบ่งเซลล์ของข้าววัชพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 45(2)พิเศษ: 185-188.

ชัยพร รอดกลิ่น, เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข. (2560). ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 22(1): 211-225.

ประไพพรรณ นำพันธุ์วิวัฒน์. (2546). ผลของสารสกัดจากกระดุมทองเลื้อย (*Wedelia trilobata* (L.) A.S. Hitchcock) ต่อการเจริญเติบโตของพืช และการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มุสดี พรหมประสิทธิ์. (2552). ความหลากหลายของพืชวงศ์ทานตะวันในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 37(4): 426-434.

- พิมพ์วดี พรพงษ์รุ่งเรือง. (2555). **พืชวงศ์ทานตะวันในประเทศไทยกับการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ**. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย. 4(1): 25-46.
- ยศเวท สิริจามร ปรรารถนา เพ็ญกวีไล และณิมนาราท อยู่คงแก้ว. (2560). **ศักยภาพในการดูดซับและสะสมโลหะหนักของพืชล้มลุกชนิดเตนบริเวณพื้นที่รอบเหมืองแร่ทองคำ จังหวัดพิจิตร**. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 25(1): 110-123.
- รองศาสตราจารย์ ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. (2544). **เครื่องมือวิทยาศาสตร์**. ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.
- รองศาสตราจารย์ ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. (2551). **CM 334 เทคนิคการแยก (Separation techniques)**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- วันประเสริฐ ทุมพะลา และณัฐนันท์ แสนทวีสุข. (2561). **ปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลูกใต้ใบ**. เกษนเกษตร. 46(1)ฉบับพิเศษ: 1331-1335.
- เอนก หาลี และ บุญยกฤต รัตนพันธ์. (2560). **การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด**. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 40(2): 283-293.
- อิสราภรณ์ สมบุญวัฒนกุล. (2553). **ผลยับยั้งสารสกัดจากสาบแร้งสาบกา แมงลัก และตะไคร้ต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกในโนสของพริก และอายุการเก็บของสาร**. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์,



ภาคผนวก ก

ข้อมูลพืชวงศ์ทานตะวัน

ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของพืชวงศ์ทานตะวัน

1. กะเม็ง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Eclipta prostrata*

ชื่อสามัญ: กะเม็ง

ลักษณะพฤกษศาสตร์: กะเม็งไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 30-50 เซนติเมตร ลำต้นกลม มีขนแข็งสาวมือปกคลุม โคนต้นอาจมีสีแดงอมม่วงใบ เป็นใบเดี่ยวออกจากลำต้นในลักษณะตรงข้ามเป็นคู่ ใบค่อนข้างแคบเรียวยาว ปลายใบค่อนข้างแหลม ฐานใบมีรอยเว้าและบานออกทั้งสองด้านเล็กน้อย ขอบใบมีรอยหยักเล็กน้อย ไม่มีก้านใบ มีขนสั้นๆ สีขาวปกคลุมทั่วทั้งใบ ดอกออกเป็นช่อกระจุก กลีบดอกสีขาว ก้านดอกเรียว กลีบดอกจะติดกัน กลีบเลี้ยงสีเขียวรองรับช่อดอก ผลมีสีเหลืองปนดำ แก่แล้วแตก เมล็ดจะหลุดออก (ภาพที่ 1 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: ใช้เป็นยา ใช้เป็นยาห้ามเลือด บำรุงไต แก้บิด ถ่ายเป็นมูกเลือด แก้ก้ำไส้ อักเสบ ตับอักเสบริ้วรัง โรคผิวหนังผื่นคันจากการทำนา และรักษาผมหงอกก่อนวัย



ภาพที่ 1 ภาคผนวก ก กะเม็ง (*Eclipta prostrata*)

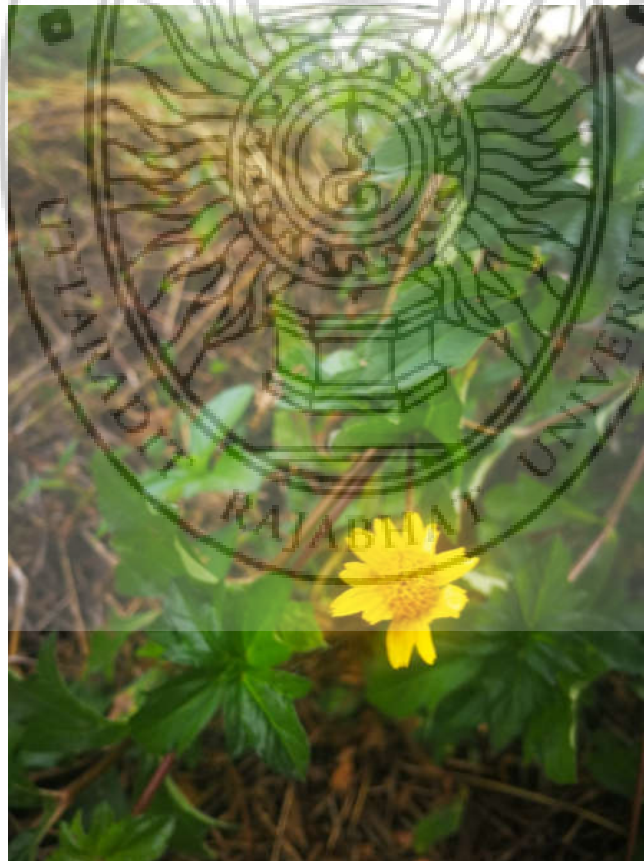
2. กระดุมทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Melampodium divaricatum*

ชื่อสามัญ: กระดุมทอง

ลักษณะพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ล้มลุกมีอายุหลายปี ลำต้นทอดนอนยาวได้ถึง 2 เมตร มีขนสั้นแข็ง กระจายเกือบทุกส่วนทั้งลำต้นและก้านใบ ใบเดี่ยวเรียงตรงข้ามรูปรีหรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ ปลายแหลมหรือเรียวแหลมส่วนมากหยัก โคนรูปลิ้ม ขอบจักกรเล็กน้อย ดอกสีเหลืองออกดอกตามซอกใบ ใกล้ปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงสีเขียว ใบเรียงซ้อนกันเป็น 2 ชั้น รูปขอบขนาน กลีบเชื่อมติดกันเป็นหลอด ผลแบบ ผลแห้งเมล็ดล่อน สีดำรูปไข่กลับ และมักเป็นเหลี่ยม (ภาพที่ 2 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: ใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับในกระถางหรือแปลงจัดสวน เพิ่มความชุ่มชื้นแก่หน้าดิน และ ป้องกันการพังทลายหน้าดิน ใช้ปลูกแทนหญ้าในสนามหญ้า สามารถป้องกันหญ้าชนิดอื่นเติบโตในแปลง ใช้สำหรับเป็นสีผสมอาหารหรือสีย้อมผ้า เมล็ดนำมาสกัดน้ำมันใช้สำหรับปรุงประกอบอาหาร น้ำมันจาก เมล็ดกระดุมทองนำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่น เช่น ใช้เป็นส่วนผสมกับเครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิว ใช้ทา นวดกล้ามเนื้อ ใช้ขนาดบำรุงผม เป็นต้น



ภาพที่ 2 ภาคผนวก ก กระดุมทอง (*Melampodium divaricatum*)

3. ชี้ไถ่ย่าน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Mikania cordata*

ชื่อสามัญ: ชี้ไถ่ย่าน

ลักษณะพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ล้มลุก เป็นวัชพืชที่เจริญได้ดีในเขตร้อน ลำต้นมีความสูงได้ประมาณ 7 เมตร (m) มีขนเกลี้ยงหรือมีขนนุ่มเล็กน้อย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกัน เป็นรูปไข่แกมรูปสามเหลี่ยม ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม โคนใบเป็นรูปหัวใจ ผิวใบค่อนข้างเกลี้ยงหรือมีขนนุ่มกระจายทั้งสองด้าน ดอกเป็นช่อกระจุกตามซอกใบ ริวประดับบาง ค่อนข้างจะโปร่งใส กลีบดอกเป็นสีขาวแกมเขียว ผลมีต่อมรยางค์แข็งจำนวนมาก ผลอ่อนเป็นสีขาว ถ้าแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 3 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: ใบใช้ตำพอกตามบาดแผลหรือแผลบวมและรักษาโรคหิด



ภาพที่ 3 ภาคผนวก ก ชี้ไถ่ย่าน (*Mikania cordata*)

4. ตีนตุ๊กแก

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tridax procumbens*

ชื่อสามัญ: ตีนตุ๊กแก

ลักษณะพฤกษศาสตร์: ไม้ล้มลุก ทอดนอนตามพื้น ลำต้นมีขน ใบเดี่ยว เรียงรอบข้อหรือเรียงสลับ รูปขอบขนานหรือรูปไข่กลับ ปลายใบแหลม ฐานใบเฉียง ขอบใบหยักมน หรือหยักซี่ฟัน ผิวใบทั้งสองด้านมีขน แต่ผิวใบด้านล่างมีหนาแน่นกว่า ดอกเดี่ยว ออกที่ซอกใบ ก้านดอกสั้นหรือไม่มีก้านดอก กลีบเลี้ยงเชื่อมกันที่ฐาน เล็กน้อยปลายแยกเป็น 4 แฉก แต่ละแฉกรูปใบหอกขนาดแตกต่างกันเล็กน้อย ผิวด้านนอกมีขน กลีบดอกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน รูปประขั้ว เชื่อมกันเป็นหลอดที่ฐาน ปลายแยกเป็น 4 แฉกเล็กน้อย สูงกว่ากลีบเลี้ยงเล็กน้อย ผลรูปหอก 2 อันประกบกัน ผิวมีขน มีกลีบเลี้ยงหุ้มผล (ภาพที่ 4 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: แก้ปวด แก้อักเสบตามข้อ แก้ฝี



ภาพที่ 4 ภาคผนวก ก ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*)

5. บัวตอง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tithonia diversifolia*

ชื่อสามัญ: บัวตอง

ลักษณะพฤกษศาสตร์: มีลักษณะคล้ายดอกทานตะวัน แต่มีขนาดเล็กกว่า เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก มีอายุหลายปี ใบเดี่ยวรูปไข่ ดอกเป็นช่อกระจุกสีเหลืองสด จะออกช่วงฤดูหนาว ผลเป็นรูปขอบขนาน (ภาพที่ 5 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: เป็นยาสมุนไพรโดยนิยมนำดอก ใบ แปะยัดอ่อนมาใช้เพื่อรักษาโรคและอาการต่างๆ ได้แก่ แก้อาการปวดศีรษะ รักษาแผล แก้ผื่นคัน เป็นต้น



ภาพที่ 5 ภาคผนวก ก บัวตอง (*Tithonia diversifolia*)

6. ปีนนกไล่

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Bidens pilosa*

ชื่อสามัญ: ปีนนกไล่

ลักษณะพฤกษศาสตร์: ปีนนกไล่ หรือ กีนกไล่ หรือ หญ้าก้นจ้ำขาว เป็นไม้ล้มลุกอายุปีเดียว สูงได้ถึง 1 เมตร ลำต้นเป็นสัน ใบเป็นใบประกอบขนนกชั้นเดียว มี 3 ใบย่อย แผ่นใบรูปไข่ ปลายใบแหลม ขอบใบหยัก ดอกออกเป็นช่อกระจุกแน่นที่ปลายยอดและซอกใบ ก้านช่อดอกยาว วงใบประดับมี 2 ชั้นแยกกัน ดอกวงนอกมีกลีบดอกรูปเส้นสีขาวไม่สมบูรณ์เพศ ดอกวงในเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีกลีบดอก 5 กลีบเชื่อมติดกันเป็นหลอดสีเหลือง เกสรเพศผู้สีน้ำตาล เกสรเพศเมียสีเหลืองปลายแยกเป็น 2 แฉก ผลเป็นแบบผลแห้งเมล็ดล่อนสีน้ำตาลเข้ม มีแพปพิส (กลีบเลี้ยงลดรูป) เป็นหนามสั้น 2 อัน (ภาพที่ 6 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: ต้านเชื้อจุลินทรีย์ แก้อักเสบ ขับปัสสาวะ ห้ามเลือดและรักษาไข้มาลาเรีย



ภาพที่ 6 ภาคผนวก ก ปีนนกไล่ (*Bidens Pilosa*)

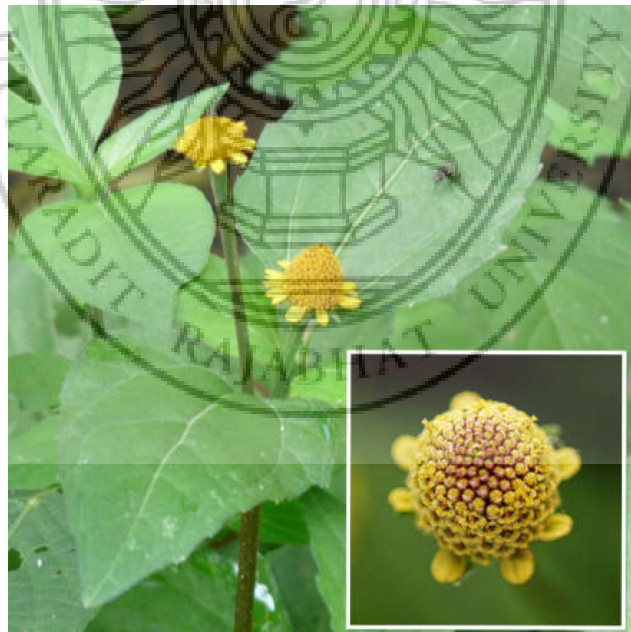
7. ผักคราดหัวแหวน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Spilanthes oleracea*

ชื่อสามัญ: ผักคราดหัวแหวน

ลักษณะพฤกษศาสตร์: ไม้ล้มลุกขนาดเล็ก อายุปีเดียว ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านสาขา สูงประมาณ 20-30 เซนติเมตร ทอดไปตามดินเล็กน้อย แต่ปลายชูขึ้น ลำต้นกลมอวบน้ำ มีสีเขียวม่วงแดงปนเข้ม ลำต้นอ่อน มีขนปกคลุมเล็กน้อย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปสามเหลี่ยม รูปไข่ หรือรูปใบหอกแกมรูปไข่ ขอบใบเรียบ หรือจักเป็นฟันเลื่อยแบบหยາๆ ผิวใบสากมีขน ใบกว้าง 3-4 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ดอกออกเป็นช่อตามซอกใบ และปลายกิ่ง เป็นกระจุกสีเหลือง ลักษณะกลม รูปไข่ ปลายแหลม คล้ายหัวแหวน ผลเป็นผลแห้งรูปไข่ (ภาพที่ 6 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: เป็นยาขับน้ำลาย แก้โรคในคอ รักษาแผลในปากคอ แก้ปวดฟัน รำมะนาด แก้โรคลิ้น เป็นอัมพาต แก้โรคติดต่อในเด็ก แก้ปวดศีรษะ เป็นยาแก้ปวดฟัน ยาชา แก้พิษตามทวาร แก้ริดสีดวง แก้หลอดลมอักเสบเรื้อรัง แก้ต่อมทอนซิลอักเสบ มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนยุง แก้อาการอักเสบ และเจ็บคอ เป็นยาระบาย ขับปัสสาวะ แก้ปวดศีรษะ แก้คัน



ภาพที่ 7 ภาคผนวก ก ผักคราดหัวแหวน (*Spilanthes oleracea*)

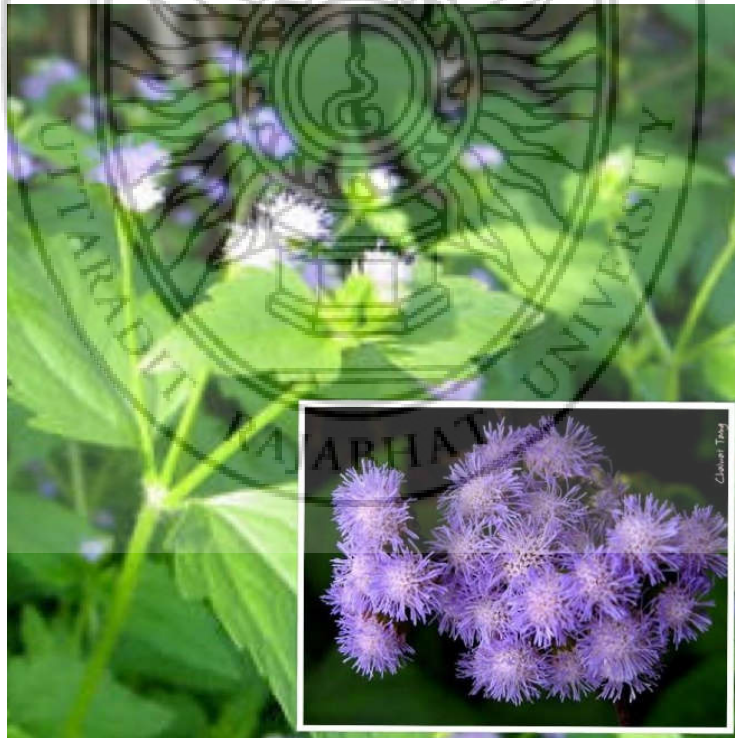
8. สาบม่วง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Praxelis clematidea* R.M. King & H. Rob.

ชื่อสามัญ: สาบม่วง

ลักษณะพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ล้มลุก แตกกิ่งก้านสาขามากมายจนดูเป็นทรงพุ่ม ลำต้นและกิ่งก้านปกคลุม ด้วยขนอ่อนนุ่ม ก้านและใบเมื่อขยี้จะมีกลิ่นแรงคล้ายสาบเสือ มีลำต้น สูง 1-2 เมตร ใบเดี่ยวออกจกลำต้น ที่ข้อ แบบตรงกันข้าม รูปรีค่อนข้างเป็นสามเหลี่ยมขอบใบ หยัก ปลายใบแหลม ฐานใบกว้าง เรียวสอบเข้าหากัน สีเขียวอ่อน มีขนปกคลุม ผิวใบทั้งสองด้าน ดอกเป็นช่อ สีขาวหรือฟ้าอมม่วง กลีบดอกหลอมรวมกันเป็นหลอด ผลขนาดเล็ก รูปร่างเป็นห้าเหลี่ยม สีน้ำตาลหรือดำ มีหนามแข็งบนเส้นของผล ปลายผลมีขนสีขาว ช่วยพวงให้ผลและเมล็ดปลิวตามลม (ภาพที่ 8 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: ต้นเป็นยาแก้ ปวดท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ แก้บวม ดูดหนอง ใบของทำให้เลือดแข็งตัวได้เร็วขึ้น ห้ามเลือดได้ ใช้เป็นยารักษาแผลสด สมานแผล ถอนพิษแก้พิษไข้ แก้พิษน้ำเหลือง แก้ตาฟาง แก้ตาแฉะ แก่ริดสีดวงทวารหนัก รักษาแผลเปื่อยดอกสาบเสือ ดงหญ้ารกเป็นยาแก้ร้อนใน กระจายน้ำ ชูกำลัง บำรุงหัวใจ แก้ไข้ทั้งต้นเป็นยาแก้บาดทะยัก



ภาพที่ 8 ภาคผนวก ก สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King & H. Rob.)

9. สาบแร้งสาบกา

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ageratum conyzoides*

ชื่อสามัญ: สาบแร้งสาบกา

ลักษณะพฤกษศาสตร์: สาบแร้งสาบกา เป็นพรรณไม้ล้มลุก ที่มีอายุเพียงปีเดียวตาย ลำต้นจะตั้งตรง แตกกิ่งก้านสาขามาก ทั้งต้นจะมีขนปกคลุมอยู่ และเมื่อเด็ดมาขยี้ดมจะมีกลิ่นเฉพาะตัวเลย ลำต้นสูงประมาณ 1-2 ฟุต ใบสาบแร้งสาบกา ออกใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ แต่ตรงส่วนยอดใบจะเรียงสลับกัน ลักษณะของใบเป็นรูปมนรี ปลายแหลม โคนใบเว้าคล้ายรูปหัวใจ ขอบใบเป็นจักฟันเลื่อย พื้นใบมีสีเขียว และมีขนสั้นอ่อนๆ ปกคลุมอยู่ ก้านใบมีขนปกคลุมตลอดทั้งก้าน ดอกสาบแร้งสาบกา ออกดอกเป็นช่ออยู่ตรงส่วนยอดของต้น ดอกมีสีม่วงน้ำเงินหรือขาว กลีบเลี้ยงสีเขียว (ภาพที่ 9 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: แก้ไข้ทับระดู แก้บิด แก้ลม และแก้ช่องทวารหนักหย่อนยาน แก้คัน แก้แผลเรื้อรังที่เยื่อเมือก ห้ามเลือด แก้ปวดบวม แก้ท้องขึ้นอืดเฟ้อ แก้ไข้ น้ำคั้นใช้หยอดตาแก้ตาเจ็บ เป็นยาทำให้อาเจียน ราก ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของก้อนเนื้อ แก้ไข้



ภาพที่ 9 ภาคผนวก ก สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*)

10. สาบเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Chromolaena odorata*

ชื่อสามัญ: สาบเสือ

ลักษณะพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ล้มลุก แตกกิ่งก้านสาขามากมายจนดูเป็นทรงพุ่ม [4] ลำต้นและกิ่งก้านปกคลุม ด้วยขนอ่อนนุ่ม ก้านและใบเมื่อขยี้จะมีกลิ่นแรงคล้ายสาบเสือ มีลำต้น สูง 1-2 เมตร ใบเดี่ยว ออกจากลำต้น ที่ข้อ แบบตรงกันข้าม รูปรีค่อนข้างเป็นสามเหลี่ยมขอบใบ หยัก ปลายใบแหลม ฐานใบ กว้าง เรียวสอบเข้าหากัน สีเขียวอ่อน เส้นใบเห็นชัดเจน 3 เส้น มีขนปกคลุม ผิวใบทั้งสองด้าน ดอกเป็นช่อ สีขาวหรือฟ้าอมม่วง ดอกวงนอกบานก่อน กลีบดอก หลอมรวมกันเป็นหลอด ผลขนาดเล็ก รูปร่างเป็น ห้าเหลี่ยมสีน้ำตาลหรือดำ มีหนามแข็งบนเส้นของผล ส่วน ปลายผลมีขนสีขาว ช่วยพยุงให้ผลและเมล็ดปลิวตามลม (ภาพที่ 10 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ แก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ สาบเสือ ช่วยในการห้ามเลือด ทำให้เลือดแข็งตัวเร็วขึ้น บรรเทาอาการไข้ ลดอาการเจ็บคอ ด้านการอักเสบ และติดเชื้อของแผล รักษาแผลติดเชื้อ แผลเป็นหนอง แก้กตาฟาง แก้กตาแฉะ แก้กริดสีดวงทวารหนัก ดอก เป็นยาแก้ร้อนใน ระบายน้ำ ใช้ต้มน้ำดื่มเป็นชูกำลัง แก้อ่อนเพลีย ช่วยบำรุงหัวใจ



ภาพที่ 10 ภาคผนวก ก สาบเสือ (*Chromolaena odorata*)

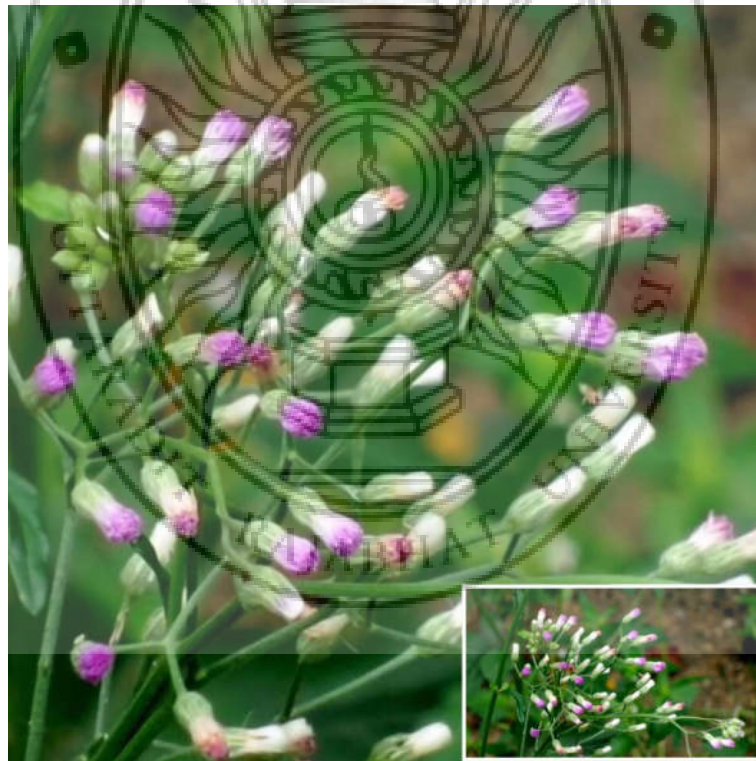
11. หญ้าดอกขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Vernonia cinerea* (L.)

ชื่อสามัญ: หญ้าดอกขาว

ลักษณะพฤกษศาสตร์: ลักษณะของลำต้นตั้งตรง มีกิ่งก้านน้อยทั่วกิ่งและก้านมีขนขึ้นปกคลุม ลำต้นมีความสูงประมาณ 15-80 เซนติเมตร ใบหญ้าดอกขาว ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับกัน ดอกหญ้าดอกขาว ดอกออกเป็นช่อ หรือเป็นกระจุก ดอกย่อยมีประมาณ 20 ดอก ดอกเป็นสีม่วงแดง ลักษณะของดอกคล้ายกับดอกดาวเรือง ผลหญ้าดอกขาว เมื่อดอกร่วงโรยแล้วก็จะติดผล มีขนที่ข้อเป็นสีขาว ข้างในผลมีเมล็ดเดี่ยว เปลือกของมันแข็ง และแห้งไม่แตก (ภาพที่ 11 ภาคผนวก ก)

สรรพคุณ: แก้ไข้ ปวดท้อง ท้องเฟ้อ แผลบวมอักเสบ ความดันโลหิตสูง ช่วยสมานแผล แก้ตาฟาง แก้ตาแดง แก้กลากเกลื้อน หลอดลมอักเสบ โรคเท้าช้าง ขับพยาธิเส้นด้าย ปัสสาวะขัด ท้องอืด แก้ไอ บำรุงธาตุ โรคผิวหนังเรื้อรัง โรคผิวหนังต่างขา และเป็นยาแก้พิษราก ขับปัสสาวะ แก้ไอเรื้อรัง



ภาพที่ 11 ภาคผนวก ก หญ้าดอกขาว (*Vernonia cinerea* (L.))



ภาคผนวก ข

โครมาโตแกรมของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันโดยวิธี HPLC

เตรียมสารละลายมาตรฐานลูทีโอลิน (luteolin) สารละลายมาตรฐานเอพิจениน (apigenin) และสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (quercetin)

การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase)

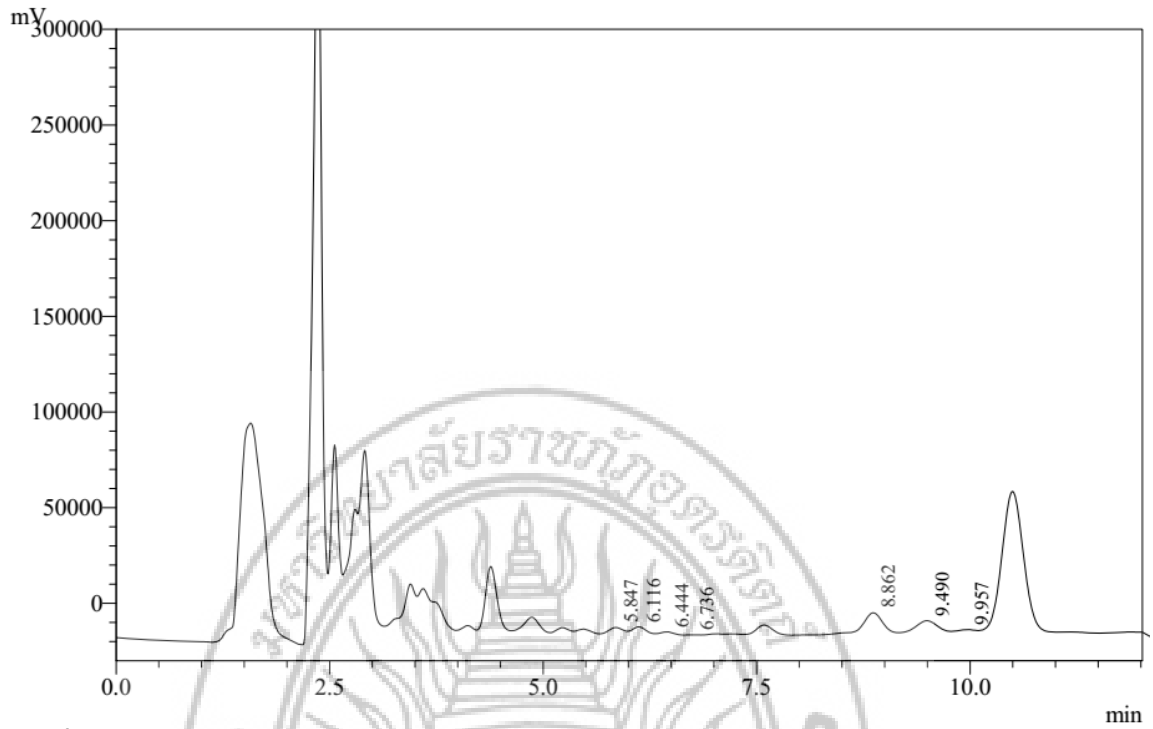
เตรียม phosphate buffer ด้วยการละลาย potassium dihydrogen phosphate 3.40 กรัม ในน้ำเกรดสำหรับ HPLC ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

ใช้ phosphate buffer มา 600 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ปริมาตร 350 มิลลิลิตร ปรับให้ pH 3.0 ด้วย phosphoric acid ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นไล่ฟองแก๊สด้วยเครื่อง ultrasonic sonicator เป็นเวลา 10 นาที

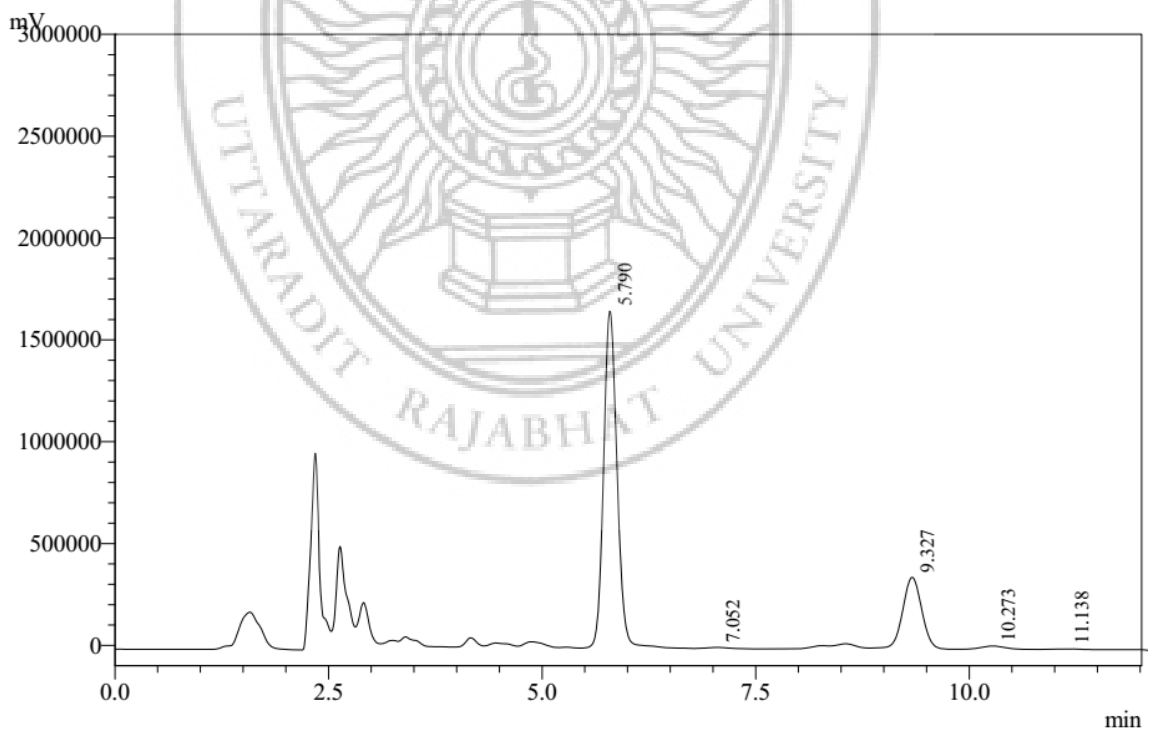
การเตรียมสารละลายตัวอย่างสารสกัดสำหรับการวิเคราะห์ HPLC

เตรียมตัวอย่างสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) และกรองด้วย syringe filter ขนาดช่องกรอง 0.2 μm มีปริมาตรสำหรับฉีด (injection volume) เท่ากับ 20 ไมโครลิตร

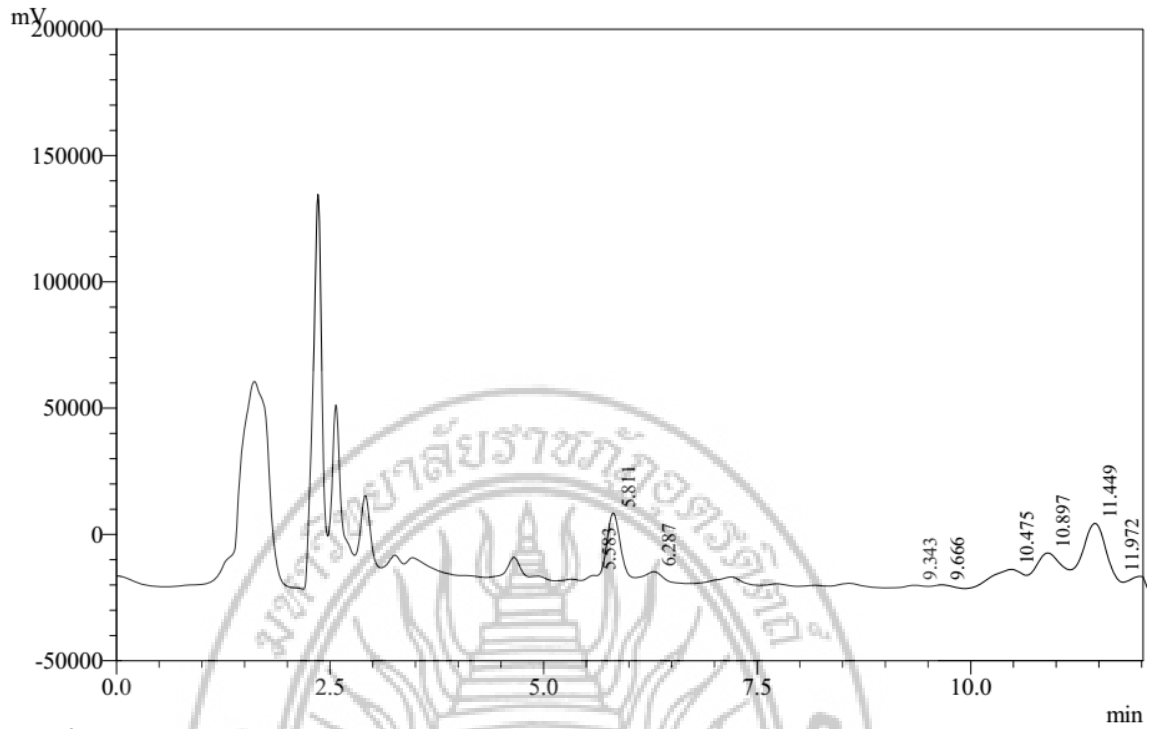




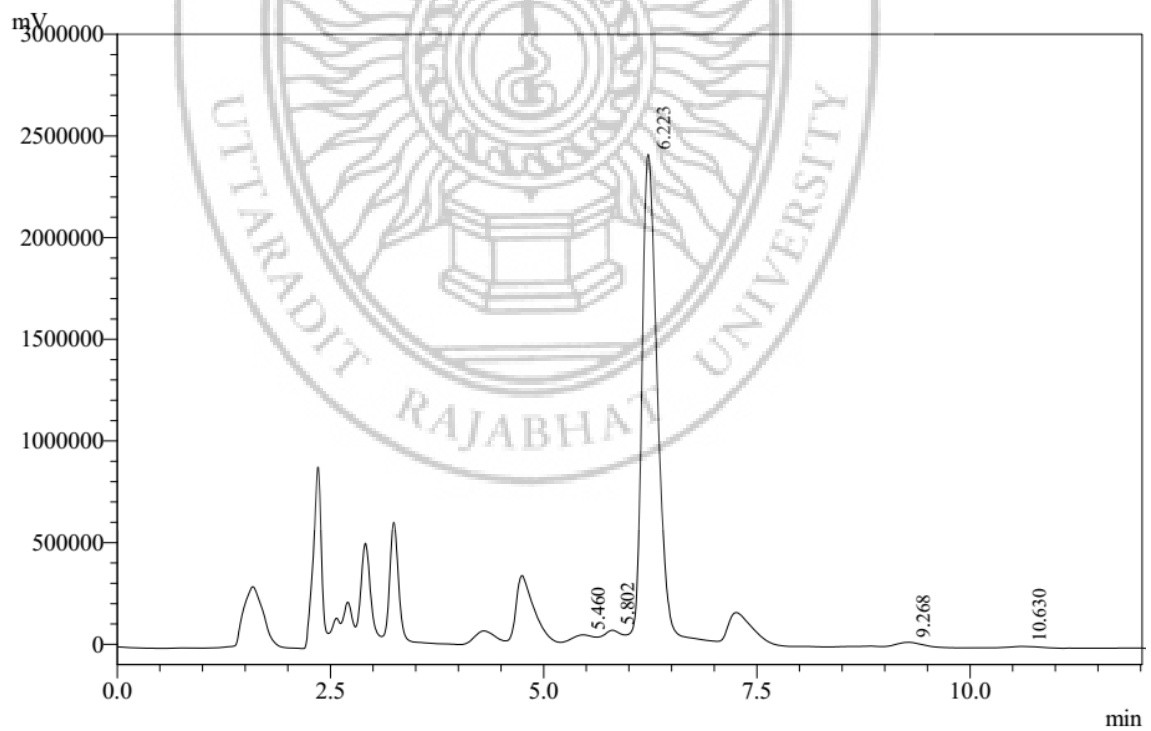
ภาพที่ 1 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบแห้งสาบกา



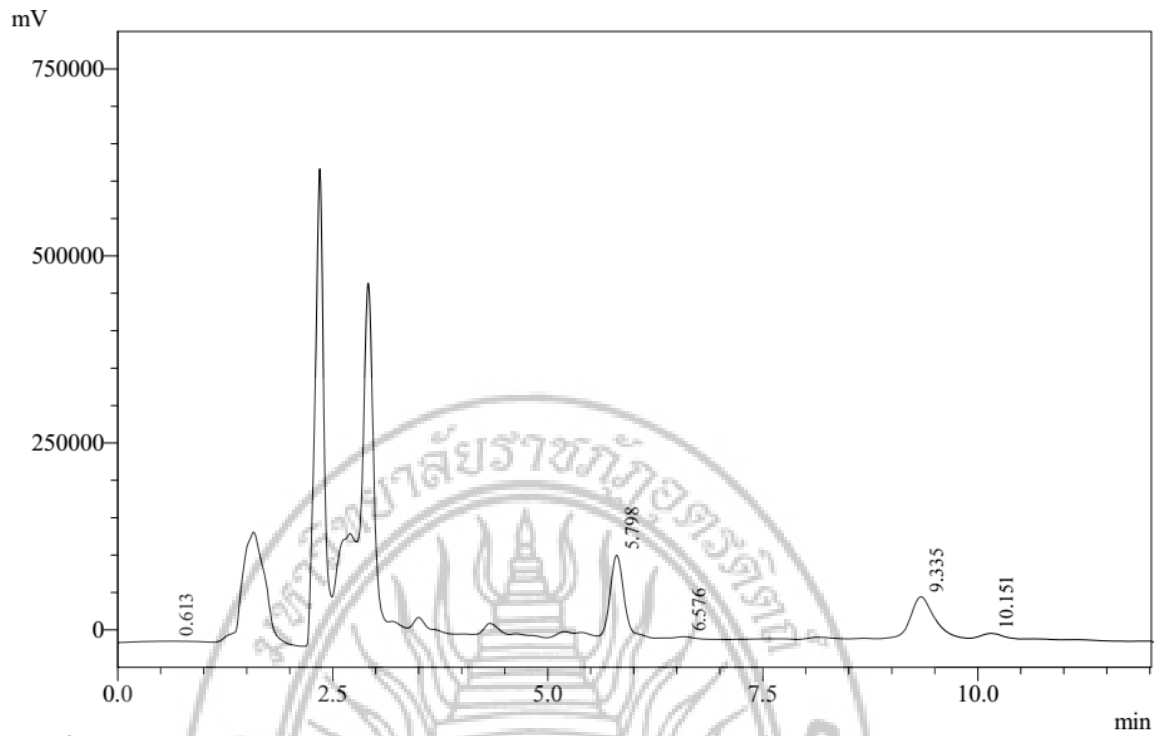
ภาพที่ 2 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดป็นนงไส้



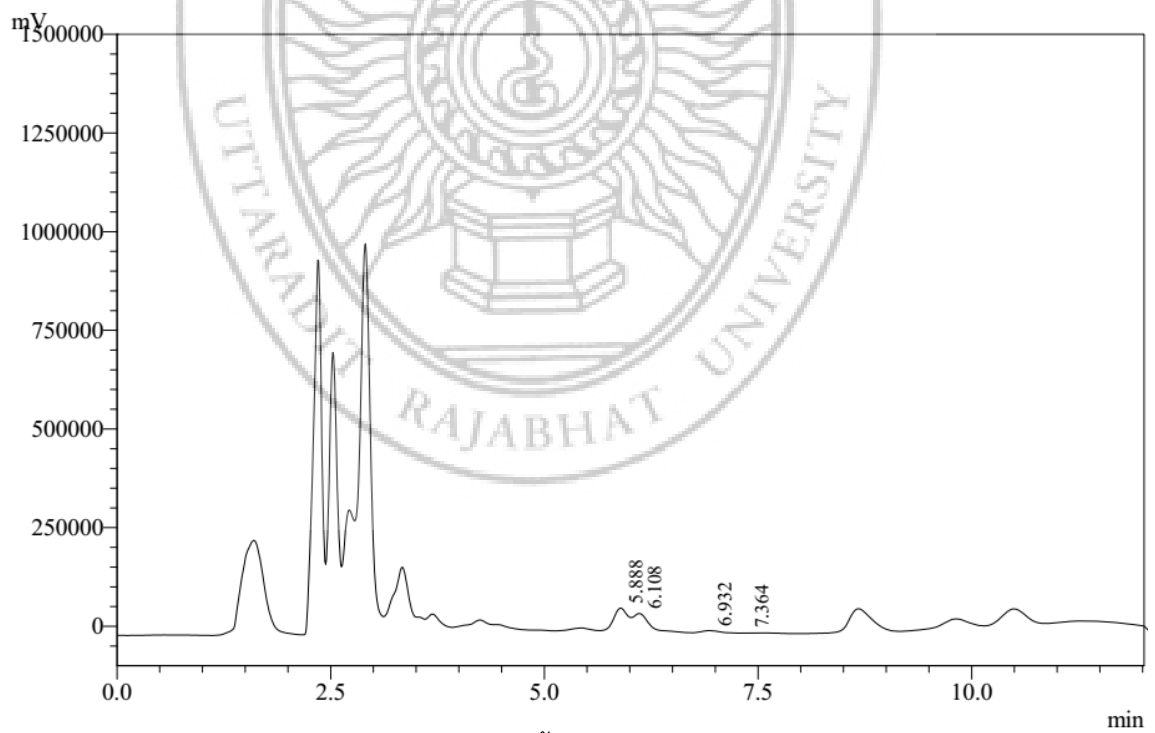
ภาพที่ 3 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดสาบเสือ



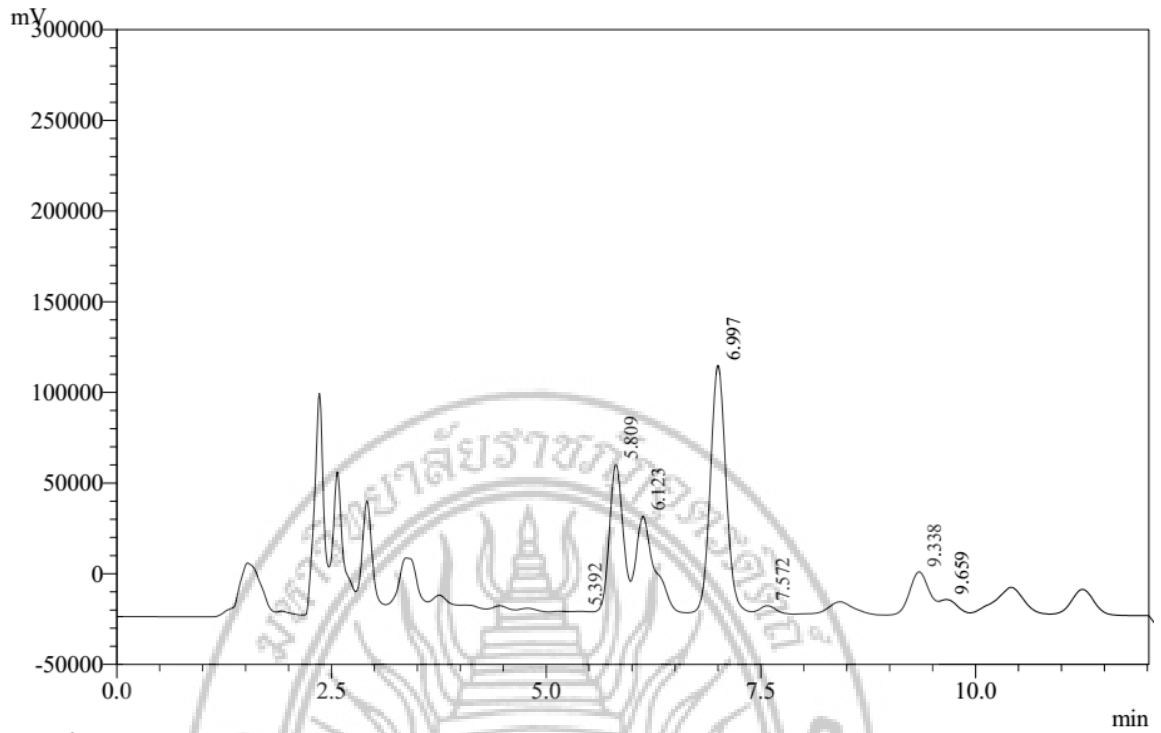
ภาพที่ 4 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกระเม็ง



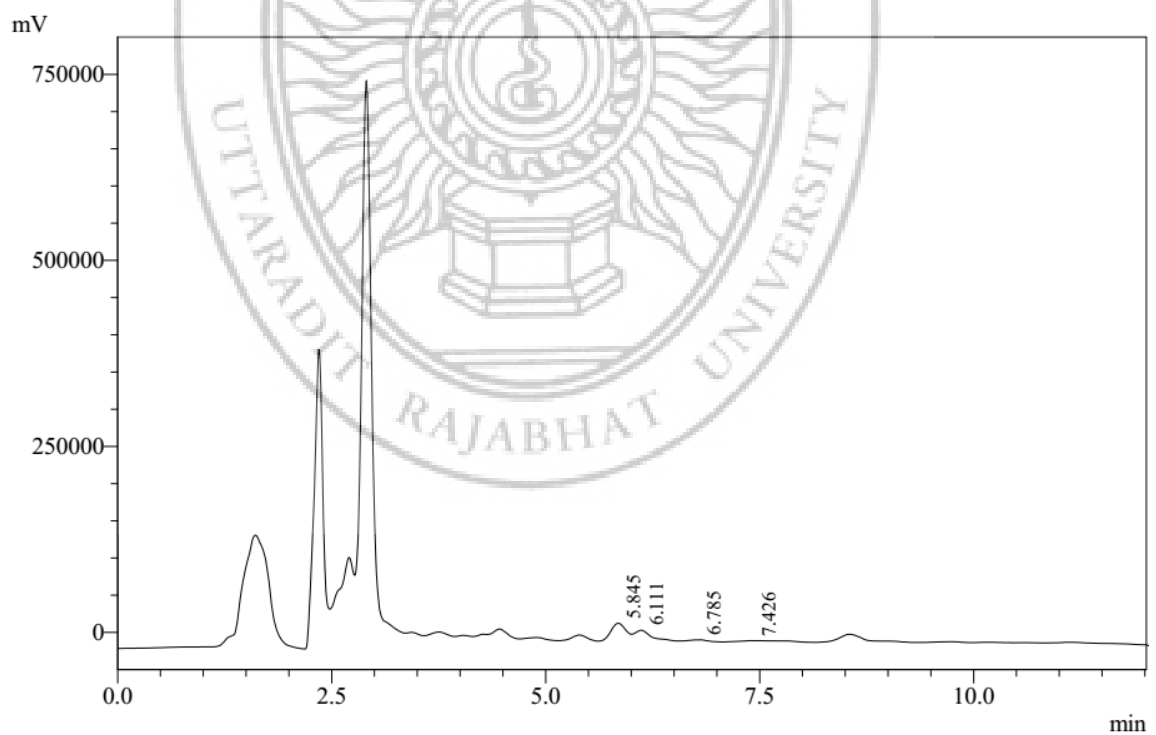
ภาพที่ 5 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกระตุมทอง



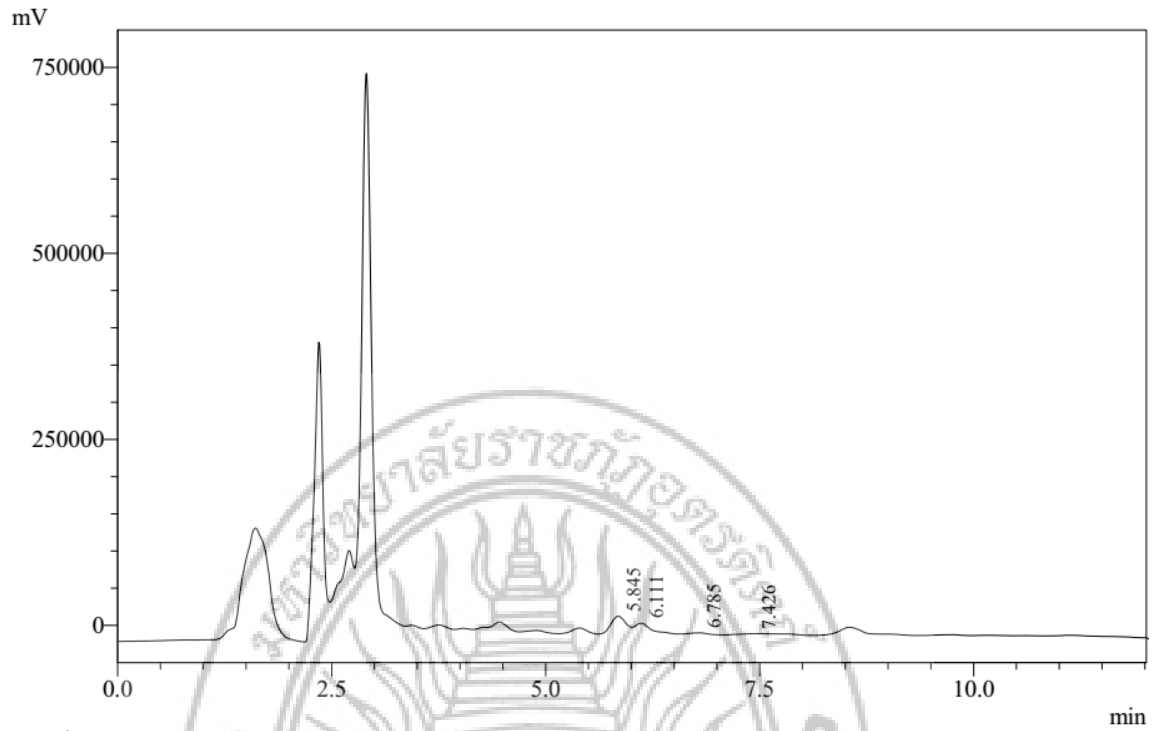
ภาพที่ 6 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดขี้ไถ่ย่าน



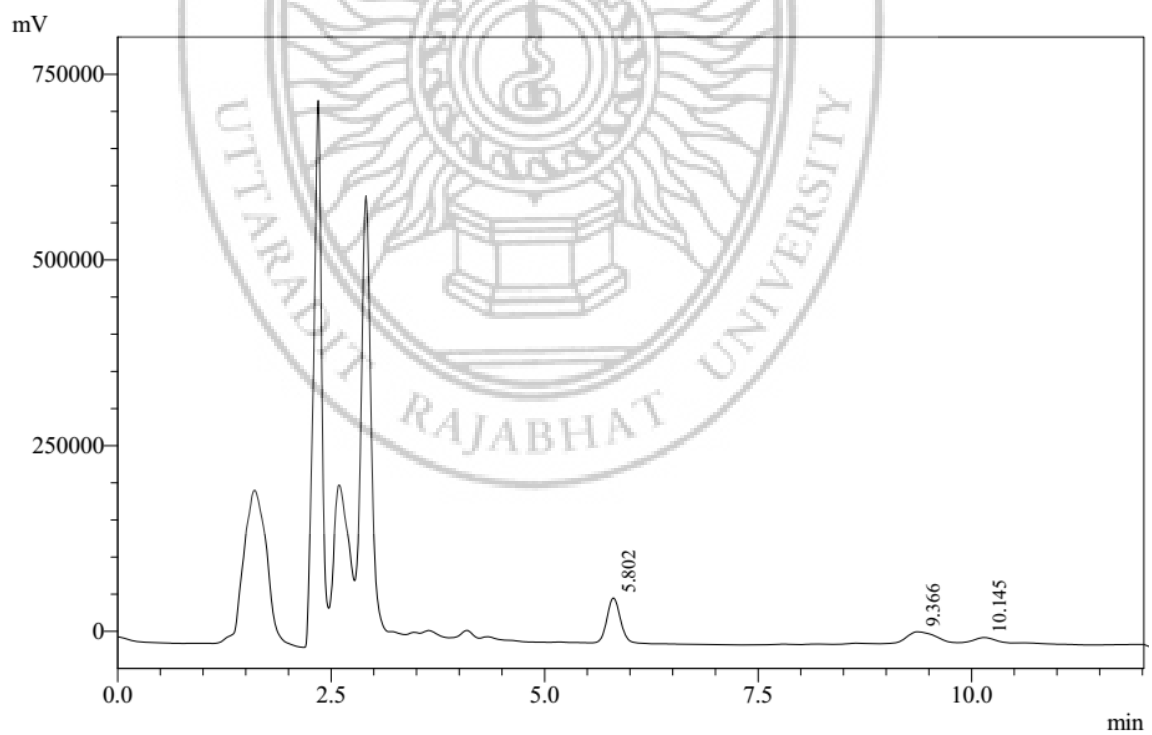
ภาพที่ 7 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดส้มม่วง



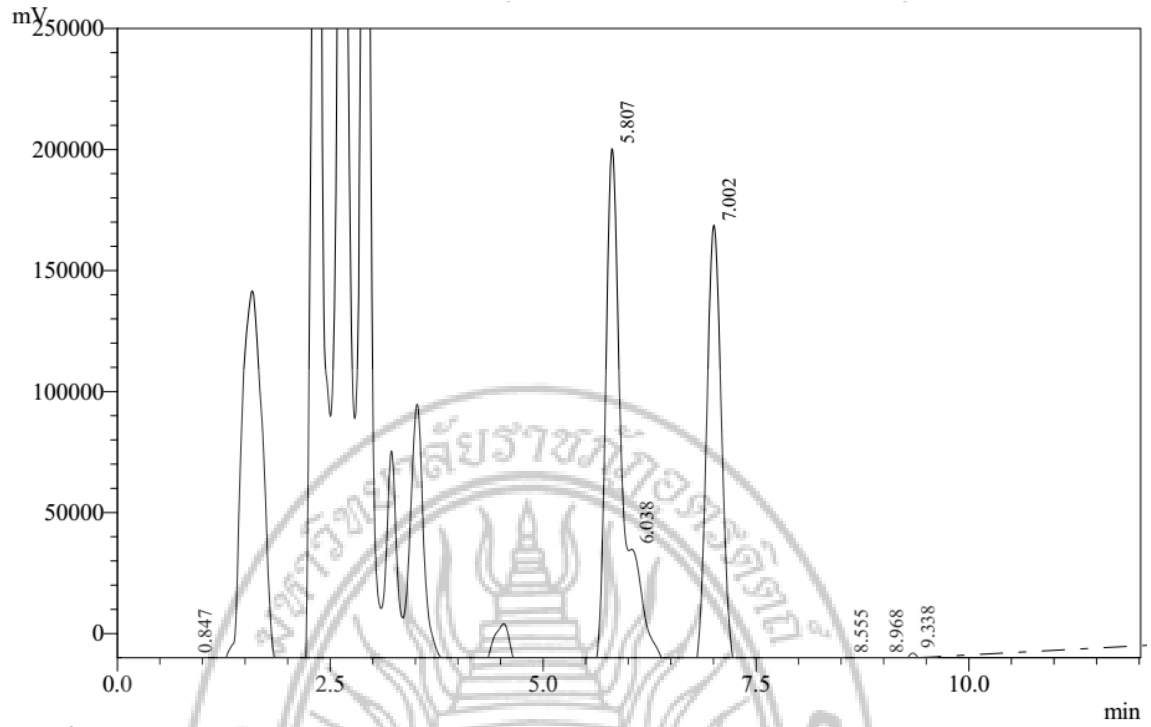
ภาพที่ 8 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดฝักคราดหัวแวน



ภาพที่ 9 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกล้วยตอง



ภาพที่ 10 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดกล้วย้าดอกขาว



ภาพที่ 11 ภาคผนวก ข โครมาโตแกรมของสารสกัดดินตึกแก



ภาคผนวก ค

ผลผลิตที่เกิดขึ้นในช่วงที่ได้รับทุน

ปริมาณสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae)
และวงศ์ใกล้เคียงเพื่อการลดการติดบุหรี่

Active Compounds of Asteraceae and Related Family for Reduction of
Tobacco Dependence

พัทธชัย ปิ่นนาค¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ และศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวัน โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% และวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีส่วนสำคัญในการลดการติดบุหรี่ ได้แก่ Luteolin apigenin และ quercetin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่า สารสกัดปิ่นนาคไล่ และบัวตองด้วยเอทานอล 95% จะมีผลลดร้อยละมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 11.79 และ 11.66 ตามลำดับ สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันในช่วง 0.416 ± 0.038 ถึง 0.936 ± 0.209 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ extract เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Follin-Ciocalteu colorimetric และเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก สารสกัดจากกะเม็ง ขี้ไก่ย่าน และ ปิ่นนาคไล่ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 μg QE/mg extract ตามลำดับ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี aluminium chloride colorimetric และเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน สารสกัดหญ้าดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 135.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ เมื่อทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging โดยมีเคอร์เซตินเป็นกลุ่มควบคุมบวก สารสกัดสาบเสือมีปริมาณ luteolin มากที่สุด เท่ากับ 30,424.02 μg extract แต่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดมี apigenin และ quercetin ในปริมาณน้อย

คำสำคัญ: ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ต้านอนุมูลอิสระ หญ้าดอกขาว

ABSTRACT

The purpose of this research was to study and optimize the solvent system for extraction of phenolic content, flavonoids content and antioxidant activity from extraction of *Vernonia cinerea* (L.) Less. (VC) with different 8 solvent systems consist of ethanol and ethyl acetate. The result showed that the highest extraction yield was 17.58% that extracted by 50% ethanol/water (v/v) system. The highest total phenolic content (TPC) is 5.20 ± 0.03 μg GAE/mg extract ($p < 0.05$) that extracted by ethanol/ethyl acetate (50:50) system. The highest total

flavonoid content (TFC) was 8.63 ± 0.26 μg QE/mg extract ($p < 0.05$) that extracted by ethanol/ethyl acetate (80:20) system. Study of antioxidant activity of VC extract with DPPH radical scavenging assay, the extraction by 50% ethanol/water (v/v) system gave the highest antioxidant activity and the lowest IC₅₀ value of 119.85 $\mu\text{g}/\text{ml}$, while the positive antioxidant control (quercetin) contain IC₅₀ value of 5.33 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Pearson's correlation coefficient was computed to assess the relationship between the TPC and DPPH radical scavenging activity or TFC and DPPH radical scavenging activity, the result showed that no relationship at $p < 0.05$.

Keywords: total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity, Asteraceae

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ 53000

¹Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Uttaradit 53000, Thailand



บทนำ

หญ้าดอกขาว (*Vernonia cinerea* (L.) Less) เป็นพืชสมุนไพรไม้ล้มลุกปีเดียวที่มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์มาอย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยมีการนำสมุนไพรหญ้าดอกขาวมาใช้ในการรักษาการติดบุหรี่ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการรักษาดี (Wongwiwatthananukit et al, 2009; Leelarungrayub et al, 2010) และเกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด โดยพบว่าหญ้าดอกขาวสามารถลดอาการอยากบุหรี่ได้ในคนที่ติดบุหรี่ ทำให้ลดปริมาณการสูบบุหรี่ลงจนเลิกบุหรี่ได้ในที่สุด (Leelarungrayub et al, 2010) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ในการช่วยลดการติดบุหรี่ในหนูขาวเล็กนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ที่สมองผ่านตัวรับนิโคตินิกและมัสคารินิก (Pinnak, 2012) ปัจจุบันการศึกษาการลดการสูบบุหรี่ในหญ้าดอกขาวพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และ กลุ่มเซสควิเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์ยับยั้งไซโตโครม P450 2A6 (CYP2A6) และ monoamine oxidases (MAO-A and MAO-B) (Prasopthum et al, 2015) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สารสำคัญในตัวทำละลายอื่นๆ นั้นยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก ไม่ว่าจะเป็น น้ำ เอทิลอะซิเตท อีเธอร์ หรือ เฮกเซน หญ้าดอกขาวเป็นพืชในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) พืชใบเลี้ยงคู่ที่มีสมาชิกมากที่สุดในโลก มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก แต่จะพบมากในเขตร้อนถึงอบอุ่น ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ประมาณ 260 ชนิด หลายชนิดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (พิมวดี, 2555) เช่น ทานตะวัน รักเร่ บานชื่น กระดุมหยก ขี้ไก่ย่าน สาบเสือ กระดุมทองเลื้อย เป็นต้น (มุสดี และคณะ, 2552) เป็นพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาหลาย ๆ โรค อาทิ การรักษาอาการอักเสบ การติดเชื้อ ไข้มาลาเรีย พยาธิ อาการปวด มะเร็ง และโรคทางระบบทางเดินอาหาร (Marcelino de Avila et al, 2015; Oliveira et al, 2011; Hormaza, 2015; Igual, 2013; Waboa et al, 2013; Habiba and Waheed, 2013; Dewan et al, 2013; Toyang et al, 2013) นอกจากนี้พืชในอันดับ (order) เดียวกันกับพืชวงศ์ทานตะวันก็มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยเช่นกัน (Meragelman et al, 2006; Güvenç et al, 2012)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัดของพืชสมุนไพรในวงศ์ทานตะวันและวงศ์ใกล้เคียง เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาใช้ในการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการช่วยลดการติดบุหรี่ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวัน

สำรวจพืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) และวงศ์ใกล้เคียง (Asterales) เคียงในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี จากปราชญ์ชาวบ้าน หมอยา หรือ ผู้รู้ในชุมชนร่วมสำรวจและเก็บตัวอย่าง โดยเลือกเก็บเฉพาะส่วนของดอก ก้านและใบ นำมาล้างให้แห้งแล้วนำไปอบที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-7 วัน หรือ

จนกว่าจะได้น้ำหนักพืชแห้งไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อทำการอบซ้ำ 3 ครั้ง นำพืชแห้งมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นแล้วเก็บบรรจุใส่ถุงเพื่อถนอมความชื้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เตรียมสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยวิธีการหมักในอัตราส่วนพืชแห้ง 50 กรัมต่อตัวทำละลาย 700 มิลลิลิตร โดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบหมุนวนความเร็ว 120 รอบต่อนาที ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปเก็บไว้ในที่มืดตลอดระยะเวลาการหมัก นำมากรองโดยใช้ชุดกรองและปั๊มสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารสกัดในตัวทำละลายระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) แล้วนำไปซึ่งเพื่อคำนวณร้อยละของผลผลิต และเก็บในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รอการวิเคราะห์ต่อไป

การคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (%yield)

จากสูตร ผลผลิตร้อยละ = (น้ำหนักสารที่สกัดได้ (กรัม))/(ปริมาณพืชที่ใช้ในการสกัด (กรัม)) x 100%

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้ Folin-Ciocalteu Colorimetric method

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Babbar (2011) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมน้ำ Folin-Ciocalteu phenol reagent, (Folin-Ciocalteu phenol reagent : water=1:9) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และ sodium carbonate (Na₂CO₃) ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 800 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องและมืดเป็นเวลา 30 นาที จากเติมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในคิวเวตและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer จากนั้นคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสมการของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อส่วนสกัด 1 มิลลิกรัม (µGAE/mg extract)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้ Aluminum Chloride Colorimetric method

หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินดัดแปลงมาจากวิธีของ โดยเตรียมสารละลายเคอร์ซีตินละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 120, 60, 30, 15, 7.5 และ 3.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมน้ำเคอร์ซีติน (quercetin) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร, 95% methanol ปริมาตร 600 ไมโครลิตร, 4% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminium chloride) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร, โพแทสเซียมอะซิเตท (potassium acetate) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ น้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องและมืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 2

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในคิวเวตและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีติน แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในรูปไมโครกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อส่วนสกัด 1 มิลลิกรัม ($\mu\text{QE}/\text{mg extract}$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity

หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong. 2006 หากกราฟของระบบตัวทำละลายทุกความเข้มข้นทั้งหมด 5 จุด ดังนี้ 3 0.75 0.1875 0.0938 และ 0.0469 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อคำนวณหาค่าเข้มข้นในการต้านอนุมูลอิสระ 50% (IC50) ทำการปิเปตสารสกัดปริมาตร 750 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและมีดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer โดยใช้สารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเป็นตัวควบคุมแบบบวกร คำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (%free radical scavenging) ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดได้จากสมการของสุชาดา (2558) และนำไปสร้างสมการเส้นตรงเพื่อคำนวณหาค่า IC50

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันโดยวิธี HPLC

เตรียมสารละลายมาตรฐานลูทีโอลิน (luteolin) สารละลายมาตรฐานเอพิเจนิน (apigenin) และสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (quercetin) ความเข้มข้นสุดท้ายดังต่อไปนี้ 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แยกองค์ประกอบของสารสกัดโดยใช้คอลัมน์ LiChrospher® LichroCART® RP-18 (ขนาด 4.6 × 150 มิลลิเมตร) ใช้พื้นที่ใต้พีค (peak area) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณสารบ่งชี้ในตัวอย่างสารสกัด เตรียมตัวอย่างสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) (acetonitrile ร้อยละ 35 ใน phosphate buffer ร้อยละ 0.2 (isocratic) pH 3) กรองด้วย syringe filter 0.2 μm มีปริมาตรสำหรับฉีด (injection volume) เท่ากับ 20 ไมโครลิตร ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง

วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของทั้งเอนไซม์ CYP2A6, MOA-A และ MOA-B ซึ่งเป็นสาระสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเลิกบุหรี่ ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐาน ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin ที่มีอยู่ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยวิธี HPLC โดยใช้สภาวะการทดลอง (condition) ดังต่อไปนี้ในวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ทำการไล่ฟองแก๊สด้วย ultrasonic sonicator เป็นเวลา 10 นาที อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ UV detector 352 นาโนเมตร

ผลการศึกษา

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถรวบรวมพืชสมุนไพรทั้งหมด 26 วงศ์ 40 สกุล 44 ชนิด โดยพบมากที่สุดคือวงศ์เปปัลลา (Euphorbiaceae) และวงศ์เข็ม (Rubiaceae) จำนวนวงศ์ละ 5 ชนิด รองลงมาคือวงศ์มะขามป้อม (Phyllanthaceae) จำนวน 3 ชนิด (ตารางที่ 1) ทั้งนี้สามารถจำแนกพืชสมุนไพรตามกลุ่มอาการที่ใช้รักษาได้แบ่งจากซูครี ไตรสนธิ (2554) เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ อาการทางระบบไหลเวียนโลหิต (แก้ลม) อาการทางระบบทางเดินอาหารและถอนพิษ อาการทางสูติศาสตร์นรีเวชวิทยา อาการไข้และไข้หวัด อาการทางกล้ามเนื้อและกระดูก และบำรุงกำลัง (บำรุงธาตุ) โดยกลุ่มอาการที่ชุมชนนิยมนำพืชสมุนไพรที่ใช้รักษา คืออาการทางระบบไหลเวียนโลหิต (แก้ลม) และอาการทางระบบทางเดินอาหารและถอนพิษ คิดเป็น 38.8% และ 21.3% ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 เมื่อจำแนกพืชสมุนไพรตามส่วนของพืชที่นำมาใช้สามารถแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ ใบ ดอก ผล ต้น ราก และทั้งต้น โดยส่วนของสมุนไพรที่ใช้มากที่สุดคือส่วนของลำต้นและใบ คิดเป็น 32.5% และ 25% ตามลำดับ ดังภาพที่ 3

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

สารสกัดป็นนงไส้ และบัวตองด้วยเอทานอล 95% จะมีผลผลิตร้อยละมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 11.79 และ 11.66 ตามลำดับ สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันในช่วง $0.416 \pm 0.038 - 0.936 \pm 0.209$ $\mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ เมื่อวิเคราะห์ด้วย Follin-Ciocalteu colorimetric method และเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก สารสกัดจากกะเม็ง ชี้ไก่ย่าน และ ป็นนงไส้ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 $\mu\text{g QE}/\text{mg extract}$ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ด้วย aluminium chloride colorimetric method และเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์เซติน สารสกัดหญ้าดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 135.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ เมื่อทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay โดยมีเคอร์เซตินเป็นกลุ่มควบคุมบวก สารสกัดสาบเสือมีปริมาณ luteolin มากที่สุด เท่ากับ 30,424.02 $\mu\text{g extract}$ แต่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดมีปริมาณ apigenin และ quercetin ค่อนข้างน้อย

ปริมาณผลผลิตร้อยละของสารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่สกัดด้วย เอทานอล 95% พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณมากที่สุด คือ ป็นนงไส้ มีน้ำหนักสารสกัด 5.89 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.79 รองลงมาคือ สารสกัดบัวตองมีน้ำหนักสารสกัด 5.83 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 11.66 รองลงมาคือ สารสกัดกะเม็งมีน้ำหนักสารสกัด 3.93 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 7.85 และสารสกัดที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ สารสกัดตีนตุ๊กแกมีน้ำหนักสารสกัด 1.60 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 3.20 เนื่องจากงานวิจัยนี้เลือกใช้ส่วนของดอก ก้าน และใบ ของพืชเพื่อนำมาศึกษาวิเคราะห์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีการสร้างและสะสม

สารชีวโมเลกุลไว้เป็นจำนวนมาก จึงทำให้ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของวันประเสริฐ และณัฐนันท์ (2561) ที่ทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากลูกใต้ใบ พืชชนิดหนึ่งในวงศ์เปล้า (Euphorbiaceae) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่า ส่วนของพืชที่มีผลผลิตร้อยละสูงสุดคือ ผล ราก ใบ และลำต้นตามลำดับ ทั้งนี้ป็นนกลีไต้ บัวตอง และกะเม็งนั้นจะมีสัดส่วนของ ก้าน และใบค่อนข้างสูง ซึ่งแตกต่างจากตีนตุ๊กแก ซึ่งเป็นพืชที่มีลักษณะเป็นพืชกิ่งเลื้อย มีลำต้นค่อนข้างลีบและเล็ก ก้านดอกยาว มีดอกเป็นจำนวนมาก ดังนั้นสัดส่วนของส่วนประกอบของพืชที่ใช้จึงมีผลต่อปริมาณผลผลิตที่สกัดได้

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ ป็นนกลีไต้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ $0.936 \pm 0.209 \mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ รองลงมา คือ กะเม็ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ $0.898 \pm 0.203 \mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ บัวตอง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ $0.864 \pm 0.013 \mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ ขี้ไก่ย่าน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ $0.857 \pm 0.100 \mu\text{gGAE}/\text{mg extract}$ ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด คือ สารสกัดผักคราดหัวแหวน เท่ากับ $0.416 \pm 0.038 \mu\text{g GAE}/\text{mg extract}$ (ตารางที่ 4.2) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดเป็นรายคู่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ละลายน้ำได้ดีทำให้ผ่านเข้าเซลล์และสะสมในเซลล์น้อย มีฟีนอล (phenol) ซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน (hydrogen; H) ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน หรือ ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระจะมีความสัมพันธ์กับจำนวน และตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group; -OH) (Feng and Liu, 2009) เมื่อพิจารณาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแล้วนั้น สารสกัดจากพืชทุกชนิดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน หรือตัวทำละลายต่างชนิดกัน อาทิ เอทิลอะซิเตท หรือ เมทานอล เป็นต้น จะสามารถดึงสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้ค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายเอทานอล 50% ดังเช่นงานวิจัยนี้เลือกใช้ แต่มีผลการศึกษาที่ก่อนหน้านี้จำนวนหนึ่งมีผลการศึกษาที่สอดคล้องกันซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% นั้นมีปริมาณค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น แต่เมื่อทดสอบความสามารถในการต้าน

อนุมูลอิสระแล้วพบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้สูงที่สุด (Tomsone *et al*, 2012; Do *et al*, 2014)

จากการศึกษาการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ กะเม็ง, ชี่ไถ่ย่าน และ ปีนนงไต้ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.902 ± 0.160 , 2.139 ± 0.042 และ 2.127 ± 0.165 $\mu\text{g QE/mg extract}$ ตามลำดับ รองลงมา คือ ตีนตุ๊กแก และกระดุมทอง มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.724 ± 0.056 และ 1.608 ± 0.033 $\mu\text{g QE/mg extract}$ ตามลำดับ และสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด คือ หนุ่ยาดอกขาว มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.681 ± 0.050 $\mu\text{g QE/mg extract}$ (ตารางที่ 4.3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดเป็นรายคู่โดยใช้ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์แตกต่างกัน โดยที่สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.127 ± 0.165 - 2.902 ± 0.160 $\mu\text{g QE/mg extract}$ เมื่อพิจารณาประกอบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทั้งนี้สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นหนึ่งในสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenging activity) โดยทำหน้าที่ไปจับกับอนุมูลอิสระโดยตรง ในธรรมชาติ โดยทั่วไปพบในใบ ดอก ผล และส่วนต่างๆ ของพืช สอดคล้องกับผลการศึกษาของ เอนก และ บุณยกฤต (2560) ความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเนื่องมาจากความแตกต่างของชนิดพันธุ์

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จะแสดงเป็นค่า IC₅₀ ซึ่งคือ ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง (ชมัยพร และคณะ, 2560) พบว่า สารสกัดจากพืชวงศ์ทานตะวันแสดงฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด คือ หนุ่ยาดอกขาว มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 135.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) เมื่อพิจารณาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร่วมกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหนุ่ยาดอกขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ไม่สอดคล้องกับปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหนุ่ยาดอกขาวนั้นพบค่อนข้างน้อย (0.681 ± 0.050 $\mu\text{g QE/mg extract}$) เมื่อเทียบกับสารสกัดกะเม็ง (2.902 ± 0.160 $\mu\text{g QE/mg extract}$) ตรงกันข้ามกับสาร

สกัดกะเม็ง ขี้ไก่ย่าน และป็นนงไส้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดกะเม็ง ($2.902 \pm 0.160 \mu\text{g QE/mg extract}$) ขี้ไก่ย่าน ($2.139 \pm 0.042 \mu\text{g QE/mg extract}$) และป็นนงไส้ ($2.127 \pm 0.165 \mu\text{g QE/mg extract}$) นั้นพบมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงของสารสกัดหญ้าดอกขาวนั้นอาจเป็นเพราะเป็นสารกลุ่มอื่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับการศึกษาของ ชมัยพร และคณะ (2560) ที่แสดงว่า สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในส่วนสกัดของส้มซ่าอาจไม่ใช่สารในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามควรมีการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาทิ luteolin (Romanová et al., 2001; Prasopthum et al., 2015) rhamnetin (Majewska et al., 2011; Olennikov and Chirikova, 2018) เป็นต้น

จากการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันด้วยวิธี HPLC โดยใช้สารละลายมาตรฐาน ได้แก่ luteolin, apigenin และ quercetin แยกโดยใช้คอลัมน์ LiChrospher® LichroCART® RP-18 (ขนาด 4.6×150 มิลลิเมตร) ใน mobile phase คือ acetonitrile ร้อยละ 35 ใน phosphate buffer ร้อยละ 0.2 (isocratic) pH 3 อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดโดยใช้ UV detector 352 นาโนเมตร พบว่า สามารถแยกสารละลายมาตรฐาน luteolin, quercetin และ apigenin ซึ่งมีการเตรียมเป็นสารละลายเดี่ยว มี tR (retention time) เท่ากับ 5.638 ± 0.003 , 6.050 ± 0.003 และ 8.508 ± 0.003 นาที ตามลำดับ และเมื่อเตรียมเป็นสารละลายผสมของสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดข้างต้นแล้ว พบว่า สามารถแยกสารละลายมาตรฐาน luteolin, apigenin และ quercetin มี tR เท่ากับ 5.77 ± 0.00 , 6.09 ± 0.00 และ 9.27 ± 0.01 นาที ตามลำดับ โดยที่พื้นที่ใต้พีค และ tR ของสารละลายมาตรฐานทุกชนิดยังคงลักษณะเฉพาะตัวไม่แตกต่างจากการแยกวิเคราะห์แบบสารละลายเดี่ยว เมื่อพิจารณาทั้งปริมาณ luteolin, apigenin และ quercetin ในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันแล้ว พบว่า พืชวงศ์ทานตะวันทุกชนิดจะมีปริมาณ luteolin สูง ($8,590.24 - 30,424.02 \mu\text{g extract}$) แต่กลับมีปริมาณ apigenin และ quercetin ค่อนข้างน้อย หรือตรวจไม่พบในสารสกัดพืชวงศ์ทานตะวันหลายๆ ชนิด ได้แก่ สามม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King & Robinson) สาบแรังสาบกา (*Ageratum conyzoides*) และบัวตอง (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) ทั้งนี้เมื่อเปรียบกับการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า มีรายงานการพบ apigenin ในสารสกัดเอทานอลของสามม่วง (Maia et al., 2011) สาบเสือ (Oliveira et al., 2017) หญ้าดอกขาว (Prasopthum et al., 2015) และพบ quercetin ในสารสกัดน้ำเกลือของบัวตอง (Barboza et al., 2011) อย่างไรก็ตาม ไม่พบสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเมทานอลของหญ้าดอกขาวจากส่วนเปลือกลำต้นและใบด้วยวิธี Hydrochloric Acid Test แต่ตรวจพบไกลโคไซด์ (glycosides) ด้วยวิธี Anthroquinone test Keller-killani test (Haque et al., 2012) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลทางตรงจากสภาวะในการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ยังไม่เหมาะสมสำหรับแยก

องค์ประกอบของสารละลายตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ apigenin และ quercetin ในแบบสารละลายผสมหรือการใช้สภาวะเดี่ยวเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นจึงควรพัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารสำคัญเพียงตัวเดียวเท่านั้น นอกจากนี้ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่ใช้ และแหล่งที่พบพืช ก็มีผลต่อปริมาณสารสำคัญด้วยเช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ปีงบประมาณ 2560 ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูลจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กองกานดา ชยามฤต และวรดลต์ แจ่มจำรูญ. (2548). คู่มือจำแนกพรรณไม้. กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยกรมอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- จุฑามาศ ศุภพันธ์ และ วีระเกียรติ ทรัพย์มี. (2557). ผลของสารสกัดจากขั้วพืชบางชนิดต่อการงอกและการแบ่งเซลล์ของขั้ววุ้นพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 45(2)พิเศษ: 185-188.
- ชัยพร รอดกลิ่น, เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข. (2560). ผลของสภาวะการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่าง ๆ ของส้มซ่า. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 22(1): 211-225.
- ประไพพรรณ นำพันธุ์วิวัฒน์. (2546). ผลของสารสกัดจากกระดุมทองเลื้อย (*Wedelia trilobata* (L.) A.S. Hitchcock) ต่อการเจริญเติบโตของพืช และการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ สิ่งแวดล้อม), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ávila P.H.M., Ávila R. I., Santos. F. E. X., et al. (2015). Mucoadhesive formulation of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) reduces intestinal injury from 5-fluorouracil-induced mucositis in mice. *Toxicology Reports*. 2: 563–573.
- Bremer K.. (1995). Asteraceae, Cladistics & Classification. *Rhodora*. 97(890): 176-178
- Dewana S. M. R, Amina Md. N., Adnana T., et al. (2013). Investigation of analgesic potential and in vitro antioxidant activity of two plants of Asteraceae family growing in Bangladesh. *Journal of Pharmacy Research*. 6(6): 599–603.
- Do Q. M., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., Huynh L. H., Soetaredjo F. E., Ismajli S., et al.. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3): 296-302.
- Feng J. Y. and Liu Z. Q.. 2009. Phenolic and Enolic Hydroxyl Groups in Curcumin: Which Plays the Major Role in Scavenging Radicals?. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(22): 11041-11046.

- Galati E. M., Miceli N., Taviano M. F., Sanogo R. and Raneri E.. (2001). Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of *Ageratum conyzoides*. *Pharmaceutical Biology*. 39(5): 336-339.
- Gani A. Md. S. and Devi D. N.. (2015). Antioxidant Activity of *Eclipta prostrata* (L.) L. using Methanolic extract. *International Journal of Phytopharmacy*. 5(2): 21-24.
- Giacomo C. D., Vanella L., Sorrenti V., Santangelo R., Barbagallo I., Calabrese G., et al.. (2015). Effects of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Extract on Adipocyte Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *PLOS ONE*. 10(4): 1-15.
- Goudoum A., Abdou A. B., Ngamo L. S. T., Ngassoum M. B., and Mbofung C. M. F.. (2016). Antioxidant activities of essential oil of *Bidens pilosa* (Linn. Var. *Radita*) used for the preservation of food qualities in North Cameroon. *Food Science and Nutrition*. 4(5): 671–678.



ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายพัทธชัย ปิ่นนาค
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Pattachai Pinnak

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1 5399 00034 20 5

3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
อุดรดิตถ์ 27 ถนนอินใจมี ตำบลท่าอิฐ อำเภอเมืองฯ จังหวัดอุดรดิตถ์ 53000
โทรศัพท์: 0-5541-2096 ต่อ 1306 มือถือ: 08-2176-2527
E-mail address: biology_sc25@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

ปีการศึกษาที่ จบ	ระดับปริญญา (ตรี โท เอก)	อักษรย่อ ปริญญา	สาขา	สถาบันการศึกษา
2549	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	วท.บ.	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
2555	วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต	วท.ม.	เภสัชวิทยาและ วิทยาศาสตร์ ชีวโมเลกุล (นานาชาติ)	มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
ชีวโมเลกุล เภสัชวิทยา ความหลากหลายของพรรณพืช อนุกรมวิธาน

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ไม่มี

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย: ไม่มี

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

งานวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันของพืชน้ำมันในเขตพื้นที่ตำบลน้ำอ่าง อำเภอดุตรดิตถ์ เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตไบโอดีเซลสำหรับใช้ในท้องถิ่น แหล่งทุน: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ประจำปีงบประมาณ 2556

2. ความหลากหลายของพืชสมุนไพรและการใช้ประโยชน์ด้วยภูมิปัญญาท้องถิ่นในป่าชุมชนตำบลน้ำอ่าง อำเภอดุตรดิตถ์ แหล่งทุน: สกอ. ในโครงการ HERP ประจำปีงบประมาณ 2557

บทความวิชาการ

พัทธชัย ปิ่นนาค. 2559. ความหลากหลายของพืชสมุนไพรและการใช้ประโยชน์ในป่าชุมชน ตำบลน้ำอ่าง อำเภอดุตรดิตถ์. วารสารเนื่องมาจากการประชุมวิชาการ; การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 10. 16-18 มิถุนายน 2559, หน้า 89-100.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ: ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. การเพิ่มมูลค่ากลางสาดอุตรดิตถ์ สู่ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากธรรมชาติ เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพอย่างยั่งยืน ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเพื่อขับเคลื่อนเศรษฐกิจฐานรากด้วยผลิตภัณฑ์อัตลักษณ์ของจังหวัดอุตรดิตถ์ สู่การต่อยอดเชิงพาณิชย์: กรณีศึกษาของกลางสาดจังหวัดอุตรดิตถ์ ปี 2560 (ผู้ร่วมวิจัย)

2. ศึกษาและพัฒนาารูปแบบการผลิตผักปลอดภัยแบบมีส่วนร่วมในพื้นที่ตำบลคุ้มตะเภา อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ ปี 2561 (หัวหน้าโครงการ)

7.5 การอบรม/สัมมนา

ผ่านการอบรม “สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่” (ลูกไก่) รุ่น 2