

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองศึกษาแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมธานอลจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยรวม 100 ตัวอย่าง โดยแสดงผลเป็นค่า antioxidant index (ตารางที่ 3.1) เมื่อเปรียบเทียบค่า antioxidant index ในตัวอย่างผักชนิดเดียวกันระหว่างผักสดและอบแห้ง พบว่าค่า antioxidant index ในผักอบแห้งอาจมีค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลง หรือใกล้เคียงกับผักสด เช่น กรณีที่ผักอบแห้งมีค่า antioxidant index สูงกว่าผักสด คือ ผักเชียงดา (ผักสด = 6.12 ; ผักอบแห้ง = 14.60) ผักฮ้วนหมู (ผักสด = 2.97 ; ผักอบแห้ง = 7.20) และ สะระแหน่ญี่ปุ่น (ผักสด = 3.79 ; ผักอบแห้ง = 11.19) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแม้จะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลานานถึง 3 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการสลายตัวของสารที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แสดงว่าสารดังกล่าวต้องเป็นสารที่ทนความร้อนได้เป็นเวลานานๆ และไม่น่าจะใช้สารในกลุ่มเอนไซม์ นอกจากนี้ค่า antioxidant index ที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากความร้อนที่ไปกระตุ้นให้เกิดสารประกอบต่างๆ ที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นก็ได้ ซึ่ง Eriksson และ Na (1995) ได้มีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนผลการทดลองนี้ว่า อาหารที่ผ่านการแปรรูปโดยใช้ความร้อนจะมีผลทำให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเสียสภาพไป เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น แต่สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์จะทนต่อความร้อนได้ดี และยังคงมีประสิทธิภาพอยู่แม้จะถูกกระทบทานเข้าไปแล้ว นอกจากนี้กระบวนการแปรรูปอาหารยังก่อให้เกิดสารประกอบบางชนิดที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย เช่น เกิดจากปฏิกิริยา protein hydrolysis และปฏิกิริยา Maillard เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างบางชนิดเมื่อผ่านการอบแห้งแล้วกลับมีค่า antioxidant index ลดลง คือ พลูดาว ซึ่งผักสดมีค่า antioxidant index เท่ากับ 7.16 แต่เมื่อผ่านการอบแห้งแล้วค่า antioxidant index ลดลงเหลือ 2.17 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าองค์ประกอบหลักที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในพลูดาวน่าจะเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อน ซึ่งอาจเป็นสารในกลุ่มของเอนไซม์ หรือวิตามินซีก็ได้

นอกจากนี้จากผลการทดลองจะเห็นว่า ยอดผักทอง วานชักมดลูก และต้นหอม มีค่า antioxidant index น้อยกว่า 1 คือมีค่า 0.96 0.80 และ 0.73 ตามลำดับ ซึ่งในทางทฤษฎีนั้น หากค่า antioxidant index น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 หมายถึงไม่มีแอกติวิตีของสารต้าน

อนุมูลอิสระเลย เนื่องจากวิธีการตรวจสอบแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระในการทดลองนี้ อาศัยการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบ โดย วัดอัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นหากค่า antioxidant index น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 แสดงว่าอัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนจาก ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นเร็วกว่าการทดลองควบคุมซึ่งไม่มีสารทดสอบ ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็น เพราะมีปัจจัยบางอย่างที่ทำให้สารสกัดเมธานอลจากตัวอย่างดังกล่าวไม่แสดงสมบัติของสาร ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ความร้อน เนื่องจากสารที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิด บางชนิดไม่ทนต่อความร้อน เช่น เอนไซม์และวิตามินซี ดังนั้นตัวอย่างผักที่ผ่านการอบแห้งที่ อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือสมุนไพรที่ผ่านการตากแดดเป็นเวลานานๆเพื่อให้ แห้งอาจเป็นสาเหตุให้สูญเสียสารเหล่านี้ไป ดังรายงานการวิจัยของ Abushita et. al (2000) ที่ศึกษาพบว่ามะเขือเทศที่ผ่านการแปรรูปโดยใช้ความร้อนจะสูญเสียวิตามินซีไปประมาณ 38% จากที่มีอยู่เดิม ปัจจัยอีกประการหนึ่งที่น่าจะมีผลต่อแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ในกรณีที่สารสกัดจากผักและสมุนไพรนั้นมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ซึ่ง น้ำมันหอมระเหยก็สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงยังเป็นการทำให้ค่า antioxidant index น้อยกว่าที่ควรจะเป็น โดยเฉพาะในวัชกมดลูกและต้นหอมซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยเป็น องค์ประกอบอยู่ด้วย หากต้องการลดผลกระทบจากน้ำมันหอมระเหยในสารสกัดควรทำการ สกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกไปตามวิธีการของ Jitoe et. al (1992) ซึ่งได้ศึกษาแอกติวิตีของ สารต้านอนุมูลอิสระในพืชตระกูลขิง พบว่าพืชตระกูลขิงมีน้ำมันหอมระเหยมาก จึงยังเป็นการ ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นได้ง่าย จึงได้ทำการสกัดด้วย hexane เพื่อกำจัดน้ำมัน หอมระเหยออกจากสารสกัดก่อนที่จะนำไปศึกษาแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ นอก จากนี้สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีปัจจัยหรือเงื่อนไขไม่เหมาะสม สามารถทำหน้าที่เหนี่ยวนำหรือกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นได้ เรียกว่า โปรออกซิ แแดนท์ (prooxidant) (วัลยา และพัชร , 2542) โดยปัจจัยที่มีผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ บางชนิดทำหน้าที่เป็นสารโปรออกซิแดนท์มี 4 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูล อิสระ กล่าวคือสารบางชนิดเมื่อมีความเข้มข้นต่ำๆจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี แต่ในทางกลับกันเมื่อความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีค่าสูงๆ จะทำหน้าที่เป็นสารโปรออกซิ แแดนท์ ไอออนของโลหะทรานสิชันก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ เป็นสารโปรออกซิแดนท์ได้ ตัวอย่างเช่น วิตามินซีสามารถเป็นสารโปรออกซิแดนท์เมื่ออยู่ใน สารละลายที่มีไอออนของโลหะบางชนิด เช่น เหล็ก หรือ ทองแดง เป็นต้น ความดันของ

กาชออกซิเจนก็มีผลในการทำน้ำที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน สารบางชนิดทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่ความดันของกาชออกซิเจนต่ำ แต่เมื่อเพิ่มความดันของกาชออกซิเจนสูงๆ สารดังกล่าวจะทำหน้าที่เป็นสารโปรออกซิแดนท์ ตัวอย่างเช่น เบต้า-แคโรทีนสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อความดันของกาชออกซิเจนเท่ากับ 150 มิลลิเมตรปรอท แต่ในสภาวะที่มีความดันของกาชออกซิเจนสูงเท่ากับ 760 มิลลิเมตรปรอท เบต้า-แคโรทีนสามารถเป็นสารโปรออกซิแดนท์โดยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกโตออกซิเดชันได้ ปัจจัยสุดท้ายที่มีผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ค่า redox potential โดยพบว่าถ้าค่า redox potential ยิ่งเป็นบวกมากเท่าใด สารนั้นยิ่งสามารถทำหน้าที่เป็นสารโปรออกซิแดนท์ได้ดี นั่นคือมีสมบัติเป็นสารออกซิไดส์ (oxidizing agent) เพิ่มขึ้นด้วย ในทางกลับกันถ้าค่า redox potential ยิ่งเป็นลบมากเท่าใด สารนั้นจะมีสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) ที่ดี นั่นคือสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี ดังนั้นจากปัจจัยต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น จึงอาจส่งผลให้สารองค์ประกอบบางชนิดในสารสกัดเมธานอลจากตัวอย่างทำหน้าที่เป็นสารโปรออกซิแดนท์แทนที่จะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ในการหาแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยใช้สารสกัดเมธานอลซึ่งเป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) จึงอาจมีการเจือปนของสารอื่นๆ ที่มีผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระได้ (Fukumoto and Mazza, 2000) จากที่กล่าวมาทั้งหมดล้วนเป็นสาเหตุให้ค่า antioxidant index ต่ำกว่าที่ควรจะเป็นได้ทั้งสิ้น

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของสารองค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่างแห้ง ซึ่งคาดว่าจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี แคโรทีน แซนโทฟิลล์ แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารองค์ประกอบแต่ละชนิดในหน่วยเดียวกัน (มก./100 กรัม น.น. แห้ง) พบว่าองค์ประกอบที่มีปริมาณมากที่สุดในทุกตัวอย่างคือ สารประกอบฟีนอลิก รองลงมาคือ แทนนิน ซึ่งก็เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่ง ทั้งนี้เพราะสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงทุกชนิด และพบได้ในทุกส่วนของพืชตั้งแต่เปลือกไม้ เนื้อไม้ ลำต้น ใบ ผล ดอก ราก เกสร และเมล็ด (Charalambous and Katz, 1976) ต่างจากสารองค์ประกอบอื่นๆ ซึ่งจะพบในบางส่วนของพืชเท่านั้น โดยเฉพาะวิตามินอีซึ่งจะพบมากในส่วนที่เป็นเมล็ดพืช ดังนั้นปริมาณวิตามินอีที่วิเคราะห์ได้จึงมีน้อยมากเมื่อเทียบกับสารองค์ประกอบอื่นๆ

เมื่อเปรียบเทียบค่า antioxidant index ของตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 3.1) เลือกตัวอย่างที่มีค่า antioxidant index สูงมา 12 ชนิด ได้แก่ กระถิน (9.12) ชะพลู (12.27)

ผักชีล้อม (7.92) ผักเชียงดา (14.60) ผักหนามปูย่า (5.43) ผักฮ้วนหมู (7.20) ฟ้าทะลาย
 ใจ (7.51) สะเดา (4.99) สะระแหน่ (7.20) หญ้าหวาน (17.63) หม่อน (13.27) และ
 โหระพาช้าง (10.55) นำสารสกัดองค์ประกอบต่างๆ คือวิตามินซี วิตามินอี แคโรทีน แซนโท
 ฟิลล์ แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างทั้ง 12 ชนิดดังกล่าวมาศึกษาสมบัติการ
 เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากตัวอย่างทุกชนิดให้ค่า
 antioxidant index สูงสุดเมื่อเทียบกับสารองค์ประกอบอื่น (ตารางที่ 3.5) นั่นคือสารสกัด
 สารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างดังกล่าวมีแอกติวิตีในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่ง
 สอดคล้องกับการทดลองของ Liégeois et. al. (2000) ที่ศึกษาแอกติวิตีของสารต้านอนุมูล
 อิสระของสารประกอบต่างๆจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ (1) catechin hydrate (2) ferulic
 acid (3) caffeic acid (4) reduced glutathione (5) cystein chlorhydrate (6)
 potassium bisulfite (7) วิตามินซี (8) trolox (9) furaneol (10) วิตามินอี (11)
 quercetin dihydrate และ (12) BHT พบว่าสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกแสดงแอกติวิตี
 ของสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งได้แก่ quercetin dihydrate caffeic acid ferulic acid
 และ catechin hydrate ตามลำดับ รองลงมาคือสารในกลุ่ม thiols ซึ่งได้แก่ cystein
 chlorhydrate และ reduced glutathione ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าผล
 รวมของค่า antioxidant index ขององค์ประกอบต่างๆมีค่ามากกว่า antioxidant index
 ของสารสกัดเมธานอลในตัวอย่างชนิดเดียวกัน (ตารางที่ 3.1 และ 3.5) ซึ่งเป็นข้อสนับสนุน
 ว่าในสารสกัดเมธานอลซึ่งเป็นสารสกัดหยาบอาจมีสารบางชนิดซึ่งมีผลไปรบกวนสมบัติของ
 สารต้านอนุมูลอิสระดังได้กล่าวไปแล้ว นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ
 ของวิตามินซี วิตามินอี แคโรทีน แซนโทฟิฟิลล์ แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก (ตารางที่
 3.2-3.4) และค่า antioxidant index ของสารชนิดเดียวกัน (ตารางที่ 3.5) พบว่าไม่มีความ
 สัมพันธ์กัน ตัวอย่างเช่น กระถินมีปริมาณวิตามินซีสูงมาก คือ 48.47 มก./น.น.แห้ง (ตาราง
 ที่ 3.2) แต่กลับมีค่า antioxidant index เพียง 2.88 (ตารางที่ 3.5) ส่วนชะพลูซึ่งมีปริมาณ
 วิตามินซีต่ำกว่ากระถิน คือ 16.62 มก./น.น.แห้ง (ตารางที่ 3.2) แต่กลับมีค่า antioxidant
 index สูงกว่ากระถิน คือมีค่า 6.17 (ตารางที่ 3.5) ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าในการ
 ทดลองเมื่อทำการสกัดวิตามินซีจากตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณแล้ว ไม่ได้นำสารสกัด
 วิตามินซีดังกล่าวไปศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยทันที ดังนั้นระยะเวลาในการ
 เก็บสารสกัดวิตามินซีจึงอาจมีผลให้วิตามินซีในสารสกัดถูกออกซิไดส์ไป และเนื่องจากสาร
 สกัดวิตามินซีไม่ใช่วิตามินซีบริสุทธิ์ อาจมีสารปนเปื้อนอื่นๆในสารสกัดซึ่งขึ้นอยู่กับตัวอย่างแต่

ละชนิด จึงทำให้วิตามินซีในแต่ละตัวอย่างถูกออกซิไดส์ได้ไม่เท่ากัน ดังนั้นปริมาณและค่า antioxidant index ของสารชนิดเดียวกันจึงไม่มีความสัมพันธ์กัน

เนื่องจากสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อเทียบกับสารองค์ประกอบอื่น ดังนั้นจึงเลือกศึกษาธรรมชาติของสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะจากตัวอย่างทั้ง 12 ชนิด โดยนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในประเภทต่างๆ คือ สารประกอบฟีนอลิกอิสระ สารประกอบฟีนอลิกเอสเทอร์ สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่กับโปรตีน และสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่กับกาก พบว่าในตัวอย่างทั้ง 12 ชนิด มีสารประกอบฟีนอลิกอิสระเป็นปริมาณมากที่สุด (ตารางที่ 3.6) จึงนำสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกอิสระของแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีบนกระดาษแบบ 2 ทิศทาง โดยใช้สารละลาย BAW (6 : 1 : 2 โดยปริมาตร) และสารละลาย 2% HOAc เป็นสารละลายตัวพาในทิศทางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ จากโครมาโทแกรมที่ได้ (รูปที่ 3.12-3.23) เมื่อเปรียบเทียบค่า R_f และสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ รวมทั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุดเทียบกับสารมาตรฐานฟีนอลิกแล้ว สามารถบอกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกอิสระที่แยกได้จากตัวอย่างได้บางชนิด (ตารางที่ 3.8) ดังนี้

(1) กระถิน : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.12 สามารถแยกได้สารประกอบฟีนอลิก 4 ชนิด และเมื่อเปรียบเทียบค่า R_f และสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ รวมทั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุดกับสารมาตรฐานฟีนอลิกแล้ว (ดังสรุปในตารางที่ 3.7) สามารถบอกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกได้เพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ gallic acid และ pyrogallol เมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกระถิน (ตารางที่ 3.5) ซึ่งเท่ากับ 11.36 จึงเป็นไปได้ว่าอาจเป็นเพราะผลของ gallic acid และ pyrogallol รวมทั้งสารฟีนอลิกที่แยกได้จุดที่ 1 บนโครมาโทแกรม เพราะสารดังกล่าวเมื่อทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยการสเปรย์ด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีนแล้วให้ผลบวกเช่นเดียวกับ gallic acid และ pyrogallol

(2) ชะพลู : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.13 พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกเพียงชนิดเดียว และเมื่อเปรียบเทียบค่า R_f และสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ รวมทั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุดกับสารมาตรฐานฟีนอลิกแล้ว ก็ยังไม่สามารถบอกชนิดของสารดังกล่าวได้ เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของสารดังกล่าวพบว่ามีลักษณะคล้ายกับสเปกตรัมของสารมาตรฐาน

chlorogenic acid มาก (รูปที่ 3.33 และ 3.25 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามสารดังกล่าวนี้แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน (ตารางที่ 3.8)

(3) ผักชีล้อม : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.14 สามารถแยกได้สารประกอบฟีนอลิก 2 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้น คือ gallic acid เมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกของผักชีล้อม (ตารางที่ 3.5) พบว่ามีค่า antioxidant index สูงสุด คือ 11.36 รองลงมาคือแทนนิน ซึ่งมีค่า 9.44 แสดงให้เห็นว่าค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกเป็นผลมาจาก gallic acid ร่วมกับสารแทนนิน ส่วนสารฟีนอลิกอีกชนิดหนึ่งที่แยกได้ไม่แสดงสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 3.8)

(4) ผักเชียงดา : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.15 สามารถแยกได้สารประกอบฟีนอลิก 2 ชนิด ซึ่งยังไม่สามารถบอกชนิดของสารได้ทั้ง 2 ชนิด แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของสารทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะคล้ายกันมาก (รูปที่ 3.35) นอกจากนี้พบว่ามีค่า Rf ในสารละลายตัวพาทิศทางที่ 1 (BAW) มีค่าเท่ากัน ส่วนในสารละลายตัวพาในทิศทางที่ 2 (2% HOAc) ต่างกันเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์อื่นๆพบว่าส่วนใหญ่ให้ผลคล้ายกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารทั้ง 2 ชนิดเป็นสารชนิดเดียวกัน แต่อยู่ในลักษณะ cis form และ trans form อย่างไรก็ตาม สารทั้ง 2 ชนิดนี้ให้ผลในการทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่างกัน

(5) ผักหนามปวยล่า : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.16 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้ 3 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียว คือ gallic acid เมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดจากผักหนามปวยล่า (ตารางที่ 3.5) พบว่ามีค่าสูงสุด คือ 17.08 ซึ่งต้องเป็นผลจาก gallic acid รวมทั้งสารที่แยกได้จุดที่ 1 บนโครมาโทแกรม เพราะแสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน (ตารางที่ 3.8) อย่างไรก็ตาม ผักหนามปวยล่าเป็นตัวอย่างที่มีปริมาณแทนนินและสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด (ตารางที่ 3.4) จึงคาดว่าน่าจะมีสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นอีกที่ส่งผลให้มีค่า antioxidant index สูง นอกจากนี้จากการทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูล

อิสระโดยการสเปรย์ด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน พบว่าบริเวณสารจุดที่ 2 ซึ่งคือ gallic acid ให้สีเหลืองที่คงอยู่ได้นานที่สุดเมื่อเทียบกับสารที่แยกได้จากตัวอย่างอื่นๆ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าผักหนามปูย่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าตัวอย่างชนิดอื่น

(6) ผักขี้หนม : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.17 สามารถแยกได้สารประกอบฟีนอลิก 4 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียง 2 ชนิด คือ hydroquinone และ pyrocatechol เมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิก (ตารางที่ 3.5) มีค่าเท่ากับ 7.56 ซึ่งเป็นผลมาจากสารทั้ง 2 ชนิดนี้ รวมทั้งสารที่แยกได้ในจุดที่ 1 บนโครมาโทแกรม เพราะจากการทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้วพบว่าสารทั้ง 3 ชนิดให้ผลบวก แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากผักขี้หนมนี้แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระถึง 3 ใน 4 ชนิด แต่กลับมีค่า antioxidant index ไม่สูงโดดเด่นเท่าใดนัก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปัจจัยบางอย่าง เช่น ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของสาร ซึ่งจะได้กล่าวถึงในตอนหลังต่อไป

(7) ฟ้าทะลายโจร : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.18 สามารถแยกได้สารประกอบฟีนอลิก 4 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียว คือ gallic acid อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของ gallic acid ที่แยกได้กับสารมาตรฐาน gallic acid พบว่ามีลักษณะต่างกันเล็กน้อย (รูปที่ 3.38 จุดที่ 1 และ 3.27 ตามลำดับ) คือสเปกตรัมของ gallic acid จากฟ้าทะลายโจรมีตำแหน่งของ peak 3 ตำแหน่ง คือตำแหน่งที่ความยาวคลื่น 222, 275 และ 326 นาโนเมตร ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเป็นเพราะมีสารชนิดอื่นปนอยู่ด้วย เนื่องจากการแยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีอาจมีสารบางชนิดที่เคลื่อนที่ได้เท่ากันในระบบสารละลายตัวพาชนิดเดียวกัน ดังนั้นจึงได้นำมาแยกใหม่โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีบนกระดาษแบบทิศทางเดียว และเปลี่ยนสารละลายตัวพาเป็น n-propanol : NH_4OH ในอัตราส่วน 7 : 3 โดยปริมาตร จากโครมาโทแกรมที่ได้ (รูปที่ 3.46 ; ก) พบว่าแยกสารได้ 2 ชนิด โดยมีค่า R_f เท่ากับ 0.45 และ 0.78 ตามลำดับ เมื่อนำสารทั้ง 2 ชนิดไปตรวจสอบค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุด พบว่าสารที่แยกได้ในจุดที่ 2 บนโครมาโทแกรม ($R_f = 0.78$) มีลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน gallic acid (รูป

ที่ 3.44) คือมี peak ที่ความยาวคลื่น 223 และ 270 นาโนเมตร ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกในฟ้าทะลายโจรจึงแยกได้ทั้งสิ้น 5 ชนิด โดยสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียว คือ gallic acid

(8) สะเดา : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.19 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้ 2 ชนิด ซึ่งยังไม่สามารถบอกชนิดของสารทั้ง 2 ชนิดได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของสารทั้ง 2 ชนิด (รูปที่ 3.39) พบว่ามีลักษณะคล้ายกันมาก และเมื่อพิจารณาค่า Rf พบว่าในสารละลายตัวพาทิศทางที่ 1 (BAW) มีค่าไม่แตกต่างกัน แต่ต่างกันในสารละลายตัวพาทิศทางที่ 2 (2% HOAc) นอกจากนี้สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ต่างๆ ที่ทดสอบก็ให้ผลเหมือนกันอีกด้วย จึงเป็นไปได้ว่าสารทั้ง 2 ชนิดที่แยกได้นี้จะเป็นสารชนิดเดียวกัน ซึ่งอยู่ในรูป cis form และ trans form มากกว่าที่จะเป็นสารต่างชนิดกัน และเมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากสะเดาแล้ว (ตารางที่ 3.5) พบว่ามีค่าสูงคือ 11.36 แสดงว่าน่าจะเป็นผลจากสารดังกล่าวนี้ ด้วยเพราะต่างก็ให้ผลบวกเมื่อทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน

(9) สะระแหน่ : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.20 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้ 2 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียวคือ gallic acid เมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากสะระแหน่แล้ว (ตารางที่ 3.5) พบว่ามีค่าสูง คือ 11.36 แสดงว่าเป็นผลมาจาก gallic acid และอาจรวมถึงสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นๆ ในสารสกัดด้วย แต่ไม่น่าจะใช้สารที่แยกได้จุดที่ 1 บนโครมาโทแกรม เพราะจากการทดสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้วพบว่า gallic acid ให้ผลบวก แต่สารในจุดที่ 1 บนโครมาโทแกรมให้ผลลบ

(10) หญ้าหวาน : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.21 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้ 2 ชนิด ซึ่งสามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียวคือ sinapic acid อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของ sinapic acid จากหญ้าหวานกับสารมาตรฐาน sinapic acid พบว่ามีลักษณะต่างกันเล็กน้อย (รูปที่ 3.41 จุดที่ 1 และ 3.31 ตามลำดับ) คือสเปกตรัมของ sinapic acid จากหญ้าหวานมีตำแหน่งของ peak 3 ตำแหน่ง คือตำแหน่งที่ความยาวคลื่น

227 300 และ 324 นาโนเมตร ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเป็นเพราะมีสารชนิดอื่นปนอยู่ด้วย ดังเช่นในกรณีของ gallic acid ที่แยกได้จากฟ้าทะลายโจร ดังนั้นจึงได้นำมาแยกใหม่โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีบนกระดาษแบบทิศทางเดียว และเปลี่ยนสารละลายตัวพาเป็น BAW ในอัตราส่วน 4 : 1 : 1 โดยปริมาตร จากโครมาโทแกรมที่ได้ (รูปที่ 3.46 ; ข) พบว่าแยกสารได้ 2 ชนิด โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.62 และ 0.89 ตามลำดับ เมื่อนำสารทั้ง 2 ชนิดไปตรวจสอบค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุด พบว่าสารที่แยกได้ในจุดที่ 2 บนโครมาโทแกรม ($R_f = 0.89$) มีลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน sinapic acid (รูปที่ 3.45) คือมี peak ที่ความยาวคลื่น 230 และ 318 นาโนเมตร ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกในหญ้าหวานจึงแยกได้ทั้งสิ้น 3 ชนิด ซึ่งต่างก็แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน จึงส่งผลให้ค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่าสูงตามไปด้วย (ตารางที่ 3.5)

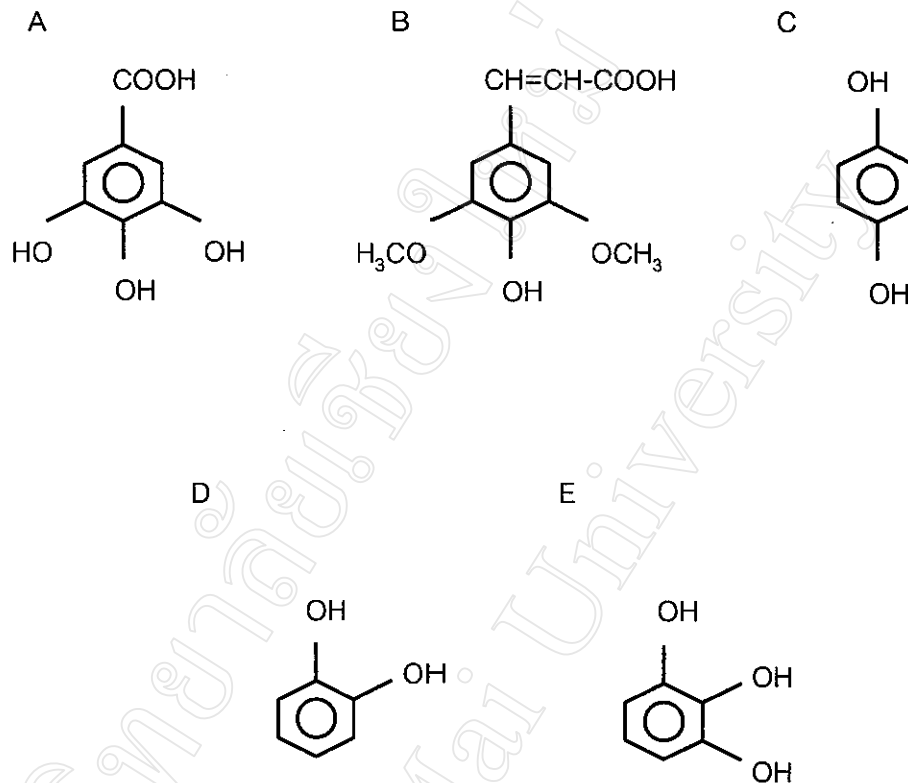
(11) หม่อน : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.22 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้เพียงชนิดเดียวซึ่งยังไม่สามารถบอกชนิดได้ อย่างไรก็ตาม สามารถทราบเพียงว่าสารชนิดดังกล่าวไม่แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพราะเมื่อทดสอบด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีนแล้วให้ผลลบ (ตารางที่ 3.8) และเมื่อพิจารณาค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกแล้ว (ตารางที่ 3.5) พบว่ามีค่าไม่สูงนัก คือ 7.56 แสดงว่าน่าจะเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นๆที่รวมอยู่ในสารสกัดนั้น ซึ่งอาจเป็นสารประกอบฟีนอลิกเอสเทอร์ สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่กับโปรตีน สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่กับกาก รวมไปถึงแทนนินด้วย เพราะค่า antioxidant index นี้เป็นค่าที่ได้จากสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

(12) โหระพาช้าง : จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 3.23 สามารถแยกสารประกอบฟีนอลิกได้ 5 ชนิด แต่สามารถบอกชนิดของสารได้เพียงชนิดเดียว คือ pyrocatechol เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของสารที่แยกได้จุดที่ 1 และ 2 บนโครมาโทแกรม (รูปที่ 3.43 จุดที่ 1 และ 2) พบว่ามีลักษณะคล้ายกัน จึงอาจเป็นสารในกลุ่มเดียวกัน แต่ไม่น่าจะใช่สารชนิดเดียวกันในลักษณะ cis , trans form เพราะสารทั้งสองชนิดมีค่า Rf ในสารละลายตัวพาทั้ง 2 ทิศทางต่างกัน

มาก อย่างไรก็ตาม pyrocatechol ที่แยกได้นี้เป็นสารชนิดเดียวใน 5 ชนิดที่แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยสารละลายเบต้า-แคโรทีน (ตารางที่ 3.8)

จากการวิเคราะห์คุณภาพของสารประกอบฟีนอลิกอิสระที่แยกได้จากตัวอย่างทั้ง 12 ชนิดพบว่าสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดเท่านั้นที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คือ gallic acid ซึ่งพบในกระถิน ผักชีล้อม ผักหนามปวยล่า ฟ้ายะลวยโจร และสระแหว่ hydroquinone จากผักฮ้วนหมู pyrocatechol จากผักฮ้วนหมูและโหระพาช้าง pyrogallol จากกระถิน และ sinapic acid จากหญ้าหวาน นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่ยังไม่สามารถบอกชนิดได้อีกซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ที่เลือกศึกษามี gallic acid เป็นองค์ประกอบ และแสดงสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fukumoto และ Mazza (2000) ซึ่งศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด โดยแสดงผลเป็นค่าความเข้มข้น (μM) ของสารประกอบฟีนอลิกที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ของ malonaldehyde ซึ่งเกิดจากการออกซิไดส์โดย ferric chloride/hydrogen peroxide ลดลงจนเป็นศูนย์ จากการทดลองดังกล่าวพบว่า gallic acid แสดงสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยใช้ความเข้มข้นเพียง 1500-2000 μM . เทียบกับสารมาตรฐาน คือ ascorbic acid (>4000 μM .) และ α -tocopherol (2000-5000 μM .) เมื่อพิจารณาโครงสร้างโมเลกุลของ gallic acid จะเห็นว่าประกอบด้วย hydroxyl group จำนวน 3 หมู่ hydroxyl group ในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับแอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือสารประกอบฟีนอลิกที่มีจำนวนของ hydroxyl group มาก จะแสดงแอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Fukumoto and Mazza, 2000; Pulido et. al., 2000) ถ้าจำนวน hydroxyl group ลดลงไป 1 หมู่ จะทำให้แอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระลดลงเล็กน้อย แต่ถ้าจำนวน hydroxyl group ลดลง 2 หมู่ แอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์คุณภาพของสารประกอบฟีนอลิกอิสระเทียบกับค่า antioxidant index ของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสอดคล้องกับข้อมูลดังกล่าวข้างต้น เช่น ในกรณีกระถิน จากการวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกอิสระ สามารถบอกชนิดของสารได้ 2 ชนิดจาก 4 ชนิด คือ gallic acid และ pyrogallol ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกทั้ง 2 ชนิดต่างก็มีจำนวน hydroxyl group ในโครงสร้างจำนวน 3 หมู่ (รูปที่ 4.1; A และ E) จึงเป็นผลให้สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่า

antioxidant index สูง คือเท่ากับ 11.36 (ตารางที่ 3.5) ส่วนในกรณีของผักฮ้วนหมู จากการวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิก สามารถบอกชนิดของสารได้ 2 ชนิด จาก 4 ชนิด คือ hydroquinone และ pyrocatechol ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกทั้ง 2 ชนิดมีจำนวน hydroxyl group ในโครงสร้างจำนวน 2 หมู่ (รูปที่ 4.1 ; C และ D) จึงเป็นผลให้สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่า antioxidant index ต่ำกว่าตัวอย่างชนิดอื่นที่มี gallic acid เป็นองค์ประกอบ คือมีค่า 7.56 กรณีของโหระพาช้าง ทราบชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเพียง 1 ชนิดจาก 5 ชนิด คือ pyrocatechol แต่สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากโหระพาช้างมีค่า antioxidant index สูง คือ 11.36 (ตารางที่ 3.5) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆที่ยังไม่สามารถทราบชนิดได้ เช่นเดียวกับตัวอย่างชนิดอื่นที่สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกมีค่า antioxidant index สูง เช่น ผักเชียงดา (17.08) และสะเดา (11.36) ซึ่งเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกที่ยังไม่สามารถทราบชนิดอาจมีโครงสร้างที่มีผลต่อแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณากรณีหญ้าหวาน สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากหญ้าหวานมีค่า antioxidant index สูงสุด คือ 17.08 จากการวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกอิสระสามารถบอกชนิดของสารได้ 1 ชนิดจาก 2 ชนิด คือ sinapic acid ซึ่งโครงสร้างของ sinapic acid มี hydroxyl group เพียง 1 หมู่ และมี methoxyl group อีก 2 หมู่ (รูปที่ 4.1 ; B) กรณีนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fukumoto และ Mazza (2000) ที่รายงานว่า การเพิ่ม methoxyl group เข้าไปที่โครงสร้างของกรดฟีนอลิก (ทั้ง benzoic acid และ cinnamic acid derivative) จะมีผลไปเพิ่มแอกติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระในกรณีที่ตรวจสอบโดยวิธีวัดอัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีน (β -carotene bleaching) ซึ่งเป็นวิธีเดียวกับที่ใช้ในการทดลองนี้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวรวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกที่ยังไม่สามารถทราบชนิดอีกจึงเป็นผลให้สารสกัดสารประกอบฟีนอลิกในหญ้าหวานมีค่า antioxidant index สูงสุด



รูป 4.1 โครงสร้างโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด A : gallic acid ;

B : sinapic acid ; C : hydroquinone ; D : pyrocatechol ;

E : pyrogallol

จากการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยส่วนใหญ่แสดงแอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของสารตัวอย่างที่คัดเลือกมา 12 ชนิด พบว่าองค์ประกอบหลักที่แสดงแอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งที่ทราบชนิดแล้วได้แก่ gallic acid hydroquinone pyrocatechol pyrogallol และ sinapic acid และนอกจากนี้ยังรวมไปถึงสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดที่ยังไม่สามารถทราบชนิดอีก