ว.วิทย. มข. 41(3) 723-730 (2556) KKU Sci. J. 41(3) 723-730 (2013)

การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ

Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Clerodendrum disparifolium* Leaves

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์[1*] *วรางคณา สบายใจ*[1] *และ สิริมาส นิยมไทย*[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากใบข่อยดำแห้งที่สกัดด้วยเอทิลแอซีเตตและเอทานอล 95% พบสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ แต่ไม่พบแอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี DPPH assay และ Folin-Ciocaltue ตามลำดับ พบว่าสารสกัดเอทิลแอซีเตตและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยรายงานเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 4.46±0.04 และ 4.03±0.14 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเอทิลแอซีเตตมีค่าเท่ากับ 258.84±3.84 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ในขณะที่สารสกัดเอทานอลมีค่าเท่ากับ 289.49±1.32 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด และพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.8191

[1]สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000

[*]Corresponding author, E-mail: kae_2028@hotmail.com

ABSTRACT

Phytochemical screening of the ethyl acetate and 95% ethanolic extracts from the dried leaves of *C. disparifolium* revealed the presence of bioactive substances such as flavonoids and alkaloids. The anthraquinones, terpenoids, tannins, saponins and cardiac glycosides were also tested but not found. The antioxidant activity and total phenolic content were evaluated according to DPPH assay and Folin-Ciocalteu method, respectively. The results showed that ethyl acetate and ethanolic extracts had antioxidant activities calculated in IC_{50}, 4.46±0.04, 4.03±0.14 mg/mL, respectively. The total phenolics content of the ethyl acetate extract was 258.84±3.84 mg GAE/g extract whereas the ethanolic extract was 289.49±1.32 mg GAE/g extract. The correlation between antioxidant activity and total phenolics content was observed with correlation coefficient 0.8191.

คำสำคัญ: ข่อยดำ สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

Keywords: *Clerodendrum disparifolium*, Phytochemicals, Antioxidant activity

บทนำ

พืชและพืชสมุนไพรเป็นแหล่งสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่สุด ตัวอย่างของสารพฤกษเคมีที่สำคัญ ได้แก่ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthroquinone glycoside) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย (Sakulpanich and Grissanapan, 2008) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Beer et al., 2002; Pourmorad et al., 2006) ต้านอักเสบ (Sharma et al., 2011) และเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Ghasemzadeh et al., 2010) แอลคาลอยด์ (alkaloids) มีฤทธิ์ต้านอักเสบและต้านมะเร็ง (พิสมัย, 2548) เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชและพืชสมุนไพรจึงมีความสำคัญไม่เพียงแต่ให้ประโยชน์ด้านการรักษาโรคเท่านั้น แต่ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชและพืชสมุนไพรชนิดนั้น ๆ ด้วย สารพฤกษเคมีที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เพราะสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (พิชญ์อร, 2549; พิสมัย, 2548; Ghasemzadeh et al., 2010) เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บที่ร้ายแรง เช่น โรคมะเร็ง และโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Pham-Huy et al., 2008) เป็นต้น

ข่อยดำ (*Clerodendrum disparifolium* Blume) จัดอยู่ในวงศ์ Lamiaceae (Verbenaceae) พบในทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย แอฟริกา และอเมริกา ในจังหวัดเพชรบุรีพบในเขต อ.ท่ายาง ข่อยดำมีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ใบออกตรงข้าม สีเขียวสด ออกดอกเป็นช่อสีขาวแกมเหลือง โคนกลีบเป็นหลอด สารสกัดจากใบมีสรรพคุณแก้พิษสัตว์กัดต่อย เช่น ผึ้ง ต่อ แตน และงู (ละเอียด, 2554; จำรัส, 2555) รายงานการศึกษาวิจัย

เกี่ยวกับข่อยดำมีดังนี้ สารสกัดจากใบข่อยดำมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูเบาหวานและทำให้ค่าทางโลหิตวิทยาของหนูเบาหวานใกล้เคียงหนูปกติ (ชูศรี และจตุพร, 2553) ส่วนรากนำมาต้มน้ำดื่มแก้ปวดเมื่อย (วงศ์สถิต, 2553) สำหรับรายงานการศึกษาวิจัยพืชในสกุลเดียวกับข่อยดำพบสารพฤกษเคมีที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ สเตียรอยด์ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ และแอลคาลอยด์ สารสกัดจาก *C. phlomidis* มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) สารสกัดจาก *C. colebrookianum* และ *C. trichotomum* มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากพืชสกุลนี้อีกหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านเนื้องอก และต้านเบาหวาน (Shrivastava and Patel, 2007)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากใบข่อยดำที่สกัดด้วย เอทิลแอซีเตต และเอทานอล 95% เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาสารสกัดจากข่อยดำให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุด

วิธีการวิจัย

แหล่งที่มาของตัวอย่าง

ตัวอย่างใบข่อยดำสดเก็บมาจาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม 2555 ตรวจเอกลักษณ์ด้วยรูปวิธานและเก็บตัวอย่างพืชแห้งไว้ที่หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

การเตรียมสารสกัดใบข่อยดำ

นำใบข่อยดำสดล้างให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้งเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนักใบข่อยดำแห้ง 1 กิโลกรัม สกัดด้วยเอทิลแอซิเตต จำนวน 10 ลิตร ด้วยวิธีการแช่หมัก (maceration) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยมีการเขย่าเป็นครั้งคราว กรองด้วยผ้าขาวบาง ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporation) ได้สารสกัดเอทิลแอซีเตต กากพืชที่เหลือนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ระเหยตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดเอทานอล

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ของสารสกัดส่วนเอทิลแอซีเตตและเอทานอล 7 กลุ่ม ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ จะใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (Trease and Evans, 2002; Harborne, 1998; รัตนา, 2547) ดังนี้

การตรวจสอบแอนทราควิโนน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10% H_2SO_4 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เติมสารละลายแอมโมเนีย (10% NH_3) 2-3 หยด สังเกตสีชมพูแดงที่เกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ ใช้การทดสอบซาลโควสกี (Salkowski test) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ครั้งละ 3-5 มิลลิลิตร 2-3 ครั้ง เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่า ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.H_2SO_4) หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 50% 3 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้ม และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc.

HCl) ให้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบซาโปนิน ใช้การทดสอบฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด กรอง นำของเหลวผลกรอง (filtrate) มาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าพบซาโปนิน

การตรวจสอบแทนนิน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ กรอง หยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 2-3 หยด ลงไปในของเหลวผลกรอง หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบแทนนิน

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 15 ml (2% H_2SO_4) นำไปอุ่น 2-3 นาที กรอง นำของเหลวผลกรองไปหยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ส่วนตามโครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คือส่วนสเตียรอยด์ ส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัวและส่วนน้ำตาลดีออกซี การทดสอบทำได้ดังนี้ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดสีออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ 2-3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วยเอทานอล 80% ทดสอบส่วนสเตียรอยด์ด้วยการทดสอบลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยเติมกรดแกลเชียลแอซีติก (glacial acetic acid) 3 หยด และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ ทดสอบส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัวด้วยน้ำยาเคดเด (Kedde reagent) จะให้สีม่วง และทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วยการทดสอบเคลเลอร์-คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วยกรดแกลเซียลแอซีติก-สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์-กรดซัลฟิวริกเข้มข้น จะปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Tan et al. (2009) โดยใช้โทรลอกซ์ (Trolox) เป็นสารมาตรฐาน ผสมสารสกัดที่ต้องการทดสอบหรือสารมาตรฐานโทรลอกซ์ 0.5 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง คำนวณร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH (% DPPH radical scavenging activity) จากสมการ

$$\%\ DPPH\ radical\ scavenging\ acivity = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100$$

เมื่อ A_o คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และ A_s คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ผสมกับสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Slinkard และ Singleton (1997) ใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 10-100 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) โดยผสมสารละลายกรดแกลลิกหรือสารสกัดที่ต้องการทดสอบปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (2% Na_2CO_3) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่

มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยง 3000 รอบ/นาที วัดค่าการดูกลืนแสงของสารละลายใสที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด (mg GAE/ g crude extract)

ผลการทดลอง

สารสกัดจากใบข่อยดำมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเขียวดำ น้ำหนักสารสกัดเอทิลแอซีเตตและเอทานอลมีค่าเท่ากับ 21.7905 และ 38.4156 กรัม ตามลำดับ และผลได้เป็นร้อยละคิดเป็น 2.18 และ 3.84 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์พบสารพฤกษเคมี 2 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์ ทั้งในสารสกัดเอทิลแอซีเตตและเอทานอล ดังแสดงในตารางที่ 2

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay รายงานเป็น ค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 พบว่า สารสกัดเอทิลแอซีเตตและสารสกัดเอทานอลมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.46±0.04 และ 4.03±0.14 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 ในขณะที่สารมาตรฐานโทรลอกซ์มีค่า IC_{50} เท่ากับ 14.86±0.23 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0037x - 0.0286$, $R^2 = 0.9933$) รายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด พบว่าสารสกัดเอทิลแอซีเตตและสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 258.84±3.84 และ 289.49±1.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดและผลได้เป็นร้อยละ (percentage yield)

สารสกัด	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ผลได้เป็นร้อยละ
เอทิลแอซีเตต	21.7905	2.18
เอทานอล	38.4156	3.84

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเอทิลแอซีเตตและเอทานอล

สารพฤกษเคมี	สารสกัดเอทิลแอซีเตต	สารสกัดเอทานอล
แอนทราควิโนน	-	-
เทอร์พีนอยด์	-	-
ฟลาโวนอยด์	+	+
ซาโปนิน	-	-
แทนนิน	-	-
แอลคาลอยด์	+	+
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ, + หมายถึง ตรวจสอบพบ

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดใบข่อยดำ

สารสกัด	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
เอทิลแอซีเตต	4.46±0.04
เอทานอล	4.03±0.14

ตารางที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/g crude extract)
เอทิลแอซีเตต	258.84±3.84
เอทานอล	289.49±1.32

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดเอทิลแอซีเตตและสารสกัดเอทานอลของใบข่อยดำ พบสารพฤกษเคมี 2 ชนิดคือ ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ (ตารางที่ 2) การตรวจสอบพบสารพฤกษเคมีดังกล่าวช่วยยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่สามารถแก้พิษสัตว์กัดต่อยได้ เนื่องจากฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์มีฤทธิ์ต้านอักเสบ (Sharma et al., 2011; พิสมัย, 2548) จากรายงานการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดจากใบของพืชในสกุล *Clerodendrum* หลายชนิด เช่น *C. trichotomum* และ *C. inerme* มีฤทธิ์ต้านอักเสบ (Choi et al., 2004; Yankanchi and Koli, 2010) และพบว่าสารสกัดของพืชดังกล่าวประกอบด้วยสารพฤกษเคมีในกลุ่ม เทอร์พีนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ (Choi et al., 2012; Florence et al., 2012)

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และเชื่อถือได้ เพราะอนุมูล DPPH มีความเสถียร เหมาะกับการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง (Koleva et al., 2002) พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดเอทิลแอซีเตตและสารสกัดเอทานอลมีค่าเท่ากับ 4.46±0.04 และ 4.03±0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ถึงแม้ค่า IC_{50} ของสารสกัดทั้งสองจะแตกต่างกันไม่มากนัก แต่ก็แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลมีความสามารถต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดเอทิลแอซิเตตโดยพิจารณาจากค่า IC_{50} ที่ต่ำกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีสารสกัดชนิดใดแสดงสมบัติต้านออกซิเดชันได้เทียบเท่ากับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ โดยค่า IC_{50} ของโทรลอกซ์เท่ากับ 14.86±0.23 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยพิจารณาจากการเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกได้สมการคือ $y = 0.0037x - 0.0286$ ($R^2 = 0.9933$) พบว่าในสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดเอทิลแอซิเตต (ตารางที่ 4) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.8191 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pourmorad et al. (2006) ที่พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูงจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงด้วย นอกจากนี้ยังพบอีกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และตัวทำละลาย กล่าวคือจากรายงานของ Mazandarani et al. (2012) พบว่าสารสกัดแอซีโตนจากรากของ *Onosma dichroanthum*

Boiss มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ปริมาณแอนโธไซยานินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเอทานอล สารสกัดเมทานอล และสารสกัดคลอโรฟอร์ม ในขณะที่รายงานของ Ghasemzadeh et al. (2011) พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลจากลำต้นใต้ดินของ *Zingiber officinale* มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดด้วยแอซีโตนและคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ

จากผลการทดลองเบื้องต้นทำให้ทราบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากใบข่อยดำ ผู้วิจัยเห็นว่าควรจะศึกษาสารสกัดจากใบข่อยดำในขั้นต่อไป คือ ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านอักเสบ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ เป็นต้น และแยกองค์ประกอบทางเคมีเพื่อหาโครงสร้างทางเคมีต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ประจำปีงบประมาณ 2555 มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีที่อนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้จนงานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

จำรัส เซ็นนิล. (2555). มหัศจรรย์ต้นข่อยดำ. แหล่งข้อมูล http://www.jamrat.net/wbtopic.aspx?topicid=64 ค้นเมื่อ วันที่ 18 เมษายน 2556.

ชูศรี ตลับมุข และจตุพร เผ่าพงษ์ไทย. (2553). ระดับน้ำตาลในเลือดและค่าทางโลหิตวิทยาในหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดใบข่อยดำ. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 6(1): 77-84.

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. (2549). การใช้สารประกอบฟีนอลิกของพืชเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 26(3): 222-238.

พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. (2548). บทบาทของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการป้องกันและรักษามะเร็ง. ศรีนครินทร์เวชสาร 20(3): 180-189.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 63-79.

ละเอียด สมเถาร. (2544, มีนาคม 20). พนักงานอัดสำเนา. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี. สัมภาษณ์.

วงศ์สถิต ฉั่วกุล. (2553). สมุนไพรพื้นบ้านแก้ปวดเมื่อย. ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 5(1): 1-13.

Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., and Manley, M. (2002). Phenolic compounds: A review of their possible role as *in vivo* antioxidants of wine. South African Journal of Enology and Viticulture..23(2): 48-61.

Choi, J.H., Whang, W.K., and Kim, H.J. (2004). Studies on the anti-inflammatory effects of *Clerodendrum trichotomum* Thunberg leaves. Archives of Pharmacal Reesarch 27(2): 189-193.

Choi, J.W., Cho, E.J., Lee, D.G., Choi, K., Ku, J., Park, K.W., and Lee, S. (2012). Antibacterial activity of triterpenoids from *Clerodendrum trichotomum*. Journal of Applied Biological Chemistry. 55(3): 169-172.

Florence, A.R., Joselin, J., and Jeeva, S. (2012). Intra-specific variation of bioactive principles in select members of the genus *Clerodendrum* L. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 4(11): 4908-4914.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., and Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officianle* Roscoe). Molecules. 15: 4324-4333.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., and Rahmat, A. (2011). Effects of solvent type on young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extract. Journal of Medicinal Plants Research. 5(7): 1147-1154.

Harborne, J.B. (1998). Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rd ed. London: Chapman & Hall. pp. 182-190.

Koleva, I.I., BeeK, T., Linseen, J.P.H., Groot, A., and Evstatieva, L.N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis 13(1): 8-17.

Mazandarani, M., Zarghami Moghaddam, P., Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., and Bayat, H. (2012). Effects of solvent type on phenolics and flavonoids concent and antioxidant activities in *Onosma dichroanthum* Boiss. Journal of Medicinal Plants Research 6(28): 4481-4488.

Pham-Huy, L.A., He, H., and Pham-Huy, D. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and heath. International Journal of Biomedical Science. 4(2): 89-96.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., and Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 5(11): 1142-1145.

Sakulpanich, A., and Grissanapan, W. (2008). Extraction method for high content of anthraquinones from *Cassia fistula* pods. Journal of Health Research 22(4): 167-172.

Sharma, G.N., Dubey, S.K., Sati, N., and Sanadya, J. (2011). Anti-inflammatory activity and total phavonoid content of *Aegle marmelos* seeds. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 3(3): 214-218.

Shivastava, N., and Patel, T. (2007). *Clerodendrum* and healthcare: An overview. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology 1(1): 142-150.

Slinkard, K., and Singleton, V.L. (1997). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture 28(1): 49-55.

Tan, S.K. Osman, H., Wong, K.C., Boey, P.L., and Ibrahim, P. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of *Swietenia macrophylla* leaf extracts. Asian Journal of Food and Agro-Industry 2(2): 181-188.

Trease, G.E., and Evans, W.C. (2002). Pharmacognosy. 15th ed. Edinburgh: W.B. Saunders. pp. 221-224, 303-306.

Yankanchi, S.R., and Koli, S.A. (2010). Anti-inflammatory and analgesic activity of mature leaves methanol extract of *Clerodendrum inerme* L. (Gaertn). Journal of Pharmacy Research 2(11): 782-785.

❑❑❑❑❑