

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด

Total phenolics content, antioxidant and antimicrobial activities of some herbs

สุวรรณณี แสนทวีสุข^{1*}, ดวงใจ จงตามกลาง¹, ทศนัวรรณ สมจันทร์¹ และ ปิติพงษ์ โทบันลือภพ²

Suwannee Saenthaweesuk^{1*}, Dungjai Jongtamklang¹, Thassawan Somchan¹ and Pitipong Thobunluepop²

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด โดยใช้การจัดพหุคูณแบบแฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (2 x 3 Factorial in CRD) 3 ซ้ำ ทำการศึกษาภายใต้ปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A วิธีการสกัด 2 ระดับ (ผงหยาบ และสกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์) ปัจจัย B ชนิดของพืชสมุนไพรพื้นบ้าน 5 ระดับ (ใบบัวบก, ใบขี้เหล็ก, ใบตำลึง, ใบแมงลัก, และใบกระเพรา) จากการศึกษพบว่า ใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 56.254 มิลลิกรัมต่อกรัม (P<0.01) มีค่าความสามารถของปริมาณสารที่ทำกรยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่งต่ำที่สุด คือ 2.510 มิลลิกรัมต่อกรัม (P<0.01) และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia Coli* (0157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด คือ 79.690 เปอร์เซ็นต์ และ 29.770 เปอร์เซ็นต์ (P<0.01) ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาที่จะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรมาเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลติและเป็นแหล่งยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติ

คำสำคัญ: ฟีนอลิกทั้งหมด, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์, สมุนไพร

ABSTRACT: The purpose of these studies to determine total phenolics content, antioxidant and antimicrobial activities of some herbs. A 2 x 3 Factorial Arrangement experiment in Completely Randomized Design with 3 replicate was used to evaluate the best extraction method and hers of total phenolics, antioxidant and antimicrobial activities. Treatments were the combination of two levels of extraction method (by crude and 70 % ethanol) being combined with five levels of type of herbs (Asiatic Penntwort, Cassod Tree, Ivy Gourd, Sacred Basil, Hairy Basill). The result show that 70 % ethanol extracts from Asiatic Penntwort had the highest content of total phenolics content (56.254 mg per g) (P<0.01) and 70 % ethanol extracts from Asiatic Penntwort had the greatest the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) (2.510 mg per g) (P<0.01). In addition, 70 % ethanol extracts from Asiatic Penntwort had the highest antimicrovial activity of *Escherichia Coli* (0157:H7) (79.690 %) and *Staphylococcus aureus* (29.770 %), respectively. The results provided evidence that the studied plant might indeed be potential sources of natural antioxidant and antimicrobial agents.

Keywords: total phenolics, antioxidant capacity, inhibition capacity of *E.Coli*, herbs

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Faculty of Veterinary and Animal Science, Mahasarakham University

² คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Faculty of Technology, Mahasarakham University

* Corresponding author: Saenthaweesuk.s@hotmail.com

บทนำ

อุตสาหกรรมอาหารเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยในปัจจุบัน ได้มีการนำเข้าวัตถุดิบที่เสริมเติมลงในอาหารสัตว์ (feed additives, FA) โดยเฉพาะสารปฏิชีวนะเร่งการเจริญเติบโต (antibiotic growth promoter; AGP) ซึ่งการนำเข้าวัตถุดิบเหล่านี้ ล้วนทำให้เกิดการเสียสมดุลทางการค้า โดยสมุนไพรพื้นบ้านไทยหลายชนิดที่ถูกใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา มีฤทธิ์ทางยาต่างๆ มากมาย สารประกอบออกฤทธิ์ที่สำคัญในสมุนไพรพื้นบ้านที่มักพบเป็นส่วนใหญ่ คือสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compound) สามารถละลายน้ำและสามารถสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether) และเอทานอล (ethanol) ได้ ด้วยเหตุนี้ในปัจจุบันทางวงการแพทย์จึงมักนำเอาพืชหรือผลไม้ที่มีปริมาณสารฟีนอลิกในปริมาณสูงมาใช้ร่วมในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ มากมาย โดยเฉพาะการป้องกันโรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความจำเสื่อม โรคมะเร็ง อีกทั้งนำมาใช้ในการชะลอความเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่ศึกษาสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในพืช ผัก และผลไม้ โดยมีการศึกษาในสมุนไพรพื้นบ้านของไทยน้อยมาก ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการนำเอาสมุนไพรพื้นบ้านไทยที่มีจำนวนมากมาศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia Coli* (O157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ในขั้นต้น น่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปใช้ได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ เพื่อที่จะช่วยให้ผู้ที่สนใจศึกษาในแง่ฤทธิ์เภสัชวิทยาของสมุนไพรไทยนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคตได้

วิธีการศึกษา

การทดลองนี้มีการจัดทรีทเมนต์แบบแฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (2 x 3 Factorial in CRD) 3 ซ้ำทำการศึกษาภายใต้ปัจจัย 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัย A คือ วิธีการสกัดสมุนไพร มี 2 ระดับ คือ a1 = ผงหยาบ (crude extract), a2 = สกัดด้วย เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ (70 % ethanol extract) ปัจจัย B คือ ชนิดของสมุนไพร มี 5 ระดับ คือ b1 = ใบบัวบก, b2 = ใบขี้เหล็ก, b3 = ใบตำลึง, b4 = ใบแมงลัก, b5 = ใบกระเพรา โดยมี treatment combination ทั้งหมด 10 treatment combination ทำการศึกษา โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteus method (Marinova et al. 2005) ทำการศึกษาหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ตามวิธีการของ Dasgupta and De (2006) และทดสอบการยับยั้งของสมุนไพรต่อการ เจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia Coli* (O157:H7) และ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Agar diffusion susceptibility test

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด พบว่า ปัจจัยของลักษณะผงมีอิทธิพลร่วมกันกับปัจจัยของชนิดพืชต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 56.254 มิลลิกรัมต่อกรัม ($P < 0.01$) รองลงมาคือใบบัวบกผงหยาบอบแห้ง 46.899 มิลลิกรัมต่อกรัม และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ และผงหยาบอบแห้ง คือ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 38.322 และ 33.578 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (Table 1) จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการสกัดพืชสมุนไพรด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมีค่ามากกว่า ผงหยาบอบแห้ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสกัดพืชสมุนไพรโดยใช้ เอทานอลเป็นตัวทำละลายจะได้สารสกัดที่มีคุณสมบัติขั้ว (polar) และไม่มีขั้ว (non-polar)

ออกมาเป็นจำนวนมาก และการสกัดด้วยเอทานอล จะมี polarity มากกว่าการสกัดด้วยผงหยาบอบแห้ง ซึ่งใช้สาร เมทานอลเป็นตัวทำละลาย (อภิกา, 2543) และเมื่อพิจารณาผลของสมุนไพรพื้นบ้านไทยต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า ปัจจัยของลักษณะผงมีอิทธิพลร่วมกับปัจจัยของชนิดพืชต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยค่าเฉลี่ยความสามารถของปริมาณสารที่ทำการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC₅₀)

ของใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถที่ดีที่สุดคือ ใช้ความเข้มข้นเพียง 2.510 มิลลิกรัมต่อกรัม (P<0.01) ใกล้เคียงกับ พืชญี่อ (2551) ซึ่งทำการศึกษาศึกษาพืชพื้นบ้านของไทยมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ใบต้ว ใบกระโดนบก และใบผักหวาน จากผลการวิจัยพบว่า ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์แบบ quadratic ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9603

Table 1 Effects of Thai herbs on total phenolics content, antioxidant capacity and antimicrobial potential

Main effect		Total phenolic content (mg/g)	Antioxidant activity; IC ₅₀ (mg/g) ¹	Antimicrobial activities (%)	
Extraction method	Herb			<i>Escherichia Coli</i> (0157:H7)	<i>Staphylococcus aureus</i>
Crude	-	29.035	29.425	39.953	15.054
70 % ethanol	-	34.571	23.413	43.570	18.419
-	Asiatic Penntwort	51.576	6.421	78.015	25.011
-	Cassod Tree	35.950	21.525	31.695	12.398
-	Ivy Gourd	18.919	49.811	0	3.483
-	Sacred Basil	29.210	24.573	46.426	19.586
-	Hairy Basill	23.364	29.765	52.495	23.205
		**	**	**	**
Crude	Asiatic Penntwort	46.899 ^b	10.333 ^h	76.340 ^b	20.253 ^d
Crude	Cassod Tree	33.578 ^d	25.523 ^e	30.240 ^g	10.116 ^h
Crude	Ivy Gourd	16.423 ^l	52.230 ^a	0 ^h	2.970 ^j
Crude	Sacred Basil	26.529 ^f	27.983 ^d	45.073 ^e	19.163 ^f
Crude	Hairy Basill	21.750 ^h	30.966 ^c	47.990 ^d	22.770 ^c
70 % ethanol	Asiatic Penntwort	56.254 ^a	2.510 ⁱ	79.690 ^a	29.770 ^a
70 % ethanol	Cassod Tree	38.322 ^c	17.526 ^g	33.150 ^f	14.680 ^g
70 % ethanol	Ivy Gourd	21.416 ⁱ	47.303 ^b	0 ^h	3.996 ⁱ
70 % ethanol	Sacred Basil	31.890 ^e	21.163 ^f	47.780 ^b	20.010 ^e
70 % ethanol	Hairy Basill	24.977 ^g	28.563 ^d	57.000 ^c	23.640 ^b

Means in the same column with different superscripts were significantly different (P<0.01)

¹IC₅₀ = the half maximal inhibitory concentration (mg/g)

นอกจากนี้จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างจะไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กล่าวคือพืชสมุนไพรพื้นบ้านชนิดใดที่มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงก็จะแสดงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี (พิชญ์อร, 2549) ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้จึงกล่าวได้ว่าใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับค่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากสารฟีนอลิกทั้งหมดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจำพวกที่มีฟีนอล (phenol) ซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน (hydrogen; H) ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้จะไปแทนที่ในตำแหน่งออกซิ (autho) ด้วยหมู่ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่าย โดยฤทธิ์ด้านออกซิเดชันมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน หรือความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระจะมีความสัมพันธ์กับจำนวน และตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group; -OH) อย่างไรก็ตามคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระนี้จะแตกต่างจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยพบว่า สารในกลุ่มนี้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งขบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชันมีความคงตัวต่ำ รวมทั้งมีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดีของสารกลุ่มนี้ที่ทำให้การผ่านเข้าสู่เซลล์ต่ำ (โสภา, 2549) เช่นเดียวกันกับค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิด คือ *Escherichia Coli* (0157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ ใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค คือ *Escherichia Coli* (0157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด คือ 79.690 และ 29.770เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Esekhiagbe *et al.*, 2009; Sengul *et al.*, 2009)

สรุป

ใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 56.254 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีค่าความสามารถของปริมาณสารที่ทำการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครั้งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC₅₀) ดีที่สุดคือ 2.510 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia Coli* (0157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด คือ 79.690 และ 29.770เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. 2549. สารสกัดยับยั้งการหืนในอาหารจากผักตบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- อริกา จารุโชติภมล. 2543. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของผักแพว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- โสภา วัชรคุปต์. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. โรงพิมพ์ พี เอส ปรีนท์, กรุงเทพฯ.
- Dasgupta, N. and B.De. 2006. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chem.* 101:471-474.
- Esekhiagbe, M., M.M.U. Agatemor and C. Agatemor. 2009. Phenolic content and antimicrobial potentials of *Xylopiya aethiopyca* and *Myristica argentea*. *Macedonian J.Chem.Chem Engi.* 28(2): 159–162 .
- Senful, M., E. Yildiz, N. Gungor, B. Cetin, Z. Eder and S. Ercisli. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plant. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22(1): 102-106.
- Marinova, D. F. Ribarova and M. Atanassova. 2005. Total phenolic compounds isolated from pigmented rice and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chem.* 101:1616-1625.