ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลชีพจากสารสกัดใบละมุดสีดา

Total Phenolic Content Antioxidant and Antimicrobial Activities from the *Madhuca esculenta* Leaves Extracts

ต่วนรอฮานี โตะกูบาฮา, โนร์เลียนา ยะโก๊ะ, ทวีสิน นาวารัตน์ และ นันธิดา ลิ่มเสฏฐโฐ*

Tuanrahanee Tohkubaha, Noliana Yakoh, Tawesin Navarat and Nunthida Limsettho*

โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

Chemistry and Apply Chemistry, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University

Received : 3 August 2018

Accepted : 23 October 2018

Published online : 25 October 2018

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบละมุดสีดา สกัดโดยใช้เมทานอล และเฮกเซน พบว่าสารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด 91.356±0.268% มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 11.332±0.327 mgGAE/100 mg sample จากนั้นทำบริสุทธิ์บางส่วนโดยวิธี Quick column chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย 100% Hexane จนถึง 70% MeOH:EtOAc (FR-1 ถึง FR-3) พบว่า FR-3 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 83.488±0.154% มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 4.952±0.299 mgGAE/100 mg sample และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis* และ *Salmonella typhimurium* พบว่า FR-1 มีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพ *B. cereus* และ *B. subtilis* ได้มากที่สุด

คำสำคัญ : ละมุดสีดา, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเชื้อ, การทำบริสุทธิ์บางส่วน

*Corresponding author. E-mail : nunthida.li@skru.ac.th

Abstract

The total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities from the *Madhuca esculenta* leaves extracted by methanol and hexane were studied. The results indicated that the methanol extracted had the highest antioxidant activity were 91.356±0.268% with total phenolic contents 11.332±0.327 mgGAE/100 mg sample. Then partial purification were performed by Quick column chromatography with solvent 100% Hexane to 70% MeOH:EtOAc were eluted (FR-1 to FR-3). The DPPH assay showed that FR-3 gave the highest antioxidant activity were 83.488±0.154% with total phenolic contents 4.952±0.299 mgGAE/100 mg sample. The antimicrobial activities (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhimurium*) from the *Madhuca esculenta* leaves extracted found that the FR-1 showed the highest antipathogenic bacterial activity against bacteria *B. cereus* and *B. subtilis.*

Keywords : *Madhuca esculenta*, antioxidant, antimicrobial, quick column chromatography

บทนำ

ละมุดสีดา หรือละมุดไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Madhuca esculenta* H.R. Fletcher จัดอยู่ในวงศ์ SAPOTACEAE การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับละมุดสีดาในประเทศไทยยังมีไม่มากทั้งที่ละมุดสีดาเป็นพืชหายากหรือใกล้สูญพันธุ์ สมัยก่อนนิยมปลูกเป็นไม้ผลกันมาก เคยพบขึ้นตามธรรมชาติในป่าชายหาดริมฝั่งทะเลทางภาคใต้ของไทย มาเลเซีย พม่า ศรีลังกา อินโดจีน และทางตอนเหนือของออสเตรเลีย ออกดอกและผลเป็นช่วง ๆ สลับกันเกือบตลอดปี (Suanlaksana, 2016) ละมุดสีดามีผลสีสันงดงาม รสชาติอร่อย มีวิตามินซีสูงจึงช่วยเสริมภูมิคุ้มกันโรค และช่วยป้องกันหวัดได้ เมล็ดใช้เป็นยาบำรุงกำลัง เปลือกของลำต้นละมุดนำมาต้มปรุงเป็นยาแก้บิด Pramkraisorn and Wasupongphan, (2015) พบว่าละมุดสีดาสายพันธุ์ *Madhuca grandiflora* ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับละมุดสีดา *Madhuca esculenta* มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดจากการศึกษาใบสดพืช 14 ชนิด ได้แก่ รามใหญ่ ขยัน หนามแดง สาละลังกา มังคะ กาติด ตะเคียนหิน สบู่ขาว แกแล สารภี น้ำใจใคร่ กำแพงเจ็ดชั้น รักทะเล และละมุดสีดา นอกจากนี้ Luo *et al.* (2002) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของลูกน้ำนม *Chrysophylum cainito L*. (star apple) ซึ่งเป็นพืชวงศ์ เดียวกับละมุดสีดาด้วยการสกัดผลสดด้วย เมทานอลและทำการแยกด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท (EtOAc) ตามลำดับ ส่วนย่อยแยกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 22 μg/ml

นอกจากนี้จุลชีพที่เป็นเชื้อก่อโรคเกี่ยวกับอาหารเป็นพิษและโรคท้องร่วง เช่น *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Salmonella typhimurium* โดยเชื้อก่อโรคเหล่านี้ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำและปวดมวนท้องรุนแรงเป็นส่วนใหญ่ บางครั้ง มีคลื่นไส้ อาเจียน เป็นไข้และปวดศีรษะ และอาการของโรคท้องร่วง ถือเป็นอาการของโรคกลุ่มหนึ่งในระบบทางเดินอาหารสามารถติดต่อได้รวดเร็ว เกิดในทุกฤดูกาลโดยเฉพาะในฤดูร้อน จากการสืบค้นข้อมูลยังไม่เคยมีการศึกษาหาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพจากสารสกัดใบของละมุดสีดามาก่อน

ดังนั้นโครงงานวิจัยนี้จึงสนใจในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลชีพจากสารสกัดใบละมุดสีดา เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาต่อยอด หรือศึกษาขั้นสูงต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการเตรียมสารสกัด

เก็บตัวอย่างใบละมุดสีดาจากต้นละมุดสีดา (*Madhuca esculenta* H.R. Fletcher) ภายในบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ในช่วงเดือนกันยายน ระบุชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้รูปวิธาน (Royal Botanic Garden, 2018) เลือกใบละมุดสีดาที่ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป นำใบละมุดสีดามาล้างให้สะอาด ผึ่งไว้ให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ห่อด้วยผ้าขาวบาง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 นำไปสกัดด้วยเมทานอล ส่วนที่ 2 นำไปสกัดด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:3 (w/v) เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ได้สารสกัดหยาบเมทานอล (crude methanol) และสารสกัดหยาบเฮกเซน (crude hexane) คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบ (% สารสกัดหยาบ = น้ำหนักสารสกัด/น้ำหนักตัวอย่าง) นำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

2. การทำบริสุทธิ์บางส่วนจากสารสกัดหยาบเมทานอล

การทำบริสุทธิ์บางส่วนจากสารสกัดหยาบเมทานอลจากใบละมุดสีดาด้วยวิธี Quick column chromatography นำสารสกัดหยาบเมทานอล 52.8670 g และ silica gel (Scharlau ขนาด 0.04-0.06 mm, Cat No. GE0048) ผสมให้เข้ากันบดจนเป็นผง บรรจุลงบนผิวหน้าของ silica gel ใน sintered glass นำกระดาษกรองปิดทับด้านบน จากนั้นทำการชะสารโดยใช้ตัวทำละลายอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 100%Hexane, 20%EtOAc:Hexane, 40%EtOAc:Hexane, 60%EtOAc:Hexane, 80% EtOAc:Hexane, 100% EtOAc, 5% MeOH:EtOAc, 15% MeOH:EtOAc, 30% MeOH:EtOAc, 50% MeOH:EtOAc และ 70% MeOH:EtOAc ตามลำดับ อัตราส่วนละ 300 ml ได้สารออกมา 11 ส่วนย่อย นำสารที่ได้แต่ละส่วนย่อยไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 30-35 $^{\circ}$C แล้วนำแต่ละส่วนย่อยไปทดสอบโดยโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) รวมส่วนที่มีรูปแบบการเคลื่อนที่ของสารคล้ายกันเข้าด้วยกัน นำสารสกัดที่รวมได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพต่อไป

3. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ดัดแปลงวิธีการของ Chareanphon and Wongkrachang (2015) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (0.1 mg/ml) ปริมาตร 20 µL เติม 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 µL และเติม 7.5 % Na_2CO_3 80 µL ตามลำดับ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm นำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid และแสดงผลเป็นค่า mg GAE /100 mg sample

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ดัดแปลงวิธีของ Jung *et al.* (2006) นำตัวอย่างหรือสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน (0.1 mg/ml) ปริมาตร 100 µL ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.5 mg/ml ปริมาตร 50 µL บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง microplate reader จากนั้นคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระตามสูตร %DPPH radical scavenging activity = (A-B)/A x 100 ซึ่ง A เป็นค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม (ซึ่งประกอบด้วยสารทั้งหมดยกเว้นตัวอย่างทดสอบ) และ B เป็นค่าการดูดกลืนแสงจากตัวอย่างทดสอบ

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากใบละมุดสีดา

ดัดแปลงวิธีของ Kongsai and Chalard (2013) ทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อจุลชีพโดยเชื้อที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Bacillus cereus, staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis* และ *Salmonella typhimurium*

เลือก isolated colony จำนวน 3-5 โคโลนี โดยใช้ loop แตะใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soya Broth (TSB) หลอดละ 2 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ประมาณ 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบเชื้อให้มีความขุ่นมาตรฐาน McFarland No. 0.5 (มีจำนวนเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml) ใช้ sterile cotton swab จุ่มลงในเชื้อที่อยู่ในอาหาร TSB นำมา swab เป็น 3 ระนาบ (Three dimension swab) ให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ปล่อยให้ผิวอาหาร TSA แห้ง (3-5 นาที) ใช้ cork borer เจาะหลุม แล้วหยดสารสกัดความเข้มข้น 0.1 mg/ml ลงไปตำแหน่งละ 20 µL โดยใช้เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติที่ปราศจากเชื้อ และใช้เมทานอลเป็นสารควบคุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของการยับยั้งเชื้อเป็น mm

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การสกัดสารด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเฮกเซน

จากการสกัดใบละมุดสีดาด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเฮกเซน พบว่าร้อยละของสารสกัดหยาบเมทานอลมากกว่าสารสกัดหยาบเฮกเซน (ตาราง 3.1) แสดงว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าเฮกเซน เนื่องจากได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่า จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้ง 2ส่วน ไปทดสอบหาปริมาณฟีนอลิก (ภาพ 3.2) และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ภาพ 3.3) พบว่าส่วนของสารสกัดหยาบเฮกเซนมีปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น้อยมากเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบเมททานอล จึงนำแค่ส่วนของสารสกัดหยาบเมทานอลเท่านั้นไปทำบริสุทธิ์บางส่วนต่อไป

ตารางที่ 3.1 น้ำหนักและร้อยละสารสกัดหยาบจากใบละมุดสีดา

ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละสารสกัดหยาบ (%)
เมทานอล	52.8670	26.40
เฮกเซน	12.5243	8.22

2. การทำบริสุทธิ์บางส่วนจากสารสกัดหยาบเมทานอล

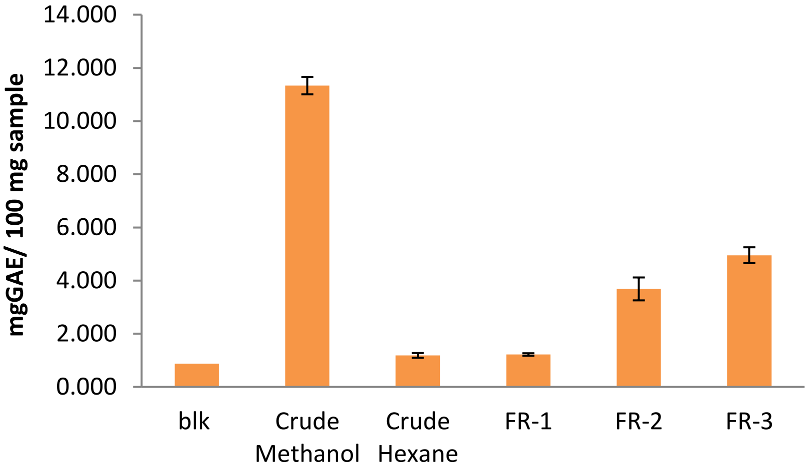
นำสารสกัดหยาบเมทานอลทำบริสุทธิ์บางส่วนโดยวิธี Quick column chromatography โดยเริ่มชะด้วยตัวทำละลาย 100% Hexane จนถึง 70% MeOH:EtOAc ตามลำดับ ได้ทั้งหมด 11 ส่วนย่อย นำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC สามารถรวมส่วนย่อยได้ 3 ส่วนย่อย โดยให้รหัส FR-1 FR-2 และ FR-3 (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.2 แสดงส่วนย่อยที่ได้จากการแยกโดย Quick column chromatography

ส่วนย่อยที่	น้ำหนักสาร (g)	ลักษณะทางกายภาพ
FR-1	0.7696	เป็นของเหลว ข้น สีเขียวเข้ม
FR-2	1.6064	เป็นของเหลว ข้น สีเขียวอมน้ำตาล
FR-3	0.9785	เป็นของเหลวข้น สีเขียวเข้ม

3. การทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

จากการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดใบละมุดสีดา (FR-1 ถึง FR-3) พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด คือ 11.332±0.327 mg GAE/100 mg sample ส่วนสารสกัดหยาบเฮกเซนมีปริมาณฟีนอลิกต่ำที่สุด คือ 1.185±0.090 mg GAE/100 mg sample ตามลำดับ สารที่สกัดด้วยเมทานอลเป็นสารที่มีความเป็นขั้วสูงจึงสามารถสกัดกลุ่มฟีนอลิกได้ดีกว่าสารที่สกัดด้วยเฮกเซนที่มีขั้วต่ำ ทำให้ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดหยาบเมทานอลมีปริมาณสูง สารประกอบฟีนอลิกสามารถดักจับอนุมูลอิสระได้เพราะมีโครงสร้างเคมีที่ประกอบด้วยหมู่ฟีนอลิก ซึ่งมีสมบัติเป็น nucleophile ที่ดีจำนวนหลายหมู่ (Lopes *et al*., 1999) ดังนั้นสารสกัดจากพืชที่พบมีสารประกอบเหล่านี้อยู่มาก จึงมักออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Cai *et al*., 2004) ส่วนสารที่สกัดด้วยวิธี Quick column chromatography พบว่า FR-3 มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด ตามด้วย FR-2 และ FR-1 เท่ากับ 4.952±0.299, 3.686±0.431 และ 1.219±0.047 mg GAE/ 100 mg sample ตามลำดับ ซึ่ง FR-3 เป็นสารสกัดที่มีความเป็นขั้วสูงและตามด้วย FR-2 และ FR-1 ในการวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Pramkraisorn and Wasupongphan, (2015) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบสดพืช 14 ชนิด โดยสกัดด้วย 80% เมทานอล จากการศึกษาพบว่าใบละมุดสีดามีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด เท่ากับ 4.70 mg GAE/ 100 mg sample

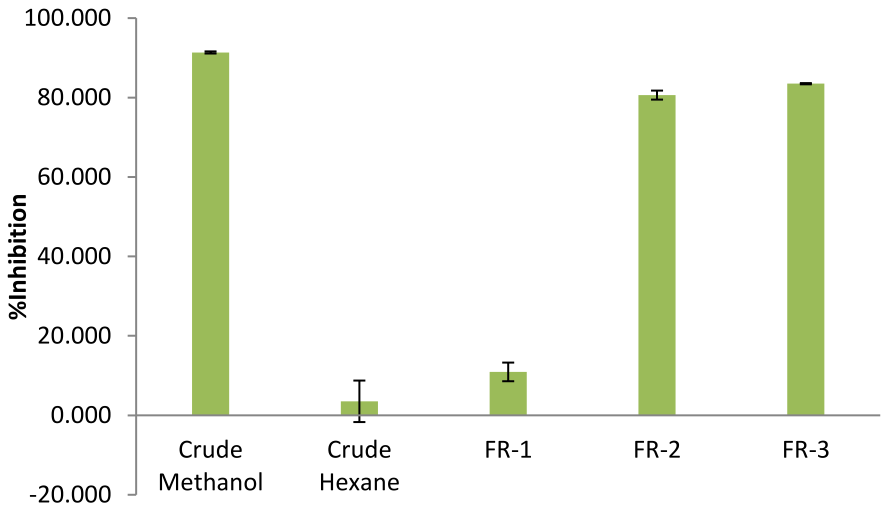


ภาพที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของใบละมุดสีดา

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบละมุดสีดาที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เฮกเซน และที่สกัดโดยวิธี Quick column chromatography (FR-1 ถึง FR-3) พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 91.356±0.268% ส่วนสารสกัดหยาบเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด เท่ากับ 3.527±0.090% และส่วนที่แยกโดยวิธี Quick column chromatography พบว่า FR-3 มีเปอร์เซ็นต์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ตามด้วย FR-2 และ FR-1 เท่ากับ 83.488±0.154, 80.620±1.137 และ 10.930±2.345 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ (Kong *et al*., 2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากเมล็ด เนื้อ และเปลือกของม่อนไข่ พืชวงศ์เดียวกับละมุดสีดา ที่สกัดด้วย 70% เอทานอล ซึ่งเป็นตัวละลายกลุ่มเดียวกับ เมทานอล พบว่าสารสกัดของเนื้อ และเปลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประมาณ 88% นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า FR-3 มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด ตามด้วย FR-2 และ FR-1 โดยสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็น free radical terminators ที่โครงสร้างหลัก

ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ที่สามารถใช้จับกับอนุมูลอิสระได้ (Sittikijyothin and Cherdwongcharoensuk, 2011) ดังนั้นเมื่อสารสกัดจากกลุ่มใบสีเขียว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมาก ทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง



ภาพที่ 2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ของใบละมุดสีดา

5. **การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากใบละมุดสีดา**

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากใบละมุดสีดา โดยเลือกสารสกัดเมทานอล และ FR-1 ถึง FR-3 เนื่องจากสารที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด นอกจากนี้งานวิจัยของ Whangumnuayporn and Chaiprasong (2007) พบว่าสกัดสมุนไพรที่สกัดได้จากตัวทำละลายเฮกเซน เมื่อมาทดสอบประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ พบว่า ประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพต่ำมากไม่สามารถต้านจุลชีพชนิดใดได้เลย ในการทดสอบนี้ใช้สารสกัดทดสอบกับจุลชีพ 5 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* และ *Salmonella typhimurium* โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลเป็นสารควบคุม เมื่อวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส พบว่าสารสกัดจากใบละมุดสีดาใน FR-1 สามารถต้านจุลชีพ *B. cereus* และ *B. subtilis* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส 15.30 และ 12.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ FR-1, FR-2 และ FR-3 สามารถต้านจุลชีพ *B. cereus* ได้ แต่ไม่สามารถต้านจุลชีพ *S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* ได้ ดังตารางที่ 3.5

***ตารางที่** 3.5* ผลการต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบละมุดสีดา

	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (mm)			
จุลชีพ	control	FR-1	FR-2	FR-3
B. cereus	-	15.30	9.33	10.43
S. aureus	-	-	-	-
E. coli	-	-	-	-
B. subtilis	-	12.30	-	-
S. typhimurium	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึงไม่เกิดการยับยั้ง, control = เมทานอล, ความเข้มข้น FR = 0.1 mg/ml

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบละมุดสีดา FR-1, FR-2 และ FR-3 สามารถต้านจุลชีพ *B. cereus* ได้ ส่วน FR-1 สามารถต้านจุลชีพได้ดีที่สุดทั้งจุลชีพ *B. cereus และ B. subtilis* นอกจากนี้ Mrinal *et al*. (2014) พบว่าสารสกัดเมทานอลจากผลละมุด ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับละมุดสีดา จากผลการวิจัยของ (พบว่าสามารถต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด NALM6 (pre-B cell leukemia) และ K562 (chronic myelogenous leukemia) ที่ใช้เวลาในการรักษา 72 ชั่วโมง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.9 mg/ml และ 2.5 mg/ml ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบละมุดสีดา ซึ่งสกัดด้วยเมทานอล และเฮกเซน ทดสอบปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 91.356±0.268% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 11.332±0.327 mg GAE/100 mg sample จึงใช้สารสกัดหยาบเมทานอลทำบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธี Quick column chromatography ได้ 3 ส่วนย่อย ได้แก่ FR-1, FR-2 และ FR-3 พบว่า FR-3 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 83.488±0.154% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 4.952±0.299 mg GAE/100 mg sample และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อพบว่า FR-1 สามารถต้านจุลชีพ *B. cereas* และ *B. subtilis* ได้ ส่วน FR-2 และ FR- 3 สามารถต้านได้แค่จุลชีพ *B. cereas*

เอกสารอ้างอิง

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Harold, C. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plans associated with anti cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 74*(17), 2157-2184.

Chareanphon, P and Wongkrachang, K. (2015). The Investigation of the Extraction Solvent System of Total Phenolics and Flavonoids–Rich Extracts and Antioxidant Activity from *Tagetes erecta* leaves. Chemistry Department, Pibulsongkram Rajabhat University. (in Thai)

Jung, B. K., Jong, B. K., Kang, J. C., Gabriele, M. K. and Anthony, D. W. (2006). Antioxidant Activity of 3,4,5-Trihydroxy benzaldehyde Isolated from Geum japonicum. *Journal of food & Drung Anal* ,*14*(2), 190-193.

Kong, K. W., Khoo, H. E., Prasad, N. K., Chew, L. Y. and Amin, I. (2013). Total phenolics and Antioxidant Activities of *pouteria campechiana* fruit parts. *Sains Malaysiana, 42*(2), 123–127.

Kongsai, S. and Chalard. C. (2013). Antibacterial Activities of the Crude Extract ofAcrostichumaureum L.Growing at RajamangalaUniversity of Technology Srivijaya, Trang Campus. RMUTP Research Journal Special Issue. 363-368. (in Thai)

Lopes, G. K. B., Schulman, H. M. and Lima, M. H. (1999). Polyphenol tannic acid inhibition hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Bio chem. Biophys Acta, 1426*, 475-482.

Luo, X. D., Margaret, J. B. and Edward, J. K. (2002). Polyphenol Antioxidants from the fruits of *Chrysophylum cainito L*. (star apple). *Journal of Agricultural and food chemistry,* 13;50(6),1379-82.

Mrinal, S., Mahesh, H., Kishore, K. C., Jinsha, K., Souvari, B., Bibha, C. and Sathees, C. R. (2014). Sapodilla Plum (Achras sapota) Induces Apoptosis in Cancer Cell Lines and Inhibits Tumor Progression in Mice. *Scientific Reports*, *6147*(4). 1-7.

Pramkraisorn, P. and Wasupongphan, W. (2015). Antioxidant from 14 kinds of Thai herbs. Chemistry Department, Faculty of Science. Saim University. *APHEIT Conference*.356-364 (in Thai)

Royal Botanic Garden (Kew).2018.Herbalium catalogue [Online] Available http://specimens.kew.org/herbarium/K00077 (9 October 2018)

Sittikijyothin, W. and Cherdwongcharoensuk, D. (2011). Free Radical Scavenging Activity of Seed Coat Extracts of Sweet and Sour Tamarinds . Burapha Science Journal, *16*(1), 47–55. (in Thai)

Suanlaksana. Retrieved 20June 2016, from http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=suanlaksana&month=02-2011&date=12&group=7&gblog=1

Whangumnuayporn, T. and Chaiprasong, R. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Activities from Thai herbs. Faculty of Science The University of the Thai Chamber of Commerce. (in Thai)