Agricultural Sci. J. 38 : 5 (Suppl.) : 59-62 (2007) ว. วิทย. กษ. 38 : 5 (พิเศษ) : 59-62 (2550)

ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากผลพิกุลดิบ

Antioxidant capacity of green Pikul (*Mimusops elengi*, Linn.) fruit extract

ช่อเพชร สระทองช่วง[1] และอรนาถ สุนทรวัฒน์[1]

Chopet Sratongchuang[1] and Oranart Suntornwat[1]

Abstract

Methanolic extracts from green fruit of 'Pikul' (*Mimusops elengi* , Linn.) were investigated for antioxidant capacity and phenolic content. The methanolic extracts were sequentially separated into hexane , ethyl acetate , n-butanol and water fractions. Two different assays for antioxidant capacity were used namely a method measuring radical scavenging and one measuring reducing capacity. Total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu method. Extracts from green fruit had strong antioxidant capacity when compared to trolox and vitamin C. Antioxidant capacities and phenolic compounds were detected in all fractions with the highest in the ethyl acetate fraction.

Keywords: antioxidant capacity , 'Pikul' fruit , phenolic compound

บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดจากผลพิกุลดิบ (*Mimusops elengi* , Linn.) ด้วยเมธานอล นำสารสกัดที่ได้ไปแยกลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายสี่ชนิด คือ เฮกเซน เอธิลอะซีเตท เอ็นบิวทานอลและน้ำ การทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นใช้สองวิธี คือ การหาความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ รวมทั้งการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้วิธีของ Folin-Ciocalteu พบว่าสารสกัดจากผลพิกุลดิบมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีเมื่อเทียบกับ trolox และวิตามินซี สำหรับสารที่ได้จากการแยกลำดับส่วนพบว่าส่วนที่ละลายในเอธิลอะซีเตทจะมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุด

คำสำคัญ: สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พิกุล สารประกอบฟีนอล

คำนำ

Reactive oxygen species (ROS) และ reactive nitrogen species (RNS) จะเกิดขึ้นในร่างกายอยู่ตลอดเวลา บางครั้งก็มากเกินกว่าที่ร่างกายจะรับมือได้ เพื่อป้องกันอนุมูลอิสระเหล่านี้ไม่ให้สร้างความเสียหายกับชีวโมเลกุลโดยเฉพาะอย่างยิ่ง DNA ลิปิดและโปรตีน มนุษย์จึงต้องได้รับสารที่จะช่วยจัดการกับอนุมูลอิสระเพิ่มเติม ในช่วงหลายปีมานี้นักวิทยาศาสตร์ได้ให้ความสนใจกลุ่มของสารที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีอยู่ในผักและผลไม้ เพราะจากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า การรับประทานผักและผลไม้จะมีส่วนช่วยลดอัตราการตายและการเกิดโรคของระบบไหลเวียนโลหิตรวมถึงมะเร็งบางชนิด ซึ่งกลไกหนึ่งที่เชื่อกันว่าอยู่เบื้องหลังการลดลงดังกล่าวนี้คือการทำงานของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีอยู่ในผักและผลไม้ (Guo *et al*.,2003) ถึงแม้ผักและผลไม้จะไม่ใช่อาหารหลักของมนุษย์เราแต่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมายเมื่อเทียบกับปริมาณแคลอรีเพียงเล็กน้อยที่ได้รับ สารประกอบที่มีประโยชน์เหล่านี้ ได้แก่ วิตามิน โปรวิตามิน และสารประกอบฟีนอล (Ismail *et al*.,2004) ซึ่งสารประกอบฟีนอลจัดเป็นพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Velioglu et al.,1998)

พิกุลหรือ spanish cherry (*Mimusops elengi*, Linn.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางที่ปลูกกันทั่วไปในประเทศเขตร้อนรวมทั้งประเทศไทย ส่วนต่าง ๆ ของต้นพิกุลมีสรรพคุณทางยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งแก้อาการปวดท้องและอาการในช่องปาก ผลพิกุลนั้นรับประทานได้ ผลดิบจะมีรสฝาดส่วนผลสุกจะมีรสหวาน การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพิกุลนั้นส่วนใหญ่ทำในเปลือกของลำต้น ใบ และราก นักวิทยาศาสตร์ชาวอินเดียได้รายงานข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ส่วนผลและเมล็ดของพิกุล (Misra and Mitra,1967) แต่ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ

[1]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม 73000

[1] Division of Chemistry , Silpakorn university , Sanarmchandrapalace Campus , Nakhonpathom , 73000

สารที่สกัดได้ ความฝาดของผลพิกุลนั้นคาดว่าน่าจะมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่มาก ดังนั้นสารสกัดจากผลพิกุลจึงน่าจะเป็นแหล่งของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีจากธรรมชาติซึ่งสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเวชสำอางค์แทนการใช้ BHT และ BHA ซึ่งเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อาจจะก่อมะเร็ง (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007)

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บผลพิกุลดิบมาผ่าเอาเมล็ดออกล้างน้ำให้สะอาดแล้วนำไปทำให้แห้ง 2 วิธี คือ freeze dried และอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C จนได้น้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปสกัดด้วยเมธานอลได้เป็น crude extract แล้วนำ crude extract ไปสกัดแยกลำดับส่วน (sequential extraction) ด้วยเฮกเซน* เอธิลอะซีเตท เอ็นบิวทานอลและน้ำ จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดไปทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย 2 วิธี คือ 1)radical scavenging assay คือ DPPH (Williams *et al*.,1995) และ ABTS assay (Lo and Cheung,2005) 2)reducing power assay คือ FRAP (Benzi and Strarin,1996) กับ potassium ferricyanide reduction assay (Joan-Hwa et al.,2002) รวมทั้งหาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้ Folin-Ciaocalteu reagent (Skerget *et al*.,2005)

หมายเหตุ *สำหรับ hexane extract จะไม่นำมาทดสอบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากสารมีปริมาณน้อยไม่พอสำหรับทำการทดสอบ

ผล

ในการทดสอบด้วย radical scavenging assay ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ใช้ 2 วิธี คือ DPPH และ ABTS assay โดยรายงานผลเป็นค่า trolox equivalent (Figure 1)

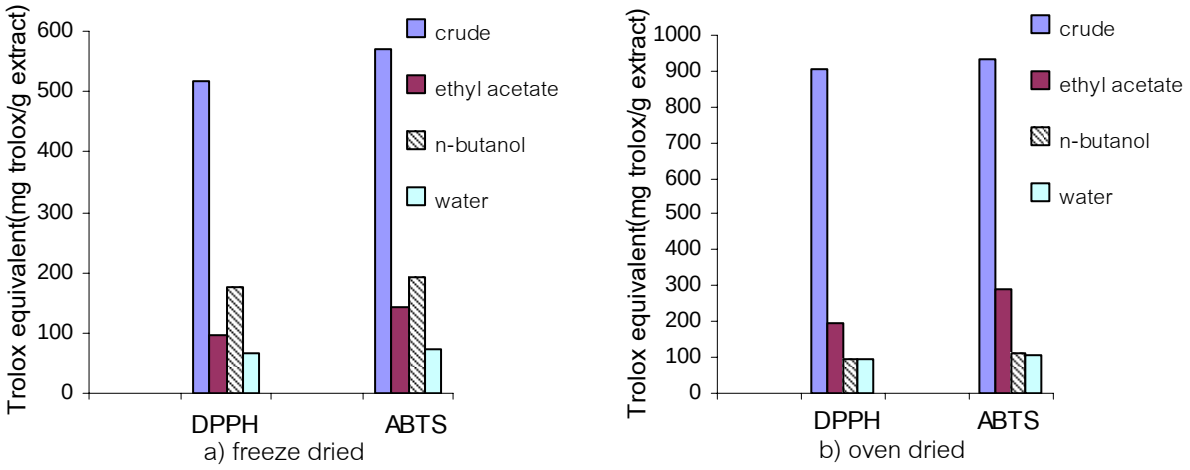
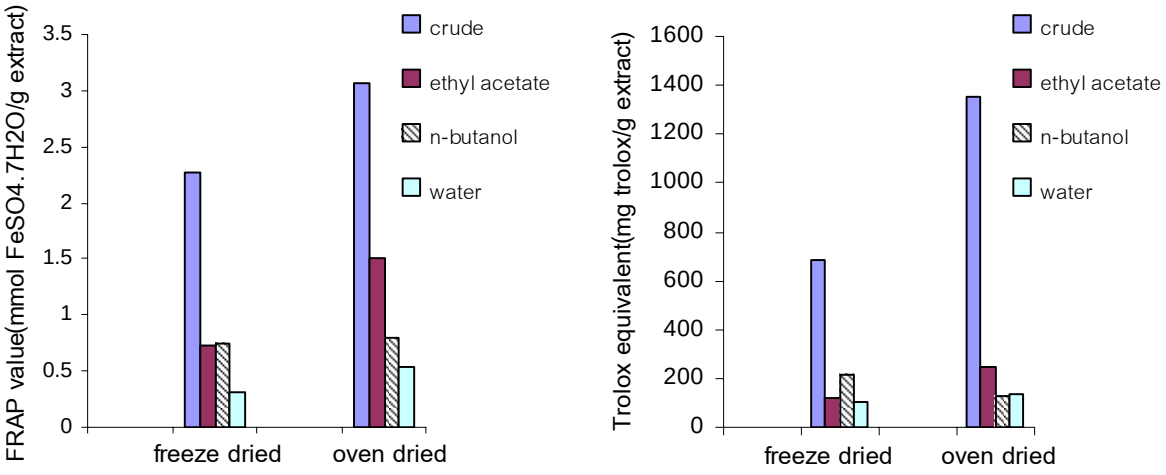


Figure 1 Scavening activity of crude extract and different fractions from green Pikul fruit

ในการทดสอบด้วย reducing power method วิธีนี้จะเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) โดยใช้ 2 วิธี คือ FRAP และ potassium ferricyanide reduction assay โดยรายงานผลเป็นค่า FRAP value และ trolox equivalent ตามลำดับ (Figure 2)



a) FRAP assay b) potassium ferricyanide reduction assay

Figure 2 Reducing power activity of crude extract and different fractions from green Pikul

เนื่องจากผลพิกุลมีรสฝาดจึงคาดว่าน่าจะมีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นจึงได้ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent โดยรายงานผลเป็นค่า gallic acid equivalent (Figure 3)

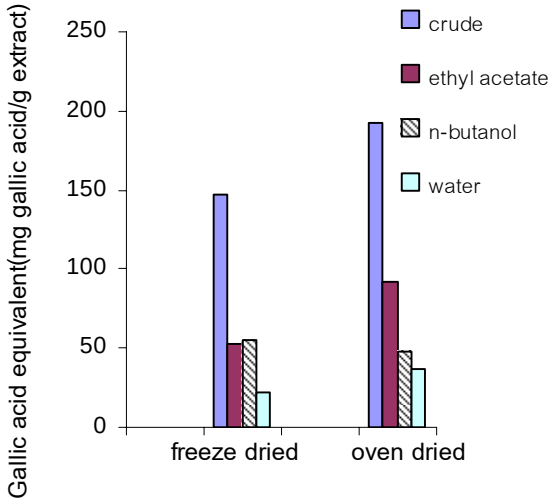


Figure 3 Total phenolic content of crude extract and different fractions from green Pikul

วิจารณ์ผล

จากการทดสอบโดยวิธี radical scavenging assay และ reducing power assay เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง crude extract ของผลพิกุลดิบที่ freeze dried และอบแห้ง พบว่าจะมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน (Figure 1 และ Figure 2) คือ crude extract ของผลพิกุลที่อบแห้ง จะมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์สูงกว่า freeze dried นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่พบใน crude extract ของผลพิกุลที่อบแห้งซึ่งสูงกว่า freeze dried (Figure 3) อีกด้วย

จากการทดสอบโดยวิธี radical scavenging assay 2 วิธี คือ DPPH และ ABTS assay เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง fractions ต่าง ๆ ของผลพิกุลดิบที่ freeze dried (Figure 1) จะมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ใน n-butanol extract จะมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ethyl acetate extract และ water extract ตามลำดับ ส่วนการทดสอบโดยวิธี reducing power assay 2 วิธี คือ FRAP และ potassium ferricyanide reduction assay จะมีแนวโน้มต่างกัน (Figure 2) ซึ่งในวิธี FRAP assay พบว่า n-butanol extract จะมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ใกล้เคียงกับ ethyl acetate extract ส่วน water extract จะมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ต่ำที่สุด แต่ในวิธี

potassium ferricyanide reduction assay พบว่า n-butanol extract มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์สูงที่สุด ส่วน ethyl acetate extract และ water extract มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ใกล้เคียงกัน แนวโน้มที่ต่างกันเล็กน้อยนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะของการทดสอบทั้ง 2 วิธีมีข้อแตกต่างกันอยู่บ้าง การที่สารสกัดได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกันจะเป็นสารที่มีความเป็นขั้วต่างกันและมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีในสภาวะที่ต่างกันด้วย นอกจากนี้พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลใน n-butanol extract ใกล้เคียงกับ ethyl acetate extract ส่วน water extract มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลต่ำที่สุด (Figure 3)

จากการทดสอบโดยวิธี radical scavenging assay และ reducing power assay เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง fractions ต่าง ๆ ของผลพิกุลดิบที่อบแห้ง พบว่าจะมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน (Figure 1 และ Figure 2) คือ ethyl acetate extract จะมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ดีที่สุด ส่วน n-butanol extract และ water extract มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่พบใน ethyl acetate extract สูงที่สุด และใน n-butanol extract และ water extract มีปริมาณใกล้เคียงกัน (Figure 3)

สรุป

จากผลการทดสอบด้วยวิธีต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากผลพิกุลดิบที่อบแห้ง จะมีแนวโน้มของความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่าสารสกัดจากผลพิกุลดิบที่ freeze dried และมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณของสารประกอบฟีนอล โดยจะเห็นว่าในสารสกัดจากผลพิกุลดิบที่อบแห้ง จะมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลมากกว่าสารสกัดจากผลพิกุลดิบที่ freeze dried ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Ferreira *et al*.(2004) ที่พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากเมล็ด *Pigeon pea* ที่อบแห้งมีมากกว่าในสารสกัดจากเมล็ด *Pigeon pea* ที่ freeze dried ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเกิดจากสารประกอบ non-phenolic บางตัวมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปในขณะที่เก็บตัวอย่างด้วยวิธีอบแห้งซึ่งมีอุณหภูมิสูงประมาณ 70°C และสารเหล่านี้อาจเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบฟีนอลหรือสารอื่นที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้คล้ายกับสารประกอบฟีนอลจึงอาจส่งผลรบกวนต่อการทดสอบได้ จากผลการทดสอบจะเห็นว่าผลพิกุลอบแห้งน่าจะเป็นแหล่งของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดี และมีกลุ่มของสารที่มีความเป็นขั้วต่างกัน จึงสามารถเลือกนำสารเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางทั้งในระบบที่เป็น aqueous และ non-aqueous

เอกสารอ้างอิง

Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry.102:1233-1240.

Benzi I.F.F., and Starin J.J.1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : The FRAP assay. Anal Biochem. 239: 70-76.

Brand – Williams W., Cuvelier M.E., and Berset C.1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol. 28:25-30.

Ferreira E.C., Nogueira A.R.A., Souza G.B., and Batista L.A.R. 2004. Effect of drying method and length of storage on tannin and total phenol concentrations in *Pigeon pea* seeds. Food Chemistry. 86:17-23.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., and Jiang, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research. 23:1719-1726.

Ismail, A., Marjan, Z.M., and Foong, C.W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetable. Food Chemistry. 87:581-586.

Joan-Hwa, Y., Hsiu-Ching, L., and Jeng-Leun, M. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushroom. Food Chemistry. 77:229-235.

Lo K.M., and Cheung P.C.K. 2005. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. Food Chemistry. 80:533-539.

Misra, G., and Mitra, C.R. 1967. Constituents of fruit and seed of *Mimusops elengi*. Phytochem. 6:453.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M., and Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food Chemistry. 89:191.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. of Agricultural and Food chemistry. 46:4113-4117.