

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลานิน ของใบหม่อน 5 พันธุ์

เทียนทิพย์ กลิกรณ์^{*}, ปัญญา ปัญญาทิพย์[†], ชวลิต โยงรัมย์[‡], อรรพรรณ ดอกเกี้ยง[§], บรรลือ สังข์ทอง^{||},
เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง^{#, **}

^{*} หลักสูตรเภสัชกรรมแผนไทย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[†] หลักสูตรวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[‡] หลักสูตรชีวเวชศาสตร์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[§] ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40000

^{||} หน่วยวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

[#] กลุ่มวิจัยเมลานิน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

^{**} ผู้รับผิดชอบบทความ: pploenthip@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวมและเมลานินในใบหม่อน 5 พันธุ์ คือ บุรีรัมย์ 60 ใหญ่บุรีรัมย์ สกลนคร คุณไผ่ และศรีสะเกษ โดยเก็บตัวอย่างใบหม่อนในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2561 จากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดขอนแก่น พบว่าพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $96.17 \pm 2.28 \mu\text{g/ml}$ และ เมื่อหา Ferric ion Reducing Antioxidant Power (FRAP) ได้ FRAP value เท่ากับ $163.99 \pm 9.26 \text{ mmol/100 g extract}$ แต่เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS พันธุ์ศรีสะเกษมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $75.24 \pm 1.71 \mu\text{g/ml}$ สำหรับปริมาณสารประกอบในพันธุ์ทั้ง 5 ของใบหม่อนพบว่าพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด $37.19 \pm 0.53 \text{ mgQE/g extract}$ ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และเมลานินปรากฏว่า พันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีปริมาณสูงสุด คือ $390.89 \pm 3.90 \text{ mgGAE/g extract}$ และ $9.77 \pm 0.32 \text{ g/g extract}$ ตามลำดับ จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวมและเมลานิน ที่พบในใบหม่อน

คำสำคัญ: หม่อน, ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน, ฟีนอลิกรวม, ฟลาโวนอยด์รวม, เมลานิน

The Antioxidant Activities, Total Phenolic, Flavonoid and Melatonin Contents of Five Cultivars of Mulberry Leaves

Tiantip Kasikorn^{*}, Panyada Panyatip[†], Chawalit Yonggram[‡], Orawan Dokkiang[§], Bunleu Sungthong[¶], Ploenthip Puthongking^{#,**}

^{*}Thai Traditional Pharmacy Program, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

[†]Research and Development in Pharmaceutical Program, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

[‡]Biomedical Science Program, Graduate school, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

[§]The Queen Sirikit Department of Sericulture, Khon Kaen 40000, Thailand

[¶]Pharmaceutical Chemistry and Natural Products Research Unit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44150, Thailand

[#]Melatonin Research Group, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

^{**}Corresponding author: pploenthip@kku.ac.th

Abstract

The objectives of this study aimed to determine antioxidant activities and analysis total phenolic, flavonoid and melatonin contents of five cultivars of mulberry leaves: Buriram 60, Yai-buriram, Sakonnakhon, Khunpai and Srisaket, were harvested from Queen Sirikit Sericulture Center, Khon Kaen in June, 2018. The results showed that Yai-buriram exhibited the highest antioxidant activity on DPPH (IC_{50} 96.17 ± 2.28 $\mu\text{g/ml}$) and FRAP (163.99 ± 9.26 mmol/100g DW) assays. While, the ABTS radical scavenging assay indicated that Srisaket comprised a good antioxidant activity with IC_{50} value of 75.24 ± 1.71 $\mu\text{g/ml}$. With regards to chemical constituents, Buriram 60 showed the highest flavonoid content at 37.19 ± 0.53 mgQE/g , Yai-Buriram showed the highest phenolic content at 390.89 ± 3.90 mgGAE/g DW and melatonin content at 9.77 ± 0.32 $\mu\text{g/g}$ extract. The result obtained implied that the antioxidant activity of mulberry leaf extracts was related with the amount of total phenolic and flavonoid, and melatonin contents.

Key words: mulberry, antioxidant activities, total phenolic, flavonoid, melatonin

บทนำ

หม่อน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morus alba* L. จัดอยู่ในวงศ์ Moraceae ในประเทศไทยพบปลูกอย่างแพร่หลายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพื่อนำใบใช้เป็นอาหารของหนอนไหม หรือใส่ในอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติ เนื่องจากใบมีรสจืดเย็นในทางการแพทย์แผนไทยจึงมีการนำมาใช้บรรเทาอาการเจ็บคอ แก้ไข้ หรือใช้ล้างตาแก้ตาอักเสบ ช่วยรักษาริดสีดวง

จมูก^[1] จากการทบทวนวรรณกรรมมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน เช่น ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน^[2] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ^[3] รวมถึงช่วยป้องกันการเสื่อมของระบบประสาท^[4] องค์ประกอบทางเคมีพบสารประกอบฟีนอลิก เคอซีติน และเคมเฟอร์อล^[5-6] ซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน^[7-9] อีกทั้งมีรายงานว่าพบสารเมลานโทนินในหม่อน^[10-11] ซึ่งเมลานโทนินเป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งที่จำเป็นในร่างกาย เนื่องจากทำ

หน้าที่ควบคุมวงจรการนอนหลับ และยังมีรายงานว่า สารเมลาโท닌สามารถป้องกันการเสื่อมของระบบประสาทซึ่งเป็นสาเหตุของโรคทางสมอง เช่น โรคอัลไซเมอร์ พาร์กินสันได้^[6] และมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันสูงเมื่อเทียบกับสารต้านออกซิเดชันทั่วไป^[12]

การใช้ชีวิตประจำวันในสังคมที่เร่งรีบ ความเครียด การรับประทานอาหารที่ไม่สมดุล รวมถึงมลพิษ ทำให้ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้น โดยปกติร่างกายจะสามารถผลิตสารต้านออกซิเดชันเองได้แต่อาจไม่เพียงพอ ดังนั้นการรับประทานอาหารบางชนิดหรือการใช้พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จะช่วยให้ร่างกายได้รับสารต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ซึ่งมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ และเพื่อเป็นการส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับหม่อน การวิจัยในครั้งนี้จึงมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบหม่อนรวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลาโท닌ของหม่อนจำนวน 5 พันธุ์ คือบุรีรัมย์ 60 ใหญ่บุรีรัมย์ สกลนคร คุณไผ่ และศรีสะเกษ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง และเป็นพันธุ์ที่ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดขอนแก่น ส่งเสริมให้มีการปลูก^[13]

ระเบียบวิธีศึกษา

1. ตัวอย่างพืช

เก็บใบอ่อนของหม่อน (ช่วงใบที่ 1-6) จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ บุรีรัมย์ 60 ใหญ่บุรีรัมย์ สกลนคร คุณไผ่ และศรีสะเกษ ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2561 จากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดขอนแก่น

2. การเตรียมสารสกัด

นำตัวอย่างใบหม่อนที่เก็บได้มาล้างทำความสะอาด และบดให้ละเอียด เติมนีออนในอัตราส่วน ตัวอย่าง 500 กรัม ต่อนีออน 1 ลิตร นำไปสกัดแยกสารด้วยการสั่นสะเทือนของอัลตราโซนิก (sonicate) นาน 20 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยแห้งตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40°C แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ได้ปริมาณสารสกัดอยู่ในช่วงร้อยละ 4.3-6.3 ของน้ำหนักสด สารสกัดที่ได้ใช้สำหรับวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และวิเคราะห์ปริมาณเมลาโท닌โดยกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่าง $n = 3$

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.1 วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay เตรียมสารสกัดตัวอย่าง ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 200 μM ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน และคำนวณหา %inhibition ซึ่งคำนวณได้จากสมการ $[(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$ โดย A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เติมสารตัวอย่าง และ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่เติมสารตัวอย่าง คำนวณหาค่า IC_{50} จากสมการเส้นตรงในช่วงที่เป็นเส้นตรงของกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัด (แกน x) กับ %inhibition (แกน y) และนำ 50 มาแทนค่า y ในสมการจะได้เป็นค่า IC_{50} ^[14]

3.2 วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS radical scavenging assay

เตรียมสารละลาย ABTS⁺ โดยเตรียม 7 mM ABTS ผสมกับ 2.45 mM potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1 แล้วเก็บในที่มืดให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.8-0.9 ก่อนทำการทดสอบ เตรียมสารสกัดตัวอย่าง ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับสารละลาย ABTS⁺ ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ตั้งไว้ในที่มืดนาน 6 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้โพรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน และคำนวณค่า IC₅₀^[15]

3.3 วิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric ion Reducing Antioxidant Power (FRAP)

เตรียมสารละลาย FRAP และสร้างกราฟสารมาตรฐาน ferrous sulfate (FeSO₄·7H₂O) ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.001-0.2 mM ทดสอบโดยผสมสารสกัดตัวอย่าง กับสารละลาย FRAP ในอัตราส่วน 2:8 ตั้งในที่มืดนาน 4 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโพรลอกซ์ รายงานค่าเป็น FeSO₄ mmol/100 g extract จากการคำนวณด้วยสูตร [(ความเข้มข้น ferrous sulfate × ปริมาตรทั้งหมด (ml) × 100)/(ปริมาตรของตัวอย่าง (ml) × ความเข้มข้นของตัวอย่าง (g/ml))]/1,000^[16]

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดโดยใช้วิธี folin ciocalteu colorimetric method เตรียมสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับ 10% folin-ciocalteu's reagent และสารละลาย 7% sodium carbonate ในอัตราส่วน 2:10:8 ที่ตั้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้

เครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 700 nm และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน gallic acid รายงานเป็น mgGAE/g extract^[17]

5. การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

วิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดโดยใช้วิธี aluminium chloride colorimetric assay เตรียมสารสกัดใบหม่อน ในความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมกับสารละลาย 2% aluminium chloride ในอัตราส่วนที่เท่ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน quercetin รายงานเป็น mgOE/g extract^[18]

6. การวิเคราะห์ปริมาณเมลาโทนิน

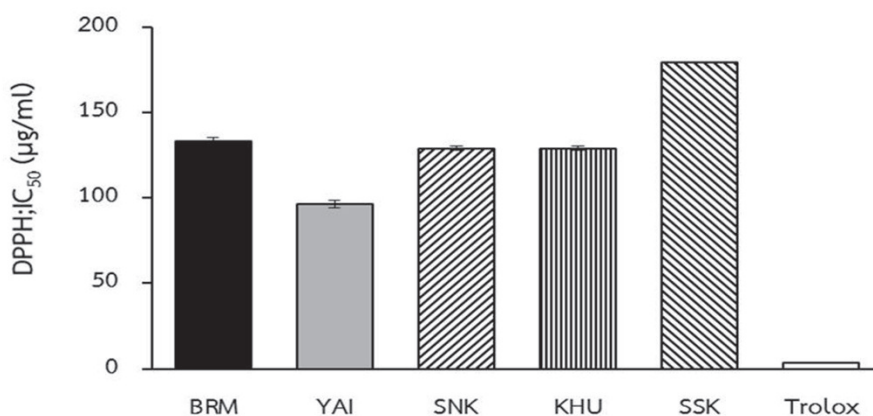
ในการวิเคราะห์ปริมาณเมลาโทนินด้วยเครื่อง Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LCMS 8030, Shimadzu Corp, Kyoto, Japan) ใช้คอลัมน์ C-18 (Inertsil ODS-3 C18; GL Sciences Inc., Japan) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.1 mm ความยาว 150 mm ขนาดอนุภาค 3 ไมโครเมตร โดยมี injection volume เท่ากับ 2 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ คือ 0.45% formic acid : acetonitrile (1:1) กำหนดอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 0.2 มล./นาที ทำให้เกิดไอออนโดยใช้เทคนิค Electrospray ionization (ESI) ตรวจวัดมวลด้วย triple quadrupoles mass spectrometer with positive mode วิเคราะห์มวลโดยวิธี Multiple Reaction Monitoring (MRM) โดยดูการเปลี่ยนแปลง m/z จาก 233 เป็น 174 เทียบกับสารมาตรฐานเมลาโทนิน^[19]

ผลการศึกษา

1. การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

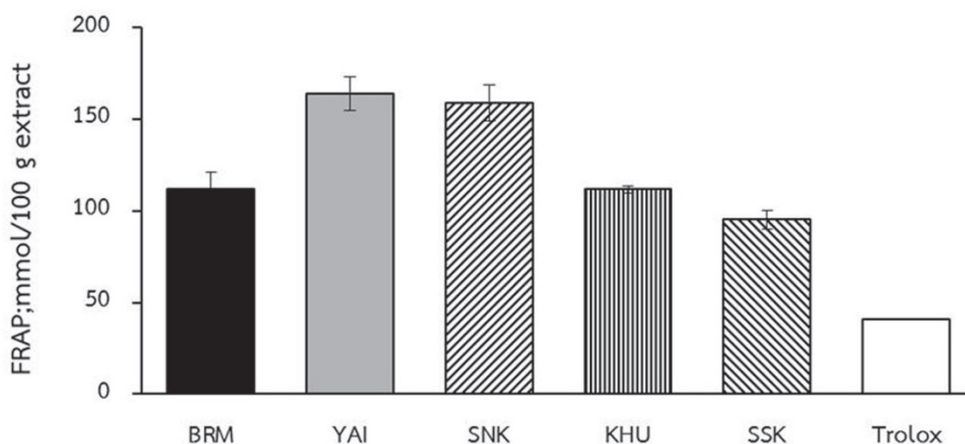
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของใบหม่อนทั้ง 5 พันธุ์พบว่าพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $96.17 \pm 2.28 \mu\text{g/ml}$ และพันธุ์ศรีสะเกษมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำสุด โดยมีค่า IC_{50}

เท่ากับ $170.19 \pm 0.40 \mu\text{g/ml}$ (ภาพที่ 1) และเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP พันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีความสามารถ ในการรีดิวซ์ Fe^{3+} สูงสุดโดยมีปริมาณ Fe^{2+} เท่ากับ $163.99 \pm 9.26 \text{ mmol/100 g extract}$ และพันธุ์ศรีสะเกษมีความสามารถ ในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ต่ำสุดโดยมีปริมาณ Fe^{2+} เท่ากับ $95.06 \pm 4.99 \text{ mmol/100 g extract}$ (ภาพที่ 2) ซึ่งทั้งสองวิธีแสดงผลไปในทิศทางเดียวกัน ขณะที่การศึกษาฤทธิ์ต้าน



ภาพที่ 1 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging

(■ BRM, บุรีรัมย์60; ■ YAI, ใหญ่บุรีรัมย์; ▨ SNK, สกลนคร; ▩ KHU, คุณไผ่; ▤ SSK, ศรีสะเกษ)



ภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferric ion Reducing Antioxidant Power

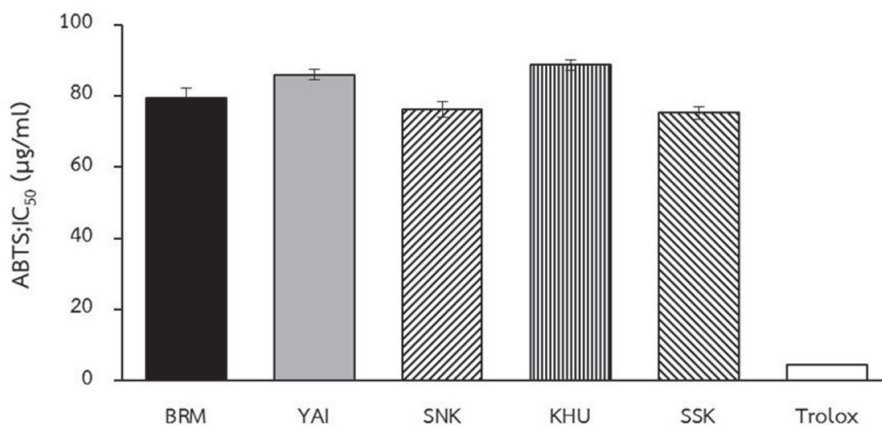
(■ BRM, บุรีรัมย์60; ■ YAI, ใหญ่บุรีรัมย์; ▨ SNK, สกลนคร; ▩ KHU, คุณไผ่; ▤ SSK, ศรีสะเกษ)

ออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS พบว่าพันธุ์สกลนคร และพันธุ์ศรีสะเกษ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $76.19 \pm 2.29 \mu\text{g/ml}$ และ $75.24 \pm 1.71 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และพันธุ์คุณไผ่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $88.71 \pm 1.47 \mu\text{g/ml}$ (ภาพที่ 3)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลานิน

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกรวม

พบว่าพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ $390.89 \pm 3.90 \text{ mgGAE/g extract}$ พันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดเท่ากับ $37.19 \pm 0.53 \text{ mgQE/g extract}$ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณเมลานินด้วยเทคนิค LCMS พบว่ามีเพียงพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์เท่านั้นที่วิเคราะห์หาปริมาณเมลานินได้ เท่ากับ $9.77 \pm 0.32 \mu\text{g/g extract}$ พันธุ์คุณไผ่และศรีสะเกษ พบปริมาณเมลานินน้อยกว่า 1.95 ng/ml และไม่สามารถตรวจพบปริมาณเมลานินได้ในพันธุ์บุรีรัมย์



ภาพที่ 3 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS radical scavenging (■ BRM, บุรีรัมย์60; ■ YAI, ใหญ่บุรีรัมย์; ▨ SNK, สกลนคร; ▩ KHU, คุณไผ่; ▤ SSK, ศรีสะเกษ)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลานินในใบหม่อน 5 พันธุ์

พันธุ์	สารประกอบฟีนอลิกรวม (mgGAE/g extract)*	ฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g extract)*	เมลานิน (μg/g extract)*
บุรีรัมย์ 60	274.02 ± 6.44	37.19 ± 0.53	ND
ใหญ่บุรีรัมย์	390.89 ± 3.90	10.15 ± 0.21	9.77 ± 0.32
สกลนคร	328.85 ± 3.32	12.04 ± 0.15	ND
คุณไผ่	290.94 ± 4.56	17.59 ± 0.23	ND
ศรีสะเกษ	229.78 ± 1.96	15.45 ± 0.54	ND

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

ND = Not detected; GAE = Gallic acid; QE = Quercetin

60 และสกลนคร ดังแสดงในตารางที่ 1

อภิปรายผล

การศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของใบหม่อนทั้ง 5 พันธุ์ พบว่าเมื่อทดสอบความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านอนุมูลอิสระแก่นุมูลของ DPPH ด้วยโมเดล DPPH พบว่าหม่อนพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์ มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่นุมูลของ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือพันธุ์สกลนคร คุณไพบูรัมย์ 60 และศรีสะเกษ ตามลำดับ และเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยการรีดิวซ์อนุมูลอิสระ สามารถจัดลำดับความแรงในการรีดิวซ์อนุมูลอิสระได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 หม่อนพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์และสกลนคร กลุ่มที่ 2 พันธุ์บุรีรัมย์ 60 และคุณไพบู และกลุ่มที่ 3 พันธุ์ศรีสะเกษ ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS เป็นการวัดความสามารถต้านออกซิเดชัน โดยดูความสามารถกำจัดอนุมูล $ABTS^+$ ซึ่งถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเปอร์ออกไซด์ สามารถจัดลำดับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไกนี้ได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 พันธุ์สกลนคร และศรีสะเกษ กลุ่มที่ 2 พันธุ์บุรีรัมย์ 60 และใหญ่บุรีรัมย์ และกลุ่มที่ 3 พันธุ์คุณไพบู ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 วิธี ให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน โดยพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่นุมูลอิสระ และรับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์สกลนคร และศรีสะเกษ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่

พบมากในอาหาร เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างขึ้นโดยพืช มีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน โดยฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิก^[20] และจากผลการวิเคราะห์พบว่าแต่ละพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลาโทนินแตกต่างกัน โดยพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และเมลาโทนินสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าความต่างของพันธุ์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อปริมาณสารสำคัญ รวมถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และจะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลาโทนินแปรผันตรงกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ มีองค์ประกอบจำพวกฟีนอลซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน จึงทำให้มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน^[7-9] และเมลาโทนินยังมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันโดยสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ได้หลายชนิด เช่น อนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) อนุมูลเปอร์ออกซิล ($ROO^{\cdot}$) และซิงเกิลออกซิเจน ($O_2^{\cdot}$) เป็นต้น^[21]

จะเห็นได้ว่าความต่างของพันธุ์มีอิทธิพลต่อปริมาณสารสำคัญในพืช รวมถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ในการเลือกพันธุ์หม่อนเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยังจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ปริมาณผลผลิตต่อปี ความต้านทานโรค แมลง และการเจริญเติบโตได้ดีในทุกสภาพแวดล้อม ซึ่งพันธุ์หม่อนที่นำมาวิจัยในครั้งนี้เป็นพันธุ์ที่เหมาะสม และได้รับการส่งเสริมให้ปลูกจากกรมหม่อนไหม ผลการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลใน

การเลือกพันธุ์หม่อนเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา
ด้านอื่น ๆ หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์จากใบหม่อนต่อไปได้

ข้อสรุป

การศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของใบหม่อนทั้ง 5 พันธุ์ พบว่าแต่ละพันธุ์มีความสามารถต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยพันธุ์ใหญ่บุรีรัมย์มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ส่วนพันธุ์สกลนครและพันธุ์ศรีสะเกษมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS แต่อย่างไรก็ตามทั้ง 3 พันธุ์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าโทรลอกซ์ (trolox) แต่สารสกัดทั้ง 5 พันธุ์มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนด้วยวิธี FRAP สูงกว่าโทรลอกซ์ ซึ่งแต่ละวิธีมีกลไกการทดสอบกลุ่มต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวม ฟลาโวนอยด์รวม และเมลานินที่พบในใบหม่อนแต่ละพันธุ์ที่แตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการไทย-จีน (DBG6080006) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย และศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ใบหม่อนที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

References

1. Homhual S. Mulberry. [Internet]. 2010 [cited 2017 Nov 14]; Available from: <http://www.thaicrudedrug.com/>

- main.php?action=viewpage&pid=141. (in Thai)
2. Chang LW, Juang LJ, Wang BS, Wang MY, Tai HM, Hung WJ, Chen YJ, Huang MH. Antioxidant and anti-tyrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. Food and Chemical Toxicology. 2011;49(4):785-90.
3. Soonthornsit N, Pitaksutheepong C, Hemstapat W, Utaisincharoen P, Pitaksuteepong T. In vitro anti-inflammatory activity of *Morus alba* L. stem extract in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2017;2017:3928956
4. Kuk E B, Jo A R, Oh S I, Sohn H S, Seong S H, Roy A, Choi JS, Jung HA. Anti-Alzheimer's disease activity of compounds from the root bark of *Morus alba* L. Archives of pharmacol research. 2017;40(3):338-49.
5. Surasiang R, Tinchana P, Wiwacharn P, Boonman S, Noppasene P, Chantarawich S, Sangsiri C, Kajonphol T. Determination of total phenolic compound, antioxidant activity and vitamin c in 8 mulberry leaf lines. Agricultural Sci. J. 2015;46(3):381-4 (in Thai)
6. Samransakul R. Total phenolic and antioxidant activity of mulberry leaves and mulberry tea from some sources in Thailand (dissertation). Bangkok: Chulalongkorn University; 2010.(115).(in Thai)
7. Turumtay E A, İslamoğlu F, Çavuş D, Şahin H, Turumtay H, Vanholme B. Correlation between phenolic compounds and antioxidant activity of Anzer tea (*Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*). Industrial Crops and Products. 2014;52:687-94.
8. Daduang J, Daduang S, Hongsprabhas P, Hongsprabhas P, Boonsiri P. High phenolics and antioxidants of some tropical vegetables related to antibacterial and anticancer activities. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011;5(5):608-15.
9. Yokoh K, Wesechasat T, Suwannachte P. Phenolic compound of 10 indigenous vegetables from Surat Thani Province. Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine. 2018;16(2):185-94 (in Thai)
10. Chen G, Huo Y, Tan D X, Liang Z, Zhang W, Zhang Y. Melatonin in Chinese medicinal herbs. Life sciences, 2003;73(1):19-26.
11. Pothinuch P, Tongchitpakdee S. Melatonin contents in mulberry (*Morus* spp.) leaves: effects of sample preparation, cultivar, leaf age and tea processing. Food Chemistry. 2011;128(2):415-9.
12. Pothinuch P. Melatonin in mulberry leaves and mulberry

- leaf tea: Effect of cultivar, leaf ages and tea processing (dissertation). Bangkok: Kasetsart University; 2010. (106). (in Thai)
13. The Queen Sirikit Department of Sericulture. Information about mulberry varieties. Bangkok: Agricultural Cooperatives of Thailand; 2013. 165 P. (in Thai)
 14. Arabshahi-Delouee S, Urooj A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry. 2007;102(4):1233-40.
 15. Shalaby E A, Shanab S M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. Indian Journal of Geo-Marine Sciences. 2013;42(5):556-64
 16. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne D H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of food composition and analysis. 2006;19(6-7):669-75.
 17. Um Min, Gyeong-Jin Shin, Jae-Won Lee. Extraction of total phenolic compounds from yellow poplar hydrolysate and evaluation of their antioxidant activities. Industrial crops and products. 2017;97:574-81.
 18. Čopra-Janićijević A, Čulum D, Vidic D, Tahirović A, Klepo L, Bašić N. Chemical composition and antioxidant activity of the endemic *Crataegus microphylla* Koch subsp. malyana KI Chr. & Janjić from Bosnia. Industrial crops and products. 2018;113:75-9.
 19. Kim T K, Kleszczynski K, Janjetovic Z, Sweatman T, Lin Z, Li W, Reiter RJ, Fischer TW, Slominski AT. Metabolism of melatonin and biological activity of intermediates of melatonergic pathway in human skin cells. The FASEB Journal. 2013;27(7):2742-55.
 20. Butkhup L. Dietary polyphenolic and their biological effects. Journal of Science and Technology Mahasarakham. 2012;31(4):443-55 (in Thai)
 21. Hochin W. Phytomelatonin and its potential use as a high melatonin functional products (dissertation). Mahasarakham: Mahasarakham University; 2017.(102). (in Thai)