Published online: 26 July 2019

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

Biological Activities of Bark Extracts from *Pinus merkusii* and *Pinus kesiya*

สายน้ำผึ้ง ชูชื่น
อีเมล์: H.neyqueen@hotmail.co.th
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. สริตา สังข์ทอง อาจารย์ที่ปรึกษา
อีเมล์: Sarita.san@mfu.ac.th
ผศ. ดร. ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อีเมล์: Phanuphong@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำปราศจากไอออน เอทานอลร้อยละ 50 เอทานอลร้อยละ 95 และอะซิโตน ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณผลผลิตของเปลือกสนสามใบและเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณมากที่สุดเท่ากับร้อยละ 19.3 ± 0.03 และ 2.2 ± 0.04 ตามลำดับ เปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินมากที่สุดเท่ากับ 1,575.46 ± 37.45 mg GAE/g extract และ 466.41 ± 17.47 mg CE/g extract ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.53 ± 0.00 µg/ml และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมากที่สุดเท่ากับ 863.70 ± 39.89 mg TEAC/g extract

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกสนโดยเฉพาะอย่างยิ่งเปลือกสนสามใบ มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและมีศักยภาพที่จะนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไปได้

คำสำคัญ: สนสองใบ/สนสามใบ/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส/ความเป็นพิษต่อเซลล์

Mae Fah Luang University

Abstract

The purpose of this research was to compare bioactive compound of bark extracts from *Pinus merkusii* and *Pinus kesiya* prepared by 4 solvents (DI water, 50% Ethanol, 95% Ethanol and Acetone). The highest extractable yields were found in 50% Ethanol extract from bark of *P. kesiya* and *P. merkusii* (19.3 ± 0.03% and 2.2 ± 0.04% respectively). Phenolic and proanthocyanidin content of 1,575.46 ± 37.45 mg GAE/g extract and 466.41 ± 17.47 mg CE/g extract were obtained from *P. kesiya* using 95% ethanol as solvent. It also provided the highest antioxidant activity assayed by DPPH and FRAP of IC_{50} 0.53 ± 0.00 μg/ml and 863.70 ± 39.89 mg TEAC/g extract, respectively. The result suggested that the extract of pine bark (especially *Pinus kesiya*) may be used as natural active ingredient in cosmetics.

Keywords: *Pinus merkusii*/*Pinus kesiya*/Antioxidant/Tyrosinase inhibitory activity/Cytotoxicity

บทนำ

ในยุคที่แสงแดด มลภาวะและความเครียดเป็นปัญหาสำคัญในการดำเนินชีวิตประจำวันของมนุษย์ ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้ผิวเสื่อมสภาพ เกิดริ้วรอย อีกทั้งแสงแดดยังส่งผลต่อเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำให้มีการสร้างเม็ดสีเพิ่มขึ้น เกิดเป็นฝ้า กระและจุดด่างดำ มนุษย์จึงหันมาสนใจ ใส่ใจในเรื่องสุขภาพและความงามมากขึ้นโดยเฉพาะสารสกัดที่มาจากธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยมและได้รับความสนใจจากผู้บริโภค มีงานวิจัยศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากเปลือกสนฝรั่งเศส (Maritime Pine, *Pinus pinaster*) พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง มีผลช่วย

บำรุงผิวพรรณได้ คือ โปรแอนโธไซยานิดิน (Oligomeric Proanthocyanidin, OPCs) ซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอล (Packer et al., 1999) เช่นเดียวกับที่พบในเมล็ดองุ่น สามารถเสริมสร้างคอลลาเจนให้ผิวหนัง ทำให้ผิวหนังแข็งแรง (Tixier et al., 1984) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดจากส่วนอื่น ๆ ของสน เช่น ใบ (needles) ราก (root) ยางสน (resins) และ น้ำมันสน (essential oil) พบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย

โดยทั่วไป สนสองใบและสนสามใบจะถูกนำเนื้อไม้ไปใช้เป็นเยื่อกระดาษ ไม้อัดและเฟอร์นิเจอร์ รวมถึงการใช้ประโยชน์จากน้ำมันสนและชันสนในการทำอุตสาหกรรมต่าง ๆ แต่ยังไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือกสนสองใบและสนสามใบเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอาง ซึ่งสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบน่าจะมีฤทธิ์และองค์ประกอบคล้ายหรือใกล้เคียงกับสารสกัดจากเปลือกสนฝรั่งเศสและสนต่างประเทศชนิดอื่น ๆ เนื่องจากอยู่ในตระกูลสนเช่นเดียวกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาเป็นสารสกัดจากเปลือกสนของไทยให้เป็นที่ยอมรับในตลาดอุตสาหกรรมในไทยและต่างประเทศ เพิ่มมูลค่าให้กับไม้สนของไทยต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเตรียมสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ
2. เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและโปรแอนโธไซยานิดินของสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ
3. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

ขอบเขตการวิจัย

เตรียมสารสกัดจากส่วนเปลือกของสนสองใบ (*Pinus merkusii* Jungh et de Vriers) และสนสามใบ (*Pinus kesiya* Royal ex Gordon) จากสถานีวนวัฒนวิจัย อินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ อะซิโตน เอทานอลร้อยละ 95 เอทานอลร้อยละ 50 และน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและโปรแอนโธไซยานิดิน รวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เตรียมได้ ตลอดจน

Mae Fah Luang University

ทดสอบความเป็นพิษ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

ทบทวนวรรณกรรม

สนสองใบ (*Pinus merkusii* Jungh et de Vriese) อยู่ในวงศ์ PINACEAE เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงได้ถึง 50 เมตร พบตามภูเขาที่แห้งแล้งและขึ้นประปรายในป่าเต็งรังทางภาคเหนือ บางส่วนของภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 300- 1,800 เมตร ลำต้นตั้งตรง เมื่ออายุน้อยรูปทรงคล้ายกรวยคว่ำ เมื่ออายุมากขึ้นเรือนพุ่มแผ่กว้างออก เปลือกลำต้นสีค่อนข้างดำหรือน้ำตาลปนดำ หนา อาจมีความหนาถึง 6-8 ซม. แตกเป็นร่องลึกตามความยาวของลำต้นและมีรอยทางขวางเป็นระยะ ๆ ใบยาวเรียวเป็นรูปเข็ม ออกเป็นช่อ ช่อละ 2 ใบ ยาว 15-25 ซม.

สนสามใบ (*Pinus kesiya* Royle ex Gordon) อยู่ในวงศ์ PINACEAE เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงประมาณ 35-45 เมตร ขึ้นเป็นกลุ่มตามป่าเขาที่สูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 800 – 1600 เมตร ในภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลำต้นเมื่ออายุน้อยรูปทรงคล้ายกรวยคว่ำ เมื่อโตขึ้นเรือนยอดแผ่ออกเป็นพุ่มกว้าง เปลือกลำต้นบาง สีน้ำตาลอมแดงหรือสีน้ำตาลอมชมพู เมื่ออายุมากจะแตกเป็นแผ่นและเป็นร่องลึก ใบเรียวยาวรูปเข็ม ออกเป็นช่อ ช่อละ 3 ใบเป็นหลัก ยาวประมาณ 12-21 ซม. (กรมป่าไม้, 2547)

การใช้ประโยชน์ของชาวเขา โดยทั่วไปชาวเขาใช้ประโยชน์ทั้งสนสองใบและสนสามใบในลักษณะเดียวกัน เนื้อไม้ใช้ทำเชื้อสำหรับจุดไฟให้ความสว่างยามค่ำคืนหรือจุดไฟในการหุงต้ม กิ่งก้านใช้ทำฟืน ลำต้นใช้ในการก่อสร้างภายในบ้าน เครื่องเรือนและเครื่องใช้ภายในบ้าน สำหรับการใช้เป็นยาพื้นบ้าน ไทยใหญ่และจีนฮ่อใช้กิ่ง ใบและดอก ลนไฟให้เกิดไอสำหรับสูดดมแก้โรคปอดบวมและปอดอักเสบ มีรายงานว่าชาวเขาเผ่ามูเซอใช้เนื้อไม้ของสนสองใบต้มกับผลเกี๋ยงป่า (*Pandanus furcatus*) เอาน้ำให้คนไข้ดื่มแก้อาการปัสสาวะติดขัด (สุธรรม อารีกุล และคณะ, 2551)

การใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ เนื้อไม้มีลวดลายที่สวยงามเกิดจากวงรอบปีและท่อน้ำมัน ในส่วนที่เป็นกระพี้ แก่น มักเป็นสีน้ำตาลอมชมพู ใช้ตกแต่งและขัดเงาได้ดี ในต่างประเทศนิยมใช้เนื้อไม้สนโดยกว้างขวาง เช่น ใช้ในการก่อสร้างภายในร่ม ทำเครื่องเรือน ภาชนะบรรจุสินค้าต่าง ๆ เพราะมีน้ำหนักเบา ราคาถูกและมีความคงทนพอสมควร นอกจากนี้ยังเป็นไม้ชนิดที่ใช้ทำเยื่อกระดาษกันเป็นส่วนมาก ในส่วนที่เป็นกระพี้ของลำต้นมีท่อน้ำมันจึงใช้เจาะ ได้ยาง น้ำมันและชันสน ไปใช้ใน

Mae Fah Luang University

อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมการทำสีน้ำมัน การทำสบู่และใช้ผสมทำยา เป็นต้น (วัฒนา เวทยประสิทธิ์, 2519)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

เก็บเปลือกสนทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ สนสองใบและสนสามใบ จากสถานีวนวัฒนวิจัย อินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2561 นำมาทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งและทำให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดใกล้เคียงกัน อบด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด เก็บไว้ในถุงซิปล็อค เพื่อรอการทดลองต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

ชั่งเปลือกสนที่บดละเอียดชนิดละ 30 g มาสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำปราศจากไอออน เอทานอลร้อยละ 50 เอทานอลร้อยละ 95 และอะซิโตน อย่างละ 300 ml แช่ลงในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปตั้งบนเครื่อง shaker ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ส่วนใสที่กรองได้นำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporation) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้เป็นสารสกัดหยาบจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบทั้งหมด 8 ตัวอย่างที่มีตัวทำละลายต่างกัน เก็บตัวอย่างสารสกัดไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัดที่ได้

3. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้สารสกัดเปลือกสนสองใบ 20 µl และสารสกัดเปลือกสนสามใบ 10 µl (ความเข้มข้นของสารสกัด 1 mg/ml) เติมน้ำปราศจากไอออนและสารละลาย Folin-Ciocalteu (ความเข้มข้น 0.25 N) 0.25 ml และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (ความเข้มข้นร้อยละ 7.5) 1.5 ml ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV – Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

Mae Fah Luang University

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของโปรแอนโธไซยานิดิน

วิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบโปรแอนโธไซยานิดิน โดยใช้สารสกัดเปลือกสนสองใบ และเปลือกสนสามใบชนิดละ 100 µl เติมวานิลิน (ความเข้มข้นร้อยละ 1) 0.6 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.3 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV – Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณหาปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานคาเทชินในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อกรัมสารสกัด (mg CE/g extract)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ เติมเอทานอลร้อยละ 95 และสารละลาย DPPH 2 ml ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV – Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณหาร้อยละการยับยั้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

นำสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ ผสมกับสารละลาย FRAP ที่ประกอบด้วยสารละลาย 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s- triazine (TPTZ) สารละลายเฟอริกคลอไรด์และสารละลายอะซิเตด บัฟเฟอร์ พีเอช 3.6 ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV – Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TEAC/g extract)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการศึกษามาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (IBM SPSS Statistics version 21)

Mae Fah Luang University

ผลการวิจัย

1. ปริมาณสารสกัดหยาบจากเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

ปริมาณของสารสกัดหยาบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.60 ถึง 19.30 โดยเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณของสารสกัดหยาบมากที่สุดคือร้อยละ 19.30 ± 0.03 เช่นเดียวกันกับเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณของสารสกัดหยาบเท่ากับร้อยละ 2.20 ± 0.04 ($p<0.05$)

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โปรแอนโธไซยานิดินของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

เปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 1,575.46 ± 37.45 mg GAE/g extract และเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 360.77 ± 14.04 mg GAE/g extract ($p<0.05$)

เปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินมากที่สุดเท่ากับ 466.41 ± 17.47 mg CE/g extract และเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินมากที่สุดเท่ากับ 103.17 ± 3.93 mg CE/g extract ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและโปรแอนโธไซยานิดินจากสารสกัดเปลือกสน พบว่าสารสกัดจากเปลือกสนสามใบ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและโปรแอนโธไซยานิดินสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกสนสองใบและเปลือกสนฝรั่งเศส ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและโปรแอนโธไซยานิดินของสารสกัดเปลือกสนสองใบ สนสามใบและสนฝรั่งเศส

ตัวทำละลาย	ปริมาณฟีนอลิก(mg GAE/g extract)			ปริมาณโปรแอนโธไซยานิดิน (mg CE/g extract)		
	สนสองใบ	สนสามใบ	สนฝรั่งเศส	สนสองใบ	สนสามใบ	สนฝรั่งเศส
อะซิโตน	119.81 ± 10.30^{c}	427.63 ± 39.32^{b,c}	-	57.45 ± 1.42^{c}	334.75 ± 35.49^{b,c}	-
เอทานอล 95%	191.97 ± 13.11^{b}	1,575.46 ± 37.45^{a}	-	81.78 ± 0.98^{b}	466.41 ± 17.47^{a}	-
เอทานอล 50%	360.77 ± 14.04^{a}	391.88 ± 71.15^{c}	-	103.17 ± 3.93^{a}	297.30 ± 1.09^{c}	-
น้ำ DI	88.04 ± 6.55^{d}	540.16 ± 18.72^{b}	-	9.45 ± 0.26^{d}	366.80 ± 4.37^{b}	-
เอทานอล	-	-	890 ± 0.00*	-	-	38 ± 6.00*

หมายเหตุ. Mean ± S.D (n=8) ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a, b, c, d) แสดงความแตกต่างกันของสารสกัดแต่ละชนิดในส่วนของพืชเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Parametric analysis: ANOVA: Duncan)

* from Jerez, M., Selga, A., Sineiro, J., Torres, J.L. & Nunez, M.J. (2005). A comparison between bark extracts from *Pinus pinaster* and *Pinus radiata*: Antioxidant activity and procyanidin composition. *Food chemistry*, *100*, 439-444.

Mae Fah Luang University

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตามตารางที่ 2 พบว่า เปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.53 ± 0.00 μg/ml และเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยน้ำ มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.00 ± 0.00 μg/ml ($p<0.05$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ตามตารางที่ 2 พบว่า เปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมากที่สุดเท่ากับ 863.70 ± 39.89 mg TEAC/g extract และเปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมากที่สุดเท่ากับ 379.25 ± 39.35 mg TEAC/g extract

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ FRAP assay ของสารสกัดเปลือกสนสองใบและสนสามใบ

ตัวทำละลาย	IC_{50} (μg/ml)		ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระวิธี FRAP (mg TEAC/g extract)	
	สนสองใบ	สนสามใบ	สนสองใบ	สนสามใบ
อะซิโตน	3.00 ± 0.00^{c}	0.57 ± 0.03^{a}	155.89 ± 18.87^{c}	$334.75 \pm 35.49^{b,c}$
เอทานอล 95%	2.07 ± 0.06^{b}	0.53 ± 0.00^{a}	245.46 ± 6.47^{b}	466.41 ± 17.47^{a}
เอทานอล 50%	1.50 ± 0.00^{a}	0.64 ± 0.02^{b}	379.25 ± 39.35^{a}	297.30 ± 1.09^{c}
น้ำ DI	12.00 ± 0.00^{b}	0.65 ± 0.01^{b}	81.95 ± 3.41^{d}	366.80 ± 4.37^{b}

หมายเหตุ. Mean ± S.D (n=8) ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a, b, c, d) แสดงความแตกต่างกันของสารสกัดแต่ละชนิดในส่วนของพืชเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (Parametric analysis: ANOVA: Duncan)

4. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โปรแอนโธไซยานิดินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และวิธี FRAP

ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเปลือกสนสองใบมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินของสารสกัดเปลือกสนสองใบพบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

Mae Fah Luang University

FRAP ในขณะที่ความสัมพันธ์ของปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินของสารสกัดเปลือกสนสามใบ พบว่า มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

สรุปผลการวิจัย

เปลือกสนสองใบและสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณของสารสกัดหยาบมากที่สุดคือร้อยละ 2.20 ± 0.04 และ 19.30 ± 0.03 ($p<0.05$) ตามลำดับ เปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 360.77 ± 14.04 mg GAE/g extract และเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 1,575.46 ± 37.45 mg GAE/g extract ($p<0.05$) เปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินมากที่สุดเท่ากับ 103.17 ± 3.93 mg CE/g extract และเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณโปรแอนโธไซยานิดินมากที่สุดเท่ากับ 466.41 ± 17.47 mg CE/g extract ($p<0.05$) เปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 และเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมากที่สุดเท่ากับ 379.25 ± 39.35 และ 863.70 ± 39.89 mg TEAC/g extract ($p<0.05$) เช่นเดียวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า เปลือกสนสองใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีความสามารถมากที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.50 ± 0.00 µg/ml และเปลือกสนสามใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความสามารถมากที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.53 ± 0.00 µg/ml ($p<0.05$) ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าสารมาตรฐาน Trolox ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.97 ± 0.06 µg/ml

รายการอ้างอิง

กรมป่าไม้. (2547). *คุณลักษณะของไม้ไทย*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

วัฒนา เวทยประสิทธิ์. (2519). *ไม้สนเขตร้อน*. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Mae Fah Luang University

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และอ่องเต็ง นันทแก้ว. (2551). *องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของประเทศไทย*. กรุงเทพฯ: บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนดับลิชชิ่ง.

Packer, L., Rimbach, G., & Virgili, F. (1999). *Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (Pinus maritima) bark, pycnogenol*. Department of Molecular and Cell Biology. University of California, Berkeley, California, USA.

Tixier, J.M., Godeau, G., Robert, A.M., & Hornebeck, W. (1984). Evidence by in vivo and in vitro studies that binding of pycnogenols to elastin affects its rate of degradation by elastases. *Biochem Pharnacol*, *33*(24), 3933-3939.

Mae Fah Luang University