

การวิเคราะห์สารฟลาโวนไกลโคไซด์ในสารสกัดจากใบไผ่หางหม่น “นวลราชินี” ด้วยเทคนิค TLC และ HPLC*

Determination of flavone C-glycosides in bamboo leaf extract of Pai Sang Mon "Nuan Rajinee" using TLC and HPLC techniques

Received:	April	13, 2019
Revised:	October	17, 2019
Accepted:	October	25, 2019

เพ็ญนภา การะเวก (Pennapa Karawak)**

โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ์ (Chockpisit Thepsithar)***

สุพรรณฤฎิกา เสี่ยงสาย (Supanyika Sengsai)****

ศรัณยพร มากทรัพย์ (Sarunyaporn Maksup)*****

บทคัดย่อ

ไผ่ เป็นพืชที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ใบของไผ่มีสารฟลิกษเคมีที่มีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระสูง เช่น สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ไผ่หางหม่น “นวลราชินี” (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) เป็นไผ่อีกชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกในประเทศไทยเพื่อใช้ส่วนของลำต้น แต่ส่วนของใบที่เหลือทิ้งยังไม่มีการศึกษาการนำไปใช้ประโยชน์มากนัก อีกทั้งอายุของใบไผ่อาจมีผลต่อปริมาณของสารสำคัญ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในใบไผ่หางหม่นที่มีอายุแตกต่างกัน รวมถึงวิเคราะห์ชนิดของสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค Thin-layer Chromatography (TLC) และเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบไผ่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และสารฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 4.694 ± 0.196 mg GAE/g DW และ 26.768 ± 0.826 mM QE/g DW ตามลำดับ รองลงมาคือใบกลาง และใบอ่อน ตามลำดับ และใบไผ่หางหม่นมีสารประกอบฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ isoorientin, orientin, isovitexin และ vitexin เป็นองค์ประกอบ โดยพบสาร isoorientin มากที่สุด รองลงมาคือ orientin, vitexin และ isovitexin ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าใบของไผ่หางหม่นอาจนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพเพื่อให้มีมูลค่าสูงขึ้นได้

คำสำคัญ : ไผ่หางหม่น “นวลราชินี”, สารประกอบฟีนอลิกรวม, ฟลาโวนไกลโคไซด์, โอรีเอ็นทิน

* การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสาร ฟลาโวนอยด์รวม ในใบไผ่ที่มีอายุแตกต่างกัน ได้แก่ ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่ อีกทั้งยังจำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ในใบไผ่หางหม่นด้วยเทคนิค TLC และ HPLC

** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Department of Biology, Silpakorn University, Nakornpathom 73000., pakka_19@hotmail.com

*** รองศาสตราจารย์ ดร. ประจักษ์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Associate Professor Dr., Department of Biology, Silpakorn University, Nakornpathom 73000.

**** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประจักษ์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Assistant Professor Dr., Department of Biology, Silpakorn University, Nakornpathom 73000.

***** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประจักษ์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Assistant Professor Dr., Department of Biology, Silpakorn University, Nakornpathom 73000., srypms@yahoo.com

Abstract

Bamboo is a plant with multifunctional uses. Leaves of bamboos also contain phytochemical substances with high antioxidant activity, such as phenolic compounds and flavonoid compound. Pai Sang Mon "Nuan Rajinee" (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) is one of commercial trait grown in Thailand for utilize the stem but the uses of bamboo leaves were not yet clearly studied. The age of bamboo leaves may also affect the amount of important substances. Therefore, this research aimed to study total phenolic and total flavonoids contents in bamboo leaves at different ages and identified the type of flavonoids using thin-layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) technique. The results showed that the extract from old leaves contained the highest total phenolic and flavonoid contents, followed by middle leaves and young leaves. The total phenolic content and total flavonoid content in the old leaves were 4.694 ± 0.196 mg GAE/g DW and 26.768 ± 0.826 mM QE/g DW, respectively. HPLC analysis showed that bamboo leaves compose of flavone C-glycosides such as isoorientin, orientin, isovitexin and vitexin in which isoorientin had the highest content and followed by orientin, vitexin and isovitexin, respectively. The results suggested that leaves of Pai Sang Mon may be used to develop into health products for higher value.

Keywords : *Dendrocalamus sericeus* Munro, phenolic compound, flavone C-glycoside, orientin

บทนำ

ไผ่ จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยววงศ์หญ้า (Poaceae: Bambusoideae) มีการแพร่กระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในเขตร้อนชื้น ประเทศไทยมีไผ่หลากหลายสายพันธุ์โดยไผ่ที่ปลูกเป็นพันธุ์เศรษฐกิจ ได้แก่ ไผ่ตง ไผ่สีสุก ไผ่หูก ไผ่รวก ไผ่ปักกิ่ง และไผ่ข้าวหลาม เป็นต้น (Talabgaew et al., 2007) ในบรรดาไผ่ที่เกษตรกรนิยมปลูก ไผ่ขางหม่น “นวลราชินี” จัดว่าเป็นไผ่ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูงเนื่องจากมีลำต้นที่ตรงยาว แข็งแรง เนื้อไม้หนา และมีประโยชน์หลากหลาย เช่น การนำลำต้นไปทำเฟอร์นิเจอร์ ใช้ในการก่อสร้าง หรือการนำไปทำถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) เป็นต้น (Chaowana et al., 2015; Phuangchik, 2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่า สารสกัดที่ได้จากใบไผ่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น มีคุณสมบัติเป็นสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) สารต้านแผลเปื่อย (antiulcer) สารต้านเบาหวาน (anti-diabetic) สารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ยาถ่ายพยาธิ (anthelmintic) ยาจำพวกรักษาโรคเรื้อน (antileprotic) ยาด้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulation) ยาด้านจุลชีพ (antimicrobial) ยาด้านเชื้อรา (antifungal) ยาด้านมะเร็ง และคุณสมบัติทางยาอื่น ๆ อีกหลายประการ (Hu et al., 2000; Jung et al., 2005; Seki et al., 2010; Ghasemzadeh et al., 2011; Rathod et al., 2011; Singhal et al., 2013; Wasnik and Tumane, 2014; Hossain et al., 2015) ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดจากใบไผ่มีสารพฤกษเคมี (phyto-pharmacological substances) หลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีน (protein), ซิลิกา (silica), โคลีน (choline), บีเทน (betaine), ไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ (cyanogenetic glycosides), อัลบูมินอยด์ (albuminoids), กรดออกซาลิก (oxalic acid), น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar), เรซิน (resins), ไข (waxes), กรดเบนโซอิก (benzoic acid), อาร์จินีน (arginine), ซีสเทอีน (cysteine), ฮิสติดีน (histidine), ไนอาซิน (niacin), ไรโบฟลาวิน (riboflavin), วิตามินบีหนึ่ง หรือ ไทแอมีน (thiamine), กลูเตลีน (gluteline), ลิวซีน (lysine), เมไทโอนีน (methionine), เอนไซม์โปรทีโอไลติก (proteolytic enzyme), นิวคลีเอส (nuclease) และ ยูรีเอส (urease) (Rathod et al., 2011) นอกจากนี้ในใบไผ่ยังพบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ (flavone C-glycosides) เช่น โอริเอ็นทิน (orientin), ไอโซโอริเอ็นทิน (Isoorientin), วิติซิน (vitexin) และ ไอโซวิติซิน (isovitexin) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เช่น กรดพิกมาริก (p-coumaric acid), กรดคลอโรเจนิก (chlorogenic acid), กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงอีกด้วย (Zhang et al., 2005; Gong et al., 2016) สารสกัดจากใบไผ่จึงสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในยาและอาหารเสริม โดยอาหารเสริมจากใบไผ่ก็มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ isoorientin, orientin, isovitexin และ vitexin เป็นองค์ประกอบสำคัญ (Mu et al., 2004; Wang et al., 2012)

จากการศึกษาในใบขางหม่น “นวลราชินี” พบว่ายังขาดการศึกษาวิเคราะห์ชนิดของสารในกลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ และนอกจากนี้ยังไม่มีรายงานวิจัยที่ศึกษาว่าอายุใบของไผ่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์หรือไม่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ฟลาโวนอยด์รวมที่ได้จากใบไผ่ขางหม่นที่มีอายุแตกต่างกัน และศึกษาวิธีการจำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค TLC และ HPLC รวมทั้งวิเคราะห์ชนิดของสารออกฤทธิ์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ซึ่งมักถูกใช้เพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์จากใบไผ่ในเชิงการค้า เพื่อสามารถนำความรู้ที่ได้มาส่งเสริมการประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านเวชสำอางและผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้ในอนาคต

วิธีการวิจัย

1) การเก็บใบไผ่

เก็บตัวอย่างใบไผ่หางหม่น “นวลราชินี” (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) จากวิสาหกิจชุมชน นวัตกรรมไผ่บ้านเกาะรัง อำเภอลำลูกเกด จังหวัดสระแก้ว โดยเก็บใบไผ่หางหม่นแยกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ใบอ่อน ซึ่งเป็นลักษณะใบม้วน ส่วนที่ 2 ใบกลาง เป็นใบที่ถัดจากยอดใบม้วน ตั้งแต่ใบที่ 2 ถึง 3 และ ส่วนที่ 3 คือ ใบแก่ เป็นใบที่ถัดจากใบที่ 4 ขึ้นไป นำมาล้างทำความสะอาดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน



รูปที่ 1 ลักษณะใบไผ่หางหม่นที่ใช้ในการทดลอง

2) การเตรียมสารสกัดจากใบไผ่

นำใบไผ่หางหม่นมาสกัดโดยดัดแปลงวิธีการของ Sutharut and Sudarat (2012) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ นำใบไผ่มาบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นเตรียมใบไผ่ที่บดละเอียดจำนวน 1 กรัม เติมน้ำ 60% เอทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าสารด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex) เป็นเวลา 30 วินาที และนำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนบนเก็บไว้เพื่อวัดค่าต่อไป ส่วนตะกอนนำไปสกัดซ้ำ 4 ครั้ง และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วย 60% เอทานอล สารละลายที่ได้ควรเก็บในภาชนะที่บดแสงที่ 4 องศาเซลเซียส (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

3) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยดัดแปลงวิธีการของ Macwan et al. (2010) และ Singleton and Rossi (1965) โดยการนำสารสกัดจากใบไผ่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10% Folin-Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตร เขย่าสารด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex) เป็นเวลา 30 วินาที และเก็บไว้ในที่มืด 1 นาที จากนั้นเติมน้ำ 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.9 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก (gallic acid) คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปมิลลิกรัมของ Gallic acid equivalents (GAE) ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งใบไผ่ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg GAE/g DW

4) การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม โดยดัดแปลงวิธีของ Chang et al. (2002) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ นำสารสกัดจากใบไผ่ซึ่งสกัดจากใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่รวมกันปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติม 10% aluminum chloride ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร 1M potassium acetate ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้เทียบกับ กราฟมาตรฐานสารเคอร์ซีติน (quercetin equivalent; QE) คำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในรูปมิลลิโมลาร์ (mM) ของ QE ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งใบไผ่ ซึ่งมีหน่วยเป็น mM QE/g DW

5) การจำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค Thin-Layer Chromatography (TLC)

การจำแนกสารฟลาโวนอยด์จำพวก Flavone C-glycosides โดยใช้เทคนิค TLC ซึ่งดัดแปลงมาจาก วิธีการของ Wang et al. (2012) โดยนำสารสกัดจากใบไผ่ซึ่งสกัดจากใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่รวมกันปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ทำจุด (spot) ลงบนแผ่น TLC (silica gel 60 F254) โดยให้แถบแบนห่างกันประมาณ 7 มิลลิเมตร จากนั้นใส่ลงใน Chamber ที่มีตัวทำละลายผสมกันในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ ethyl acetate : formic acid : acetic acid : water (100 : 11 : 11 : 27 v/v/v/v) เมื่อสารเคลื่อนที่ได้ระยะประมาณ 8 เซนติเมตร นำมาแช่ด้วย diphenylborinic acid 2- aminoethyl ester 1 กรัม ที่ละลายใน ethyl acetate ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมกับ PEG 400 น้ำหนัก 20 กรัม ที่ละลายใน dichloromethane ปริมาตร 400 มิลลิลิตร โดยสาร มาตรฐานที่ใช้ได้แก่ isoorientin, orientin, isovitexin และ vitexin (Sigma-aldrich, USA)

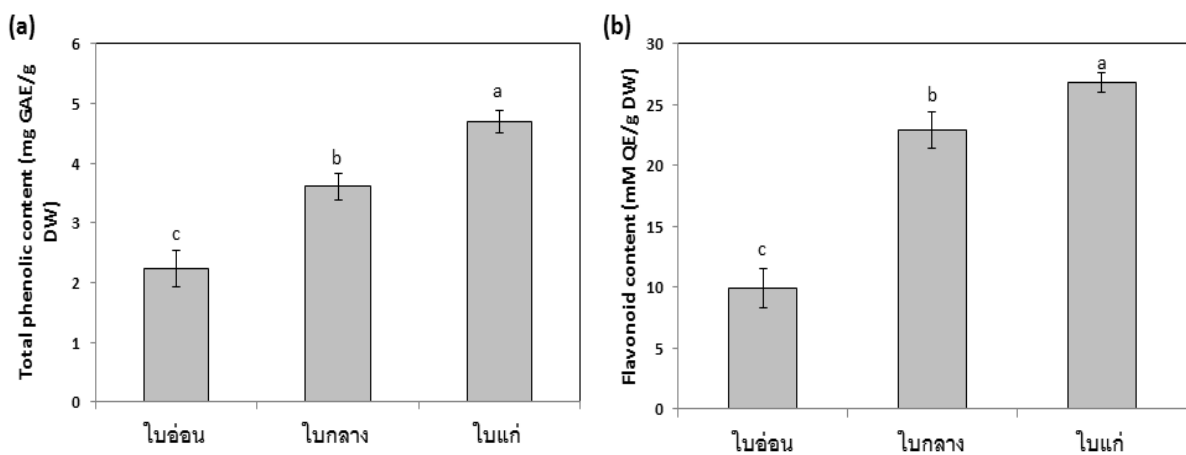
6) การจำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

นำสารสกัดจากใบไผ่ข้างหม่นมาจำแนกสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค HPLC โดยทำการวิเคราะห์ ณ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้วิธีซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Wang et al. (2012) และ Chelyn et al. (2014) โดยใช้คอลัมน์ C18 (4.6 x 250 mm, 5 μ m, YMC pack R&D ODS-A, YMC Japan) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายประกอบด้วยน้ำ 0.5% (v/v) glacial acetic acid และ 12.5% (v/v) acetonitrile ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยสารมาตรฐานที่ใช้ได้แก่ isoorientin, orientin, isovitexin และ vitexin

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

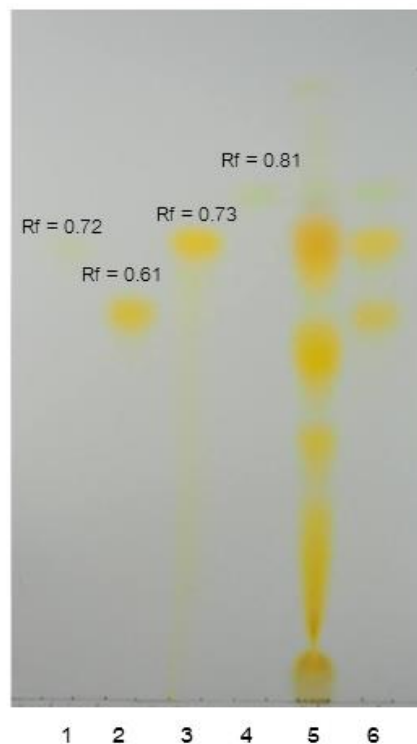
ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดใบไผ่ข้างหม่น 3 ส่วน ได้แก่ ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่ พบว่าสารสกัดจากใบแก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ 4.694 ± 0.196 mg GAE/g DW และ 26.768 ± 0.826 mM QE/g DW ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบกลาง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม มีค่าเท่ากับ 3.606 ± 0.216 mg GAE/g DW และ 22.896 ± 1.502 mM QE/g DW ตามลำดับ และสารสกัดจากใบอ่อน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 2.229 ± 0.302 mg GAE/g DW และ 9.961 ± 1.609 mM QE/g DW ตามลำดับ

(รูปที่ 2) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Toakaenchan et al. (2017) ที่พบว่าอายุการเก็บเกี่ยวของใบเตยหอมจากต้นที่มีอายุ 7 เดือน มีปริมาณสารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เมื่อเทียบกับใบเตยหอมจากต้นที่มีอายุ 5 และ 6 เดือน นอกจากนี้ยังพบว่าผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Jamaluddin et al. (2019) พบว่าอายุการเก็บเกี่ยวของต้น *Ficus deltoidea* ในใบแก่และใบกลางมีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่าในใบอ่อน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลที่พบในใบเป็นเมแทบอลิต์ทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้น ซึ่งมีปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารในกลุ่มนี้ ได้แก่ สภาพแวดล้อม อายุการเก็บเกี่ยว และความเครียดจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น (Ali et al., 2014)



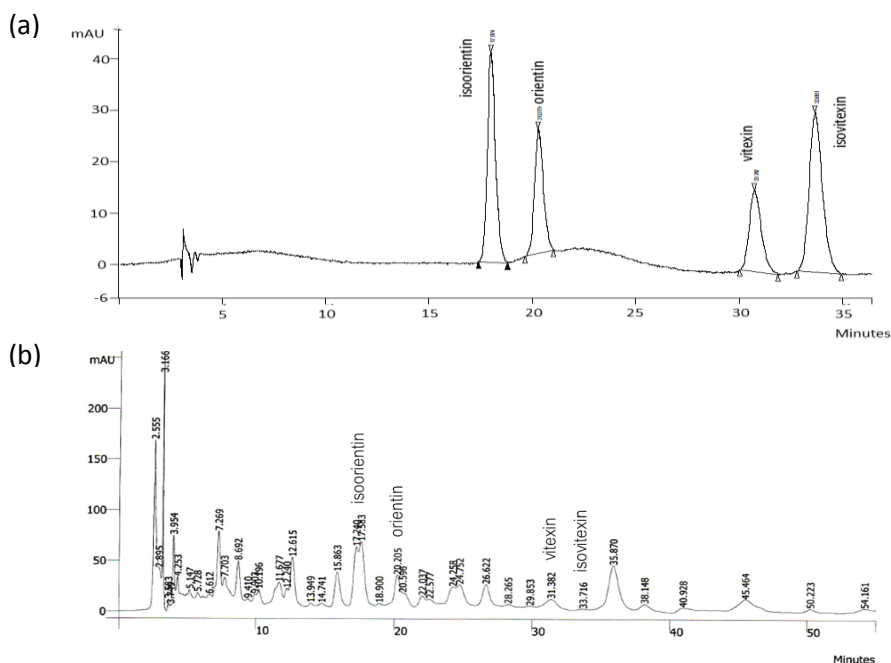
รูปที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (a) และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (b) ของสารสกัดจากใบไผ่ขางหม่นที่มีอายุใบแตกต่างกัน

เมื่อนำสารสกัดจากใบไผ่ขางหม่นมาจำแนกชนิดของฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิค TLC พบว่าสารมาตรฐาน ได้แก่ isovitexin, isoorientin, orientin และ vitexin มีค่า Retardation Factor (R_f) เท่ากับ 0.72, 0.61, 0.73 และ 0.81 ตามลำดับ พบว่าสารสกัดจากใบไผ่ขางหม่นมีแถบสาร orientin ($R_f = 0.72$) และ vitexin ($R_f = 0.81$) ชัดเจน (รูปที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang et al. (2012) ซึ่งทำการวิเคราะห์สารฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ด้วยเทคนิค HPLC และพบว่าในไผ่ชนิดต่างๆ มีสาร orientin, vitexin, isoorientin และ isovitexin เป็นองค์ประกอบที่แตกต่างกันไป และมีสารในปริมาณไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับชนิดของไผ่ จากการทดลองยังพบว่าในสารสกัดใบไผ่อาจมีแถบของสาร isoorientin และ isovitexin รวมอยู่ด้วย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถระบุชนิดสารได้ด้วยเทคนิค TLC นอกจากนี้จากผลการวิจัยพบว่ามีแถบที่เกิดขึ้นด้านล่างที่นอกเหนือจากสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ซึ่งอาจจะเป็นสารฟลาโวนไกลโคไซด์ชนิดอื่น เช่น สาร shaftoside ดังที่พบในการศึกษาของ Chelyn et al. (2014) ที่ศึกษาสารสกัดจาก *Clinacanthus nutans* ด้วยเทคนิค High-performance thin-layer chromatography (HPTLC) หรืออาจเป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดอื่น เช่น luteolin-6-C-arabinoside, luteolin และ tricetin เป็นต้น (Gao et al., 2013) ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC จึงน่าจะช่วยระบุชนิดของสารฟลาโวนอยด์ได้แม่นยำขึ้น



รูปที่ 3 ชนิดของฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ (Flavone C-glycoside) ที่พบในสารสกัดใบไผ่ขางหม่น วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography โดยมีสารมาตรฐานและตัวอย่างสารสกัดเรียงตามลำดับหมายเลข ดังนี้ (1) isovitexin, (2) isoorientin, (3) orientin, (4) vitexin, (5) สารสกัดจากใบไผ่ขางหม่น และ (6) สารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิดผสมกัน

จากการศึกษาด้วยเทคนิค HPLC เพื่อจำแนกสารฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ พบว่าสารสกัดจากใบไผ่ขางหม่นมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญทางการค้าทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ isoorientin, orientin, vitexin และ isovitexin (รูปที่ 4) โดยพบว่า isoorientin มากที่สุด รองลงมาคือ orientin, vitexin และ isovitexin ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang et al. (2012) ซึ่งวิเคราะห์สารสกัดจากใบไผ่ที่แตกต่างกัน 15 ชนิด ด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีแถบของสาร isoorientin และ orientin เกิดขึ้นแตกต่างกันไปตามชนิดไผ่ นอกจากนี้ยังศึกษาสารสกัดจากใบไผ่ *Bambusa textilis* McClure ด้วยเทคนิค HPLC-UV แล้วพบว่าในไผ่ชนิดนี้มีสารฟลาโวนไกลโคไซด์ชนิด isoorientin และ orientin มากที่สุด ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารที่มีคุณสมบัติทางยา ได้แก่ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการแก่ชรา (anti-aging) ต้านไวรัส ต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ป้องกันระบบประสาท และป้องกันการขยายตัวของหลอดเลือด (Lam et al., 2016) นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่า isovitexin มีปริมาณน้อยที่สุดสอดคล้องกับผลการจำแนกด้วยเทคนิค TLC ที่ไม่ปรากฏแถบของ isovitexin และสนับสนุนว่าแถบสารที่มีค่า $R_f = 0.57$ น่าจะเป็นสาร isoorientin ซึ่งพบว่ามีปริมาณมากใกล้เคียงกันกับ orientin ทั้งจากการวิเคราะห์ด้วย TLC และ HPLC แต่เนื่องจากมีปริมาณสารมากและอาจมีอนุพันธ์ตัวอื่นปนอยู่ด้วย (สังเกตได้จากยอดพีค HPLC ของสาร isoorientin เหมือนมีสารสองชนิดปนกัน) ทำให้แถบสารของสารสกัดเคลื่อนที่ช้ากว่าสารมาตรฐาน isoorientin (รูปที่ 3 และรูปที่ 4)



รูปที่ 4 ชนิดของฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ (Flavone C-glycoside) สารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด (4a) และที่พบในสารสกัดจากใบไผ่ขางหม่น (4b) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC)

สรุปผล

สารสกัดจากใบแก่ของไผ่ขางหม่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม สูงที่สุด รองลงมาเป็นใบกลาง และใบอ่อน ตามลำดับ และใบไผ่ขางหม่นมีสารประกอบฟลาโวนอยด์กลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ isoorientin, orientin, isovitexin และ vitexin เป็นองค์ประกอบ โดยพบว่ามีสาร isoorientin มากที่สุด รองลงมาคือสาร orientin, vitexin และ isovitexin ตามลำดับ

References

- Ali, M. B. (2014). Secondary Metabolites and Environmental Stress in Plants: Biosynthesis, Regulation, and Function. In *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*, 55-85.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chaowana, P., Jindawong, K., & Sungkaew, S. (2015). Adhesion and Bonding Performance of Laminated Bamboo Lumber made from *Dendrocalamus sericeus*. In *Product Design and Technology. The 10th World Bamboo Congress held in Korea*.
- Chelyn, J. L., Omar, M. H., Yousof, M., Akmal, N. S., Ranggasamy, R., Wasiman, M. I., & Ismail, Z. (2014). Analysis of flavone C-glycosides in the leaves of *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau by HPTLC and HPLC-UV/DAD. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research*, 5(31), 6697-6703.
- Gong, J., Huang, J., Xiao, G., Chen, F., Lee, B., Ge, Q., You, Y., Liu, S., & Zhang, Y. (2016). Antioxidant capacities of fractions of bamboo shaving extract and their antioxidant components. *Molecules*, 21, 996.
- Guo, X. F., Yue, Y. D., Tang, F., Wang, J., Yao, X., & Sun, J. (2013). Simultaneous Determination of Seven Flavonoids in *Dan Bamboo Phyllostachys glauca* McC lure Leaf Extract and in Commercial Products by HPLC-DAD. *Journal of Food Biochemistry*, 37(6), 748-757.
- Hossain, M. F., Islam, M. A., & Numan, S. M. (2015). Multipurpose uses of bamboo plants: a review. *Int Res J Biological Sci*, 4(12), 57-60.
- Hu, C., Zhang, Y., & Kitts, D. D. (2000). Evaluation of antioxidant and pro-oxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var, henonis leaf extract *in vitro*. *J Agric Food Chem*, 48, 3170-3176.
- Jamaluddin, N. F., Shaari, A. R., & Razak, N. A. (2019). Effect of drying temperature and age of leaves on total phenolic content on *Ficus deltoidea*. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 469(1).
- Jung, H. J., Nam, J. H., Choi, J., Lee, K. T., & Park, H. J. (2005). Anti-inflammatory effects of chiisanoside and chiisanogenin obtained from the leaves of *Acanthopanax*

- chiisanensis* in the carrageenan-and Freund's complete adjuvant-induced rats. *J Ethno pharmacology*, 97, 359-367.
- Lam, K. Y., Ling, A. P. K., Koh, R. Y., Wong, Y. P., & Say, Y. H. (2016). A review on medicinal properties of orientin. *Advances in pharmacological sciences*, 2016.
- Macwan, C., Patel, H. V., & Kalia, K. (2010). A comparative evaluation of in vitro antioxidant properties of Bamboo *Bambusa arundinacea* leaves extracts. *Journal of cell and tissue Research*, 10(3). 2413.
- Mu, J., Uehara, T., Li, J., & Furuno, T. (2004). Identification and evaluation of antioxidant activities of bamboo extracts. *Forestry Studies in China*, 6(2), 1.
- Phuangchik, T. (2015). “(sōṅphanhārōjhasippaēt). thān kamman chāk mai phai : talāt yangmī khwāmtoṅkān sūṅ ?” [Bamboo charcoal: the market still has high demand?]. *Thai Science and Technology Journal*, 945-954.
- Rathod, J. D., Pathak, N. L., Patel, R. G., Jivani, N. P. & Bhatt, N. M. (2011). Phyto-pharmacological properties of *Bambusa arundinacea* as a potential medicinal tree: an overview. *J Applied Pharmaceutical Sci*, 1(10), 27-31.
- Seki, T., Kida, K., & Maeda, H. (2010). Immunostimulation-mediated anti-tumor activity of bamboo (*Sasa senanensis*) leaf extracts obtained under ‘vigorous’ condition. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7(4), 447-457.
- Singhal, P., Bal, L. M., Satya, S., Sudhakar, P., & Naik, S. N. (2013). Bamboo shoots: a novel source of nutrition and medicine. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53(5), 517-534.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sutharut, J., & Sudarat, J. (2012). Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. *International Food Research Journal*, 19(1), 215-221.
- Talabgaew, S., & Laemlaksakul, V. (2007). Experimental studies on the mechanical property of laminated bamboo in Thailand. *World Academy of Sci Eng and Technol*, 34, 327-331.
- Toakaenchan, N., Areesrisom, P., Thonnalak, T., & Suthon, W. (2017). Effects of harvest maturity and light intensity on phenolic compound content and antioxidation activity of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaves. *Khon kaen agr.j*, 45(3), 433-438.
- Wang, J., Yue, Y. D., Jiang, H., & Tang, F. (2012). Rapid screening for flavone C-glycosides in the leaves of different species of bamboo and simultaneous quantitation of four marker compounds by HPLC-UV/DAD. *International journal of analytical chemistry*, 2012.

- Wang, J., Yue, Y. D., Tang, F., & Sun, J. (2012). TLC screening for antioxidant activity of extracts from fifteen bamboo species and identification of antioxidant flavone glycosides from leaves of *Bambusa textilis* McClure. *Molecules*, 17(10), 12297-12311.
- Wasnik, D. D., & Tumane, P. M. (2014). Antibacterial activity of *Bambusa bambose* L. against multiple drug resistant (mdr) bacteria isolated from clinical specimen. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 25(1), 215-218.
- Zhang, Y., Bao, B., Lu, B., Ren, Y., Tie, X., & Zhang, Y. (2005). Determination of flavone C-glucosides in antioxidant of bamboo leaves (AOB) fortified foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection. *J Chromatography A*, 1065, 177–185.