

พฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวม
และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข่อยหยก
PHYTOCHEMICAL SCREENING, TOTAL PHENOLIC CONTENTS
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *CURCUMA PUTII*
MAKNOI & JENJITT. EXTRACTS

วิญเพ็ญ คงเพชร¹ พรทิพย์ สังขวิสุทธิ¹ วัชรศักดิ์ มาเกิด² และมนิรัตน์ น้ำจันทร์^{1*}
Wanpen Khongpet¹ Phontip Sanghkawisu¹ Watcharasak Makerd² and Maneerat Namjan^{1*}

บทคัดย่อ

ต้นข่อยหยกเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านถิ่นเดียว ซึ่งพบเฉพาะในพื้นที่อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข่อยหยก โดยการศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้นได้ศึกษาด้วยวิธีมาตรฐานอาศัยพื้นฐานการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีและการตกตะกอน การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging จากผลการศึกษาพบว่า ส่วนต่าง ๆ ของต้นข่อยหยกมีสารพฤกษเคมีหลายชนิด โดยพบสารแทนนินในส่วนองใบเท่านั้น มีปริมาณแทนนินรวมสูงถึง 325.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดข่อยหยกจากส่วนใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดถึง 340.89 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) เท่ากับ 54.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เมื่อเทียบกับสารสกัด

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ 60000

¹Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University, Muang District, Nakhon Sawan Province 60000

²คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อำเภอเมืองนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์ 60000

²Faculty of Education, Nakhon Sawan Rajabhat University, Muang District, Nakhon Sawan Province 60000

*corresponding author, e-mail: agoon.namjan@gmail.com

Received: 3 August 2022; Revised: 1 November 2022; Accepted: 8 November 2022

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2023.2>

จากส่วนอื่น ๆ ของต้นข่อยหอย สรุปลได้ว่าสารสกัดข่อยหอยจากส่วนใบมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง จึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพสำหรับการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: ต้นข่อยหอย พฤษกเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แทนนินรวม

Abstract

Curcuma putii Maknoi & Jenjitt. is a local medicinal plant, found only in Nongbua district, Nakhon Sawan province. This research aimed to study phytochemical screening, total phenolic content, and antioxidant activity of the *C. putii* Maknoi & Jenjitt. extracts. The phytochemical screening was investigated using the standard method based on color change reaction and precipitation. The total phenolic content was determined using The Folin-Ciocalteu method. The antioxidant activity was tested with the DPPH Radical Scavenging method. The results revealed that *C. putii* Maknoi & Jenjitt. contained a wide variety of phytochemicals in its various parts. Tannin was found in leaves and had a total tannin content of 325.5 mg/L. The *C. putii* Maknoi & Jenjitt. extracts showed the highest total phenolic content in leaves (340.89 mg/L). They exhibited inhibition of antioxidants, with a 50% inhibition (IC_{50}) at a concentration of 54.12 $\mu\text{g/mL}$, compared to the extracts from other parts of *C. putii* Maknoi & Jenjitt. It could be concluded that leaf extract is highly effective as an antioxidant. Therefore, the proposed plant is an interesting approach for developing healthcare products in future studies.

Keywords: *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt., Phytochemical screening, Total phenolic content, Antioxidant activity, Tannin content

บทนำ

ข่อยหอย หรือ อู๋ม่น้อง (*Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt.) เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปีในสกุลกระเจียว (*Curcuma* L.) วงศ์ขิง (Zingiberaceae) ลำต้นใต้ดินมีลักษณะเป็นเหง้าค่อนข้างกลม ถึงทรงกระสวย มีรากสะสมอาหารทรงกลม 2-6 อัน ลำต้นเทียมเหนือดินสีเขียวสูง 35-70 ซม. ใบสีเขียว รูปใบหอก แผ่นใบมีขนละเอียดนุ่มทั้งหน้าใบและหลังใบ ช่อดอกออกที่ปลายลำต้นเหนือดินระหว่างชอกใบ ใบประดับสีเขียวเหมือนกันทั้งช่อดอก ดอกสีเหลือง กลีบรูปไข่แกมรูปใบหอก

ยาวประมาณ 12 มม. กลีบปากรูปไข่กลับหรือรูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด กว้างประมาณ 9 มม. ยาวประมาณ 16 มม. สีเหลือง บริเวณกลางกลีบมีแถบสีเหลืองเข้ม และบริเวณโคนกลีบมีสีแดง เกสรเพศผู้ยาวประมาณ 10 มม. อับเรณู มีเดือย เป็นแท่งปลายแหลม (Maknoi et al., 2019)

ช่อหยกเป็นพืชถิ่นเดียวของไทยพบที่ภาคกลาง โดยเฉพาะจังหวัดนครสวรรค์ บริเวณป่าลัดใบ ออกดอกเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม (Rak-archa et al., 2020) คนในท้องถิ่นนิยมนำช่อดอกอ่อนมาบริโภคเป็นอาหาร และใช้เป็นสมุนไพร ในธรรมชาติมีประชากรลดลงเนื่องจากการเก็บมาบริโภค และการใช้พื้นที่ป่าเพื่อการเกษตร แต่มีการนำมาปลูกเลี้ยงในครัวเรือนบางพื้นที่ พืชสมุนไพรยังประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดรวมอยู่ได้แก่ สารฟลูโกลนิน เช่น ฟินอลิก ฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ และ วิตามินต่างๆ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากพืช (Naiumsawang, 2018) มีสมบัติในด้านการป้องกันและรักษาโรคโดยเฉพาะความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารประกอบฟินอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่พบได้ในพืชมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารการป้องกันโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย เช่นโรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจและโรคมะเร็ง เป็นต้น (Halee & Rattanapun, 2020)

โดยงานวิจัยนี้ศึกษาหาปริมาณสารอาหารหลักโดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (Proximate analysis) ตามวิธีมาตรฐาน Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000) โดยสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasonic assisted extraction) ศึกษาการตรวจสอบฟลูโกลนิน ศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟินอลิกรวมเนื่องจากสารประกอบฟินอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญและเป็นตัวหลักที่พบได้ในพืชสมุนไพร โดยใช้วิธีฟอลิน-ซีโอแคลทู (Folin-Ciocalteu method) ศึกษาการหาปริมาณแทนนินรวม และ วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยศึกษาในส่วนลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม รากสะสมอาหาร และใบของช่อหยก

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง นำส่วนลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม รากสะสมอาหาร และใบของช่อหยกมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้งแบ่งส่วนต่าง ๆ ของต้นช่อหยก นำหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปตากแดด 1-2 วัน อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใส่ในโถสุญญากาศความชื้น นำไปบด
2. ศึกษาหาปริมาณสารอาหารหลักโดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณ (Proximate analysis) ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน เส้นใย และคาร์โบไฮเดรตตามวิธีมาตรฐาน Association of Official Analytical Chemists (AOAC 2000)
3. วิธีการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก (Ultrasonic assisted extraction) ซังผงส่วนต่าง ๆ ของต้นช่อหยก คือ ส่วนลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม รากสะสมอาหาร และใบของช่อหยกเติมเอทานอล

ร้อยละ 99.9 โดยปริมาตร ที่อัตราส่วน:เอทานอล 1:20 กรัม/มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิค ยี่ห้อ Elma Elmasonic S 60 H คลื่นความถี่ที่ใช้ 37 kHz ที่อุณหภูมิห้อง ความถี่ 50-60 เฮิร์ตกำลังไฟ 280 วัตต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 สารที่สกัดได้นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. ศึกษาการตรวจสอบพิษของเคมี (Seekhaw et al., 2020)

การตรวจสอบสเตียรอยด์ ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้ เติมกรดแกลเชียลแอซิดิก ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทำการเขย่า เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 3 หยด สังเกตถ้าสารละลายมีสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบ สเตียรอยด์ การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ 2-3 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จำนวน 5 หยด เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ เป็นเวลา 5 นาที ถ้าสารละลายมีสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบ ฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบแอนทราควิโนน ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10% ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก หึ่งไว้ อุณหภูมิห้อง จากนั้นเมื่อสารละลายเย็น นำของเหลวที่ได้จากการกรองไปเติมสารละลาย 10% แอมโมเนีย (NH_3) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าสารละลายมีสีชมพูแดงเกิดขึ้น แสดงว่าพบ แอนทราควิโนน

การตรวจสอบแทนนิน ซึ่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ เป็นเวลา 5 นาที นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาเติมด้วย สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($1\% \text{FeCl}_3$) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าสารละลายมีสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบ แทนนิน

การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าพบวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่าง ชั้นของสารสกัดกับสารละลายกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ เทอร์ปีนอยด์

การตรวจสอบซาโปนิน ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำเป็นเวลา 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าเกิดฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลอง แสดงว่าพบ ซาโปนิน

การตรวจสอบคูมาริน ซึ่งสารสกัดจำนวน 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง

เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6 M NaOH) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่า ถ้าสารละลายมีสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบ คูมาริน

การตรวจสอบโพลีบาแทนนิน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (10% HCl) 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายมีสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบ โพลีบาแทนนิน

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้เติมสารละลายเพอริคลอไรด์ (1% FeCl_3) จำนวน 5 หยด เขย่าเติมกรดกลูเซิลแอซีติก จำนวน 5 หยด และค่อย ๆ เติมกรด ซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าพบวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับสารละลายกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

5. ศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดข้อเหยด้วยเทคนิควิธี โฟลิน-ซีโอแคลเทอ (Folin-Ciocalteu method)

นำสารสกัดตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดจากส่วน ลำต้นใต้ดิน รากสะสมอาหาร ใบ และ ลำต้นเทียม ปริมาณ 200 ไมโครลิตรใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายโฟลิน-ซีโอแคลเทอเจเนต เจือจาง 10 เท่า ปริมาณ 800 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาณ 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้า กัน 2 นาที เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล สเปกโตรสโคปี รุ่น Evolution™ 201/220 UV-Visible Spectrophotometers ทำการทดลอง ทั้งหมด 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานจากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบของสารสกัดไป เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และหาค่า %SD (ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

6. ศึกษาการหาปริมาณแทนนินรวม (Leite & Dourado, 2013)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 20, 40, 60 และ 80 ppm) โดยนำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมา 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำ 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมโซเดียมคาร์บอเนต (7% Na_2CO_3) 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 60 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ทำการทดสอบสารสกัดเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน โดยแต่ละตัวอย่างทำการ ทดลอง 3 ซ้ำ สร้างกราฟสมการเส้นตรง เพื่อหาปริมาณแทนนินรวมในสารสกัดจากกราฟมาตรฐาน ของกรดแทนนิก หาค่า %SD (ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

7. วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH วิธีมาตรฐาน

เตรียมสารละลายสารมาตรฐาน (Butylated hydroxytoluene, BHT และ Butylated hydroxyanisole, BHA) สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (500, 250, 125, 62.5, และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH 6×10^{-3} โมลาร์ 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหา % inhibition

$$\text{จากสูตร \% inhibition} = [(\text{Control} - \text{Sample}) / \text{Control}] \times 100$$

โดย Control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

Sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น IC_{50} ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น IC_{50}

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารหลัก (Proximate analysis)

ผลการศึกษาหาปริมาณสารอาหารหลักด้วยวิธี การวิเคราะห์แบบประมาณ ตามวิธีมาตรฐาน AOAC 2000 ดังตารางที่ 1 (Table 1) พบว่า ร้อยละปริมาณความชื้นทั้ง 4 ส่วนคือ ลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม รากสะสมอาหาร และใบ มีปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 10 ทั้งหมด ซึ่งโดยการสกัดสารตัวอย่างต้องมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ลำต้นเทียมมีปริมาณเถ้าพบว่ามีมากที่สุดร้อยละ 13.50 ± 0.20 ซึ่งพบว่าปริมาณไขมันต่ำมากในทั้ง 4 ส่วนของต้นข่อยหยก ส่วนโปรตีนพบว่ามีมากที่สุดร้อยละ 27.42 ± 0.43 ในส่วนเยื่อใยส่วนลำต้นเทียมมีค่ามากที่สุดร้อยละ 28.55 ± 0.51 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ในส่วนรากอาหารมีค่ามากที่สุดร้อยละ 70.27 ± 1.47

Table 1 Proximate analysis of *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt Extracts

Parts of plants	Proximate analysis wt. (%)					
	Moisture	Ash	Fat	Protein	Fiber	Carbohydrates
Rhizome	4.18 ± 0.03	5.07 ± 0.18	5.47 ± 0.29	27.42 ± 0.43	8.72 ± 0.23	49.14 ± 0.23
Storage root	3.17 ± 0.13	7.52 ± 0.53	7.25 ± 0.07	5.38 ± 0.06	6.41 ± 0.68	70.27 ± 0.29
Leaf	2.30 ± 0.13	9.46 ± 0.41	1.69 ± 0.18	14.61 ± 0.01	25.37 ± 0.36	46.57 ± 0.22
Leaf sheath	2.82 ± 0.32	13.50 ± 0.20	2.48 ± 0.02	10.76 ± 0.38	28.55 ± 0.51	41.89 ± 0.29

2. การทดสอบชนิดสารพฤกษเคมี

การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค ที่อัตราส่วน:เอทานอล 1:20 กรัม/มิลลิลิตร กำลังไฟ 280 วัตต์ ความถี่ 50/60 เฮิร์ต เวลา 60 นาทีที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ส่วนใบ ผลผลิตร้อยละ 4.63 ± 0.15 ลำต้นใต้ดิน ผลผลิตร้อยละ 7.93 ± 0.35 ลำต้นเทียม ผลผลิตร้อยละ 3.17 ± 0.15 และรากสะสมอาหาร ผลผลิตร้อยละ 8.63 ± 0.12

การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น โดยนำสารสกัดในส่วนใบ ลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม และรากสะสมอาหาร ของต้นช่อหยก ทดสอบ 9 กลุ่ม โดยศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการตะกอน พบว่า สารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดในส่วนใบ มี 9 กลุ่ม คือ สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน คูมาริน โพลีฟีนอล และคาร์ดิโกลโคไซด์) จากผลการทดลองพบสารพฤกษเคมี ทั้งหมด 8 ชนิด โดยไม่พบสารแอนทราควิโนน โดยองค์ประกอบสำคัญ แทนนิน พบในส่วนใบของต้นช่อหยกสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ดังตารางที่ 2 (Table 2)

Table 2 Phytochemical Screening of *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt Extracts

Phytochemical Screening	Leaf	Rhizome	Leaf sheath	Storage root
Steroids	+	+	-	-
Flavonoids	+	+	+	+
Anthraquinone	-	-	-	-
Tannins	+	-	-	-
Terpenoids	+	+	+	+
Saponins	+	+	+	+
Coumarins	+	+	+	-
Phlobatannins	-	-	-	+
Cardiac glycoside	+	+	+	+
- not detect , + detect				

3. ศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัด

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่พบได้ในพืช จากผลการทดลอง พบว่า ใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด 340.89 ± 8.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และลำต้นใต้ดิน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด 77.38 ± 3.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 1 (Figure 1) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนต่าง ๆ ของพืช (Halee & Rattanapun, 2020) โดยปริมาณฟีนอลิกรวมคำนวณโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก เข้มข้น $10-50 \text{ mg/L}$ ($y = 0.0021x + 0.0025$, $R^2=0.9992$)

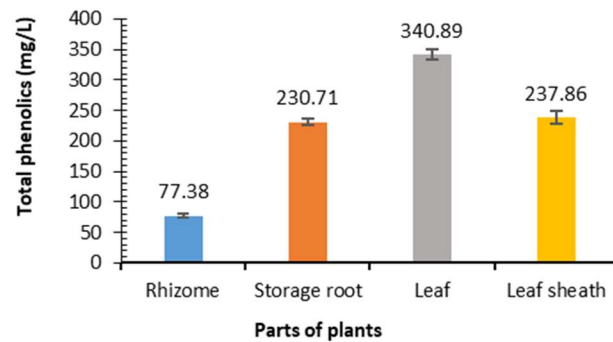


Figure 1 Total phenolics of *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt Extracts

4. การศึกษาปริมาณแทนนินรวม

วิเคราะห์ปริมาณแทนนินรวมโดยวิธี โฟลิน ซีโอแคลทู (Folin-Ciocalteu assay) เป็นการทดสอบโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิล (phenolic hydroxyl) โดยมีหมู่ของฟีนอลิกจะไปเป็นตัวรีดิวซ์ กรดฟอสโฟทันทสโมลิติก (phosphotungstomolydic acid) เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ตกตะกอนด้วยโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) โดยศึกษาด้วย เทคนิค ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยปริมาณแทนนินรวมคำนวณโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก เข้มข้น 0-80 mg/L ($y = y = 0.0025x + 0.0589$, $R^2=0.9954$) จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบ มีปริมาณแทนนินรวมมากที่สุด 325.5 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในส่วนลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม และราก สะสมอาหารซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถนำไปใช้ในการต้านอนุมูลอิสระ ดังตารางที่ 3 (Table 3)

Table 3 Total tannin content of *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt Extracts

Parts of plants	Total tannin content (mg/L)
Leaf	325.5 ± 0.01
Rhizome	78.0 ± 0.01
Leaf sheath	79.5 ± 0.03
Storage root	54.5 ± 0.03

5. การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม

จากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการนำสารสกัดใบของต้นข่อยทดสอบด้วย วิธี DPPH เป็นวิธีที่นิยมกันอย่างมากในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย และมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง ในการวิเคราะห์จะวิเคราะห์จากสีของสารละลาย DPPH radical ที่จางลงเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดได้ให้

อิเล็กตรอนกับอนุมูล DPPH ทำให้อนุมูลลดลง ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีม่วงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สารมาตรฐาน บิวทิเลเทต ไฮดรอกซีลอะนิโซล (BHA) และบิวทิเลเทต ไฮดรอกซีลโทลูอีน (BHT) เป็นสารมาตรฐาน ศึกษาด้วยเทคนิค ยูวี วิสิเบิล สเปกโทร โฟโตมิเตอร์ จากนั้นนำไปหาค่า ความเข้มข้นที่สารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% (IC_{50}) พบว่าสารมาตรฐาน BHA มีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ สารสกัดใบของต้นช่อหยก มีค่า IC_{50} 54.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม แสดงให้เห็นว่าปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระในใบของต้นช่อหยก มีประสิทธิภาพ ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ถึงแม้จะมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐาน BHA และ BHT ปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระในใบของต้นช่อหยก นับเป็นพืชที่มีความน่าสนใจ จึงสามารถใช้เป็นข้อมูล เพื่อหาแนวทางในการใช้ประโยชน์และพัฒนาพืชสมุนไพรในประเทศไทยต่อไป ดังตารางที่ 4 (Table 4)

Table 4 Antioxidant activity of *Curcuma putii* Maknoi & Jenjitt Extracts

Extracts	IC50 (μ g/mL)
BHT	16.14
BHA	5.21
Leaf	54.12
Rhizome	1215
Leaf sheath	83.21
Storage root	1044.86

Remark Inhibitory concentration at 50% (IC_{50})

อภิปรายผล

ผลการศึกษาหาปริมาณสารอาหารหลักด้วยวิธี การวิเคราะห์แบบประมาณ ตามวิธีมาตรฐาน AOAC 2000 พบว่า ร้อยละปริมาณความชื้นทั้ง 4 ส่วนคือ ลำต้นใต้ดิน ลำต้นเทียม รากสะสมอาหาร และใบ โดยการสกัดสารตัวอย่างต้องมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 เป็นการบ่งบอก ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยการสกัดสารตัวอย่างต้องมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 (Preeyachit, 2008) ทำให้ไม่สูญเสียสารประกอบที่สำคัญ ลำต้นเทียมมีปริมาณเถ้าพบว่ามีมากที่สุดร้อยละ 13.50 ± 0.20 โดยเถ้าเป็นองค์ประกอบส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างในส่วนไขมันจะเป็น แหล่งพลังงานของร่างกายนอกเหนือจากโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต โดยปริมาณไขมันต่ำมากในทั้ง 4 ส่วนของต้นช่อหยก ส่วนโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด และกรดอะมิโนนี้มี ธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ มีประโยชน์ ช่วยในการเจริญเติบโตของร่างกายและซ่อมแซม ส่วนที่สึกหรอ โดยพบว่าลำต้นใต้ดินมีมากที่สุดร้อยละ 27.42 ± 0.43 ในส่วนเยื่อใยจะเป็น

สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งที่พบมากในพืช ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นส่วนใหญ่ร้อยละปริมาณเยื่อใยในส่วนลำต้นเทียมมีค่ามากที่สุดร้อยละ 28.55 ± 0.51 และในส่วนคาร์โบไฮเดรตเป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เป็นสารอาหารหลักที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย ร้อยละปริมาณคาร์โบไฮเดรตในส่วนรากอาหารมีค่ามากที่สุด 70.27 ± 1.47 (Pivpan, 2017) การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 9 กลุ่ม ได้แก่ สเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน คูมาริน โพลีฟีนอล และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ในส่วนของใบของต้นช่อหยกพบองค์ประกอบสำคัญ คือ แทนนิน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ (Buachoon, 2020) ซึ่งบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และหลอดเลือด เป็นต้น (Nupan et al., 2016)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่พบได้ในพืช นอกจากมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารแล้ว ยังมีบทบาทในการป้องกันโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย เช่น ขจัดสารพิษ ป้องกันการเกิดมะเร็ง เป็นต้น จากผลการทดลอง พบว่าใบ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนต่าง ๆ ของพืช (Ruenwai, 2020) จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบมีปริมาณแทนนินรวม มากที่สุด 325.5 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยสารแทนนินเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งเอนไซม์ หลายชนิด (Siramon & Wongsheeree, 2019)

จากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการนำสารสกัดใบของต้นช่อหยกทดสอบด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีที่นิยมกันอย่างมากในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย และมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง แสดงให้เห็นว่าปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระในใบของต้นช่อหยก มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ถึงแม้จะมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐาน BHA และ BHT ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในใบของต้นช่อหยก นับเป็นพืชที่มีความน่าสนใจ ในการใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์และพัฒนาพืชสมุนไพรในประเทศไทยต่อไป สามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางเลือกทางธรรมชาติได้ (Yongoradoem & Weerapreeyakul, 2018)

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารอาหารหลักโดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบประมาณในส่วนต่าง ๆ ของช่อหยก ที่ได้มีปริมาณที่แตกต่างกัน และจากการศึกษาทางพฤกษเคมีเบื้องต้น โดยพบสารแทนนินในส่วนของใบ เท่านั้น และมีปริมาณแทนนินรวมสูงถึง 325.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยในส่วนของใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดถึง 340.89 ± 8.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดจากส่วนของใบ มีความเข้มข้นที่สามารถ

ต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) เท่ากับ 54.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ดังนั้นการใช้ต้นช่อหยก โดยเฉพาะส่วนของใบในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists; 2000.
- Buachoon N, Antioxidant activity and total phenolic content from crude extracts of morinda citrifolia. VRU Research and Development Journal Science and Technology 2020;15(2):67-75.
- Halee A, Rattanapun B. Study of antioxidant efficacies of 15 local herbs. Kmutt Research and Development Journal 2020;40(2):283-293.
- Leite L, Dourado L. Laboratory activities, science education and problem-solving skills. Procedia-Social and Behavioral Sciences. 2013;106:1677-1686.
- Maknoi C, Ruchisansakun S, Jenjittikul T. *Curcuma putii* (Zingiberaceae), A New Species from Thailand. Annales Botanici Fennici 2019;56(4-6):351-353.
- Naiumsawang W, Phytochemicals and biological activities of medicinal plants. The Science Journal of Phetchaburi Rajabhat University 2018;15(2):51-60.
- Nupan B, Thipwong J, Saisa-ard K, Samala S. Phytochemical and antibacterial studies of the crude leaves' extract from *Limnophila rugosa* (Roth) Merr. Songklanakarin Journal of Plant Science 2016;3(3):26-33.
- Piwpun P, Screening and isolation of microorganisms to improve the nutritional value of fermented soybean meal for animal feed. Master of Science (Biotechnology)/Department of Biotechnology Graduate School, Silpakorn University; 2017.
- Preeyachit S. An Optimal condition of oil extraction from jatropha curcas seed kernels using solvent extraction. Master of Science (Environmental Management), School of Social and Environmental Development, National Institute of Development Administration; 2008.
- Rak-archa S, Pongamornkul W, Somnoo T, Tanming W, Wongkhak M. Ginger's family in queen sirikit botanic garden. Chiang Mai: The Botanical Garden Organization (Ministry of Natural Resources and Environment); 2020.
- Ruenwai R, Analysis of phenolic content and free radical scavenging capacity of Chrysanthemum flower extracts. Naresuan Phayao Journal 2020;13(1):16-20.

- Seekhaw P, Chuaboonmee R, Surayot P, Chadpan S, Thurnkul N. Evaluation of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities from ethanolic extracts of the *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. Fruits. Journal of Applied Research on Science and Technology 2020; 19(1):124-136.
- Siramon P, Wongsheree T, Ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Paederia pilifera* Hook. f. leaves and its antioxidant activity. Prawarun Agricultural Journal 2019; 16(1):182-189.
- Yongpradoem P, Weerapreeyakul N. Evaluation of antioxidant activity and inhibition of tyrosinase activity of *Raphanus sativus* var. *caudatus* Alef Extract. Walailak Journal of Science and Technology 2020;17(8):838-850.