สารต้านอนุมูลอิสระในลำเพ็ง

Antioxidant in *Stenochlaena palustris* (Burn. f) Bedd.

ซารีฮะห์ ดอเลาะ[1], อัสมี บือซา[2] และ ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย[1*]

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

*อีเมล์ piyasiri.s@yru.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบ องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นจากผักพื้นบ้าน คือ ลำเพ็ง *Stenochlaena palustris (Burn. f) Bedd.* โดยทำการศึกษาตัวทำละลาย ที่เหมาะสมในการสกัด คือ น้ำ อะซิโตน และเอทิลอะซิเตทพบว่าสารสกัดลำเพ็งในเอทิลอะซิเตทมีองค์ประกอบทางเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ ส่วนตัวทำละลายอื่น ๆ ให้ผลเป็นลบ จึงทำการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบในสารสกัดลำเพ็ง จากการวิจัยพบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีค่าเท่ากับ 7.996 ± 0.417 mg/ml โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารละลายควอซิติน (quercetin) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลำเพ็ง รายงานในรูปของค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 2494.89 µg /ml อย่างไรก็ดี ในการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลำเพ็งควรมีการศึกษาเชิงลึกในการหาชนิดของสารประกอบฟลาโวนอยด์เพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ: ลำเพ็ง ปริมาณฟลาโวนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

This research aimad to investigate the phytochemical from *Stenochlaena palustri (Burm.f)* Bedd. extracted by water acetone and ethyl acetate. The results revealed that the *Stenochlaena palustri (Burm.f)* Bedd. extracted by ethyl acetate found the flavonoid compound. However, water and acetone extracted had a negative result. And then the total flavonoids content in extracted there were 7.998 ± 0.417 mg/ml compared to standard quercetin solution. The IC_{50} of the radical scavenging activity were 2494.89 µg/ml. However, the study of total flavonoids content and radical scavenging activity should be further tested in order to type of flavonoid.

Keywords: *Stenochlaena palustris (Burn. f)* Bedd., flavonoid content antioxidant

บทนำ

ปัจจุบันมนุษย์เราให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับสุขภาพกันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการรับประทานอาหารของมนุษย์เราในปัจจุบันพบว่ามีความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น การรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์เป็นประจำจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ หลอดเลือดแข็งตัวและมะเร็ง ขณะที่ผู้รับประทานอาหารประเภทพืชผักและผลไม้เป็นประจำมีความเสี่ยงน้อยกว่า เนื่องจากในพืชผักและผลไม้มีวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าเคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล แทนนิน ฟลาโวนอยส์ ที่เป็นองค์ประกอบ เป็นต้น ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในลำเพ็ง [1]

ลำเพ็ง เป็นผักพื้นบ้านจำพวกพืชล้มลุกที่มีลักษณะใบบริเวณขอบมีหยัก ลำต้นมีหนามปกคลุม อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่ช่วยในการชะลอวัย และมีกลิ่นเล็กน้อย จึงมีการนำไปใช้ประกอบอาหาร นิยมนำมารับประทานคู่กับอาหาร เนื่องจากลำเพ็งมีรสจืด งานวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้ทำวิจัยขึ้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของลำเพ็ง เพื่อนำไปสู่การรู้คุณค่าประโยชน์ของพืชผัก และผลไม้ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ และยังเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่ต้องการศึกษาเกี่ยวกับพืชชนิดนี้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของลำเพ็ง

2.2 เพื่อศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลำเพ็ง

2.3 เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำเพ็ง

วิธีการวิจัย

1. การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น [2]

เป็นการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง (ลำเพ็ง) เพื่อต้องการทราบว่าพืชตัวอย่าง ที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้น มีองค์ประกอบทางเคมีกลุ่มใด โดยใช้ปฏิกิริยาเคมีง่าย ๆ ซึ่งจะให้ผลเป็นสีหรือการเกิดตะกอน ในการวิจัยนี้จะตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก กลุ่มซาโปนินและแทนนิน โดยองค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้สามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้และมีการใช้สารตรวจสอบดังนี้

1.1 วิธีการตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ใช้ Hydrochloric acid

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร อย่างระมัดระวัง ใส่ลวดแมกนีเซียมลงไป 2 ชิ้นเล็ก ๆ ถ้าฟองที่เกิดเป็นสีส้ม แดงหรือชมพู แสดงว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์

1.2 วิธีการทดสอบสารประกอบซาโปนิน

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น จำนวน 5 มิลลิลิตร อุ่น 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เขย่าแรงๆ หากเกิดฟองและคงอยู่ประมาณ 10 นาที แสดงว่ามีซาโปนิน

1.3 วิธีการทดสอบสารประกอบฟีนอลิก ใช้ 1% Feric chloride solution

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่น 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นหยด 1 % Feric chloride solution ถ้าหากสารละลายให้สีน้ำเงินเข้มหรือดำ แสดงว่ามีสารประกอบฟีนอลิก

1.4 วิธีการตรวจสอบสารประกอบ Tannin

1.4.1 gelatin solution

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่น 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นนำสารละลายที่ได้ทดสอบด้วย gelatin solution ถ้าหากเกิดตะกอนสีขาวขุ่น แสดงว่ามีสารกลุ่มแทนนิน

1.4.2 gelatin salt solution

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร อุ่น 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นนำสารละลายที่ได้ทดสอบด้วย gelatin salt solution ถ้าหากเกิดตะกอนสีขาวขุ่น แสดงว่าพบสารกลุ่มแทนนิน

2. การเตรียมสารสกัดจากลำเพ็งเพื่อหาปริมาณฟลาโวนอยด์และการทดสอบสมบัติต้านอนุมูล [3]

นำพืชตัวอย่าง ล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งพืชตัวอย่างมาประมาณ 200 g ใส่ในขวดโหล จากนั้นมาสกัดด้วย Ethyl acetate พอท่วม เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วปิดด้วย Paraffin, Foil และปิดฝาให้สนิทตามลำดับ และใช้แท่งแก้ว

คน คนเป็นระยะ ๆ จากนั้น นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารสกัดที่ได้ 50 ml มาระเหย Ethyl acetate บนเครื่อง (water bath) จนมีปริมาตรเหลือประมาณ 10% ของสารละลายเริ่มต้น แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ [4] สามารถหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเตรียมสารละลายเควอร์เซติน (Quercetin) ในเอทานอล นำสารละลายเควอร์เซตินหรือส่วนสกัดที่ละลายในเอทานอล 1 mg/ml ปริมาตร 200 µl เติม 95% ethanol 1.8 ml เติมสารสะลาย 10% aluminium chloride 100 µl เติมสารละลาย 1 M potassium acetate 100 µl และเติมน้ำกลั่น 2.8 ml เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm เทียบกับ Blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด หาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลายเควอร์เซตินโดยวิธีการเจือจางแบบอนุกรม (serial dilution) จากความเข้มข้น 1 mg/ml ให้ได้ 5 ความเข้มข้นคือ ความเข้มข้น 500 250 125 62.5 และ 31.25 µg/ml

1. การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity [2]

เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH radical scavenging activity (DPPH) 0.05 mM โดยชั่งสารมาตรฐาน DPPH หนัก 0.1972 g ละลายด้วยเอทานอลใน บีกเกอร์ คนให้สารละลายจนหมดแล้วเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเอทานอล จะได้ Aethanolic DPPH radical แล้วเตรียมสารสกัดลำเพ็ง 4 ความเข้มข้น 1:2 1:5 1:10 1:20 เติมสารละลาย Methanolic DPPH radical ลงในหลอดทดลอง จำนวน 200 µl เติม Methanol จนครบ 3 ml จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารสกัดตัวอย่าง ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 100 µl แล้วเขย่าให้เข้ากันและ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เอทานอล เป็น Blank คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และรายงานผลในรูป IC_{50}

ผลการวิจัยและอภิปราย

งานวิจัยชิ้นนี้ศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระในลำเพ็ง โดยใช้ตัวทำละลาย Ethyl acetate ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟวาโลนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น

จากการหาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก ซาโปนินและแทนนิน ของสารสกัดลำเพ็ง พบว่า ลำเพ็งมีสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียว เนื่องจากให้ผลบวกกับ Hydrochloric acid ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของลำเพ็ง

องค์ประกอบทางเคมี	ลำเพ็ง
Flavonoid	+ (สีส้มถึงสีแดง)
Saponin	- (ไม่เกิดฟอง)
Phenolic	- (สีเขียว)
Tannin [a]	- (ไม่เกิดตะกอน)
Tannin [b]	- (ไม่เกิดตะกอน)

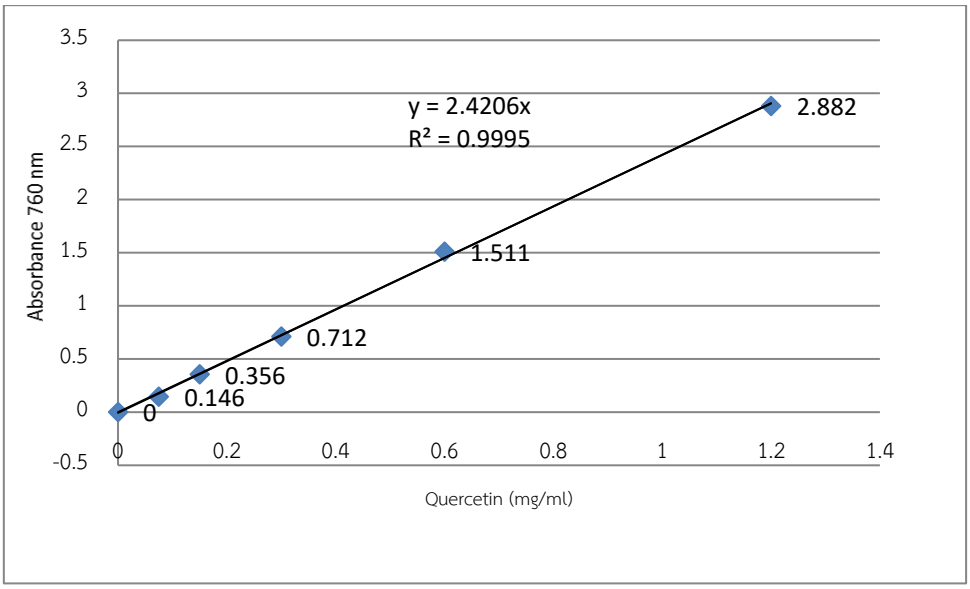
* a = Gelatin solition , b = Gelatin sait Soiution.

2. ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัด

จากผลการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดลำเพ็งโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายเควอร์ซิติน (Quercetin) พบว่า ในสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 7.996 ± 0.417 mg/ml Fresh weight (ผลที่แสดงเป็นค่าจากการทดลอง 3 ครั้ง , EA = Ethly Acetate) ซึ่งปริมาณที่ได้มาจากการคำนวณสมการของกราฟมาตรฐานของสารละลาย Ethly Acetate โดยใช้วิธีนำค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Ethly Acetate ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน ดังตารางที่ 2-3 และภาพที่ 1

ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Quercetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Test tube	[Quercetin] (mg/ml)	Absobance at 760 nm
Blank	0	0
1	0.075	0.146
2	0.15	0.356
3	0.3	0.712
4	0.6	1.511
5	1.2	2.882
ค่าเฉลี่ย		1.1214



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานเควอร์เซติน

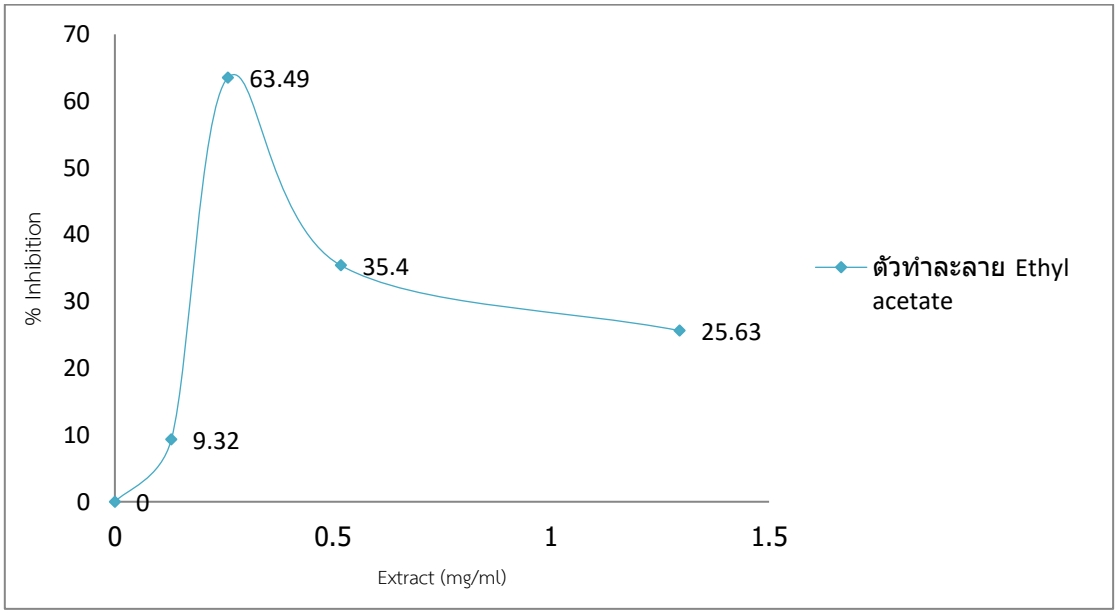
3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำเพ็งจากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำเพ็งด้วยวิธี DPPH assay ซึ่งใช้ปริมาณฟลาโวนอยด์ในการทดสอบ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากลำเพ็งที่เวลา 30 นาที แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเขียนกราฟมาตรฐาน ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดลำเพ็งในตัวทำละลาย Ethly Acetate ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Test tube	Absobance at 760 nm	Flavonoid (mg/ml)
1	0.607	7.521± 0.417
2	0.659	8.166 ± 0.417
3	0.670	8.301 ± 0.417
ค่าเฉลี่ย	0.645	7.996 ± 0.417

ตารางที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm และ %Inhibition ของสารสกัดลำเพ็ง ในตัวทำละลาย Ethyl acetate ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

$A_{control}$	Extracted (µg/ml)	เวลา 30 นาที		สมการ	IC_{50} (µg /ml)
		A_{sample}	%IHB		
1.030	31.25	0.934	11.26	y = 1.8857ln(x) + 35.25	2,494.89
1.030	62.5	0.376	64.03		
1.030	125	0.667	39.79		
1.030	250	0.766	28.43		



ภาพที่ 2 กราฟแสดง %Inhibition การยับยั้งของสารสกัดหยาบจากลำเพ็ง ในตัวทำละลาย Ethyl acetate ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย

1) จากการศึกษาหาปริมาณฟลาโวนอยด์ พบว่า ในสารสกัดหยาบจากลำเพ็งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 7.975± 0.405 µg /ml Fresh weight

2) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำเพ็ง เมื่อนำสารสกัดหยาบจากลำเพ็งมาศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบจากลำเพ็งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตัวทำละลายน้ำ ตัวทำละลายAcetone ตัวทำละลายEthyl acetate ดังนี้ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.264 mg/ml 0.243 mg/ml และ 2494.89 mg/ml EA

2. ข้อเสนอแนะ

1) ในการศึกษาหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลำเพ็ง ควรมีการใช้ตัวทำละลายหลายๆ ชนิด เพื่อทดสอบสารสกัดลำเพ็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายด้วยวิธีเดียวกัน และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม

2) ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบจากลำเพ็ง และตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นเท่านั้น ผู้ที่สนใจต้องการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ควรศึกษาหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ลำเพ็งเป็นผักพื้นบ้านที่พบมากในจังหวัดนราธิวาส นำมาทานเป็นผักสดคู่กับน้ำพริก แต่ชาวบ้านในชุมชนไม่นิยมรับประทาน เนื่องจากไม่ทราบถึงสรรพคุณที่แท้จริง จากการทำงานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำความรู้ไปถ่ายทอดแก่ชุมชนถึงสรรพคุณการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของลำเพ็งได้

กิตติกรรมประกาศ

ทางผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.ศิริชัย นามบุรี รองอธิการฝ่ายบริหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา และผู้ดูแลโครงการห้องเรียนพิเศษ SMP ในการอนุเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ประกอบการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารประกอบอ้างอิง

[1] บุหรัน พันธุ์สวรรค์, “อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ”. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา*, ปีที่ 2, ฉ. 3, น. 277-228, 2556.

[2] บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปยะสุวรรณ, “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน”, รายงานผลการวิจัย, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ, 2549.

[3] ฮาบีบ๊ะ บือแนง และดรุณี บือราเฮง, “การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระในผักแพว”, รายงานผลการวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, 2559.

[4] นาดียะห์ เจะเตะ และพาดีลา มะนอ, “ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในผักแผ้ว”,รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 2560.