การศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของถั่วดาวอินคา

The Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Plukenetia volubilis* L.

เจริญชัย บุตรสา

Jaroenchai Bootsa

นักวิชาการอิสระ

Independent Scholar

ณภัทร เกตุบุญสม

Naphat Ketbunsom

โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบ้านเสือโก้ก

Suakok Subdistrick Health Promotion Hospital

รัฐพรรณ สันติอโนทัย

Ruthaphan Santianotai

ภาควิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

Department of Public health, Faculty of Science and Technology, Chaing Mai Rajabhat University

เกศชฎา โชติพูล

Ketchada Chotpool

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

ธวัชชัย เหล็กดี*

Thawatchai Lekdee*

กองคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้านไทย กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก

Division of Protection and Promotion of Thai Traditional and Indigenous Medicine,

Department of Thai Traditional Medicine and Alternative Medicine

E-mail : jaroenchaibootsa@gmail.com, naphat888ketbunsom@gmail.com,

ruthaphan_san@g.cmru.ac.th, ketchada.cho@dpu.ac.th and doctor.aoteza@gmail.com*

*Corresponding author

(Received: 28 August 2023, Revised: 19 October 2023, Accepted: 24 October 2023)

https://doi.org/10.57260/stc.2023.642

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนใบเพสลาด ส่วนเมล็ด และส่วนเมล็ดที่สกัดน้ำมันออก (Defatted) สกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด (ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และอะซิโตน) สารสกัดทั้งหมดนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (แอลคาลอยด์ สเตรียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอนและศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging การศึกษาพบว่า สารสกัดส่วนใบเพสลาดพบสารพฤกษเคมี 4 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ สเตรียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์ สารสกัดส่วนเมล็ดและเมล็ดที่สกัดน้ำมันออก (Defatted) พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และ สเตรียรอยด์เท่านั้น และการสกัดด้วย Ethanol ของใบเพสลาดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในวิธี DPPH โดย (IC_{50} มีค่าเท่ากับ 59.71 µg/ml)

คำสำคัญ: ถั่วดาวอินคา องค์ประกอบทางพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objectives of this research were to examine the preliminary phytochemicals of fan leaf, seed, and defatted seed. The extraction method was maceration of the sample in three different types of solvents (dichloromethane, ethanol, and acetone). The phytochemical screening (alkaloids, steroids, tannins, and flavonoids) using the reaction of color or sediment and antioxidant activities was performed with the DPPH radical scavenging method. The research results found that fan leaf extract contained four groups of phytochemicals, including alkaloids, steroids, tannins, and flavonoids, and that ethanol extraction of fan leaf had antioxidant activity at IC_{50} = 59.71 µg/ml

Keywords: *Plukenetia volubilis* L., Phytochemical screening, Antioxidant activity

บทนำ

ประชาคมอาเซียนมุ่งหวังให้เป็นประชาคมที่มีประชาชนเป็นศูนย์กลาง ประชากรอาเซียนมีสภาพความเป็นอยู่ที่ดี ปราศจากโรคภัยไข้เจ็บ ส่งเสริมการใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืนและมีการพัฒนาในทุกด้าน เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของประชาชน (เกียรติชัย พงษ์พาณิชย์, 2556) อย่างไรก็ตามการขยายตัวในด้านการค้าและการลงทุนของประเทศสมาชิกอาเซียนก่อให้เกิดการเคลื่อนย้ายแรงงานและการท่องเที่ยวแบบเสรีในประชาคมอาเซียนอาจส่งผลกระทบทางด้านสาธารณสุขซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพจากการเคลื่อนย้ายถิ่นที่อยู่ของผู้ใช้แรงงานและปัญหาการเกิดโรคระบาดจากผู้ใช้แรงงานก่อให้เกิดโรคติดต่ออุบัติใหม่เกิดขึ้น (โกสุม เศรษฐาวงศ์, 2558) ทำให้ประชาชนต้องมีความใส่ใจในการดูแลสุขภาพมากขึ้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสารที่มีผลเสียต่อร่างกายและสารที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเสริมสุขภาพที่ดีของร่างกายจึงได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะงานวิจัยเกี่ยวกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

ปัจจุบันมีรายงานว่าพบกลุ่มสารจากสารสกัดเมล็ดถั่วดาวอินคา ประกอบไปด้วย polyunsaturated fatty acid, tocopherols, phytosterols, phenolic compound และ antioxidant (Rosana et al., 2012) ซึ่งคุณสมบัติของสารดังกล่าวเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมากโดยมีงานวิจัยเผยว่า Phytosterols สามารถลดระดับคอลเลสเตอรอลในเลือด และช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งบางชนิด (Whitaher et al., 2002) tocopherols หรือ วิตามินอี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Hounsome et al., 2008) น้ำมันจากเมล็ดถั่วดาวอินคาที่ประกอบไปด้วย omega-3 fatty acid (โดยเฉพาะ α-linoleic acid), omega-6 fatty acid, omega-9 fatty acid ซึ่ง Fatty acid กลุ่มนี้ จัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายสร้างเองไม่ได้ และพบในน้ำมันทั่วไปได้น้อยมาก หากขาดจะทำให้ร่างกายขาดความสมดุล รวมทั้งมีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่าง ๆ ดังนั้นร่างกายจึงต้องได้รับกรดไขมันจำเป็นเหล่านี้ เข้าไปในปริมาณที่เหมาะสมและเพียงพอต่อความต้องการ กรดไขมันกลุ่ม omega-6 fatty acid, omega-9 fatty acid จัดเป็นสารตั้งต้นของ Prostaglandins ในร่างกายซึ่งมีผลต่อระบบการทำงานต่าง ๆ ภายในร่างกาย เช่น ระบบการไหลเวียนของเลือดและหัวใจ ระบบการขนส่งสารผ่านเส้นเลือด กลไกการแข็งตัวของเลือด การส่งผ่านของสารสื่อประสาท กระบวนการเผาผลาญของไขมัน กลไกการอักเสบ และระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น ดังนั้น น้ำมัน (Unsaturated fatty acid) ที่อยู่ในถั่วดาวอินคาในปริมานสูง จึงถูกนำมาใช้รักษาโรคและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมความงามได้ นอกจากนั้นในน้ำมันเมล็ดถั่วดาวอินคายังพบสารกลุ่ม Cardiac glycoside คาดว่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary artery disease), โรคข้ออักเสบ (Arthritis), โรคเบาหวาน (Diabetes), โรคสมาธิสั้น (ADAH) และโรคผิวหนังอักเสบ (Inflammatory skin diseases) (Hans-Peter Hanssen *et al*., 2008) นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับน้ำมันของถั่วดาวอินคาสามารถยับยั้งเชื้อ *staphylococcus aureus* ที่ Keratinocytes cell ของผิวหนังชั้น Epidermis (Gonzalez-Aspajo *et al*., 2015) ซึ่งช่วงอายุที่เหมาะสมของใบถั่วดาวอินคาที่สามารถพบสารทุติยภูมิได้มากที่สุดคือช่วงอายุ ใบเพสลาด ส่วน ช่วงใบอ่อน และใบแก่ นั้นสามารถพบสารทุติยภูมิได้เช่นกันแต่ปริมาณน้อย (รักชนก ภูวพัฒน์, 2559)

อนึ่งพบว่าถั่วดาวอินคากำลังเป็นที่นิยมของกลุ่มเกษตรกรในปัจจุบัน เพราะถั่วดาวอินคาเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ในประเทศไทย ปลูกง่าย ทนแล้ง ให้ผลผลิตที่มีกำไรสูง และสามารถนำไปประกอบอาหารได้ทุกส่วน โดยเฉพาะ เมล็ด และใบ ที่เกษตรกรนิยมนำมารับประทานและจำหน่าย (อุดมวิทย์ ไวทยการ และคณะ, 2556) ซึ่งยังมีรายงานวิจัยยังไม่มากนักที่จะสามารถระบุว่าส่วนเมล็ด และใบของถั่วดาวอินคามีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและแตกต่างกันหรือไม่ ตลอดจนยังไม่พบการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชดังกล่าวที่ชัดเจนมากนัก ทางผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำใบ และเมล็ดของถั่วดาวอินคา มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ หลังจากนั้นนำมาทดสอบหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพื่อให้ทราบคุณลักษณะสารสกัดจากส่วนของพืชที่ออกฤทธิ์ดังกล่าวที่ดี และสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพและผลิตภัณฑ์เวชสำอางในอนาคตต่อไป

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ถั่วดาวอินคา (*Plukenetia volubilis* L.) เก็บจากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม โดยเก็บในส่วนของใบเพสลาด และส่วนเมล็ดของต้นถั่วดาวอินคา ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนแห้ง เมื่อแห้งดีแล้วบดเป็นผง โดยแยกใบและเมล็ดออกจากกัน ไม่เก็บในภาชนะเดียวกัน โดยเก็บใส่ภาชนะที่ปิดสนิทแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้น

2. การสกัดถั่วดาวอินคา

การเตรียมส่วนต่างๆ ก่อนการสกัดของถั่วดาวอินคา แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ส่วนใบเพสลาด นำส่วนใบเพสลาดที่บดหยาบแล้ว นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้วจดบันทึกไว้ ส่วนที่ 2 ส่วนเมล็ด นำส่วนเมล็ดที่บดหยาบแล้ว นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้วจดบันทึกไว้ และส่วนที่ 3 ส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก (Defatted) โดยนำเมล็ดถั่วดาวอินคาที่บดหยาบแล้วชั่งมา 20 กรัม มาสกัดเอาน้ำมันออกด้วยการแช่ในปิโตรเลียมอีเทอร์ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออก จะได้ส่วนกากของเมล็ดถั่วดาวอินคาที่ทำการสกัดน้ำมันออก แล้วนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนจดบันทึกไว้ จากนั้นนำผงตัวอย่างของถั่วดาวอินคาทั้ง 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนใบเพสลาด ส่วนเมล็ด และส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออกสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ โดยมีกระบวนการสกัดดังนี้

2.1 สกัดโดยนำส่วนใบเพสลาด ส่วนเมล็ด และส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออกที่บดหยาบ แล้วชั่งมา 20 กรัม แช่ในตัวทำละลาย Dichloromethane, Acetone และ 99.8% Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นาน 3 วัน เขย่าด้วยมือวันละ 1 ครั้ง 5-10 นาที แล้วกรองเอากากออก นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ใน Erlenmeyer flask ปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ จากนั้นนำกากที่เหลือมาทำการสกัดซ้ำด้วย Dichloromethane, Acetone และ 99.8% Ethanol อีกครั้งรวมทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วนำสารสกัดทั้งหมดไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จนได้สารละลายที่มีลักษณะเหนียวข้น

2.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้ มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้จากการสกัด (% yield) โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ yield (w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)}}{\text{น้ำหนักของวัตถุดิบ (g)}} \times 100$$

2.3 นำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและเก็บให้พ้นแสง เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี

ดัดแปลงวิธีจาก (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธ์ และประไพ วงศ์สินคงมั่น, 2551)

3.1 การตรวจสอบสารกลุ่มแอลคาลอยด์

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids) เตรียมสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ระเหยให้แห้ง นำสารสกัดที่ได้ระเหยด้วย 5% กรดซัลฟิวริก 5 มิลลิลิตร กรองเอาสารละลายมา นำไปหยดบนแผ่นสไลด์ 1 หยด และหยดน้ำยา Dragendorff 1 หยด ลงบนสารสกัด แปรผลโดยการสังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น ผลบวกจะได้ตะกอนสีส้ม

3.2 การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ด้วยวิธี Shinoda's method เตรียมสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร แล้วเติม magnesium ribbon แผ่นเล็กๆประมาณ 5-8 แผ่น แปรผลโดยเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา ผลบวกให้สารละลายสีส้ม-แดง

3.3 การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน

เตรียมสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 7 มิลลิลิตร

ส่วนที่ 1 : นำสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ระเหยให้แห้งเติมสารละลาย 10% โซเดียมคลอไรด์ 2-3 หยด กรองสารละลายเอาส่วนตะกอนทิ้ง สารละลายที่ได้แบ่งเป็น 3 หลอด ประกอบด้วย

หลอดที่ 1 เติมน้ำยา gelatin 1% โดยละลาย gelatin 0.5 กรัม ในน้ำ 50 มิลลิลิตร

หลอดที่ 2 เติมน้ำยา gelatin salt โดยละลาย gelatin 0.25 กรัม และละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม ในน้ำ 50 มิลลิลิตร

หลอดที่ 3 หลอดควบคุม (สารละลายสกัดหยาบ)

ผลบวกจะได้ตะกอนในหลอดที่ 1 และ 2

ส่วนที่ 2 : นำสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แบ่งเป็น

หลอดที่ 1 หลอดควบคุม (สารละลายสกัดหยาบ)

หลอดที่ 2 เติมน้ำยา ferric chloride 1% ผลบวกจะได้สีน้ำเงินหรือสีเขียว

หลอดที่ 3 เติมน้ำยา bromine water ผลบวก จะได้ตะกอนสีเทาส้ม

หลอดที่ 4 เติมน้ำยา lime water ผลบวก จะได้ตะกอนสีเทาเหลือง ๆ

การแปลผล

กรณีที่ 1 ให้ผลลบกับน้ำยา gelatin และ gelatin salt ไม่ให้สีกับ 1% ferric chloride แสดงว่าสารสกัดไม่มีสารกลุ่มแทนนิน

กรณีที่ 2 ให้ผลบวกกับน้ำยา gelatin และ gelatin salt ให้สีเขียวกับน้ำยา 1% ferric chloride ให้ผลบวกกับน้ำยา bromine water และให้ผลลบกับน้ำยา lime water แสดงว่าสารสกัดมีสารกลุ่มแทนนินชนิด condensed tannins

กรณีที่ 3 ให้ผลบวกกับน้ำยา gelatin และ gelatin salt ให้สีน้ำเงินหรือน้ำเงินดำกับน้ำยา 1% ferric chloride ให้ผลลบกับน้ำยา bromine water และให้ผลบวกกับน้ำยา lime water แสดงว่าสารสกัดมีสารกลุ่มแทนนินชนิด hydrolysable tannins

3.4 การตรวจสอบสารกลุ่มสเตียรอยด์

การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Steroids) ด้วยวิธี Liebermann-Burchard's method เตรียมสารสกัดถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ระเหยให้แห้ง แล้วหยดด้วยน้ำยา acetic anhydride 3 หยด และหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด แปลผลโดยเมื่อผลเป็นบวกจะให้สีน้ำเงิน-เขียว แสดงว่าสารสกัดเป็นสเตียรอยด์ ถ้าสารสกัดให้สีแดง สีชมพู หรือสีม่วงแดง แสดงว่าสารสกัดมีสเตียรอยด์กลุ่มคิวเคอร์บิทาซิน

4. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมสารละลายของสารสกัดสมุนไพรในตัวทำละลาย Dichloromethane, ethanol และ Acetone ที่มีความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การเตรียมสารละลาย 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 mM โดยชั่ง DPPH มา 0.00789 กรัม ละลายในเอทานอลแล้วปรับปริมาตรให้ครบในปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลายของวิตามินซี (Ascorbic acid) 100 µl ผสมกับน้ำกลั่น 100 µl บ่มสารละลายผสมไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ซ้ำ 5 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย คำนวณร้อยละการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระชนิด DPPH (%inhibition) แทนค่า y = 50 (% การยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% หรือ IC_{50}) จากนั้นสร้างกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัด และคำนวณหาค่า IC_{50} โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบ ดังสมการ

$$\text{ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

เมื่อ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (สารละลาย DPPH กับ Dichloromethane, ethanol และ Acetone)

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบส่วนใบเพสลาดของถั่วดาวอินคาที่มีน้ำหนักและ % yield มากที่สุดคือ ส่วนใบเพสลาดที่ถูกสกัดด้วย Ethanol (2.26 กรัม) รองลงมาคือ Acetone (1.32 กรัม) และ Dichloromethane (1.06 กรัม) ตามลำดับ น้ำหนักของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดของถั่วดาวอินคาที่มีน้ำหนักและ %yield มากที่สุดคือส่วนเมล็ดที่ถูกสกัดด้วย Dichloromethane (7.61 กรัม) รองลงมาคือ Acetone (7.33 กรัม) และ Ethanol (5.59 กรัม) ตามลำดับ และน้ำหนักของสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออกของถั่วดาวอินคาที่มีน้ำหนักและ %yield มากที่สุดคือ ส่วนเมล็ดที่ถูกสกัดด้วย Dichloromethane (5.29 กรัม) รองลงมาคือ Acetone (5.13 กรัม) และ Ethanol (3.71 กรัม) ตามลำดับ จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบที่มีน้ำหนักและ %yield มากที่สุดเมื่อเทียบทั้ง 3 ส่วนของถั่วดาวอินคา คือสารสกัดหยาบส่วนเมล็ดในตัวทำละลาย Dichloromethane มีน้ำหนักเท่ากับ 7.61 กรัม คิดเป็น 38.03%

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณและร้อยละผลผลิตของสารสกัด

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (%Yield)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
ส่วนใบเพสลาด	Dichloromethane	1.06	5.30	สีเขียวปนน้ำตาล เหนียวข้น
	Acetone	1.32	6.59	สีเขียวแก่ปนแดง เหนียวข้น
	Ethanol	2.26	11.30	สีเขียวแก่เข้ม เหนียวข้น
ส่วนเมล็ด	Dichloromethane	7.61	38.03	เป็นน้ำมันสีส้มใส
	Acetone	7.33	36.65	เป็นน้ำมันสีส้มอ่อนใส
	Ethanol	5.59	27.92	เป็นน้ำมันสีเหลืองใส
ส่วนสกัดน้ำมันออก (Defatted)	Dichloromethane	5.29	26.49	เป็นน้ำมันสีเหลืองใส
	Acetone	5.13	25.65	เป็นน้ำมันสีเหลืองใส
	Ethanol	3.71	18.53	เป็นน้ำมันสีเหลืองใส

2. ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การวิเคราะห์สารพฤกษเคมีเบื้องต้นของถั่วดาวอินคา จากส่วนใบเพสลาด เมล็ด และเมล็ดที่สกัดน้ำมันออก (Defatted) ของสารพฤกษเคมีทั้ง 4 กลุ่ม ส่วนใบเพสลาดที่สกัดด้วย Dichloromethane, Ethanol และ Acetone พบสารในกลุ่ม แอลคาลอยด์ สเตรียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์ ส่วนเมล็ด ที่สกัดด้วย Dichloromethane, Ethanol และ Acetone พบสารกลุ่ม แอลคาลอยด์ และสารกลุ่มสเตียรอยด์ เช่นเดียวกันกับ ส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก ที่สกัดด้วย Dichloromethane, Ethanol และ Acetone พบสารในกลุ่ม แอลคาลอยด์และสารกลุ่มสเตียรอยด์ จะเห็นได้ว่าส่วนใบเพสลาดของถั่วดาวอินคา สามารถพบสารพฤกษเคมีได้หลายชนิดมากกว่าส่วนอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

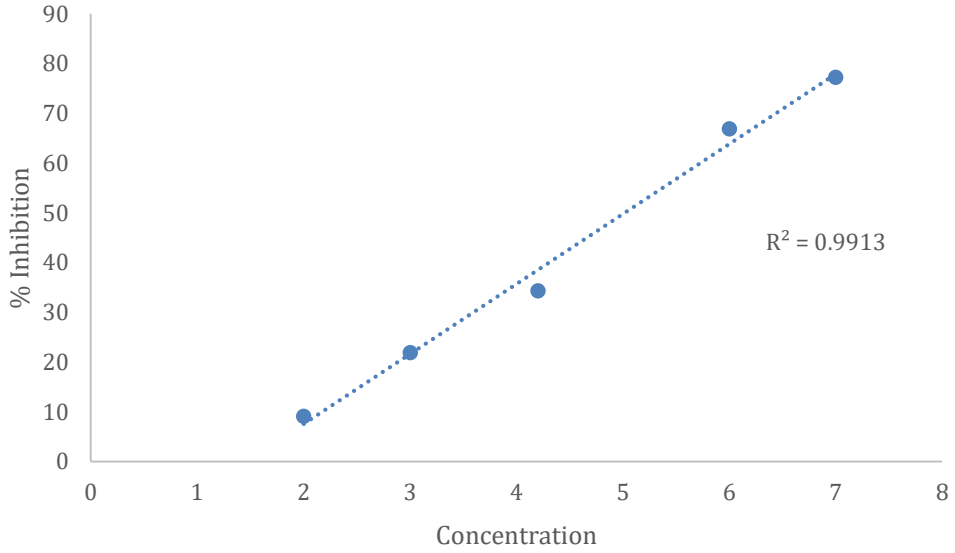
ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ส่วนที่ใช้	กลุ่มสารพฤกษเคมี	ผลการทดสอบ ตัวทำละลาย		
		Dichloromethane	Acetone	Ethanol
ส่วนใบเพสลาด	แอลคาลอยด์	+	+	+
	สเตรียรอยด์	+	+	+
	แทนนิน	+	+	+
	ฟลาโวนอยด์	+	+	+
ส่วนเมล็ด	แอลคาลอยด์	+	+	+
	สเตรียรอยด์	+	+	+
	แทนนิน	-	-	-
	ฟลาโวนอยด์	-	-	-
ส่วนสกัดน้ำมันออก (Defatted)	แอลคาลอยด์	+	+	+
	สเตรียรอยด์	+	+	+
	แทนนิน	-	-	-
	ฟลาโวนอยด์	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง พบสารพฤกษเคมี, - หมายถึง ไม่พบสารพฤกษเคมี

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างกันๆ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยและนำไปคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) ดังแสดงในภาพที่ 1 ที่ความเข้มข้น 2, 3, 4.2, 6 และ 7 µg/ml ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อนำความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (Ascorbic acid) มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ความสัมพันธ์เป็นกราฟสมการ คือ y = 14.065x-20.577 โดยแทนค่า y = 50 ในสมการได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 5.019 µg/ml



ภาพที่ 1 แสดงความเข้มข้นระหว่างของสารมาตราฐาน ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
(ที่มา: คณะผู้วิจัย, 2566)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

สารสกัดถั่วดาวอินคาในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml พบว่า Ascorbic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.019 µg/ml สารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนใบเพสลาดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone, Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 59.71 µg/ml, 554.6 µg/ml, และ มากกว่า 1,000 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone, Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 823.8 µg/ml, 811.02 µg/ml และ มากกว่า 1,000 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก (Defatted) ในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone, Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 518.08 µg/ml, 764.81 µg/ml และ 543.49 µg/ml ตามลำดับ พบว่าสารสกัดถั่วดาวอินคาในกลุ่มที่ใช้ส่วนใบเพสลาดสกัดในตัวทำละลายที่ต่างกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ Ethanol, Acetone และ Dichloromethane โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 59.71 µg/ml, 554.6 µg/ml และมากกว่า 1,000 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาในกลุ่มที่ใช้ส่วนเมล็ดในตัวทำละลายที่ต่างกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ Acetone, Ethanol และ Dichloromethane ตามลำดับ โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 811.02

µg/ml, 823.8 µg/ml และมากกว่า 1,000 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาในกลุ่มที่ใช้ส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก (Defatted) ในตัวทำละลายที่ต่างกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ Ethanol, Dichloromethane, และ Acetone ตามลำดับ โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 518.08 µg/ml, 543.49 µg/ml และ 764.81 µg/ml ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบส่วนของถั่วดาวอินคาทั้ง 3 ส่วน พบว่าส่วนใบเพสลาดที่ใช้ตัวทำละลาย Ethanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดโดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 59.71 µg/ml นอกจากนั้นส่วนใบเพสลาดและส่วนเมล็ดในตัวทำละลาย Dichloromethane มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ มากกว่า 1000 µg/ml

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

ส่วนที่ใช้	ค่า IC_{50} (µg/ml)		
	Dichloromethane	Acetone	Ethanol
ส่วนใบเพสลาด	>1000	554.6	59.71
ส่วนเมล็ด	>1000	811.02	823.8
ส่วนสกัดน้ำมันออก	543.49	764.81	518.08
Ascorbic acid		5.019	

เมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} ของสารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนใบเพสลาดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 59.71 µg/ml, 554.6 µg/ml และ 2,049.562 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 823.8 µg/ml, 811.02 µg/ml และ มากกว่า 1,012.584 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก (Defatted) ในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 518.08 µg/ml, 764.81 µg/ml และ 543.49 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งค่า IC_{50} น้อยยิ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดี หลังจากนั้นนำค่า IC_{50} ไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (Ascorbic acid) พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วดาวอินคาส่วนใบเพสลาดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี 11.89 เท่า, 110.5 เท่า และ 408.36 เท่า ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี 164.13 เท่า, 161.58 เท่า และ 201.75 เท่า ตามลำดับ และนอกจากนั้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วดาวอินคาส่วนเมล็ดที่ทำการสกัดน้ำมันออก (Defatted) ในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี 103.22 เท่า 152.38 เท่า และ 108.28 เท่า ตามลำดับ

การอภิปรายผล

จากการศึกษาองค์ประกอบสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging ของถั่วดาวอินคาจากส่วนใบเพสลาด เมล็ด และเมล็ดที่สกัดน้ำมันออก (Defatted) พบว่า สารสกัดในตัวทำละลาย Ethanol จากส่วนใบเพสลาดพบสารพฤกษเคมีมากที่สุด คือ แอลคาลอยด์ สเตรียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์ สอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เนื่องจากสารพฤกษเคมีที่พบเป็นโมเลกุลที่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว การตรวจสอบพบสารพฤกษเคมีดังกล่าวช่วยยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับรายงานที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับช่วงอายุที่เหมาะสมของใบถั่วดาวอินคา ที่สามารถพบสารทุติยภูมิได้มากที่สุดคือช่วงอายุ ใบเพสลาด (รักชนก ภูวพัฒน์, 2559) นอกจากนี้ในส่วนเมล็ดของถั่วดาวอินคายังมีรายงานว่ากลุ่มสารในเมล็ดถั่วดาวอินคา ประกอบไปด้วย polyunsaturated fatty acid, tocopherols, phytosterols และ phenolic compound (Rosana et al. , 2012) จะเห็นได้ว่าสารที่อยู่ในส่วนใบและเมล็ดของถั่วดาวอินคามีสารพฤกษเคมีหลายกลุ่ม ซึ่งในเมล็ดถั่วดาวอินคาจะมีสารพฤกษเคมีกลุ่มไขมันเป็นส่วนใหญ่

จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากตัวทำละลาย Ethanol ส่วนใบเพสลาดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูงกว่าสารสกัดถั่วดาวอินคาในส่วนเมล็ดที่ใช้ตัวทำละลาย Dichloromethane, Acetone และ Ethanol โดยให้ค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 59.71 µg/ml ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ว่า ส่วนใบของถั่วดาวอินคาพบสารพฤกษเคมีหลายกลุ่มได้แก่ phenolic compound, tocopherols, alkaloid, phytosterols และ flavonoid ซึ่งสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืช ผัก ผลไม้ โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (เนตรนภา เมยกลาง, 2557) จะเห็นได้ว่า สารพฤกษเคมีในส่วนของเมล็ดถั่วดาวอินคา พบสารกลุ่ม polyunsaturated fatty acid, tocopherols, phytosterols และ phenolic compound (Rosana et al., 2012) ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดถั่วดาวอินคามีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าส่วนใบ เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีขั้วสูงจึงสามารถดึงสารที่มีขั้วสูงออกมาได้มาก ซึ่งในเมล็ดมีสารเป็นกลุ่มไขมันเป็นส่วนใหญ่จึงถูกดึงสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระออกมาได้น้อยจึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยตามไปด้วย การศึกษานี้เผยให้เห็นว่าใบเพสลาดและเมล็ดของถั่วดาวอินคาเป็นแหล่งของถั่วเปลือกแข็งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากธรรมชาติ สามารถนำไปพัฒนาเพื่อเป็นเภสัชภัณฑ์ต่อไปในอนาคต และสามารถทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์เพื่อความปลอดภัยต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมทางการแพทย์อีกด้วย

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การสกัดหยาบของถั่วดาวอินคา ใช้ส่วนใบเพสลาด เมล็ด และเมล็ดที่สกัดน้ำมันออก (Defatted) ในตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ Dichloromethane, Acetone และ Ethanol นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จะได้สารสกัดหยาบ จากการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น พบว่า สารสกัดหยาบของถั่วดาวอินคาที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด จากส่วนใบเพสลาดพบกลุ่มสารพฤกษเคมี 4 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ สเตรียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์ ในขณะที่ส่วนเมล็ดและเมล็ดที่สกัดน้ำมันออกพบกลุ่มสารเพียง 2 กลุ่ม คือ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ และสเตรียรอยด์ จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดในตัวทำละลาย Ethanol จากส่วนใบเพสลาดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดย IC_{50} มีค่าเท่ากับ 59.71 µg/ml สารสกัดจากส่วนเมล็ดที่สกัดน้ำมันออกในตัวทำละลาย Dichloromethane มีค่า IC_{50} เท่ากับ 543.49 µg/ml และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} ของสารสกัดหยาบกับสารมาตรฐาน พบว่า สารมาตรฐานมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดในตัวทำละลาย Ethanol จากส่วนใบเพสลาด ประมาณ 11.89 เท่า การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น ควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ และศึกษาสารพฤกษเคมีชนิดอื่นเพิ่มเติม เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

เกียรติชัย พงษ์พาณิชย์. (2556). *คอลลัมน์มิติโลกาภิวัฒน์ไทยโพสต์.* สืบค้นจาก http://www.globalizationthailand.go.th/thaipost/

โกสุม เศรษฐาวงศ์. (2558). *การดูแลสุขภาพจิตและกายของตนเอง.* สืบค้นจาก http://news.msu.ac.th/

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธุ์ และ ประไพ วงศ์สินคงมั่น. (2551). *ทีแอลซี: วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย*. นนทบุรี : มหาวิทยาลัยมหิดลร่วมกับกรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.*วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21*(3), 275-286. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj/article/view/12696

รักชนก ภูวพัฒน์. (2559). การศึกษาการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิจากใบอ่อน ใบเพสลาดและใบแก่ของถั่วดาวอินคาเพื่อรองรับการผลิตใบชาเพื่อชุมชนของจังหวัดนราธิวาส. *วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 8*(2), 125-133. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pnujr/article/view/56214

อุดมวิทย์ ไวทยการ กัญญรัตน์ และ จำปาทอง เถลิงศักดิ์ วีระวุฒิ. (2556) . *ผลิใบก้าวใหม่การวิจัยและพัฒนาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร*. สืบค้นจาก : http://www.doa.go.th/pibai/

Gonzalez-Aspajo, G., Belkhelfa, H., Haddioui-Hbabi, L., Bourdy, G., & Deharo, E. (2015). Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis* L.), effect on adherence of *Staphylococus aureus* to human skin explant and keratinocytes in vitro. *J Ethnopharmacol, 171,* 330-334. DOI: 10.1016/j.jep.2015.06.009

Hounsome, N., Hounsome, B., Tmos, D., & Edgard-Jones, G. (2008). Plant metabolites and Nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science, 73*(4), R48-R65. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00716.x

Moreau, R. A., Whitaker, B. D., Hicks, K. B. (2002). Phytosterols, phytostanols and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and healthpromoting uses. *Progress in Lipid Research, 41*(6)*,* 475-500. DOI: 10.1016/s0163-7827(02)00006-1

Rosana Chirinos, Gledy Zuloeta, Romina Pedreschi, & Eric Mignolet, (2012). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acid, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Journal of Food Chemistry HLSEVIER, 141*, 1732-1739. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.04.078