



ISSN 2985-0835

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE

Vol. 45 (2); July-December (2023), pp. 1-7

<https://science.sru.ac.th/kochasarn>

Research Article

The Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Sesbania javanica* L. Flower extract

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของดอกโสน

ธวัชชัย เหล็กดี^{1*}, สุคนธ์ทิพย์ อนุพันธ์² และสุวนันท์ ผ่องแก้ว³

Thawatchai Lekdee^{1*}, Sukonthip Anupan² and Suwanan Phongkaew³

¹ กองคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้านไทย กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

² โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชกระนวน อ.กระนวน จ.ขอนแก่น 40170

³ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลศิลา อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

¹ Division of Protection and Promotion of Thai Traditional and Indigenous Medicine, Department of Thai Traditional Medicine and Alternative Medicine, Talat Khwan Subdistrict, Mueang Nonthaburi District, Nonthaburi 11000

² Kranuan Crown Prince Hospital, Kranuan District, Khon Kaen 40170

³ Sila Subdistrict Health Promotion Hospital, Mueang Khon Kaen District, Khon Kaen 40000

Article Info

Received 11 February 2022

Revised 19 April 2022

Accepted 23 October 2023

Abstract

The aim of this study was studied of the phytochemical screening and antioxidants activities of *Sesbania javanica* L. Flower extract. The extraction method was maceration sample in three difference types solvent. The phytochemical screening and antioxidant activities of all extracts were determined by DPPH radical scavenging. The antioxidants activity showed the ethanolic extracts of *Sesbania javanica* L. Flower extract. It was contained higher antioxidant activity of IC₅₀ of 124.5 µg/ml whereas the acetone extracts showed antioxidant activity of IC₅₀ of 271.6 and dichloromethane extracts showed antioxidant activity of IC₅₀ of more than > 1,000 µg/ml. The phytochemical screening of ethanolic extract was contain alkaloids, flavonoid and steroids whereas the acetone extract was contained flavonoid and steroid and the dichloromethane was contain flavonoids.

Keywords: *Sesbania javanica* L Flower., Phytochemical screening, antioxidant activity

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกโสน สกัดด้วยวิธี maceration ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด แล้วทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น และทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดดอกโสนด้วย Ethanol มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยให้ค่า IC₅₀ เท่ากับ 124.5 µg/ml ในขณะที่สารสกัด Acetone มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ความเข้มข้น 150, 200, 350, 400, 700 โดยให้ค่า IC₅₀ เท่ากับ 271.6 µg/ml และสารสกัด Dichloromethane มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด โดยให้ค่า ให้ค่า IC₅₀ เท่ากับ > 1,000 µg/ml เมื่อทำการทดสอบองค์ประกอบทางเคมี พบว่าสารสกัดดอกโสนด้วย 99.8% Ethanol พบ สารพฤกษเคมีหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบ คือแอลคาลอยด์, ฟลาโวนอยด์, สเตียรอยด์ ในขณะที่ดอกโสนที่สกัดด้วย Acetone พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสเตียรอยด์ และดอกโสนที่สกัดด้วย Dichloromethane พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เท่านั้น

คำสำคัญ: ดอกโสน, องค์ประกอบทางเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. บทนำ

ในปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีการพัฒนาความเจริญก้าวหน้าอย่างต่อเนื่อง การดำรงชีวิตของมนุษย์ที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้สังคมในปัจจุบันเปลี่ยนแปลงไปตามกระแสโลกาภิวัตน์อย่างรวดเร็ว การเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจ สังคมและอุตสาหกรรม รวมถึงการบริโภค ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ มีผลกระทบต่อสภาวะสิ่งแวดล้อม และวิถีชีวิตของประชาชนให้เปลี่ยนไป ซึ่งส่งผลกระทบต่อปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมและสุขภาพร่างกาย ทำให้เกิดปัญหาความบกพร่องของผิวพรรณคนไทย ได้แก่ ปัญหาฝ้า กระ รอยด่างดำ ริ้วรอย รอยหมองคล้ำ เนื่องจากแสงแดดเป็นตัวกระตุ้นการผลิต เม็ดสีเมลานิน (melanin pigment) ที่มากเกินไป และยังเป็นตัวกระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย [1] ซึ่งปัญหาเหล่านี้สามารถยับยั้งได้หลายวิธี ได้แก่ การหลีกเลี่ยงแสงอัลตราไวโอเล็ตโดยตรง การยับยั้งการทำงานของเซลล์จำนวนของเซลล์เมลานินไซโต, การจัดเมลาโนโซมหรือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส [2] จากการวิจัยมากมายพบว่าอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์และการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคเบาหวาน โรคต่อกระดูก ภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อ และความแก่ชรา ทำให้มนุษย์มีความใส่ใจเรื่องสุขภาพและความงามมากขึ้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสารที่มีผลเสียต่อร่างกายและสารที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเสริมสุขภาพที่ดีของร่างกาย จึงได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะงานวิจัยเกี่ยวกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ [3]

อนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย เช่น โรคหัวใจ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิต โรคความจำเสื่อม โรคข้ออักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคความดันโลหิต โรคหัวใจ โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท เป็นต้น ธรรมชาติหรือร่างกายของสิ่งมีชีวิตจึงมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายรูปแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้ง การทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ การเสริมฤทธิ์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ [3] สารต้านอนุมูลอิสระมีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ เช่น กรดอะมิโน (Amino acid), วิตามินซี (Ascorbic acid), แคโรทีนอยด์ (Carotenoids), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids), แทนนิน (Tannins), โทโคฟีรอล (Tocopherols) เป็นต้น [4]

โสน *Sesbania javanica* L. เป็นพืชที่คนไทยทั่วภูมิภาคนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหารคาวหวานกันมาช้านานแล้ว โดยรับประทานส่วนของดอก ซึ่งมีงานวิจัยที่บ่งชี้ถึงการมีสารต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนเป็นพวกสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ [5] ซึ่งสารสกัดมีส่วนช่วยชะลอความชรา เป็นสารต้านมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ รวมทั้งโรคที่เกิดเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนี้ยังช่วยสามารถควบคุมจิตใจและช่วยด้านความจำโดยดอกไม้แต่ละชนิด

จะมีคุณค่าทางอาหารและ สารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันออกไป [6] ซึ่งการบริโภคดอกโสนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการมีสุขภาพที่ดีกับสารเคมีที่ตกค้างมาในพืชเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารธรรมชาติราคาถูก ซึ่งเป็นพืชที่สามารถหาได้ง่ายไม่เป็นพิษและนำมาบริโภคได้ และส่งผลดีกับสุขภาพ [7] และจากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่พบการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำส่วนของต้นโสนมาสกัดในตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน หลังจากนั้นจึงนำมาทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพและผลิตภัณฑ์เวชสำอางในอนาคตต่อไป

2. วัตถุประสงค์การศึกษา

- เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
- เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

3. วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ดอกโสน *Sesbania javanica* L. จากอำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี กำจัดฝุ่นละอองและสิ่งสกปรกออก ล้างทำความสะอาด แล้วล้างจนแห้งซึ่งน้ำหนักที่แน่นอนจดบันทึกไว้ จากนั้นตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ โดยอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดให้ละเอียด เก็บผงใบแก้วในถุงพลาสติกปราศจากแสงและความร้อน แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ไคลอโรฟอร์ม (Dichloromethane) เอทานอล (Ethanol) และอะซิโตน (Acetone) แล้วนำมาทดสอบองค์ประกอบทางเคมี และทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ

3.2 วิธีการสกัดจากดอกโสน

สกัดด้วยวิธี maceration โดยนำดอกโสนที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วมาแช่ในตัว Dichloromethane, 99.8% ethanol, Acetone ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นาน 3 วัน เขย่าวันละ 1 ครั้ง แล้วกรองเอากากออก นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ใน Erlenmeyer Flask ปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ จากนั้นนำกากที่เหลือมาทำการสกัดซ้ำด้วย Dichloromethane, ethanol และ Acetone อีกครั้งรวมทั้งหมด 5 ครั้ง แล้วนำสารสกัดทั้งหมดไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จนได้สารละลายที่มีลักษณะเหนียวข้น (crude extract) นำสารสกัดหยาบที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้จากการสกัด (% yield) โดยคำนวณจากสูตร

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

และนำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบ ทั้งหมด 8 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ฟลาโวนอยด์ เทนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และซาโปนิน โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน [8] ดังนี้

3.3.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 10% H₂SO₄ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

3.3.2 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 10% H₂SO₄ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่านำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปเติมน้ำละลายแอมโมเนีย (10% NH₃) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

3.3.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่ากรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็กๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำป้อนบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

3.3.4 การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำ กลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl₃) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน

3.3.5 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออกนำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อยๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวน สีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

3.3.6 การตรวจสอบสเตียรอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออกนำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำกรดกลีเซอแลค (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วเติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) จำนวน 3

หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์

3.3.7 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% FeCl₃) จำนวน 5 หยด เขย่า เติมน้ำกรดกลีเซอแลค (Glacial acetic acid) จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อยๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

3.3.8 การตรวจสอบซาโปนิน

ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบ

3.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

- เตรียมสารละลายของสารสกัดสมุนไพร โดยละลายใน Dichloromethane, ethanol และ Acetone ให้มีความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- เตรียมสารละลาย 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเอทานอลให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 mM โดยชั่ง DPPH มา 0.00789 กรัม ละลายในเอทานอลแล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้ครบในขวดปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร
- เตรียมสารละลายของวิตามินซี (Ascorbic acid) 100 µl ผสมกับน้ำกลั่น 100 µl
- บ่มสารละลายผสมไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ซ้ำ 5 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย
- คำนวณร้อยละการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระชนิด DPPH (%inhibition)
- นำไปสร้างกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัด และคำนวณค่า IC₅₀ โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบจากสมการร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH = $\frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$ เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (สารละลาย DPPH กับ Dichloromethane, ethanol และ Acetone) และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบ

จากการศึกษาสกัดดอกโสน ด้วยวิธีการหมัก (maceration) เมื่อนำสารสกัดที่ได้มากระเหยเอาตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดหยาบ แล้วทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ในแต่ละตัวทำละลายและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบเมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชแห้ง ดังแสดงผลการสกัดสารในตารางที่ 1 พบว่าตัวทำละลายเอทานอลจะได้เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบเมื่อเทียบกับ

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัด

ตัวอย่างพืช	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก		ร้อยละผลผลิต (% yield)	ลักษณะของสารสกัด
		ตัวอย่าง พืชแห้ง (กรัม)	สารสกัด (กรัม)		
ดอกโสน	Ethanol	20	0.73	3.69	ของเหลวสีน้ำตาลเหลือง หนืด
	Acetone	20	0.32	1.63	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม หนืดเล็กน้อย
	Dichloromethane	20	0.37	1.89	ของเหลวสีน้ำตาลเหลือง แฉก

น้ำหนักแห้งสูงที่สุด ส่วนสารสกัดอะซิโตน และไดคลอโรมีเทนจะได้เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหายากใกล้เคียงกัน

4.2 ผลการตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

นำสารสกัดหายากสกัดจากตัวทำละลาย ทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบสารพิษเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมี จำนวน 8 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน สเตียรอยด์ แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ดังแสดงในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายเอทานอลพบว่ามีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสเตียรอยด์เป็นองค์ประกอบ สารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายอะซิโตน พบว่ามีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสเตียรอยด์ และสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน พบเฉพาะสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารพิษเคมีของดอกโสนในตัวทำละลายที่ต่างกัน

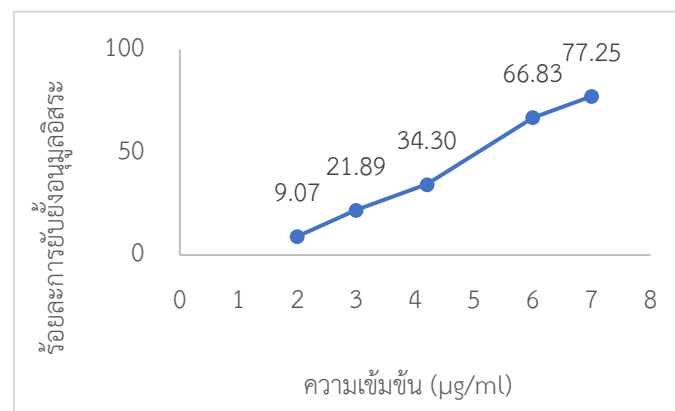
สารพิษเคมี	ตัวทำละลาย		
	Ethanol	Acetone	Dichloromethane
แอลคาลอยด์	+	-	-
เทอร์ปีนอยด์	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	+	+	+
แทนนิน	-	-	-
ซาโปนิน	-	-	-
สเตียรอยด์	+	+	-
แอนทราควิโนน	-	-	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง พบองค์ประกอบทางเคมี
- หมายถึง ไม่พบองค์ประกอบทางเคมี

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยและนำไปคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ % inhibition ดังแสดงในตารางที่ 3 ที่ความเข้มข้น 2, 3, 4, 2, 6, 7 µg/ml ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging เมื่อนำความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ความสัมพันธ์เป็นกราฟสมการ คือ $y = 14.065x - 20.577$ โดยแทนค่า $y = 50$ ในสมการได้ค่า IC50 เท่ากับ 5.019 µg/ml

จากนั้นนำข้อมูลจากตารางที่ 3 ของสารมาตรฐานมาทำกราฟเส้นตรงระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) กับความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานต่อร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหายาก

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล อะซิโตน และไดคลอโรมีเทน วิธีเดียวกันกับสารมาตรฐาน มาทำปฏิกิริยากับ Ethanol DPPH Solution ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่มีสีม่วงเข้ม แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มีด 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 4 ดอกโสนในตัวทำละลาย Ethanol และ Acetone ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml มี % Inhibition เท่ากับ 83.709 และ 87.988 ซึ่งมีค่ามากกว่า

50 % ซึ่งสามารถนำมาหา IC50 ได้ ส่วนดอกโสนในตัวทำละลาย Dichloromethane มี % Inhibition น้อยกว่า 50%

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) ของมาตรฐาน Ascorbic acid

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสง (Abs)					ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	% Inhibition
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5		
2	0.30	0.30	0.31	0.30	0.29	0.30	9.07
3	0.27	0.27	0.28	0.28	0.22	0.28	21.89
4.2	0.23	0.22	0.22	0.26	0.22	0.23	34.30
6	0.16	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	66.83
7	0.12	0.11	0.13	0.09	0.09	0.11	77.25

ตารางที่ 4 แสดง % Inhibition ของสารสกัดดอกโสนด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่นำมาทดสอบที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$

ตัวทำละลาย	% Inhibition
Ethanol	83.70 เท่ากับที่ความเข้มข้น 260 $\mu\text{g/ml}$
Acetone	87.98 เท่ากับที่ความเข้มข้น 700 $\mu\text{g/ml}$
Dichloromethane	41.23 เท่ากับที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$

สารสกัดดอกโสนด้วย Ethanol ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 120, 140, 200, 240, 260 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 0.943 ± 0.055 , 0.928 ± 0.048 , 0.797 ± 0.059 , 0.693 ± 0.037 และ 0.653 ± 0.066 ตามลำดับ และมีค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 54.80%, 56.13%, 69.69%, 78.95% และ 83.709% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกโสนด้วยตัวทำละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้น 120-260 $\mu\text{g/ml}$ ความยาวคลื่น 515 nm

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	สารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย Ethanol	
	$\bar{X} \pm \text{S.D.}$	% Inhibition
120	0.943 ± 0.055	54.809
140	0.928 ± 0.048	56.131
200	0.797 ± 0.059	69.690
240	0.693 ± 0.037	78.956
260	0.653 ± 0.066	83.709

สารสกัดดอกโสนด้วย Acetone ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 150, 200, 350, 400, 700 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาหาค่าเฉลี่ย

และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 1.061 ± 0.025 , 1.050 ± 0.025 , 0.930 ± 0.024 , 0.876 ± 0.054 และ 0.611 ± 0.049 ตามลำดับ และมีค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 39.61%, 44.18%, 56.03%, 61.00% และ 87.98% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกโสนด้วยตัวทำละลาย Acetone ที่ความเข้มข้น 150 - 700 $\mu\text{g/ml}$ ความยาวคลื่น 515 nm

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	สารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย Acetone	
	$\bar{X} \pm \text{S.D.}$	% Inhibition
150	1.061 ± 0.025	39.617
200	1.050 ± 0.025	44.181
350	0.930 ± 0.024	56.037
400	0.876 ± 0.054	61.007
700	0.611 ± 0.049	87.988

สารสกัดดอกโสนด้วย Dichloromethane ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 300, 400, 600, 900, 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 1.203 ± 0.017 , 1.178 ± 0.028 , 1.134 ± 0.050 , 1.075 ± 0.074 และ 1.007 ± 0.050 ตามลำดับ และมีค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 22.389%, 26.627%, 30.977%, 36.151% และ 41.236% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกโสนด้วยตัวทำละลาย Dichloromethane ที่ความเข้มข้น 300 – 1,000 µg/ml ความยาวคลื่น 515 nm

ความเข้มข้น (µg/ml)	สารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย Dichloromethane	
	$\bar{X} \pm S.D.$	% Inhibition
300	1.203 ± 0.017	22.389
400	1.178 ± 0.028	26.627
600	1.134 ± 0.050	30.977
900	1.075 ± 0.074	36.151
1,000	1.007 ± 0.050	41.236

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Ascorbic acid และสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ที่ความเข้มข้น 1,000 µg/ml พบว่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน มีค่า IC₅₀ 5.019 µg/ml และสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย Ethanol และ Acetone มีค่า IC₅₀ 124.561 µg/ml และ 271.607 µg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย dichloromethane มีค่า IC₅₀ มากกว่า 1,000 µg/ml ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานและสารสกัดดอกโสนด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

สารมาตรฐาน/สารสกัดตัวทำ ละลายต่างๆ	% Inhibition
Ascorbic acid	5.01 µg/ml
Ethanol	124.56 µg/ml
Acetone	271.60 µg/ml
Dichloromethane	>1,000 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ของสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีค่าเท่ากับ 124.56 µg/ml, 271.61 µg/ml และ 1,405.50 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งค่า IC₅₀ น้อยยิ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดี หลังจากนั้นนำค่า IC₅₀ ไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (Ascorbic acid) พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของดอกโสนในตัวทำละลาย Ethanol, Acetone และ Dichloromethane มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี 24.817 เท่า 54.116 เท่า และ 279.964 เท่า ตามลำดับ

5. สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging radical Assay พบว่าสารสกัดดอกโสนที่ให้สารพฤกษเคมีมากที่สุด คือ สารสกัดดอกโสนในตัว

ทำละลายเอทานอล โดยสารพฤกษเคมีที่พบ คือกลุ่มแอลคาลอยด์, ฟลาโวนอยด์ และสเตียรอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เนื่องจากสารพฤกษ-เคมีส่วนใหญ่ที่เป็นโมเลกุลที่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว ส่วนโมเลกุลที่ไม่มีขั้วสามารถละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว โดยสารสกัดด้วยอะซิโตน พบสารพฤกษเคมี คือฟลาโวนอยด์และสเตียรอยด์ และสารสกัดด้วย Dichloromethane พบสารพฤกษเคมี คือฟลาโวนอยด์ เท่านั้น การตรวจสอบพบสารพฤกษเคมีดังกล่าวช่วยยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับรายงานทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนและแคที่ระยะความแก่แตกต่างกัน [5] นอกจากนี้ดอกโสนยังมีรายงานว่ากลุ่มสารในดอกโสน ประกอบด้วย แคโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มดอกไม้ที่มีเอนไซม์-สับ-เซลล์ที่สูงกว่ากลุ่มดอกไม้ที่มีเอนไซม์อื่น [5] และการศึกษาฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging เปรียบเทียบสารสกัดดอกโสนในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ผลพบว่าสารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากและมีขั้วน้อย จะเรียงลำดับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากค่ามากไปน้อย สอดคล้องกับค่าที่ได้ % DPPH Scavenging activity และค่า IC₅₀ โดย Ethanol ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูง ค่า % DPPH Scavenging activity จะไม่คงที่ เนื่องจากการให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากันจนสารละลาย DPPH สูงสุดอิ่มตัว ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงและเปลี่ยนแปลงไม่คงที่ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยงานวิจัยทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนและแคที่ระยะความแก่แตกต่างกัน [5] และงานวิจัยการศึกษาคุณค่าทางอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนที่รับประทานได้ [6]

เอกสารอ้างอิง

- สมชาติ วิศิษฐ์ชัยชาญ. จะอย่างไรต้องสวยใสไว้ก่อน[อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงได้เมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2565] เข้าถึงได้จาก <http://www.pharmacafe.com/board/viewtopic.php?f=10&t=23843>.
- Wang, K.H., Lin, R.D., Hsu, F.L., Huang, Y.H., Chang, H.C., Huang, C.Y., and Lee, M.H., Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines, Journal of Ethnopharmacology, 2006. 106(3): 353-359
- บุหรัน พันธุ์สวรรค์. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2556; 21(3): 275-286
- บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. ปริญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2549
- ธนากร สว่างชาติ, ปณธ จันทนพ, อรรถพร ร้อยถิ่น, อุทร ชื่นทน, กิตติ โพธิ์ปทุม และสมโภชน์ น้อยจินดา. สารต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนและแคที่ระยะความแก่แตกต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 2558; 46(3/1) (พิเศษ): 203-206
- อรุณรินทร์ ฮวบบางยาง, มณฑนา บัวหนอง, เฉลิมชัย วงษ์อารี, ชัยรัตน์ เตชะภูมิพร และวารี ศรีระออง. การศึกษาคุณค่าทางอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกโสนที่รับประทานได้. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 2553; 41(3/1) (พิเศษ): 381-384

7. พัชรีย์ สิริตระกูลศักดิ์, ประสิทธิ์ ชุตินุเดช, เบญจวรรณ ชุตินุเดช, มารัตริ เปลี่ยนศิริชัย และเกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง. กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้ 15 ชนิดในจังหวัดมหาสารคาม. แก่นเกษตร. 2556; 41(1) (พิเศษ): 607-611.
8. Ayoola, G.A., Coker, H.A., Adesegun, S.A., AdepoguBello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O. Phytochemical Screening and AntioxidantActivities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. TropicalJournal of Pharmaceutical Research, 2008; 7(3): 1019-1024