

ผลของอายุการเก็บเกี่ยว ต่อปริมาณสารโพแทสเซียม สารทุติยภูมิ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของหญ้าหนวดแมว

Effect of Harvest Maturity on Potassium Value Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.

นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์^{1*} กอบลาภ อารีศรีสม¹ ภาวิณี อารีศรีสม¹ และ ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล²

Narin Taokaenchan^{1*} Koblab Areesrisom¹ Pawinee Areesrisom¹ and Sakchai Sateinperakul²

Received: 24 April 2020, Revised: 11 June 2020, Accepted: 22 June 2020

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของอายุการเก็บเกี่ยว 4 ระยะ (30 60 90 และ 120 วันหลังการปลูก) ต่อปริมาณสารโพแทสเซียม ปริมาณสารทุติยภูมิ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของหญ้าหนวดแมว โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าระยะการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันส่งผลให้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญต่อปัจจัยที่ทำการศึกษา โดยปริมาณสารโพแทสเซียมที่สูงที่สุด (5.02 กรัมต่อ 100 กรัมพืชแห้ง) เมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่ 30 วัน ปริมาณของกรดแอสคอร์บิก และ กรดโรสมารินิก (1.47 และ 26.24 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมพืชแห้ง) มีค่าสูงสุด เมื่อเก็บเกี่ยวที่ 60 วัน ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยดีพีพีเอช (50.48 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง และ IC_{50} เท่ากับ 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่ามากที่สุดเมื่อเก็บเกี่ยวที่ 120 วันหลังการปลูก ดังนั้นจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อให้ต้นหญ้าหนวดแมวมีปริมาณสารสำคัญมากที่สุดควรทำการเก็บเกี่ยวที่ระยะ 120 วันหลังการปลูก

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, หญ้าหนวดแมว, สารประกอบฟีนอลิกรวม, อายุการเก็บเกี่ยว

¹ สาขาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เลขที่ 63 หมู่ 4 ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

¹ Department of Medicinal Plant Science, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, 63 Moo 4, Nongharn, Sansai, Chiangmai 50290, Thailand.

² สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เลขที่ 63 หมู่ 4 ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Maejo University 63 Moo 4, Nongharn, Sansai, Chiangmai 50290, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): narin_t15@hotmail.com

ABSTRACT

This research investigated the effects of four stages of harvest maturity (30, 60, 90 and 120 days after planting) on potassium, secondary metabolites, and antioxidant activity of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. The experiment was arranged in a complete randomized design (CRD). Results showed that there were significant different harvesting maturities. The highest potassium content (5.02 g/100 g DW) was harvesting time at 30 days. The caffeic acid and rosmarinic acid (1.47 and 26.24 mg/kg DW) were highest with harvesting time at 60 days. In addition, the phenolic content and DPPH radical scavenging capacity (50.48 mgGAE/100 g DW and IC₅₀ being equal to 0.68 mg/mL) were found highest at harvesting time in 120 days after planting. Therefore, based on the findings, harvesting time at 120 days is recommended to farmers for optimum constituents of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. production.

Key words: antioxidant, *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq., total phenolic content, harvest maturity

บทนำ

สมุนไพรของไทยเป็นพืชท้องถิ่นที่อยู่กับคนไทยมาช้านาน และถูกนำมาใช้เป็นยารักษาผู้คนในท้องถิ่นของประเทศไทยจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากเป็นพืชที่สามารถหาได้ง่าย และสามารถเจริญเติบโตได้ดีได้ในทุกที่ จึงนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในสมัยอดีต และกลับมาเป็นที่นิยมอีกครั้งปัจจุบันสมุนไพรสามารถนำมาแปรรูปเป็นยาได้หลายรูปแบบเพื่อให้เหมาะแก่การนำไปใช้ ไม่ว่าจะเป็น ยา น้ำ ยาลูกกลอน ยาแคปซูล ยาหม่อง เป็นต้น

หญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.) เป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพร ถูกขึ้นในบัญชียาหลักแห่งชาติในปี พ.ศ. 2559 (National drug information, 2016) หญ้าหนวดแมวเป็นพืชล้มลุก สูง 30-60 เซนติเมตร ลำต้น และกิ่งก้านเป็นสี่เหลี่ยม ใบเดี่ยว แตกออกเรียงตรงข้ามกัน กลีบดอกมีสีขาวหรือม่วง (The Botanical Garden Organization Ministry of Natural Resource and Environment, 2013) มีสรรพคุณในการรักษาโรคนิ่ว ขับปัสสาวะ (Almatar

et al., 2014) และรักษาโรคเบาหวาน (Khatun *et al.*, 2011) ในหญ้าหนวดแมวมีสาร โพลีฟีนอล (European Medicines Agency, 2010) จึงทำให้สามารถช่วยขับปัสสาวะได้ นอกเหนือจากนี้ยังพบสารกลุ่มโพลีฟีนอล ได้แก่ กรดคาเฟอิก (Caffeic Acid) และกรดโรสมารินิก (Rosmarinic Acid) มีคุณสมบัติต้านไวรัส ต้านมะเร็ง ต้านการอักเสบ และยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Scheckel *et al.*, 2008; Hossan, *et al.*, 2014) เป็นต้น หญ้าหนวดแมวจึงเป็นวัตถุดิบสมุนไพรที่ผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการกำจัดนิ่ว ขับปัสสาวะ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจัยที่ทำให้พืชมีการผลิตสารสำคัญต่างๆ และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มทุติยภูมิ (Second Metabolites) มีหลายปัจจัย เช่น ธาตุอาหาร สภาพการเจริญเติบโต สายพันธุ์ หรือระยะเวลาการเก็บเกี่ยว ต่อปริมาณ โพลีฟีนอล กรดคาเฟอิก กรดโรสมารินิก และสารต้านอนุมูลอิสระ

ในหญ้าหนวดแมวมีน้อย ดังนั้น ในการวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมต่อปริมาณโพแทสเซียม กรดแอสคอร์บิก กรดโรสมารินิก และสารต้านอนุมูลอิสระ ในหญ้าหนวดแมว ซึ่งคาดว่าจะประโยชน์สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลต่อเกษตรกรผู้ปลูกหญ้าหนวดแมว และผู้ผลิตแปรรูปผลิตภัณฑ์จากหญ้าหนวดแมว รวมทั้งผู้บริโภคอีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวางแผนการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการทดลองที่สาขาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2560 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2561 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 4 สิ่งทดลอง ได้แก่ การเก็บเกี่ยวที่ 30 60 90 และ 120 วันหลังปลูก โดยนำกิ่งต้นหญ้าหนวดแมวที่ผ่านการปักชำอายุ 1 เดือน จากศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ปลูกลงในกระถางขนาด 15 นิ้ว ในวัสดุปลูก ดิน ต่อแกลบ อัตราส่วน 1:1 ในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพรางแสงสีดำ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นให้ปุ๋ยมูลไก่ (3.24 % N, 4.71 % P และ 3.12 % K) 125 กรัมต่อต้น ดูแลรักษาต้นหญ้าหนวดแมวโดยให้น้ำ และจัดการศัตรูพืชอย่างสม่ำเสมอ จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวต้นหญ้าหนวดแมว เมื่อต้นมีอายุ 30 60 90 และ 120 วันหลังปลูก โดยเก็บเกี่ยวเฉพาะส่วนใบ หลังจากนั้นล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การเตรียมสารสกัดหญ้าหนวดแมว

การเตรียมสารสกัดหญ้าหนวดแมว ได้ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Babbar *et al.* (2014) ซึ่งมี

ขั้นตอนดังต่อไปนี้ สุ่มตัวอย่างหญ้าหนวดแมวที่ผ่านการอบแห้ง ช้ำละ 50 กรัม บดเป็นผงละเอียด และชั่งตัวอย่างมา 3.0 กรัม เติมนีเมทานอล (AR Grade, Lab Scan) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำสารละลายที่สกัดได้มากรอง และนำไปประเหยจนแห้ง ละลายสารสกัดหยาดด้วยเมทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดิฟิฟิเอช ต่อไป

3. การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม

การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม ดัดแปลงมาจากวิธีการทดสอบ AOAC (2012) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ชั่งตัวอย่างหญ้าหนวดแมวแห้งที่บดเป็นผงละเอียด 0.25 กรัม เติมนีเมทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปทำการย่อยบนเครื่องทำความร้อน (Hot Plate) ในตู้ดูดควัน จนสารละลายตัวอย่างมีสีใส หลังจากนั้นทำการปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ปราศจากไอออน นำสารละลายที่เตรียมได้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่องอินดักทีฟ ดับเบิลพลาสมา - ออปติคอล อิมิสชัน สเปกโตรมิเตอร์ (ICP-OES, รุ่น 4300 DV, Perkin Elmer) นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณโพแทสเซียมเทียบกับสารมาตรฐานโพแทสเซียม (ICP standard, Sigma) ในช่วงความเข้มข้น 1 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมในตัวอย่างหญ้าหนวดแมวแห้ง ในหน่วย กรัมต่อ 100 กรัม (g/100 g DW)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอล ใช้สารละลายโฟลีน (Folin-Ciocalteu's Reagent, AR grade, Merck) คัดแปลงจากงานวิจัยของ Namjooyan *et al.* (2010) ปิเปตต์สารละลายสารสกัดหญ้าหนวดแมวที่สกัดจากข้างต้นมา 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลองผสมกับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 2.0 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และสารละลายโฟลีน 0.1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายที่เตรียมได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น Genesys 10S, Thermo Scientific) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Standard grade, Merck) รายงานผลปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง (mg GAE/g DW)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแคฟเฟอิก และ กรดโรสมารินิก

วิเคราะห์หาปริมาณกรดแคฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งคัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Wang *et al.* (2004) โดยชั่งตัวอย่างหญ้าหนวดแมวแห้งที่บดเป็นผงละเอียด มา 0.1 กรัม และเติมสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 นาที กรองสารละลายตัวอย่างที่ได้ ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำอีกสองครั้ง นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้มาเจือจางให้ครบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 30

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (รุ่น LC1100, Agilent) ปริมาตร 10

ไมโครลิตร โดยใช้คอลัมน์ C-18 Hypersil-ODS (4.0 × 250 มิลลิเมตร, 5 ไมครอน) ในการแยกสาร ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดโฟโตไดโอดอาร์เรย์ (Photodiode Array) ที่ความยาวคลื่น 330 นาโนเมตร และระบบตัวพา (Mobile Phase) ในการชะคือสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ และสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในเมทานอล ในอัตราส่วน 50 ต่อ 50 ด้วยอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร ต่อนาที คำนวณหาปริมาณกรดแคฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก เทียบกับสารละลายมาตรฐาน แคฟเฟอิก (Standard grade, sigma) และกรดโรสมารินิก (Standard grade, sigma) ในช่วงความเข้มข้น 1 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณแคฟเฟอิก และกรดโรสมารินิกในตัวอย่างหญ้าหนวดแมวแห้ง ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg DW)

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช คัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) โดยปิเปตต์สารละลายดีพีพีเอช (AR grade, Sigma) เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายสารสกัดหญ้าหนวดแมวที่ความเข้มข้น 10 - 40 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น Genesys 10S, Thermo Scientific) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของสารตัวอย่างมาคำนวณค่าร้อยละการยับยั้ง (% Inhibition) เมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงกับหลอดควบคุม ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \left(\frac{A_{\text{ctrl}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{ctrl}}} \right) 100$$

โดยที่

A_{ctrl} = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

รายงานค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งคำนวณได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง กับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์โดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ปริมาณโพแทสเซียม

จากผลการทดสอบปริมาณของโพแทสเซียมในหญ้าหนวดแมว พบว่าโพแทสเซียมมีปริมาณอยู่ในช่วง 3 - 5 กรัมต่อ 100 กรัม พืชแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 1 ปริมาณของโพแทสเซียมต่อระยะเวลาของการเก็บเกี่ยวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยหญ้าหนวดแมวที่ทำการเก็บเกี่ยวที่ 30 วัน มีปริมาณของโพแทสเซียมสูงที่สุดเท่ากับ 5.02 กรัมต่อ 100 กรัม พืชแห้ง เมื่อระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวเพิ่มมากขึ้นปริมาณของโพแทสเซียม

ที่ตรวจพบในหญ้าหนวดแมวมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องจากโพแทสเซียมที่มีอยู่ในปุ๋ยมูลไก่จะถูกดูดซับผ่านรากและเคลื่อนย้ายมาอยู่ในส่วนของใบ จึงทำให้ระยะการเก็บเกี่ยวในช่วงแรก (30 วัน) มีปริมาณของโพแทสเซียมสูง เมื่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น (60 - 120 วัน) ปริมาณของโพแทสเซียมถูกนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง กระบวนการเมแทบอลิซึม ต่างๆ จึงเป็นเหตุให้ปริมาณของโพแทสเซียมในใบมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเพิ่มมากขึ้น (Pettigrew, 2008; Zorb *et al.*, 2014) และปริมาณสารโพแทสเซียมที่ตรวจพบในทุกระยะเวลาการเก็บเกี่ยว มีปริมาณสูงกว่าในหญ้าหนวดแมวทั่วไปที่มีการรายงาน คือเท่ากับ 3 กรัมต่อ 100 กรัม พืชแห้ง (European Medicines Agency, 2010) อาจเนื่องจากต้นหญ้าหนวดแมวที่ปลูกในการวิจัยครั้งนี้ได้รับปุ๋ยมูลไก่ซึ่งเป็นปุ๋ยอินทรีย์ และมีปริมาณของธาตุโพแทสเซียมสูงกว่าปุ๋ยคอกโดยทั่วไป (Phuranapong and Nilawong, 2014) จึงอาจมีส่วนช่วยทำให้ปริมาณของโพแทสเซียมในหญ้าหนวดแมวสูงเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในผลการทดลองที่ได้ เป็นต้น

ตารางที่ 1 ผลของระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่ต่างกันต่อปริมาณโพแทสเซียมในหญ้าหนวดแมว

ระยะเวลาเก็บเกี่ยว(วัน)	โพแทสเซียม (g/100 g DW)
30	5.02 ± 0.03 ^a
60	3.41 ± 0.01 ^d
90	4.31 ± 0.01 ^b
120	4.20 ± 0.02 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในใบหญ้าหนวดแมวที่ผ่านการเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาแตกต่างกัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีปริมาณอยู่ในช่วง 20 - 51 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสดสมุนไพรแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บเกี่ยว โดยที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 120 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ 50.48 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสดสมุนไพรแห้ง เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Logeshbabu *et al.* (2017) พบว่าหญ้าหนวดแมวที่ได้จากการปลูกในงานวิจัยนี้

มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าประมาณถึง สอง เท่า ทั้งนี้ ในการที่พืชสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารกลุ่มทุติยภูมิ มีหลากหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ สภาพสิ่งแวดล้อม รวมทั้งระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (Ali, 2014) จากการวิจัยนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเพิ่มมากขึ้นจะช่วยส่งเสริมให้ต้นหญ้าหนวดแมวสร้างสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Oloyede *et al.* (2013) พบว่าปริมาณสารฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใน *Amaranthus cruentus* มีค่าสูงที่สุดเมื่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเพิ่มมากขึ้น หรืองานวิจัยของ Gai *et al.* (2017) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น ปริมาณสารฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใน *Perilla frutescens* L. เพิ่มขึ้นเช่นกัน

ตารางที่ 2 ปริมาณสารทุติยภูมิ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของหญ้าหนวดแมวที่ระยะการเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน

ระยะเวลาเก็บเกี่ยว (วัน)	สารประกอบฟีนอลิกรวม (mgGAE/100g DW)	ปริมาณ (mg/kg DW)		ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช IC ₅₀ (mg/mL)
		กรดแกลฟเฟอิก	กรดโรสมารินิก	
30	20.57 ± 0.40 ^d	1.24 ± 0.006 ^b	12.68 ± 0.02 ^c	0.84±0.02 ^b
60	38.03 ± 1.32 ^c	1.47 ± 0.004 ^a	26.24 ± 0.06 ^a	0.85±0.10 ^b
90	46.73 ± 1.62 ^b	1.14 ± 0.004 ^c	10.82 ± 0.06 ^d	0.69±0.06 ^a
120	50.48 ± 1.74 ^a	1.45 ± 0.016 ^a	23.93 ± 0.19 ^b	0.68±0.03 ^a

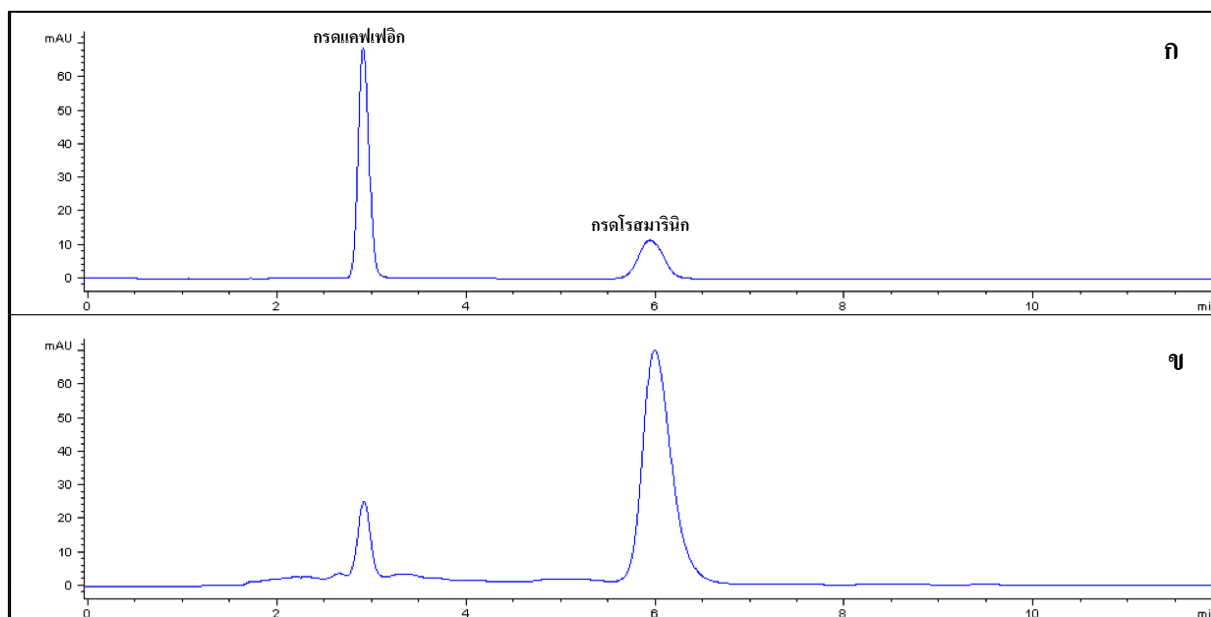
หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

3. ปริมาณกรดแกลฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก

ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลฟเฟอิก และกรดโรสมารินิกโดยใช้เทคนิคทางลิควิดโครมาโทกราฟี โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารมาตรฐานกรดแกลฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก มีค่าเวลาของการแยก (Retention Time) เท่ากับ 2.9 และ 5.8 นาที ดังแสดงในภาพที่ 1 และในสารสกัดตัวอย่างหญ้าหนวดแมวที่พบกรดแกลฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก ตรงกันกับสารมาตรฐานทั้งสอง

ปริมาณกรดแกลฟเฟอิกในหญ้าหนวดแมว ที่ทำการเก็บเกี่ยว 30 - 120 วัน มีปริมาณอยู่ในช่วง 1.14 - 1.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพืชแห้ง และในส่วนของกรดโรสมารินิกที่ตรวจพบในหญ้าหนวดแมว มีปริมาณอยู่ในช่วง 10.82 - 26.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

พืชแห้ง ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่าต้นหญ้าหนวดแมวที่ทำการเก็บเกี่ยวที่ 60 และ 120 วัน มีปริมาณของกรดแกลฟเฟอิกไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณมากที่สุดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวอื่นๆ โดยปริมาณกรดแกลฟเฟอิกที่ตรวจพบมีปริมาณเท่ากับ 1.47 และ 1.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพืชแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่กรดโรสมารินิกนั้น เมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลา 60 วัน มีปริมาณของกรดโรสมารินิกสูงที่สุด เท่ากับ 26.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพืชแห้ง และรองลงมาเมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลา 120 วัน โดยมีปริมาณกรดโรสมารินิกเท่ากับ 23.93 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพืชแห้ง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 1 โครมาโทแกรม (ก) สารมาตรฐานกรดแกลฟเฟอิก และกรดโรสมารินิก ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ (ข) สารสกัดตัวอย่างหญ้าหนวดแมว

4.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชในหญ้าหนวดแมวที่วิเคราะห์ได้ พบว่าค่าความเข้มข้น

ของสารละลายตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ในช่วง 0.68 - 0.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยฤทธิ์

ด้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชมีความสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คือเมื่อระยะเวลาการเก็บเกี่ยวเพิ่มมากขึ้นฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชก็จะเพิ่มขึ้นตาม โดยที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 120 วันมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชสูงที่สุด เท่ากับ 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุป

งานวิจัยนี้ทำการศึกษา ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมต่อปริมาณโพแทสเซียม กรดแคลเฟอิก กรดโรสมารินิก และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ ของหญ้าหนวดแมว จากผลการทดลองพบว่าต้นหญ้าหนวดแมวที่ทำการเก็บเกี่ยว 30 วัน มีปริมาณสารโพแทสเซียมมากที่สุด ส่วนปริมาณกรดแคลเฟอิกและกรดโรสมารินิก พบในปริมาณที่สูงเมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่ 60 วัน ขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีฟิฟิเอช จะพบในปริมาณสูงเมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่ 120 วัน

จากข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้พอสรุปได้เบื้องต้นว่า เพื่อให้การเก็บเกี่ยว มีความเหมาะสมในด้านปริมาณสารสำคัญ เกษตรกรควรทำการเก็บเกี่ยวที่ระยะ 120 วัน เพื่อที่สามารถผลิตวัตถุดิบหญ้าหนวดแมวที่มีคุณภาพมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนเงินทุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2561 (MJU.1-61-077) และสาขาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

- Ali, M.B. 2014. Secondary metabolites and environmental stress in plants: biosynthesis regulation and function, pp. 55-85. In Ahmad, P. and Wani, M.R., eds. **Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment**. Springer, Berlin.
- Almatar, M., Ekal, E. and Rahmat, Z. 2014. A glance on medical applications of *Orthosiphon stamineus* and Some of its oxidative compounds. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research** 24(2): 83-88.
- AOAC. 2012. **Official methods of the association of official analytical chemists**. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Babbar, N., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K. and Bhargav, V.K. 2014. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal of Food Science and Technology** 51(10): 2568-2575.
- European Medicines Agency. 2010. **Assessment report on *Orthosiphon stamineus* Benth., folium**. Available Source: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/financial-assessment-report-orthosiphon-stamineus-benth-folium_en.pdf, April 23, 2020.
- Gai, F., Peiretti, P.G., Karamac, M. and Amarowicz, R. 2017. Changes in the total polyphenolic

- content and antioxidant capacities of perilla (*perilla frutescens* L.) plant extracts during the growth cycle. **Journal of Food Quality** 2017(2): 1-8. DOI:10.1155/2017/7214747.
- Hossan, M.S., Rahman, S., Bashar, A., Jahan, R., Al-Nahain, A. and Rahmatullah, M. 2014. Rosmarinic acid: A review of its anticancer action. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 3(9): 57-70.
- Khatun, A., Harun-Or-Rashid, M. and Rahmatullah, M. 2011. Scientific validation of eight medicinal plants used in traditional medicinal systems of Malaysia: A review. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture** 5(1): 67-75.
- Logeshbabu, M., Dhamotharan, R. and Janarthanam, B. 2017. In vitro antioxidant activity, total phenol and total flavonoid content of *Orthosiphon aristatus* (Blume). Miq. **International Journal of Current Research and Development** 5(1): 29-35.
- Namjooyan, F., Azemi, M.E. and Rahmanian, V.R. 2010. Investigation of antioxidant activity and total phenolic content of various fractions of aerial parts of *Pimpinella Barbata* (DC.) BOISS. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products** 5(1): 1-5.
- National drug information. 2016. **Herbal medicine list**. Available Source: http://ndi.fda.moph.go.th/drug_national, April 23, 2020.
- Oloyede, F.M., Oloyede, F.A. and Obuotor. E.M. 2013. Effect of plant maturity on the antioxidant profile of *Amaranthus cruentus* L. and *Celosia Argentea* L. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences** 2(2): 18-21.
- Pettigrew, W.T. 2008. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. **Physiologia Plantarum** 133(4): 670-681.
- Phuranapong, N. and Nilawong, W. 2014. **Plant nutrition release in the soils using different organic fertilizers**. Available Source: http://webpac.library.mju.ac.th:8080/mm/fulltext/research/2558/Nongluk_Phuranapong_2557/fulltext.pdf, July 2, 2021. (in Thai)
- Scheckel, K.A., Degner, S.C. and Romagnolo, D.F. 2008. Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1-dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines. **Journal of Nutrition** 138(1): 2098-2105.
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C. and Jayaprakasha, G.K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50(1): 81-86.
- The Botanical Garden Organization Ministry of Natural Resource and Environment. 2013. **Orthosiphon aristatus (Blume) Miq.** Available Source: http://www.qsbg.org/database/botanic_book%20full%20option/search_detail.asp?botanic_id=2524, April 23, 2020.
- Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K. 2004. Determination of rosmarinic acid and caffeic

acid in aromatic herbs by HPLC. **Food Chemistry** 87(2): 307-311.

perspectives. **Journal of Plant Physiology** 171(9): 656-669.

Zorb, C., Senbayram, M. and Peiter, E. 2014.

Potassium in agriculture - Status and