



สารพฤกษเคมี สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดยอดและลำต้นของบัวบกโขด

Phytochemicals, Total Phenolic Compounds, and Antioxidant Activities of the Extracts
of Shoots and Stems of Bua-Bok-Khod (*Stephania pierrei*)

ศิริลักษณ์ กมลวรรณสิทธิ์ และเอกรัฐ คำเจริญ*

Sirilak Kamonwannasit and Agarat Kamcharoen*

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว 27160

Faculty of Agricultural Technology, Burapha University, Sakaeo Campus, Watthana Nakhon, Sakaeo, 27160, Thailand

*Corresponding author, e-mail: agratk@go.buu.ac.th

(Received: Mar 20, 2024; Revised: Jun 24, 2024; Accepted: Jun 27, 2024)

บทคัดย่อ

สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทในการทำลายอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของโรคและความเจ็บป่วย สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในผักและผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชสมุนไพร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบสารพฤกษเคมี วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TF) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยอดและลำต้นของบัวบกโขด (*Stephania pierrei*) ซึ่งสกัดด้วยน้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์ม จากการศึกษาพบว่า สารสกัดทั้งสองส่วนมีสารพฤกษเคมีกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน สารสกัดลำต้นมี TFC มากกว่าสารสกัดยอด โดยเฉพาะสารสกัดเอทานอลจากลำต้นมี TPC มากที่สุดเท่ากับ 210.52 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดยอดมี TF มากกว่าสารสกัดจากลำต้น โดยสารสกัดคลอโรฟอร์มจากลำต้นมี TF เท่ากับ 44.78 มิลลิกรัมแควอซิตินต่อกรัมสารสกัด เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH assay) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) พบว่า สารสกัดลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดยอด โดยสารสกัดเอทานอลจากลำต้นมีค่า SC_{50} และค่า FRAP เท่ากับ 0.186 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.622 มิลลิโมลของเหล็ก (II) ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดยอดและลำต้นของบัวบกโขดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และควรมีการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดและสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ : บัวบกโขด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารพฤกษเคมี

Abstract

Antioxidants can play a role in destroying free radicals which cause disease and illness. Antioxidants can be found in fruits and vegetables, especially medicinal plants. The objective of this research was to screen the phytochemicals and analyze the total phenolic compounds (TPC), total flavonoids (TF), and antioxidant activities of the extracts of shoots and stems of (*Stephania pierrei*), which were extracted by water, ethanol, and chloroform. The results showed that alkaloids, flavonoids, saponins and tannins were found in both parts of *S. pierrei*. The shoot extracts exhibited higher TPC than the stem extracts. In contrast, the shoot extracts showed lower TF than the stem extracts. The highest levels of TPC and TF were obtained from the ethanol extract of stems and the chloroform extract of shoots, which corresponding to 210.52 mg GAE/g extract and 44.78 mg QE/g extract, respectively. Antioxidant activities of the extracts were analyzed using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH assay) and ferric reducing antioxidant power (FRAP assay). In both assays, the stem extracts showed higher antioxidant activities than shoot extracts. Moreover, the ethanol extract of stems also demonstrated the highest level of antioxidant activities, with the SC_{50} and FRAP values of 0.186 mg/ml and 1.622 mmol Fe(II)/g extract, respectively. The results indicated that the extracts of *S. pierrei* shoots and stems had antioxidant properties. Moreover,



optimization of extracting process and analysis of the substances that have antioxidant activities should be studied for further development of their into health products.

Keywords: *Stephania pierrei*, Antioxidant activity, Total phenolic compounds, Phytochemicals

บทนำ

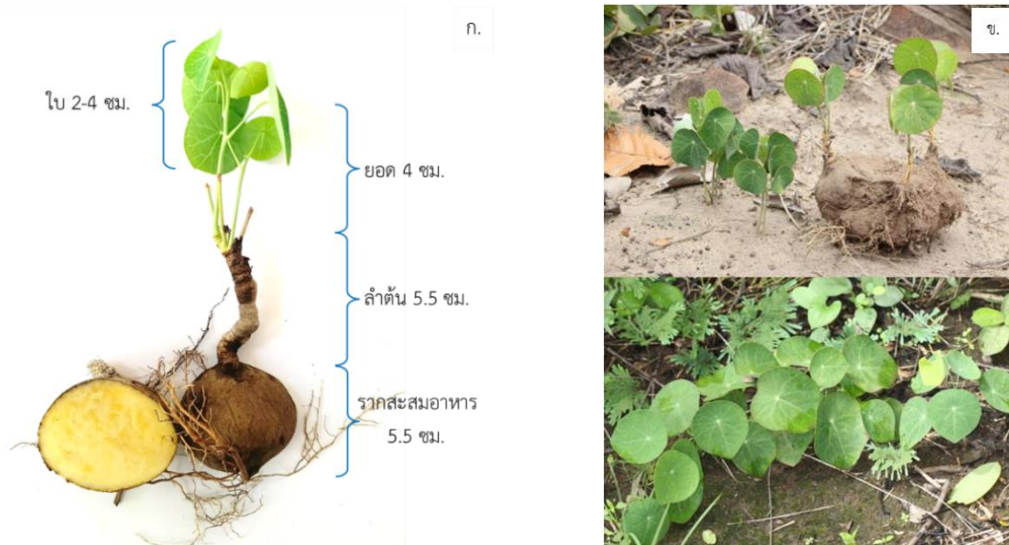
อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว มีความไม่คงตัว และทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วกับสารชีวโมเลกุล นำไปสู่การเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความจำเสื่อม โรคภูมิแพ้ ความดันโลหิตสูง ความผิดปกติของสายตาและระบบประสาท ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถป้องกันหรือควบคุมได้โดยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีกลไกที่หลากหลาย เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การจับโลหะที่เร่งปฏิกิริยา เป็นต้น (Painupong, 2017) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งสัตว์และพืช โดยเฉพาะพืชสมุนไพรซึ่งเป็นแหล่งต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่สำคัญ และมีสารสำคัญที่พบในพืชแต่ละส่วนแตกต่างกัน (Khongpet *et al.*, 2023; Benhawan & Waema, 2021)

บัวบกโขด มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Stephania pierrei* Diels ชื่อพ้อง (Syn. Name) *Stephania erecta* Craib (Dary *et al.*, 2015; Maliwong *et al.*, 2021) ชื่อท้องถิ่น บัวเครือ บัวบก โกร้วหัวบัว สามารถพบบริเวณพื้นที่เปิดโล่ง ป่าเบญจพรรณ ป่าต้นเพ็ก ลานหินทรายในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงใต้ (Sonsupab, 2019) เป็นพืชสกุล (Genus) กลิ้งกลางดง (*Stephania* Lour.) วงศ์ (Family) บอระเพ็ด (Menispermaceae) มีรากสะสมอาหาร (Tuberous root) (Dary *et al.*, 2015) มีลักษณะเป็นหัวค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ถึง 10 เซนติเมตร มีลำต้น (Stems) สามารถตั้งตรงสูงประมาณ 30 เซนติเมตร หรือเป็นไม้เลื้อยขนาดเล็ก (Slender climber) ยาวได้ถึง 3 เมตร ภายในมีของเหลวข้นหนืด มีลักษณะใสไม่มีสี ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปกลมคล้ายโล่ (Peltate) ขนาดกว้าง 3-10 เซนติเมตร ก้านใบยาว 2-4 เซนติเมตร เส้นใบชัดเจน (Sonsupab, 2015, 2019; Dary *et al.*, 2015) ซึ่งแตกต่างจากสบู่เลือด (*Stephania venosa* Spreng.) ที่มีน้ำยางใสสีแดงในส่วนยอดและลำต้นของต้นยกเว้นรากสะสมอาหาร (Sonsupab, 2015) บัวบกโขด นิยมปลูกเป็น ไม้หัวประดับ ส่วนใบนำมาผสมกับน้ำและทำเป็นอาหาร (Sonsupab, 2019) โดยสารสกัดจากส่วนหัวซึ่งเป็นรากสะสมอาหาร มีสารสำคัญกลุ่มแอลคาลอยด์ (Maliwong *et al.*, 2021; Likhitwitayawuid *et al.*, 1993) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Kamonwannasit & Kamcharoen, 2018) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Kamonwannasit *et al.*, 2019) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Kamonwannasit *et al.*, 2022) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลทางวิชาการของฤทธิ์ทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์จากบัวบกโขดมีเพียงส่วนของรากสะสมอาหารเท่านั้น ส่งผลต่อจำนวนประชากรของบัวบกโขดลดลงและเจริญเติบโตไม่ทันต่อความต้องการอุปโภคและบริโภคในอนาคต เช่นเดียวกับสบู่เลือด (*S. venosa* Spreng.) (Sonsupab, 2015) รวมถึงยังไม่มีข้อมูลทางวิชาการของส่วนยอดและส่วนลำต้นบัวบกโขด นั่นคือ การศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนยอดและส่วนลำต้นของบัวบกโขดนอกจากได้ข้อมูลทางวิชาการแล้วยังเป็นการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรโดยไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนยอดและลำต้นของบัวบกโขด เพื่อใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรอย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่างและสารสกัด

เก็บตัวอย่างต้นบัวบกโขดในพื้นที่มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว จังหวัดสระแก้ว นำส่วนยอดและลำต้นขนาด 1-6 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) มาล้างทำความสะอาด ตัดเป็นชิ้นเล็ก อบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน นำตัวอย่างแห้งบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหารแห้ง จากนั้นนำผงตัวอย่างพืชมาสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน (น้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์ม) โดยใช้อัตราส่วนตัวอย่างพืชต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:20 โดยสารสกัดน้ำใช้วิธีการต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สำหรับสารสกัดเอทานอลและสารสกัดคลอโรฟอร์ม สกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองและนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) นำสารสกัดเข้มข้นเก็บไว้ในขวดสีชา เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดสอบ



ภาพที่ 1 บวบโกโตจากพื้นที่มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว (ก),
บวบโกโตจากรายงานของ Sonsupab (2019) (ข)

2. การทดสอบสารพิษเคมี

การทดสอบพิษเคมีเบื้องต้นซึ่งเป็นวิธีการทดสอบเชิงคุณภาพโดยการทำปฏิกิริยาเคมีกับสารเคมี เพื่อตรวจคัดกรองสารสำคัญในกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิอิกไกลโคไซด์ โดยทดสอบแอลคาลอยด์ด้วยน้ำยาทดสอบ Wagner's reagent, Mayer's reagent และ Dragendorff's reagent แล้วเกิดสีหรือตะกอน ทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยปฏิกิริยาไฮยานิดินแล้วให้สารละลายสีส้ม-แดง น้ำเงิน หรือเขียว ทดสอบซาโปนินด้วยการเขย่ากับน้ำแล้วเกิดฟองที่มีความคงตัว 15-20 นาที (Yadav & Agarwala, 2011) ทดสอบแทนนินด้วยสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์แล้วเกิดสารละลายสีน้ำเงินดำ หรือเขียวดำ ทดสอบเทอร์ปีนอยด์ด้วยวิธี Salkowski's test แล้วเกิดสีน้ำตาลบริเวณรอยต่อของสารละลาย และเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มขึ้น ทดสอบคาร์ดิอิกไกลโคไซด์ส่วนสเตียรอยด์นิวเคลียสด้วยวิธีของ Liebermann-Burchard แล้วเกิดสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว และทดสอบส่วนน้ำตาลที่ออกซิด้วยวิธี Keller-Kiliani test แล้วเกิดวงแหวนสีน้ำตาลบริเวณรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟูริก (De *et al.*, 2010)

3. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds, TPC)

การวิเคราะห์ TPC ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Prior *et al.* (2005) โดยนำสารสกัดตัวอย่างความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 2 นาที จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก คำนวณ TPC ในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg gallic acid equivalents /g extract)

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids, TF)

การวิเคราะห์ TF ด้วย AlCl_3 colorimetric assay (Sembiring *et al.*, 2018) โดยนำสารสกัด ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมอะลูมิเนียมคลอไรด์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมเอทานอล ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เติมโซเดียมอะซิเตต 10 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร คำนวณ TF เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอควิติน (Quercetin) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมเคอควิตินต่อกรัมสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE) /g extract)

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

5.1 DPPH radical scavenging activity assay

การทดสอบด้วยวิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ทำตามวิธีของ Bor *et al.* (2006) โดยเตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในน้ำปริมาตร 850 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ในเมทานอล 50 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดบัวบกโขดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังสมการ %DPPH Radical Scavenging Activity = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ โดย A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม, A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของการทดลองที่เติมสารสกัด จากนั้นนำค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และความเข้มข้นของสารสกัดบัวบกโขด มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ เพื่อคำนวณค่า Antioxidant activity โดยแสดงผลในค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH $^{\cdot}$ ได้ร้อยละ 50 (Scavenging concentration, SC_{50}) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยใช้ ascorbic acid (สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน) แทนสารสกัด

5.2 Ferric reducing antioxidant power assay

การทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ตามวิธีของ Dordevic *et al.* (2010) โดยเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมน้ำละลาย FRAP ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ สารละลาย TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v) ผสมให้เข้ากันและบ่มเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ใช้เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณค่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนโดยเปรียบเทียบค่าที่ได้จากสารสกัดกับกราฟมาตรฐานของ $FeSO_4$ และรายงานผลในรูปของมิลลิโมลของเฟอร์ริกต่อกรัมสารสกัด ($mmol Fe^{2+}/g$ extract)

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษาแสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วย One-way ANOVA และ Multiple comparison (HSD) ด้วยโปรแกรม SPSS โดยความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า $P < 0.05$

ผลการวิจัย

1. การทดสอบพิษเฉียบ

จากการทดสอบพิษเฉียบของสารสกัดน้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์มจากยอดและลำต้นของบัวบกโขด มาตรวจคัดกรองสารสำคัญในกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดทุกชนิดพบ สารพิษเฉียบ 4 ชนิด ได้แก่ กลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน โดยไม่พบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 พิษเฉียบของสารสกัดจากส่วนยอดและลำต้นของบัวบกโขด

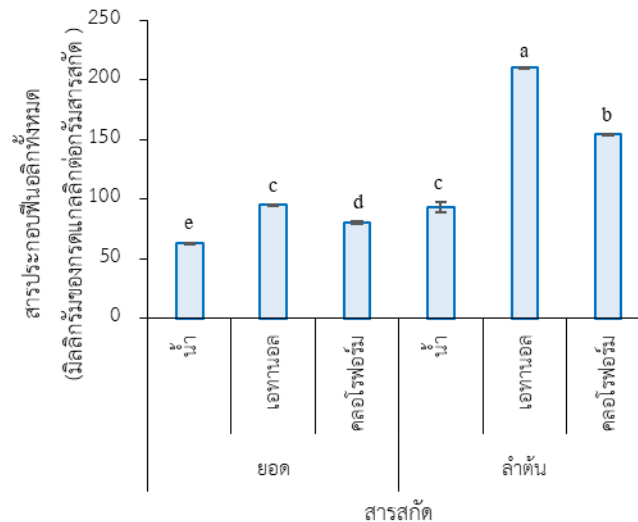
ส่วน	ตัวทำละลาย	พิษเฉียบ					
		แอลคาลอยด์	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน	เทอร์ปีนอยด์	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์
ยอด	น้ำ	+	+	+	+	-	-
	เอทานอล	+	+	+	+	-	-
	คลอโรฟอร์ม	+	+	+	+	-	-
ลำต้น	น้ำ	+	+	+	+	-	-
	เอทานอล	+	+	+	+	-	-
	คลอโรฟอร์ม	+	+	+	+	-	-

(+) พบ, (-) ไม่พบ

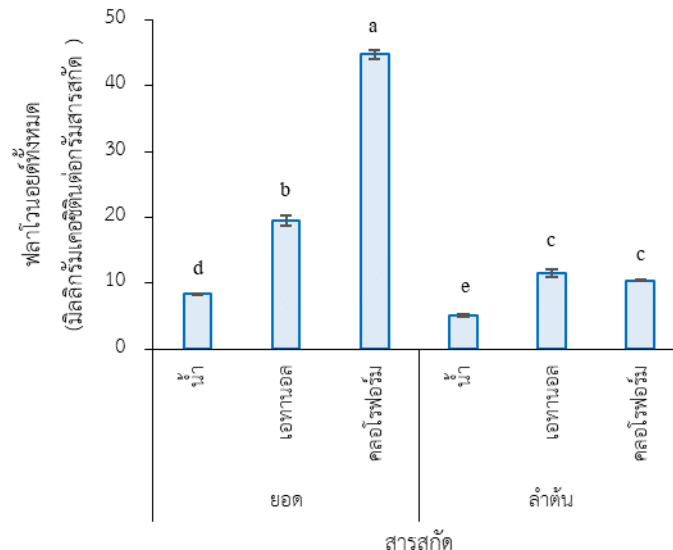
2. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds, TPC) และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids, TF)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของสารสกัดหยาบจากยอดและลำต้นของบัวบกโขด เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่า สารสกัดยอดมีปริมาณ TPC เท่ากับ 62.73-95.17 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดส่วนลำต้น (93.38-210.52 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) นอกจากนี้ สารสกัดเอทานอลจากลำต้นมีปริมาณ TPC มากที่สุด เท่ากับ 210.52 ± 0.03 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดน้ำจากลำต้นมีปริมาณ TPC น้อยสุด โดยมี TPC เท่ากับ 62.73 ± 0.18 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TF) โดยเทียบกับสารมาตรฐานเคอซีตินด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric method ดังแสดงในภาพที่ 3 พบว่า สารสกัดจากยอดมีปริมาณ TF เท่ากับ 8.46-44.78 มิลลิกรัมเคอซีตินต่อกรัมสารสกัดซึ่งมากกว่าสารสกัดลำต้นที่มีปริมาณ TF เท่ากับ 5.15-11.57 มิลลิกรัมเคอซีตินต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟอร์มส่วนยอด มีปริมาณ TF มากที่สุด เท่ากับ 44.78 ± 0.70 มิลลิกรัมเคอซีตินต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดน้ำส่วนลำต้นมีปริมาณ TF น้อยที่สุด เท่ากับ 5.15 มิลลิกรัมเคอซีตินต่อกรัมสารสกัด



ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดยอดและลำต้นของบัวบกโขด
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)



ภาพที่ 3 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดยอดและลำต้นของบัวบกโขด
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

3.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ของสารสกัดหยาบทั้ง 6 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดยอดของบัวบกโขด เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH พบว่า มีค่า SC_{50} อยู่ระหว่าง 0.172-0.882 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดคลอโรฟอร์มและเอทานอลจากส่วนลำต้นมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH $^{\cdot}$ มากที่สุด โดยมีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.172 และ 0.186 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH $^{\cdot}$ น้อยกว่าวิตามินซี (0.003 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ขณะที่

การวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อยู่ในช่วง 0.358-1.622 มิลลิโมลของเฟอริกต่อกรัมสารสกัด โดยสารสกัดเอทานอลจากส่วนลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (1.622 มิลลิโมลของเฟอริกต่อกรัมสารสกัด) มากกว่า สารสกัดชนิดอื่น

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยอดและลำต้นบัวบกโขด

สารสกัด / สารมาตรฐาน		DPPH	FRAP
		SC ₅₀ (mg/ml)	(mmol Fe(II)/g extract)
ยอด	น้ำ	0.388±0.016 ^e	0.405±0.010 ^d
	เอทานอล	0.342±0.010 ^d	0.561±0.005 ^c
	คลอโรฟอร์ม	0.882±0.115 ^f	0.358±0.002 ^e
ลำต้น	น้ำ	0.315±0.004 ^c	0.566±0.070 ^c
	เอทานอล	0.186±0.006 ^b	1.622±0.058 ^a
	คลอโรฟอร์ม	0.172±0.008 ^b	1.078±0.013 ^b
กรดแอสคอบิก		0.003±0.001 ^a	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

อภิปรายผลการวิจัย

จากข้อมูลการตรวจคัดกรองพืชสมุนไพรของสารสกัดน้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์มจากยอดและลำต้นของบัวบกโขด พบว่า มีสารพฤกษเคมีกลุ่มเดียวกัน คือ กลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน ซึ่งเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Munteanu & Apetrei, 2022) แตกต่างจากสารพฤกษเคมีของสารสกัดส่วนรากสะสมอาหารของบัวบกโขด ที่พบสารพฤกษเคมีในกลุ่มแอลคาลอยด์ ไทรเทอพินอยด์ และแทนนิน (Kamonwannasit & Kamcharoen, 2018)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ของสารสกัดน้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์มจากยอดและลำต้นพบว่า มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนต่าง ๆ ของพืช (Khongpet *et al.*, 2023; Singasai *et al.*, 2020) โดย Khongpet *et al.* (2023) พบว่า สารสกัดใบมีปริมาณ TPC มากกว่าสารสกัดลำต้นเทียม (Leaf sheath) รากสะสมอาหาร (Storage root) และลำต้นใต้ดิน (Rhizome) ตามลำดับ ขณะที่ Singasai *et al.* (2020) พบว่า สารสกัดยอดอ่อนของกระถินมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดใบ ผล และเมล็ด ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณ TPC ของสารสกัดบัวบกโขดพบว่า ปริมาณ TPC ของสารสกัดมีความแตกต่างกัน โดยสารสกัดเอทานอลมี TPC มากที่สุด เนื่องจาก TPC เป็นสารที่มีความเป็นขี้ สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีความเป็นขี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Denchai *et al.* (2021) ที่พบว่า เมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นขี้สูงขึ้นในการสกัดลำต้น และรากของมะหาดส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณ TPC เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ สารสกัดยอดและลำต้นซึ่งมีปริมาณ TPC เท่ากับ 95.17 และ 210.52 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าปริมาณ TPC ของสารสกัดส่วนหัวของบัวบกโขด (41.49 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด) (Kamonwannasit & Kamcharoen, 2018) และมีปริมาณมากกว่าสารสกัดสมุนไพรในครัวเรือน (กระชาย ขะพลู ขิง กระเพรา มะกรูด ข่า และตะไคร้) ซึ่งสกัดโดยใช้วิธีการหมักด้วยเมทานอลที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีปริมาณ TPC อยู่ระหว่าง 9.57-121.12 มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด Chansri & Kongkum (2022) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TF) ของสารสกัดน้ำ เอทานอล และคลอโรฟอร์มของสารสกัดยอด มีค่ามากกว่าสารสกัดลำต้นของบัวบกโขด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Buachoon (2020) ที่พบว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์ส่วนลำต้น (87.29 มิลลิกรัมเคอซิดินต่อกรัมสารสกัด) มากกว่าส่วนราก (28.45 มิลลิกรัมเคอซิดินต่อกรัมสารสกัด)

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH หรือ DPPH• ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวสูงของสารสกัดบัวบกโขด หากสารสกัดบัวบกโขดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะให้อิเล็กตรอนแก่ DPPH• ซึ่งมีสีม่วง เปลี่ยนเป็นโครงสร้างที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (DPPH) ที่มีสีเหลือง (Munteanu & Apetrei, 2022) ขณะที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นการทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารสกัดแก่สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} -TPTZ ซึ่งไม่มีสี เปลี่ยนเป็น Fe^{2+} -TPTZ ที่มีสีน้ำเงิน (Munteanu & Apetrei, 2022) นั่นคือ สารสกัดจากบัวบกโขดทั้งส่วนยอดและลำต้นมีความสามารถให้อิเล็กตรอนเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ



นอกจากนี้ สารสกัดจากบัวบกโขดที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่มี TPC สูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Al-Amin *et al.* (2022) พบว่า ปริมาณ TPC แปรผันตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่า TF และปริมาณแอลคาลอยด์ทั้งหมด (Total alkaloid content, TAC) นอกจากนี้ สารสกัดลำต้นของบัวบกโขดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดยอดของบัวบกโขด ($p < 0.05$) เนื่องจากส่วนของพืชที่แตกต่างกันจะมีชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกัน (Benhawan & Waema, 2021) โดยสารสกัดเอทานอลและคลอโรฟอร์มจากลำต้นด้วยมีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.186 และ 0.172 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สารสกัดทั้งส่วนยอดและลำต้นของบัวบกโขดมีสารพฤกษเคมีกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน สารสกัดลำต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดยอด โดยเฉพาะสารสกัดเอทานอลจากลำต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ขณะที่สารสกัดยอดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าสารสกัดลำต้น และสารสกัดลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดยอด จากการศึกษาในครั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) (เลขที่สัญญา ววน. 18/2567)

เอกสารอ้างอิง

- Al-Amin, M. Y., Lahiry, A., Ferdous, R., Hasan, M. K., Kader, M. A., Alam, A. H. M. K. *et al.* (2022). *Stephania japonica* ameliorates scopolamine-induced memory impairment in mice through inhibition of acetylcholinesterase and oxidative stress. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 8305271, 1-17.
- Benhawan, A. & Waema, S. (2021). Identification of phenolic compounds in *Melastoma malabathricum* (L.) extract by HPTLC technique and their food pathogenic bacteria activities. *Journal of Science and Technology*, 6(1), 81-90. (in Thai).
- Bor, J. Y., Chen, H. Y. & Yen, G. C. (2006). Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1680-6.
- Buachoon, N. (2020). Phytochemical screening and antioxidant activity of fresh and dried nasturtium officinal plants. *EAU Heritage Journal Science and Technology*, 14(1), 144-154. (in Thai).
- Chansri, R. & Kongkum, N. (2022). Activities of culinary herbs for antioxidants, antimicrobial and anti-inflammatory. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*, 42(5), 145-154. (in Thai).
- Dary, C., Hul, S., Kim, S. & Jabbour, F. (2015). Lectotypification of *Stephania pierrei* (Manispermaceae) Edinb. *Journal of Botany*, 72(3), 423-428.
- De, S., Dey, Y. & Ghosh, A. (2010). Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the different extracts of tuber of *Amorphophallus paeoniifolius* (Araceae). *International Journal on Pharmaceutical and Biological Research*, 1(5), 150-157.
- Denchai, R., Phai boon, N., Pornsiri, N. & Rattana, S. (2021). Antioxidant activities, total phenolic and total flavonoid contents of *Lepisanthes rubiginosa* crude extract. *Koch Cha Sam Journal of Science*, 43(2), 1-9. (in Thai).
- Dordevic, T. M., Marinkovic, S. S. S. & Brankovic, S. I. D. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, 119(3), 957-963.



- Kamonwannasit, S. & Kamcharoen, A. (2018). Phytochemical screening and antibacterial activities of tuber extract of *Stephania pierrei* Diels. *Chiang Mai Journal of Science*, 45(3), 1396-1406.
- Kamonwannasit, S., Prajanban, B., Srimee, P. & Kamcharoen, A. (2022). Anti-inflammatory and anti-oxidative activities of *Stephania pierrei* extracts. *HCU Journal*, 26(1), 25-34.
- Kamonwannasit, S., Rupitak, Q. & Kamcharoen, A. (2019). Antifungal and antioxidant activities of the extract of *Stephania pierrei* tubers. *The 4^{ed} RSU International Research Conference*, April 26, 2019. Pathum Thani: Rangsit University.
- Khongpet, W., Sanghkawisu, P., Makerd, W. & Namjan, M. (2023). Phytochemical screening, total phenolic contents and antioxidant activity of *Curcuma putii* maknoi & jenjitt. extracts. *Life Sciences and Environment Journal*, 24(1), 14-25. (in Thai)
- Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C. K., Chai, H., Pezzuto, J. M., Cordell, G. A., Ruangrungsi, N. (1993). Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of *Stephania pierrei*. *Journal of Natural Products*, 56(9), 1468-78.
- Munteanu, I. G. & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3380.
- Painupong, A. (2017). Free radicals and anti-oxidants in human health. *PKRU SciTech Journal*, 1(2), 20-27. (in Thai).
- Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302.
- Sembiring, E. N., Elya, B. & Sauriasari, R. (2018). Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Pharmacognosy Journal*, 10(1), 123-127.
- Singsai, K., Sakdavirote, A., Wechpanishkitkul, K. & Moonsamai, A. (2020). The comparison of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activities of the ethanolic extracts of shoots, leaves, fruits and seeds of *Leucaena leucocephala*. *Naresuan Phayao Journal*, 13(3), 66-73. (in Thai).
- Sonsupab, B. (2015). *Study and survey of genetic resources and the distribution of herbs protection for the purpose of plant varieties protection and conservation*. (Research report). Department of Agriculture, DOA: Plant Varieties Protection Office. (in Thai).
- Sonsupab, B. (2019). *Research on species diversity and identification and utilization of indigenous plants in according to Plant Variety Protection Act B.E. 2542*. (Research report). Department of Agriculture, DOA: Plant Varieties Protection Office. (in Thai).
- Yadav, R. & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10-14.