การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นและปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม

นภดล ลากะสงค์*, ทัศนัย โสคันธิกอุบล, สรวีย์ ศิริพิลา, จันจิรา จรามรบูรพงศ์, สมปอง ทองงามดี,
อรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล และ รุ่งทิวา ชิดทอง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม, นครปฐม
*oatkuiwit@gmail.com, rungtiwa@webmail.npru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นและหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม ผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี พบสารพฤกษเคมี 9 กลุ่มสาร คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ปริมาณฟีนอลิกรวมทดสอบด้วยวิธี Folin-ciocalteu โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y=0.0115x$, $R^2=0.9987$) ผลปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบจันทน์หอมมีค่าเท่ากับ 48.356±0.695 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ 1 กรัม ดังนั้น ใบจันทน์หอมสามารถใช้เป็นแหล่งพฤกษเคมีที่ทดแทนพืชสำคัญที่มีปริมาณลดลงได้ นอกจากนั้นผลการวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ที่นำไปต่อยอดประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตยารักษาโรค เครื่องสำอาง หรืออุตสาหกรรมอาหาร เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าใบจันทน์หอมซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่พบในประเทศไทย

คำสำคัญ: จันทน์หอม สารพฤกษเคมี การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ฟีนอลิก มาเซอเรชัน

Phytochemical screening and total phenolic content of *Mansonia gagei* leaves

Noppadon Lakasong*, Tasanai Sokanthikaubol, Sorawee Siripila, Chanjira Jaramornburapong, Sompong Thongngamdee, Arunrat Sunthitikawinsakul and Rungtiwa Chidthong

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology
Nakhon Pathom Rajabhat University, Nakhon Pathom
*oatkuiwit@gmail.com, rungtiwa@webmail.npru.ac.th

Abstract

This research aimed to investigate the phytochemical screening and total phenolic content of *Mansonia gagei* leaves. As the phytochemical screening testing by color reaction, nine groups of phytochemical constituents, alkaloid, flavonoid, coumarin, saponin, tannin, phlobatannin, terpenoid, steroid and cardiac glycoside, were found. Total phenolic content (TPC) was analyzed by Folin-ciocalteu method and compared to gallic acid calibration curve ($y = 0.0115x$, $R^2 = 0.9987$). As the result, the TPC of the crude extract of *M. gagei* leaves displayed 48.356±0.695 mgGAE/g crude. Therefore, the results showed that *M. gagei* leaves can be used as a phytochemicals source. In addition, the results can be used as the phytochemicals data for further benefits in pharmaceuticals, cosmetics or food industries and adding the value of *M. gagei* leaves that are the medicinal plants found in Thailand.

Keywords: *Mansonia gagei*, phytochemical, phytochemical screening, phenolic, maceration

1. บทนำ

จากสถานการณ์แพร่ระบาดของไวรัสโคโรนาหรือโควิด-19 คนไทยทั้งกลุ่มวัยทำงานและผู้สูงอายุ มีพฤติกรรมแนวโน้มดูแลสร้างเสริมสุขภาพตนเองให้แข็งแรงมากขึ้น 45.39% [1] ด้วยการออกกำลังกาย การรับประทานอาหาร อาหารเสริมและวิตามินต่าง ๆ ซึ่งพืชสมุนไพรหลายชนิดเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีหรือองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา [2] กลุ่มสารพฤกษเคมีจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ สารปฐมภูมิ (primary metabolite) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งสารพฤกษเคมีเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) และสามารถตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening) เพื่อดูองค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพรได้ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรนั้น

จันทน์หอม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Mansonia gagei* J. R. Drumm. ex Prain อยู่ในวงศ์ Sterculiaceae มีชื่อสามัญว่า kalamet ชื่ออื่น ๆ ที่เรียกกันทั่วไปว่า จันทน์ จันทน์ชะมด จันทน์ขาวหรือจันทน์พม่า มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย และอินเดีย โดยในประเทศไทยจะกระจายอยู่ในพื้นที่ 3 จังหวัด คือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ในเขตอุทยานแห่งชาติกุยบุรี ขึ้นในสภาพที่มีความสูง

เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง 400 เมตร ขึ้นไป [3] ไม้จันทน์หอมเป็นไม้มงคลที่ทรงคุณค่าหายากชนิดหนึ่ง เมื่อยืนต้นตายเองตามธรรมชาติ เนื้อไม้จะมีกลิ่นหอมเป็นพิเศษ ตลอดจนมีสรรพคุณทางยาสมุนไพรอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบประวัติการใช้ไม้หอมในประเทศไทยสืบเนื่องยาวนานอย่างต่อเนื่อง ระบุในจดหมายเหตุ พบว่ามีการใช้เป็นเครื่องบรรณาการที่สำคัญ [4] น้ำมันที่กลั่นจากเนื้อไม้ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ เนื้อไม้ใช้เป็นยาบำรุงประสาท เป็นยาแก้ไข้ แก้โลหิตเสีย แก้กระหายน้ำ อ่อนเพลีย ขี้เลื่อยยังใช้ทำธูปหอม ดอกไม้จันทน์ที่นิยมใช้ในการเคารพศพในพิธีเผาศพ ส่วนใหญ่จึงนิยมใช้ในส่วนของลำต้นเป็นส่วนหลักในการนำมาใช้ประโยชน์ [3] ซึ่งจะต้องอายุของต้นจันทน์หอมและรอเวลาเพื่อให้ยืนต้นตาย ทั้งนี้มีส่วนน้อยมากที่นำใบจันทน์หอมมาใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมและด้านอื่น ๆ

จากการสืบค้นพบงานวิจัยจำนวนน้อยมาก ส่วนแก่นไม้ (heartwoods) ของจันทน์หอมออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารกำจัดวัชพืช [5] สำหรับส่วนรากและใบออกฤทธิ์ต้านการเกิดอาการแพ้ในระดับสูง [6] องค์ประกอบทางเคมีในจันทน์หอมพบ mansorins A-C, mansonones A-I, mansonone L, mansonones N-T mansoxetane และ, 2,5-dimethoxy-1,4-benzoquinone, vanillic acid, 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzaldehyde, stigmastane-3,6-dione, 3,11-dioxo-(+,β)-amyrin และ 11(+, α)-hydroxy-(+, β)-amyrin เป็นต้น [5] [6] [7] [8] โดยส่วนมากกลุ่มสารพฤกษเคมีของจันทน์หอมพบกลุ่ม 1,2-naphthoquinone, coumarin, terpene และสารประกอบฟีนอลิก โดยสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ [9] จึงช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดแดงตีบตัน และโรคหัวใจ [10]

เนื่องจากการศึกษาตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นและหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอมยังไม่มีรายงานการวิจัย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โฟลบาแทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตอร์รอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ด้วยวิธีปฏิกิริยาการเกิดสี (color reaction) และหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากการทดสอบด้วยวิธี Folin-ciocalteu โดยองค์ความรู้ที่ได้นี้อาจนำไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งของแหล่งพฤษเคมีสามารถใช้ทดแทนพืชซึ่งมีปริมาณลดลงอันเป็นผลมาจากภาวะโลกร้อน [11] อีกทั้งยังเป็นเพิ่มมูลค่าให้แก่ต้นจันทน์หอมโดยนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านโภชนาการและทางการแพทย์ที่สำคัญต่อไปได้

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นและหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม

3. สมมติฐานของการวิจัย

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบจันทน์หอมจะเกิดสารพฤกษเคมีกลุ่มต่าง ๆ รวมถึงกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก โดยสารประกอบฟีนอลิกมีขั้วสามารถใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสกัดออกมาได้

4. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Rachsawan Mongkol (2016) [5] ศึกษาเชื้อราที่ต้านการก่อโรคฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสารต้านอาหาร และสารกำจัดวัชพืชของสารสกัดจากแก่นไม้ของ *M. gagei* ได้รับการประเมินพบว่า สารสกัดไดคลอโรมีเทน (DCM) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราต่อเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในพืชสี่ชนิดสูงกว่าสารสกัดเมทานอล (MeOH) การแยกสารสกัด DCM โดยใช้การออกฤทธิ์ต้านเชื้อราที่แนะแนวทางทางชีวภาพกับ *P. parasitica* นำไปสู่การแยก mansorins A, B และ C, mansonones C, E, G และ H ในบรรดาสารประกอบที่แยกได้ mansonone E แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราสูงสุดตามด้วย mansonone C, mansorin B และ mansonone G สารประกอบที่มี

ศักยภาพนี้เปิดเผยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ที่ 31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับ *C. gloeosporioides* และ P. parasiticaและความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อรา (MFC) ที่ 31 และ 125 ไมโครกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ mansonone E ยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่มีนัยสำคัญอย่างมากต่อ *xanthomonas oryzae pv. oryzae* และ *xanthomonas oryzae pv. oryzicola* ที่มี MIC และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เป็น 7.8 และ >500 $\mu g\ mL^{-1}$ ตามลำดับ สารประกอบนี้ยังสามารถยับยั้งการป้อน *Spodoptera litura* ด้วยสารต้านการป้อน 45.9 % และกิจกรรมกำจัดวัชพืชช่วยลดยอดและการเจริญเติบโตของรากของ *Brassica chinensis, Oryza sativa, Mimosa pigra* และ *Echinochlooa crus galli* โดย Mansonone E มีศักยภาพ ในการเป็นสารกำจัดศัตรูพืชตามธรรมชาติชนิดใหม่สำหรับการจัดการเชื้อโรคในพืชทางการเกษตร

พิมลพร เที่ยงธรรม (2549) [6] ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของรากและใบจันทน์ชะมด พบว่าจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากจันทน์ชะมดพบสารบริสุทธิ์ 9 ชนิดสามารถหาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีได้ 8 ชนิด ได้แก่ 2,5-dimethoxy-1,4-benzoquinone, mansonone G, vanillic acid, mansonone H, mansonone C, mansonone E, mansonone T และ Stigmastane-3,6-dione สาร mansonone T พบว่าเป็นสารใหม่ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบจันทน์ชะมดสามารถแยกได้สารบริสุทธิ์เพิ่มอีก 3 ชนิด สามารถหาโครงสร้างโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีได้ 2 ชนิด คือ ได้แก่ 3,11-dioxo-(+, β)-amyrin, 11(+, α)-hydroxy-(+, β)-amyrin และของผสม 2 ชนิด ได้แก่ ของผสมของไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง และของผสมของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง mansonones G และ C แสดงฤทธิ์ต้านฮีสทามีนสูงสุดเมื่อเทียบกับสารชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} 212 และ 222 โมลาร์ ตามลำดับ

พัฒทรา แซ่เตียว (2545) [7] ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากต้นจันทน์ชะมด สามารถแยกสารได้ 16 ชนิด จากสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซีเตต และเมทานอลของเนื้อไม้ เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสาร พบว่า mansonone C แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด คือ มีความเป็นพิษในระดับสูงต่อไรสีน้ำตาล *Artemia salina* Linn. ลูกน้ำยุงที่ก่อให้เกิดโรคไข้เหลือง aedes esypti และเซลล์มะเร็งหลายชนิด อีกทั้งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Cladosporium cucumerinum* และ *Candida albicans* สำหรับ mansonone E แสดงฤทธิ์เช่นเดียวกับ mansonone C ยกเว้นไม่แสดงฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงที่ก่อให้เกิดโรคไข้เหลือง นอกจากนี้ mansorins A และ B ออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. cucumerinum* ส่วน mansonone N และ 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzaldehyde ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

5. วิธีการดำเนินการวิจัย

5.1 การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างใบจันทน์หอมขนาดความยาว 10 – 15 เซนติเมตร กว้าง 3 เซนติเมตร จากแปลงอนุรักษ์ไม้จันทร์หอม โรงเรียนกุยบุรีวิทยา ตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ช่วงต้นเดือนธันวาคม 2564

5.2 วิธีการสกัดสารตัวอย่าง

นำใบจันทน์หอมสดน้ำหนัก 500 กรัม อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องปั่นละเอียด นำใบจันทน์หอมที่บดละเอียดแล้วหนัก 381.13 กรัม มาแช่ (maceration) ในตัวทำละลายเอทานอล 95% โดยใช้ปริมาณผงพืชต่อตัวทำละลาย 1 กรัม ต่อ 9 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองและนำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกจนกระทั่งแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดหยาบ (crude) มีลักษณะของเหลวข้นหนืดสีเขียวเข้ม คิดเป็นร้อยละผลได้ (% yield) เท่ากับ 3.699

5.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบจันทน์หอมแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ออกเป็น 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตอร์รอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ใช้วิธีการทดสอบเชิงคุณภาพ ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Ayoola et al. (2008) [12] ดังนี้

5.3.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (alkaloids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (10 % H_2SO_4) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าและนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

5.3.2 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50 % เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออกนำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

5.3.3 การตรวจสอบแอนทราควิโนน (anthraquinones)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (10 % H_2SO_4) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายแอมโมเนีย (10 % NH_3) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

5.3.4 การตรวจสอบคูมาริน (coumarin)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วย 50 % เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M NaOH) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มพบคูมาริน

5.3.5 การตรวจสอบซาโปนิน (saponins)

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

5.3.6 การตรวจสอบแทนนิน (tannins)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที จากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1 % $FeCl_3$) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน

5.3.7 การตรวจสอบโฟลบาแทนนิน (phlobatannins)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที จากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายออกและนำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (10 % HCl) 5 หยด นำไปอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ 5 นาที ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบโพลบาแทนนิน

5.3.8 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่า จากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

5.3.9 การตรวจสอบสเตียรอยด์ (steroids)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าจากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติม glacial acetic acid 0.5 มิลลิลิตร เขย่า เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์

5.3.10 การตรวจสอบคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (cardiac glycosides)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1 % $FeCl_3$) จำนวน 5 หยด เขย่าเติมกรดแกลเซียลแอซีติก จำนวน 5 หยด เขย่าจากนั้นค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบคาร์ดิแอคไกลไคไซด์

5.4 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม จากการทดสอบด้วยวิธี Folin ciocalteu โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ซึ่งดัดแปลงจากงานวิจัยของ Singleton et al. (1999) [13] ดังนี้

5.4.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 5 ความเข้มข้น (5, 10, 40, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นละ 0.5 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Folin-ciocalteu เข้มข้น 2.8 % 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5 % Na_2CO_3) 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเหลืองเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 746 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เขียนกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)

5.4.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบจากใบจันทน์หอม 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชั่งสารสกัดหยาบ 0.1 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร) แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม [9] วิธีการคร่าว ๆ ดังนี้ ปิเปตสารละลาย 0.5 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) ผสมกับสารละลาย Folin-ciocalteu เข้มข้น 2.8 % 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5 % Na_2CO_3) 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 746 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดแสดงเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แล้วคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม (mgGAE/g of crude)

6. ผลการทดลองและอภิปราย

การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นและหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม ดังนี้

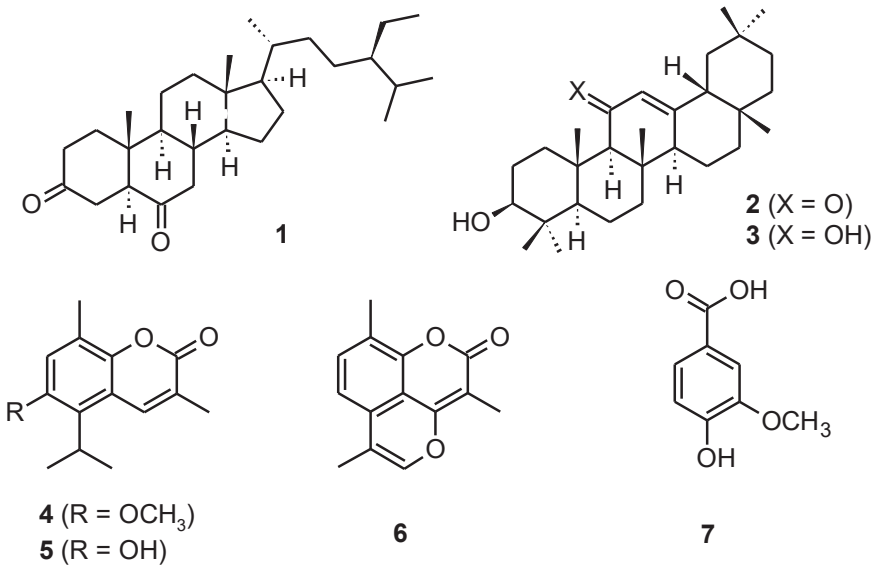
6.1 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (phytochemical screening)

ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนใบจันทน์หอม ทดสอบโดยปฏิกิริยาการเกิดสี สารพฤกษเคมีที่ทดสอบมีทั้งหมด 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ซึ่งผลการทดสอบไม่พบกลุ่มแอนทราควิโนนเท่านั้น (ตารางที่ 1) โดยผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยที่เคยแยกสารบริสุทธิ์จากใบจันทน์หอม (ภาพที่ 1) ดังนี้ กลุ่มสเตียรอยด์ (หรือไตรเทอร์พีน) ได้แก่ stigmastane-3,6-dione (1) กลุ่มเทอร์พีน ได้แก่ 3,11-dioxo-(+,β)-amyrin (2) และ 11(+, α)-hydroxy-(+, β)-amyrin (3) [6] นอกจากนี้ ผลการทดสอบพบสารกลุ่มคูมารินซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rachsawan M. (2013) [9] ที่พบคูมารินในแก่นไม้ ได้แก่ mansorins A-C (4-6)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบจันทน์หอม

สารพฤกษเคมี	การเปลี่ยนแปลง	ผลการตรวจสอบ
แอลคาลอยด์	ตะกอนกส้มแดง	+
ฟลาโวนอยด์	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	+
แอนทราควิโนน	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	-
คูมาริน	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	+
ซาโปนิน	เกิดฟองถาวร	+
แทนนิน	สารละลายเป็นสีเขียวดำ	+
ฟลาโบแทนนิน	สารละลายเป็นสีเขียวดำ	+
เทอร์ปีนอยด์	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อชั้นสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก	+
สเตียรอยด์	สารละลายสีน้ำเงินเขียว	+
คาร์ดิแอคไกลโคไซด์	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อชั้นสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก	+

หมายเหตุ + หมายถึง พบกลุ่มสาร (positive test), - คือ ไม่พบกลุ่มสาร (negative test)



ภาพที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีพบในใบจันทน์หอม

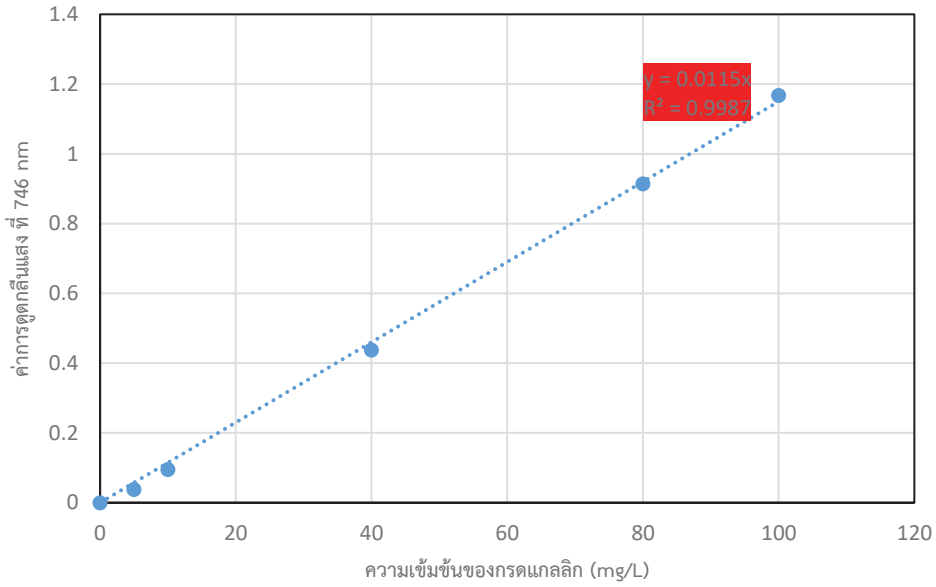
อย่างไรก็ตาม จากผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นที่พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานแยกสารบริสุทธิ์จากส่วนใบของจันทน์หอม โดยจากองค์ประกอบทางเคมีในใบจันทน์หอมพบสารกลุ่ม benzoquinone, phenolic acid และ triterpene [6] เท่านั้น

6.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากใบจันทน์หอมด้วยวิธี Folin-ciocalteu [13] โดยเทียบกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (ภาพที่ 2) มีสมการเส้นตรง คือ y=0.0115x (R^2=0.9987) ผลปริมาณฟีนอลิกรวมของ สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบจันทน์หอม มีค่าท่ากับ 48.356±0.695 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบ 1 กรัม (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นไปตามสมสมุติฐานของการวิจัย นั่นคือ สารประกอบฟีนอลิกมีขั้วสามารถสกัดออกมาได้โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมจากใบจันทน์หอมยังสอดคล้องกับงานวิจัยของพิมลพร เที่ยงธรรม (2549) [6] ที่พบ vanillic acid (7) เป็นสารประกอบฟีนอลิก (ภาพที่ 1) หรือปริมาณฟีนอลิกรวมที่ได้อาจเป็นผลเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกอื่น รวมถึงฟลาโวนอยด์ซึ่งให้ผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นเป็นบวก (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบจันทน์หอม

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 746 นาโนเมตร				ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g of crude)			
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย±SD
0.556	0.548	0.564	0.556±0.008	48.374	47.652	49.043	48.356±0.695



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

7. สรุปผลการวิจัย

สารสกัดเอทานอลจากใบจันทน์หอมพบสารพฤกษเคมี 9 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ และมีปริมาณฟีนอลิกรวมทดสอบด้วยวิธี Folin-ciocalteu มีค่าเท่ากับ 48.356±0.695 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ 1 กรัม แสดงว่าใบจันทน์หอมมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งควรทำการแยกสารบริสุทธิ์ชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระออกฤทธิ์ต้านมะเร็งหรือต้านการอักเสบที่มีสาเหตุจากอนุมูลอิสระ ดังนั้น สามารถต่อยอดในอุตสาหกรรมการผลิตยาเพื่อเป็นแพทย์ทางเลือก รวมถึงเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง เวชสำอาง หรือในอุตสาหกรรมอาหารเสริมได้ในอนาคต

8. เอกสารอ้างอิง

[1] The story Thailand. (ไม่ระบุ). **New normal คนไทย 45% ใส่ใจสุขภาพมากขึ้น**. สืบค้นเมื่อ มีนาคม 26, 2565. จาก https://www.thestorythailand.com/01/06/2020/1769/

[2] วันดี กฤษณพันธ์. (2544). พฤกษเคมีเบื้องต้น. ในนพมาศ สุมทรเจริญนนท์(บรรณาธิการ), เภสัชวินิจฉัยยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเล่มที่ 1 (หน้า 34-102). กรุงเทพฯ: แสงเทียนการพิมพ์.

[3] เต็ม สมิตินันทน์. (2518). **พันธุ์ไม้ป่าเมืองไทย.** ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). อักษรบัณฑิต บางกอกน้อย กรุงเทพฯ. 228 น. 2523.

[4] สุภาพร เกิดพุ่ม. (2552). **สานศิลป์ถิ่นจันทน์หอม.** โรงพิมพ์; บริษัท ภาพอักษร จำกัดประจวบคีรีขันธ์.

[5] Rachsawan Mongkol,Warinthorn Chavasiri. (2016). **Antimicrobial, herbicidal and antifeedant activities of mansonone E from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm.** Journal of Integrative Agriculture Volume 15, 2795-2802.

[6] พิมลพร เที่ยงธรรม. (2549). **องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของรากและใบจันทน์ชะมด.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[7] พัฒทรา แซ่เตียว. (2545)**. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นจันทน์ชะมด.** กรุงเทพมหานคร : ฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย.

[8] PattaraTiew, HiromitsuTakayama, MarikoKitajima, NorioAimi, UdomKokpol & Warinthorn Chavasiri. (2003). **A novel neolignan, mansoxetane, and two new sesquiterpenes mansonones R and S, from *Mansonia gagei***. Tetrahedron Letters, 44 (35), 6759-6761.

[9] สุนันทา ข้องสาย และคณะ. (2562). **สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเสม็ดขาวและเสม็ดแดง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

[10] Luchai Butkhup (2011). **Dietary Polyphenols and Their Biological Effects**. Journal of Science and Technology Mahasarakham University. Vol 31, No 4, July-August 2012.

[11] สายชล เกตุศา. (2552). **ภาวะโลกร้อน : ผลกระทบต่อพืช.** วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข, 3(2), 203-205

[12] Ayoola, G.A.; Coker, H.A.; Adesegun, S.A.; Adepoju-Bello, A.A.; Obaweya, K.; Ezennia, E.C.; Atangbayila, T.O. Phytochemicalscreening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. Trop. J.Pharm. Res. 2008, 7(3), 1019–1024.

[13] Singleton, V. L. & Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (2542). **Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidant by mean of Folin-Cicalteu reagent.** Methods in Enzymology, 299,152-178.