การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของใบจันทน์หอม

พลวัต แก้วพิศดาน*, จันจิรา จรามรบูรพงศ์, อรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล และรุ่งทิวา ชิดทอง

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม นครปฐม
*beer04062003@gmail.com, rungtiwa@webmail.npru.ac.th

บทคัดย่อ

จันทน์หอม มีประวัติการใช้น้ำมันที่กลั่นจากเนื้อไม้เป็นยาบำรุงหัวใจ บำรุงประสาท แก้ไข้ แก้โลหิตเสีย แก้กระหายน้ำ อ่อนเพลีย มาอย่างยาวนานโดยส่วนใหญ่นิยมใช้เนื้อไม้ ในงานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อต้องการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นด้วยวิธีการสังเกตสีและตะกอนในปฏิกิริยา และการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของใบจันทน์หอมที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่ามีสารพฤกษเคมีในกลุ่มของน้ำตาลรีดิวซ์ แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ในใบจันทน์หอมจะมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่วิเคราะห์ด้วยสีของอะลูมิเนียมคลอไรด์ โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานเควอซิทินจะพบว่า มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ย 209.441 ± 2.047 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ซึ่งผลการวิจัยสามารถใช้เป็นทางเลือกในการใช้สมุนไพรใหม่ ๆ ที่ต้องการสารพฤกษเคมีจำพวกคาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางโภชนาการหรือนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านโภชนาการ และทางการแพทย์ที่สำคัญต่อไปได้ อีกทั้งผลการวิจัยช่วยเพิ่มมูลค่าให้แก่ใบจันทน์หอม และเป็นการเผยแพร่คุณประโยชน์ของพืชสมุนไพรที่พบในประเทศไทย

คำสำคัญ: จันทน์หอม สารพฤกษเคมี คาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์

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

Phonlawat Kaewphitsadan*, Chanjira Jaramornburapong, Arunrat Sunthitikawinsakul and Rungtiwa Chidthong

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University, Nakhon Pathom
*beer04062003@gmail.com, rungtiwa@webmail.npru.ac.th

Abstract

Chanhom, has a long history of medicinal use, with its extracted wood oil traditionally employed as a cardiotonic, nervine, antipyretic, anti-hemorrhagic, and antidiarrheal agent. This study aimed to conduct a preliminary phytochemical screening of *M. gagei* leaves using color and precipitate observations in chemical reactions, as well as to quantify the total flavonoid content. The results revealed the presence of reducing sugars, alkaloids, and flavonoids in the leaves. The total flavonoid content, determined using the aluminum chloride colorimetric method and expressed as quercetin equivalents, was found to be 209.441 ± 2.047 mg/g of crude extract. These findings suggest that *M. gagei* leaves could be a potential source of bioactive compounds, including carbohydrates, alkaloids, and flavonoids, for use in herbal medicine or as functional food ingredients. The results also contribute to the nutritional database and may aid in the development of novel nutraceutical and pharmaceutical products. Additionally, this study highlights the potential economic value of *M. gagei* leaves and promotes the dissemination of knowledge about the medicinal properties of indigenous Thai plants.

Keywords: *Mansonia gagei*, Phytochemical, Carbohydrate, Alkaloid, Flavonoid

1. บทนำ

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยได้รับผลกระทบจากการแพร่ระบาดของโรคไวรัสโคโรนา 2019 (โควิด-19) กระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายส่งเสริมการใช้ยาแผนไทยและยาพัฒนาจากสมุนไพรหลายตำรับ เช่น ยาฟ้าทะลายโจร (รูปแบบสกัด) เพื่อบรรเทาอาการหวัด ไอ และเจ็บคอ และตำรับยาที่มีส่วนผสมของกัญชาเข้าสู่บัญชียาหลักแห่งชาติ ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ ด้านสมุนไพร พ.ศ. 2564 และบัญชียาหลักแห่งชาติ ด้านสมุนไพร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2565 โดยแบ่งประเภทยาจากสมุนไพรออกเป็น 3 บัญชี รวมทั้งสิ้น 96 รายการ มีรายการยาจากสมุนไพรที่มีส่วนผสมกัญชาอยู่ 8 รายการ เป็นต้น นอกจากนี้ ในช่วงการระบาดระลอกที่ 3-4 ของโควิด-19 ยอดขายผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากฟ้าทะลายโจรเพิ่มขึ้นถึง 5 เท่า และราคาใบฟ้าทะลายโจรเพิ่มขึ้นราว 10 เท่า [1] ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงสนใจการศึกษาสมุนไพรใหม่ ๆ เพื่อเป็นแพทย์ทางเลือก

จันทน์หอมหรือจันทน์ชะมด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mansonia gagei* J. R. Drumm. Ex. Prain เป็นไม้ยืนต้นอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทยและอินเดีย โดยในประเทศไทยพบมากที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในเขตอุทยานแห่งชาติกุยบุรี ในบริเวณแหล่งปลูกที่มีความสูงปานกลางเหนือระดับน้ำทะเล 400 เมตร ขึ้นไป [2] ไม้จันทน์หอมเป็นไม้มงคลที่ทรงคุณค่าหายากชนิดหนึ่ง เมื่อยืนต้นตายเองตามธรรมชาติเนื้อไม้จะมีกลิ่นหอมเป็นพิเศษ ซึ่งตามจดหมายเหตุระบุการใช้ไม้จันทน์หอมเป็นเครื่องบรรณาการที่สำคัญ นอกจากนี้ ตามภูมิปัญญาท้องถิ่นได้นำน้ำมันที่กลั่นจากเนื้อไม้ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ

บำรุงประสาท แก้ไข้ แก้โลหิตเสีย แก้กระหายน้ำ และอาการอ่อนเพลีย ขี้เลื่อยใช้ทำธูปหอม และส่วนของลำต้นทำเป็นดอกไม้จันทน์ใช้ในการเคารพศพในพิธีเผาศพ [2]

จากงานวิจัยของ Phimolporn Thiengtham et al. (2549). [3] พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของราก *M. gagei* พบสารบริสุทธิ์ 8 ชนิด ได้แก่ 2,5-dimethoxy-1, 4-benzoquinone, mansonone G, vanillic acid, mansonone H, mansonone C, mansonone E, mansonone T, Stigmastane-3,6-dione และใบ *M. gagei* แยกได้สารบริสุทธิ์เป็นกลุ่มไทรเทอร์พีน ได้แก่ 3,11-dioxo-(+, β)-amyrin, 11(+, α)-hydroxy-(+, β)-amyrin และของผสมของไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรงและของผสมของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง mansonones G และ C และงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. (2565) [2] ได้ตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นจากใบจันทน์หอม พบสารพฤกษเคมีกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ นอกจากนี้ยังหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม พบว่า สารสกัดหยาบใบจันทน์หอมที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย เท่ากับ 1.789 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อพืชแห้ง 1 กรัม

การวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยสนใจต่อยอดจากงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. (2565) [2] โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นเพิ่มเติมในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตซึ่งแสดงถึงฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงยืนยันผลตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นกลุ่มแอลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์อีกครั้ง เพื่อนำสารสกัดไปหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่อไป โดยปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจะแสดงถึงคุณภาพของสารสกัดจากสมุนไพร และโดยสามารถใช้ข้อมูลประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ อีกทั้งสามารถนำข้อมูลไปควบคุมมาตรฐานการผลิตจากผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้ ซึ่งจากการค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่ายังไม่มีรายงานในใบจันทน์หอมมาก่อน โดยองค์ความรู้ที่ได้นี้ เพื่อนำไปวิจัยต่อยอดเพื่อพัฒนาเป็นสมุนไพรแพทย์ทางเลือก รวมถึงใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางโภชนาการหรือนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านโภชนาการ และทางการแพทย์ที่สำคัญต่อไปได้

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

2.1 เพื่อตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ของใบจันทน์หอม

2.2 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของใบจันทน์หอม

3. สมมติฐานของงานวิจัย

ใบจันทน์หอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะสามารถสกัดสารสารพฤกษเคมีกลุ่มคาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ออกมาได้

4. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Noppadon Lakasong et al. (2565) [2] ได้ทำการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นวิธีปฏิกิริยาการเกิดสี พบสารพฤกษเคมี 9 กลุ่ม คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ และนำสารสกัดดังกล่าวไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-ciocalteu method โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (y=0.0115x, R^2=0.9993 พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย 48.356±0.695 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ

Lyzu C. et.al (2022) [4] ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลของเปลือก *Sterculia villosa* (MESV) และสารสกัดจากเมทานอลของต้น *Vernonia patula* (MEVP) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Sterculiaceae การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ MESV และ MEVP ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) ซึ่งระบุสารประกอบทางเคมี 52 และ 33 ชนิดตามลำดับ การทดสอบ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ระบุว่าทั้ง MESV และ MEVP แสดงผลตามระดับที่ขึ้นกับความเข้มข้น และค่าความเข้มข้นยับยั้งสูงสุดครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) สำหรับ MEVP, MESV และกรดแอสคอร์บิก คือ 305.30, 555.44 และ 36.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) และปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ของ MESV คือ 81.44±2.70 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ และ 62.58±1.93 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ ในขณะที่ค่าเหล่านี้สำหรับ MEVP คือ 291.31±6.61 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบและ 58.99±3.16 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบตามลำดับ

Rafi M. et.al (2020) [5] ได้ศึกษา *Guazuma ulmifolia* เป็นพืชในวงศ์ STERCULIACEAE ใช้เป็นยาแผนโบราณสำหรับการลดน้ำหนัก และลดคอเลสเตอรอลในร่างกาย ในการวิจัยนี้ศึกษาปริมาณฟีนอลรวม ฟลาโวนอยด์รวม แทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ด้วยสเปกตรัม FTIR จากสารสกัดใบ G. ulmifolia ในตัวทำละลายต่าง ๆ วิธีการสกัดที่ใช้เป็นการหมักในตัวทำละลายที่ต่างกัน *n*-hexane เอทิลอะซิเตต เอทานอล และน้ำ พบว่าปริมาณฟีนอลรวมและฟลาโวนอยด์รวมมีสูงในสารสกัดเอทานอลจากใบ *G. ulmifolia* คือ 35.42 mg GAE/g dry powder และ 44.85 mg QE/g dry powder ตามลำดับ ปริมาณแทนนินรวมสูงสุดคือ 0.55% ในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ CUPRAC พบตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต สามารถต้านอนุมูลอิสระคือ 55.47 และ 98.17 µmol trolox/g dry powder ตามลำดับ ในขณะที่สกัดด้วยน้ำการทดสอบการรีดิวซ์คือ 176.75 µmol trolox/ g dry powder ในการวิเคราะห์ด้วยสเปกตรัม FTIR จากสารสกัดใบ *G. ulmifolia* ในตัวทำละลายต่างกัน มีลักษณะที่แตกต่างกันในแต่ละสเปกตรัม การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักโดยใช้สเปกตรัม FTIR ยังแสดงให้เห็นการรวมกลุ่มที่ดีสำหรับสารสกัดแต่ละชนิด ความแปรปรวนของข้อมูลคือ 94% (PC1= 77% และ PC2 = 17%) ซึ่งสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบ *G. ulmifolia* แต่ละชนิดมีคุณสมบัติพฤกษเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งมีส่วนช่วยในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนี้ส่วนใหญ่ได้จากความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล

5. วิธีการดำเนินงาน

5.1 การเตรียมสารสกัด

เนื่องจากการวิจัยในครั้งนี้เป็นการต่อยอดจากงานวิจัยเรื่อง “การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น และหาปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม” ของ Noppadon Lakasong et al. [2] จึงได้นำสารสกัดเดิมมาวิเคราะห์ต่อ ซึ่งวิธีเตรียมสารสกัดดังนี้ เก็บตัวอย่างใบจันทร์หอมขนาดความยาว 10 - 15 เซนติเมตร กว้างประมาณ 3 เซนติเมตร จากแปลงอนุรักษ์ไม้จันทร์หอม โรงเรียนกุยบุรีวิทยา ตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เมื่อช่วงต้นเดือนธันวาคม 2564 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

5.2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

5.2.1 การตรวจสอบคาร์โบไฮเดรต

ในการตรวจสอบคาร์โบไฮเดรตประเภทน้ำตาลรีดิวซ์และแป้ง ดัดแปลงวิธีการของ Anucit Plabrukarn and Arunrat Aittarat [6] โดยตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดหยาบละลายด้วยเอทานอลเข้มข้น 2% wt/v

1) การตรวจสอบน้ำตาลรีดิวซ์ นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติม Fehling's reagent A และ Fehling's reagent B อย่างละ 1 มิลลิลิตร ต้มในเครื่องอังน้ำ ถ้ามีน้ำตาลน้ำตาลรีดิวซ์ จะเกิดตะกอนสีแดงอิฐของคิวปรัสออกไซด์ (Cuprous Oxide)

2) การตรวจสอบแป้ง นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในกระจกนาฬิกา เติม 0.1 N Iodine จำนวน 2-3 หยด ถ้ามีแป้ง สารละลายจะได้สีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินเข้ม

5.2.2 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ด้วยวิธีปฏิกิริยาการเกิดสีโดย อ้างอิงงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. [2] และดัดแปลงวิธีการจาก Janpen Kotpoohtorn [7] ดังนี้

1) Mayer’s reagent ชั่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10% H_2SO_4 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ-5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ไปหยดน้ำยา Mayer’s reagent จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าพบแอลคาลอยด์ จะปรากฏตะกอนสีเหลือง

2) Wagner’s reagent ชั่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10% H_2SO_4 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

นำของเหลวที่ได้จากการกรองไปหยดน้ำยา Wagner's reagent จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าพบแอลคาลอยด์ จะปรากฏตะกอนสีน้ำตาล

5.2.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.2 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เขย่า แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

5.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ดัดแปลงจากวิจัย Phuyal, N. et al. (2020) [8]

5.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานเควอซิทิน

นำสารละลายเควอซิทินในเอทานอลเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 5% $NaNO_2$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมสารละลาย 10% $AlCl_3$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที แล้วเติมสารละลาย 1 M NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 4.4 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 510 นาโนเมตร นำค่า Abs เฉลี่ย สร้างกราฟมาตรฐานเควอซิทิน

5.3.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

นำสารสกัดหยาบละลายด้วยเอทานอลเข้มข้น 1.00 mg/mL ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และสารละลาย 5% $NaNO_2$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมสารละลาย 10% $AlCl_3$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที แล้วเติมสารละลาย 1 M NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 4.4 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 510 นาโนเมตร จากนั้นนำค่า Abs มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเควอซิทิน แล้วคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ น้ำตาลรีดิวซ์ แป้ง แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน และการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบจันทน์หอม ดังนี้

6.1 การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นกลุ่มคาร์โบไฮเดรต แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์

ผลการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากใบจันทน์หอม ด้วย Fehling's reagent พบน้ำตาลรีดิวซ์ ดังตารางที่ 1 ซึ่งน้ำตาลรีดิวซ์สามารถได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ที่พบได้ในธรรมชาติ เช่น กลูโคส ฟรุกโทส และกาแลกโทส เป็นต้น มักอยู่ในรูปอิสระและรูปไกลโคไซด์ ซึ่งโครงสร้างไกลโคไซด์ประกอบด้วยส่วนน้ำตาล เรียกว่า ไกลโคน (glycone) และส่วนไม่ใช่น้ำตาล เรียกว่า อะไกลโคน (aglycone) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. [2] พบคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ และส่วนอะไกลโคน ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาบาแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ ซึ่งอะไกลโคนเหล่านั้นสามารถเกิดพันธะกับน้ำตาลได้ สอดคล้องกับ Matana Krueangngern et al. (2566) [9] ที่ศึกษารวบรวมข้อมูลการใช้สมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน ซึ่งพบแอลคาลอยด์ไกลโคไซด์ในสมุนไพรกลุ่มรักษาเบาหวาน ทีใช้หลักการของอะไกลโคนที่สร้างพันธะกับน้ำตาลจึงส่งผลให้การดูดซึมน้ำตาลได้ยากขึ้น

นอกจากนี้ ทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากใบจันทน์หอมด้วยไอโอดีน ผลไม่พบแป้ง ดังตารางที่ 1 ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีว่า แป้งจัดอยู่ในกลุ่มเป็นคาร์โบไฮเดรตที่พืชมักเก็บสะสมไว้ในส่วนที่เป็นแหล่งพลังงานสำรอง เช่น เมล็ด ราก และลำต้น แต่ไม่ใช่ในใบ เนื่องจาก ใบพืชมีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตพลังงานจากแสงอาทิตย์ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ดังนั้น ใบจึงไม่ได้ทำหน้าที่สะสมแป้ง แต่จะเก็บแป้งที่ผลิตขึ้นมาในระยะเวลาสั้น แล้วเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล ที่เคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่น ๆ ของพืชเพื่อการใช้งานหรือการเก็บสะสม นอกจากนี้สารที่พบในสารสกัดใบส่วนใหญ่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์, แทนนิน, และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของ Noppadon Lakasong et al. [2]

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบคาร์โบไฮเดรต และสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ประเภททุติยภูมิ

กลุ่มคาร์โบไฮเดรต	reagent	สังเกตการเปลี่ยนแปลง	ผลการตรวจสอบ
น้ำตาลรีดิวซ์	Fehling's reagent	พบตะกอนสีแดงอิฐ	+
แป้ง	Iodine solution	สารละลายไม่เปลี่ยนสี	-
แอลคาลอยด์			
	Mayer's reagent	พบตะกอนสีเหลือง	+
	Wagner's reagent	พบตะกอนสีน้ำตาล	+
ฟลาโวนอยด์		พบสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม	+

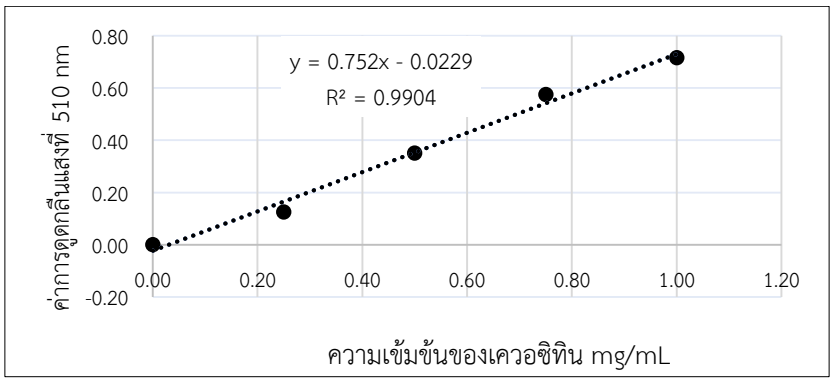
*** + หมายถึง พบสาร, - หมายถึง ไม่พบสาร

สำหรับผลการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นกลุ่มแอลคาลอยด์ของสารสกัดจากใบจันทน์ ที่ตรวจสอบด้วยน้ำยา Mayer's reagent และ Wagner's reagent พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ดังตารางที่ 1 โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. [2] ที่ตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นกลุ่มแอลคาลอยด์ด้วย Dragendroff's reagent เช่นเดียวกับผลตรวจสอบเบื้องต้นกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ให้ผลบวกซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. [2] ดังนั้น การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเดิมนี้ จะเห็นว่า สารสกัดมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่อไป

จากตารางที่ 1 ผลน่าสนใจ เนื่องจากเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Phimolporn Thiengtham [3] ซึ่งแยกสารสกัดจากใบจันทน์หอมสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน พบสารกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์เท่านั้น ซึ่งยังไม่มีรายงานพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์ หรือแม้แต่กลุ่มคูมาริน ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโบแทนนิน สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ [2]

6.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบจันทน์หอม โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานเควอซิทิน ($y = 0.752x - 0.0229$, $R^2=0.9904$) ดังภาพที่ 1 พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ย เท่ากับ 209.441 ± 2.047 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 48.347 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม [2] ดังตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rafi M. et.al (2020) [5] ที่นำสารสกัดใบ *Guazuma ulmifolia* ในตัวทำละลายเอทานอล มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม มีค่าเท่ากับ 35.42 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ซึ่งมากกว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มีค่าเท่ากับ 44.85 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lyzu C. et.al (2022) [4] ศึกษาใน *Sterculia villosa* มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 81.44 ± 2.70 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณ ฟีนอลิกรวม เท่ากับ 62.58 ± 1.93 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม และใน *Vernonia patula* มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม 291.31 ± 6.61 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ซึ่งมากกว่าปริมาณฟีนอลิกรวม 58.99 ± 3.16 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานเควอซิทิน

ตารางที่ 2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม

การวิเคราะห์	ครั้งที่		เฉลี่ย ± SD
ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/g crude)	1	209.973	209.441 ± 2.047
	2	211.170	
	3	207.181	
ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g crude)[a]	1	48.347	48.347
	2	47.652	
	3	49.043	

[a]อ้างอิงผลการวิจัยของ Noppadon Lakasong et al. [2]

7. สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากใบจันทน์หอมพบคาร์โบไฮเดรตจำพวกน้ำตาลรีดิวซ์ ไม่พบแป้ง พบกลุ่มแอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยเท่ากับ 209.441 ± 2.047 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ดังนั้นจากผลการวิจัยที่พบสารพฤกษเคมีในกลุ่มแอลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์ในใบจันทน์หอมจึงเป็นการค้นพบที่สำคัญ เนื่องจากไม่เคยมีรายงานมาก่อน แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางชีวภาพในจันทน์หอม โดยองค์ความรู้ที่ได้นี้สามารถต่อยอดงานวิจัยเพื่อแยกสารบริสุทธิ์และศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารพฤกษเคมีต่อไป ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ ทางโภชนาการ หรือทางเวชสำอาง รวมทั้งช่วยส่งเสริมการใช้พืชสมุนไพรในประเทศไทยให้กว้างขวางขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรชนิดนี้และสนับสนุนการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรอย่างยั่งยืน

8. เอกสารอ้างอิง

[1] Institute for Population and Social Research, Mahidol University and The Thai Health Promotion Foundation. (2023). **Thai Health 2023: Thailand's Promise at COPs in Dealing with a Turbulent World.** Institute for Population and Social Research, Mahidol University and The Thai Health Promotion Foundation. (Academic document no. 597, 1st edition). Nakhon Pathom: Institute for Population and Social Research, Mahidol University and The Thai Health Promotion Foundation. 136 pages. ISBN 978-616-443-788-3 (In Thai)

[2] Lakasong, N., Sokanthikaubol, T., Siripila, S., Jaramornburapong, C., Thongngamdee, S., Sunthitikawinsakul, A. & Chidthong, R. **Phytochemical screening and total phenolic content of *Mansonia gagei* leaves.** The 14 NPRU National Academic Conference ISBN(e-book) 978-974-7063-41-7 (In Thai)

[3] Pimonporn Tiengtham. (2006). **Chemical Constituents and Their Biological Activities of the Roots and the Leaves of *Mansonia gagei* Drumm**. Master's thesis, Chemistry, Chulalongkorn University. (In Thai)

[4] Lyzu, C., Mitra, S., Perveen, K., Khan, Z., Tareq, A. M., Bukhari, N. A., Husain F. M., Lipy E. P., Islam D., Hakim M., Emran T. B. & Dashti, M. G. (2022). **Phytochemical Profiling, Antioxidant Activity, and In Silico Analyses of *Sterculia villosa* and *Vernonia patula*.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 18 pages. https://doi.org/10.1155/2022/3190496

[5] Rafi, M., Meitary, N., Anggraini Septaningsih, D., & Bintang, M. (2020). **Phytochemical Profile And Antioxidant Activity Of *Guazuma ulmifolia* Leaves Extracts Using Different Solvent Extraction**. Indonesian Journal of Pharmacy, 31(3), 171-180. https://doi.org/10.22146/ijp.598

[6] Plabruengka, A., & Itarat, A. (1990). **The Studies of Properties of Carbohydrate Extracts from inner rinds of Jack-fruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) and Jam-pa-da (*Artocarpus champeden* Spreng.)**. Faculty of Pharmacy, Songkhla Rajabhat University. (In Thai)

[7] Janpen Kotpoohtorn (2016). **Extraction, phytochemical screening, antioxidant and antibacterial of crude extract from *oroxylum indicum*.** Master's thesis, Burapha University. (In Thai)

[8] Phuyal, N., Jha, P.K., Raturi, P.P., & Rajbhandary, S. (2020**). Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Fruit, Seed, and Bark Extracts of *Zanthoxylum armatum* DC.** The Scientific World Journal, 7 pages, Article ID 8780704, 7. https://doi.org/10.1155/2020/8780704.

[9] Kreungngern, M., Kreungngern, D. (2023). **Herbs for Treat diabetes mellitus.** Sakthong: Science and Technology Journal,Vol.10, No.2, July-December. Research and Development Institute, Kamphaeng Phet Rajabhat University. (In Thai)