

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และฟีนอลิกจากผักเชียงดา

Antioxidant of Polysaccharide and Phenolic Extracts from

Gymnema inodorum (Lour.) Decne.

กนิษฐา ช้างเสวก

อีเมล: sandyaaaa@hotmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* (Lour.) Decne.) เป็นพืชเถาชนิดหนึ่ง พบได้มากทางภาคเหนือของประเทศไทย นิยมนำมาประกอบอาหารและใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการเตรียมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และพอลิแซ็กคาไรด์จากส่วนยอดของผักเชียงดา โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 99.9) และการสกัดด้วยน้ำ (อุณหภูมิห้อง, 50, 75 องศาเซลเซียสและน้ำต้มเดือด) นำมาทดสอบปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลและอุณหภูมิมีผลต่อการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 93.79 ± 0.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสและต้มเดือด ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดโดยไม่แตกต่างกันมีนัยเท่ากับ 327.79 ± 3.78 และ 320.96 ± 8.98 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดเอทานอลร้อยละ 75 และ 50 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS (IC_{50}) สูงที่สุดเท่ากับ 15.74 ± 0.36 และ 17.39 ± 0.35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และความสามารถการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) สูงสุดเท่ากับ 63.38 ± 3.11 และ 60.33 ± 1.03 มิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากผักเชียงดา

น่าจะมีประโยชน์และคุณค่าทางเครื่องสำอางในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไปได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ผักเชียงดา, สารสกัดฟีนอลิก, สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

Gurmar or Chiang Da (*Gymnema inodorum* (Lour.) Decne.) is a vine plant found in the northern part of Thailand which are generally used as food and traditional herb. This research was aimed to study the biological activities of phenolic extracts and polysaccharides from the shoots of Chiang Da leaves. The phenolic extracts were prepared by different ethanol concentrations (25%, 50%, 75% and 99.9% v/v), while polysaccharide extracts were extracted by water under different temperatures, i.e. room temperature, 50°C, 75°C and boiling water. After that, all extracts were evaluated for total phenolic content (TPC), total polysaccharide content as well as antioxidant. The result showed that the concentration of ethanol and temperature significantly affected phenolic and polysaccharide extraction ($p < 0.05$). The 50% (v/v) ethanolic extract provided the highest TPC (93.79 ± 0.32 mg GAE/g extract), while the highest polysaccharide content was obtained by extraction at 75°C (327.79 ± 3.78 mg GE/g extract) and boiling temperature (320.96 ± 8.98 mg GE/g extract). Furthermore, the results indicated that the phenolic extract significantly possessed the higher antioxidant than polysaccharide extracts ($p < 0.05$). The 75% and 50% (v/v) ethanolic extracts showed the highest antioxidant activities assayed by ABTS method (IC_{50}) at 15.74 ± 0.36 and 17.39 ± 0.35 μ g/ml, and the highest ferric reducing antioxidant power (FRAP) at 63.38 ± 3.11 and 60.33 ± 1.03 mg TEAC/g extract, respectively. In conclusion, Chiang Da extract is interesting for being an active ingredient in antioxidant cosmetic products.

Keywords: Chiang Da, Phenolic Extract, Polysaccharide Extract, Antioxidant Activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

การใช้ประโยชน์จากสมุนไพรนั้นอยู่คู่คนไทยมาอย่างช้านานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เพราะประเทศไทยมีความได้เปรียบของลักษณะภูมิประเทศที่เป็นเขตร้อนชื้น ทำให้มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ของสมุนไพรในทุกภูมิภาคของประเทศ สมุนไพรส่วนใหญ่ปลูกง่ายโต

เร็ว นิยมปลูกไว้ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร นำมาใช้เป็นยารักษาโรคและเครื่องสำอาง พืชที่ผู้วิจัยเลือกเป็นผักพื้นบ้านที่รู้จักกันดีในท้องถิ่นทางภาคเหนือของไทย และยังไม่ปรากฏรายงานความเป็นพิษจากการรับประทาน เป็นสมุนไพรที่รักษาโรคและอาการได้หลายอย่าง มีราคาถูก ปลูกและขยายพันธุ์เชิงเศรษฐกิจได้ง่าย เพราะระยะเวลาการเก็บเกี่ยวสั้น นิยมใช้ในการผลิตอาหารเสริมและเครื่องดื่มชาขงสมุนไพรเพื่อลดน้ำตาล และใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคได้หลายชนิด เนื่องจากคุณสมบัติทางชีวภาพและเภสัชวิทยาที่มีศักยภาพ (Nanasombat et al., 2018)

ผักเชียงดา (*Gymnema inodorum*. (Lour.) Decne.) มีคุณค่าทางอาหารสูงและประกอบด้วยกรดจิมเนมิก (Gymnemic acid) และสาร triterpenoid saponin ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมและลดระดับน้ำตาลในลำไส้ (isolated intestinal tract) และมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดสูงกว่ายาแผนปัจจุบันที่ใช้รักษาเบาหวานที่มีชื่อว่า ไกลเบนคลาไมด์ โดยไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง (Shanmugasundaram et al., 1990) และยังมีสารสำคัญหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ สารประกอบฟีนอล แลโรทีนอยด์ เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี และวิตามินอี ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (ชัยชนก เมืองมั่น, นลินี จงวิริยะพันธุ์, ชญา พิศาลพงศ์, นพวรรณ ภู่มาลา มอราเลส และประไพภัทร คลังทรัพย์, 2550; ชีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน และปัทมา ไทยอยู่, 2552; ภัทราภรณ์ ศรีสมรรถการ, ปาริชาติ ณ่าน และศิริพร ทองภู, 2559; Chanwitheesuk, Teerawutgulrag & Rakariyatham, 2005; Tangkanakul, Trakoontivakorn & Jariyavattanavijit, 2005; Rachh et al., 2009)

จากการศึกษาการสกัดผักเชียงดาที่ผ่านมาพบว่า การสกัดผักเชียงดาด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณสารสกัดฟีนอลิกสูง (ชัยญาติกษณ์ เมืองแมน, 2548) ผู้วิจัยจึงสนใจนำผักเชียงดามาศึกษา โดยมุ่งเน้นการศึกษาสถานะสกัดที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการเพิ่มคุณค่าของพืชพื้นบ้านไทยให้มีมูลค่ามากขึ้น สามารถนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ และฟีนอลิกจากผักเชียงดา
2. เพื่อประเมินปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ สารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ และฟีนอลิกจากผักเชียงดา

ขอบเขตของการศึกษา

1. คัดเลือกตัวอย่างผักเชียงดาจากเชียงราย นับจากส่วนยอดลงมาจนถึงใบที่ 4 ที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 3 เดือน จากนั้นทำให้แห้งด้วยโรงอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ และบดจนเป็นผงละเอียด
2. สกัดฟีนอลิกแบบเขย่าด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 99.9 ตามลำดับ
3. สกัดพอลิแซ็กคาไรด์แบบสกัดเย็นที่อุณหภูมิห้อง, 50, 75 องศาเซลเซียส และต้มเดือด (>100 องศาเซลเซียส)
4. วิเคราะห์ปริมาณสารสกัดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

บททวนวรรณกรรม

ผักเชียงดาเป็นพืชเถาพบได้ในป่ากลุ่มประเทศ อินเดีย จีน ญี่ปุ่น มาเลเซีย ศรีลังกา เวียดนาม แอฟริกา และทางภาคเหนือของประเทศไทย มีหลากหลายทางสายพันธุ์แต่สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *Gymnema inodorum* โดยส่วนมากผักที่พบในป่าจะมีลักษณะของใบที่ใหญ่ รสชาติขม และสีใบอ่อนกว่าพันธุ์ที่นำมาปลูกเพื่อเป็นผักสวนครัว โดยนิยมนำยอดไปประกอบอาหารเพื่อรับประทานผักจะมีรสขมเผ็ดติดลิ้น รสชาติเผ็ดติดลิ้นของผักทำให้ลิ้นแทบจะไม่สามารถรับรู้รสชาติของน้ำตาลได้ ซึ่งในภาษาฮินดูเรียกว่า “Gurmar” ที่แปลว่า “ผู้ฆ่าน้ำตาล” นอกจากการปลูกเพื่อรับประทานแล้วใบและยอดอ่อนสามารถนำไปผลิตเป็นชาขงสมุนไพรมีคุณสมบัติช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Shanmugasundaram et al., 1990) ประเทศญี่ปุ่นได้ให้ความสนใจผักเชียงดาของไทยเป็นอย่างมาก และได้นำเข้าใบและยอดอ่อนของผักเชียงดาจากประเทศไทย นำไปผลิตเป็นชาขงสมุนไพรมี (Herbal tea) ใช้ชงดื่มเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดและขึ้นทะเบียนสิทธิบัตร ปัจจุบันจึงมีเกษตรกรนำผักเชียงดามาปลูกเพื่อเก็บยอดขายเป็นเชิงการค้าในหลายจังหวัดมากขึ้น เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำพูน และลำปาง

ผักเชียงดามีชื่อวิทยาศาสตร์ *Gymnema inodorum* (Lour.) Decne ชื่อท้องถิ่น เชียงดา, เจียงดา, ผักม้วนไก่, ผักเซ็ง, ผักฮ่อนไก่, ผักอีฮ่วน, เกรือจันป่า มีลักษณะเป็นไม้เถา ใบเดี่ยวสีเขียวเข้ม ผิวใบเรียบ รูปกลมรี ปลายใบแหลม ฐานใบกลม ใบเป็นคู่ตรงข้ามกัน ดอกเป็นช่อสีขาว กลีบเลี้ยงสีขาว กลีบดอกสีเหลือง จะออกผลเป็นฝักคู่ รูปกลมยาว ส่วนที่อยู่เหนือดินของต้นถ้าทำให้เป็นแผลจะมียางสีขาวคล้ายน้ำมัน (มูลนิธิโครงการหลวง, 2552)

สารประกอบสำคัญที่พบมากในผักเชียงดา ได้แก่ สารในกลุ่ม Carotenoid มี Flavonoid, Catechin และ Proanthocyanidin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ Curcumin, Furmeric, Beta-carotene, Vitamin C และ Vitamin E (จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก, 2552) นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุ และสารโภชนาการเช่น แคลเซียม, ฟอสฟอรัส, เส้นใยอาหาร, โปรตีน, ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต (สุภาพร

ปีติพร, 2553) จากผลการวิจัยการต้มสกัดที่อุณหภูมิ 70 และ 90 องศาเซลเซียสด้วยน้ำ พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าการสกัดด้วยเอทานอล และการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบแก่และใบอ่อน พบว่าเฉพาะปริมาณแคโรทีนและวิตามินซีที่มีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ใบอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าใบแก่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 205.42 และ 270.50 (mg/100ml) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด เท่ากับ 0.84 และ 0.58 (mg/100ml) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p > 0.05$) (ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน และ ปัทมา ไทยอู่, 2552) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร

ผักเชียงดาจากกล้ารายฟาร์ม อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ในเดือนตุลาคม ปี 2563 อายุเก็บเกี่ยว 3 เดือน มาคัดเลือกส่วนยอดที่ประกอบไปด้วยก้านและใบของผักเชียงดาที่มีความสมบูรณ์แล้วนำมาล้างทำความสะอาดจากนั้นนำไปอบแห้งในโรงอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์จนได้น้ำหนักที่คงที่ จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดหยาบของผักเชียงดาต่อไป ดังภาพที่ 1



(ก) ผักเชียงดาสด

(ข) ผักเชียงดาแห้ง

(ค) ผงผักเชียงดา

ภาพที่ 1 ลักษณะของใบผักเชียงดาสด และเชียงดาอบแห้ง

2. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากผักเชียงดา

สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น (DI Water) (ดัดแปลงจาก Zhang et al., 2013) ภายใต้อุณหภูมิห้อง, 50 องศาเซลเซียส, 75 องศาเซลเซียส, และต้มเดือด (>100 องศาเซลเซียส) ตามลำดับโดยใช้ผงผักเชียงดาอบแห้งบดละเอียดต่อน้ำในอัตราส่วน 1:40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (W/V) แล้วทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อ

นาที (rpm) เป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นนำสารละลายส่วนใสที่ลอยเหนือตะกอนไปตกตะกอนด้วยเอทานอล โดยใช้อัตราส่วน 1:5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (W/V) จากนั้นทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วนำตะกอนที่ได้มาอบแห้งด้วยตู้อบ

3. การสกัดฟีนอลิกจากผักเชียงดา

ทำการสกัดโดยการนำผักเชียงดาที่ผ่านการทำให้เป็นผงแห้งบดละเอียด (คัดแปลงจาก Nanasombat et al., 2018) ไปศึกษาวิธีการสกัดด้วยวิธีการเขย่าแบบต่อเนื่อง โดยการแช่ในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 99.9 (V/V) ตามลำดับ ในอัตราส่วนของผงเชียงดาแห้งบดละเอียดต่อเอทานอล เท่ากับ 1:10 แล้วนำไปเขย่าสกัดที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำไปทำระเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัด (Crude Extract) ที่ได้ไปเก็บไว้ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในภาชนะที่บิวแสง

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดผักเชียงดา

1) วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก คัดแปลงวิธีจาก DuBois et al. (1956) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารมาตรฐาน และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด

2) วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin Ciocalteu วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

3) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเชียงดาด้วยวิธี ABTS คัดแปลงจากวิธีของ Arnao, Cano and Acosta (2001) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้ง ABTS radical ได้ 50% (IC_{50})

4) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP คัดแปลงวิธีจาก Benzie and Strain (1996) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด

ผลการวิจัยและอภิปราย

1. สารสกัดจากผักเชียงดา

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างกัน 4 สภาวะ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 50 องศาเซลเซียส, 75 องศาเซลเซียส, และน้ำเดือด (>100 องศาเซลเซียส) จะได้สารสกัดที่มีผงสีน้ำตาล ซึ่งสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีสีเข้มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นในการสกัด จะได้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัด 5.95 ± 0.16 , 3.84 ± 0.23 , 3.10 ± 0.16 และ 3.51 ± 0.04 ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบการสกัดด้วยการต้มเดือด (>100 องศาเซลเซียส) จะได้สารสกัดสีน้ำตาลเข้มที่สุดในขณะที่สารสกัดที่อุณหภูมิห้องจะได้สารสกัดสีน้ำตาลอ่อนที่สุด อุณหภูมิที่ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงที่สุดคือสารสกัดที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีปริมาณร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.95 ± 0.16 มากกว่าปริมาณร้อยละผลผลิตที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การสกัดฟีนอลิกได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างกันพบว่าสารสกัดที่ได้จะปรากฏสีเข้มขึ้นตามเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่สูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hojnik et al. (2007) ที่ศึกษาการสกัดคลอโรฟิลล์จากส่วนต่าง ๆ ของ Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัด ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้น 70, 80 และ 95 พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 ขึ้นไปจะมีความสามารถในการสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์จากพืชสูง ส่งผลให้สารสกัดจากเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 มีสีเข้มกว่าการสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่น ร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 99.9 มีปริมาณร้อยละผลผลิตเท่ากับ 29.02 ± 0.76 , 29.26 ± 0.84 , 34.26 ± 0.55 และ 10.48 ± 0.38 ตามลำดับ ซึ่งตัวทำละลายที่สกัดได้ร้อยละผลผลิตมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 มีปริมาณร้อยละผลผลิต 34.26 ± 0.55

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาที่สกัดจากอุณหภูมิต่าง ๆ กัน

| สภาวะ | Total Polysaccharide Content (mg GE/g extract) | Total Phenolic Content (mg GAE/g extract) | IC ₅₀ (µg/ml) | FRAP (mg TEAC/g extract) |
|------------------------------|--|---|--------------------------|--------------------------|
| อุณหภูมิห้อง | 244.40±6.57 ^a | 42.11±0.44 ^b | 19.77±0.17 ^a | 28.60±0.17 ^b |
| 50 องศาเซลเซียส | 261.26±2.74 ^b | 36.79±0.49 ^a | 20.25±0.18 ^a | 29.61±0.18 ^b |
| 75 องศาเซลเซียส | 327.79±3.78 ^c | 42.66±0.95 ^b | 25.02±0.50 ^b | 25.22±0.50 ^a |
| ต้มเดือด (>100 องศาเซลเซียส) | 320.96±8.98 ^c | 36.60±0.43 ^a | 24.96±0.07 ^b | 23.06±0.07 ^a |

หมายเหตุ ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเชียงดา

จากการหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมพบว่า สารสกัดที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส และต้มเดือด มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 327.79±3.78 และ 320.96±8.98 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จะสังเกตได้ว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังตารางที่ 1

เมื่อทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิห้อง และ 75 องศาเซลเซียส พบปริมาณสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีค่าเท่ากับ 42.11±0.44 และ 42.66±0.95 มิลลิกรัมสมมูลของแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 1 ซึ่งสารฟีนอลิกที่ได้เป็นสารฟีนอลิกที่ติดออกมาระหว่างการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิต่างกัน สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิห้องให้ปริมาณฟีนอลิกสูงสุดสอดคล้องกับงานวิจัยศิริลักษณ์ อิ่มจงใจรัก และคณะ (2557) และยังพบว่าการต้มที่อุณหภูมิสูงขึ้นนั้น ทำให้ปริมาณฟีนอลิกรวมลดลงเช่นเดียวกัน (ณลิตา ไพบูลย์ และคณะ, 2564) ในทางกลับกันงานวิจัยของ ศศิธร ทองสาย และคณะ (2560) รายงานว่าการบ่มสารสกัดในอุณหภูมิที่เหมาะสมสามารถเพิ่มปริมาณฟีนอลิกได้

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 93.79±0.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 2

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของัญญาลักษณ์ เมืองแมน (2548) ที่พบว่าผักเชียงดาที่สกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีปริมาณฟีนอลิกต่ำสุด เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างเป็นวงแหวนเบนซีนเป็น ส่วนที่ไม่มีขั้วและมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ซึ่งเป็นส่วนที่มีขั้วที่สามารถเกิดพันธะ ไฮโดรเจนได้ติดกับตัวทำละลายที่มีขั้ว ดังนั้นการสกัดโดยการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วที่ ต่างกัน จะส่งผลทำให้ได้สารสกัดจากพืชที่มีองค์ประกอบของฟีนอลิกที่แตกต่างกัน (จินทนา ไพรบูรณ์ และอนงค์ จีรภัทร์, 2558)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ฟีนอลิกจากผักเชียงดาที่เตรียมจากความเข้มข้นเอทานอลต่างกัน

| ความเข้มข้นเอทานอล | Total Phenolic Content (mg GAE/g extract) | IC ₅₀ (µg/ml) | FRAP (mg TEAC/g extract) |
|--------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| เอทานอลร้อยละ 25 | 50.89±0.26 ^a | 20.86±0.46 ^c | 50.00±0.79 ^a |
| เอทานอลร้อยละ 50 | 93.79±0.32 ^c | 17.39±0.35 ^b | 60.33±1.03 ^c |
| เอทานอลร้อยละ 75 | 58.50±2.92 ^b | 15.74±0.36 ^a | 63.38±3.11 ^c |
| เอทานอลร้อยละ 99.9 | 51.04±0.63 ^a | 25.45±0.12 ^d | 56.23±0.90 ^b |

หมายเหตุ ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกัน ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS จากสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดย แสดงผลเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้ง ABTS radical ได้ 50% (IC₅₀) พบว่าสารสกัด พอลิ แซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาที่สกัดที่อุณหภูมิห้อง และ 50 องศาเซลเซียส มีค่า IC₅₀ น้อยที่สุด เท่ากับ 19.77±0.17 และ 20.25±0.18 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นั่นแสดงว่า สามารถยับยั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด ดังตารางที่ 1

ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มี ค่า IC₅₀ น้อยที่สุดเท่ากับ 15.74±0.36 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางที่ 2 นั่นแสดงว่าสามารถยับยั้ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ (2558) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดที่มีค่าสูงไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่สารสกัดจะมีสารสำคัญกลุ่มอื่นร่วมด้วย (บัณฑิตพรพรรณ ชูระพระ, จันทนา บุญยะรัตน์, เขียวเรศ ชูลิขิต, และสุภาวดี ดาวดี, 2559) จึงทำให้ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้น ต่างกัน

จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) พบว่าการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาที่สกัดที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 28.60 ± 0.17 และ 29.61 ± 0.18 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อกรัมสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 1

ส่วนสารสกัดฟีนอลิกจากผักเชียงดาที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และที่เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำสุด เท่ากับ 63.38 ± 3.11 และ 50.00 ± 0.79 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ ดังตารางที่ 2

สรุปได้ว่าสารสกัดผักเชียงดาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และอุณหภูมิมีผลต่อการสกัดฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 ให้ฤทธิ์ของสารสกัดดี และการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ทำให้ฤทธิ์ของสารสกัดมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยสารสกัดผักเชียงดาที่ได้สามารถนำไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการสกัดเชียงดาแบบลำดับขั้นเพิ่มเติม เพราะการแยกตัวอย่างสกัดอาจทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่บริสุทธิ์เท่าการสกัดแบบลำดับขั้น
2. ควรศึกษาการทดสอบความชุ่มชื้น เพราะผลการละลายพบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำแล้วไม่ก่อความหนืด เนื่องจากมีงานวิจัยพบ Rhamnose ใน *Gymnema sylvestre* ซึ่งเป็นเชียงดาสายพันธุ์อินเดีย เป็นน้ำตาลที่มีความสามารถในการละลายในน้ำ (Wu et al., 2012) จากผลงานวิจัยพบว่า Rhamnose มีผลต่อผิวหนังในด้านการต่อต้านริ้วรอย และความชุ่มชื้น (Pageon et al., 2019)

รายการอ้างอิง

- จันทนา ไพรบูรณ์ และอนงค์ จีระภัทร์. (2558). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในประเทศไทย: รายงานผลการวิจัย. กรุงเทพฯ: เกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัย.
- จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก. (2552). สมุนไพรบำบัดเบาหวาน 150 ชนิด (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: เซเว่น พรินติ้ง กรุ๊ป.

- ณิตดา ไพบูลย์, มาลินี ธานี, บัณฑิต พรหมรักษา, วัชรินทร์ ลอยลม, ... ชมพูนุท วังบุญ. (2564). การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของเห็ดเชื้อไม้สายพันธุ์ไทย เห็ดหอมและเห็ดฟางและการสูญเสียฟีนอลิกรวมเมื่อผ่านกระบวนการต้ม. *วารสารหมอยาไทยวิจัย*, 7(1), 85-101.
- ชัยชนก เมืองมั่น, นลินี จงวิริยะพันธุ์, ชญา พิศาลพงศ์, นพวรรณ ภู่มาลา มอราเลส และประไพภัทร คลังทรัพย์. (2550) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักเชียงดา. *วารสารโภชนาการ*, 42(3):19-28.
- ชัยญาลักษณ์ เมืองแมน. (2548). *การศึกษาต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักเชียงดาต่อการป้องกันต่อการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงมนุษย์ชนิด TK6*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล, นครปฐม.
- ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน และปัทมา ไทยอู่. (2552). ผลของชนิดผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* Decne.) และอุณหภูมิการอบแห้งต่อคุณภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ. ใน *รายงานการประชุมวิชาการประจำปีอุทยาน วิทยาศาสตร์ภาคเหนือครั้งที่ 1* (หน้า 138).
- ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน, พิทักษ์ พุทธรชัช, นภา จันสุภา, ปริชญาวดี ศรีตันทิพย์, ... พยุงศักดิ์ มะโนชัย. (2554). *การพัฒนาคุณภาพผักเชียงดาเพื่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม: รายงานการวิจัย*. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.
- บัณฑิตวรรณ ธุระพระ, จันทนา บุญยะรัตน์, เขาวเรศ ชูลิจิต, และสุภาวดี ดาวดี. (2559). การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 11(ฉบับพิเศษ), 80-91.
- ภัทรภรณ์ ศรีสมรรถการ, ปาริชาติ ณ น่าน และศิริพร ทองภู. (2559). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซลล์กัมมี่ที่มีคุณภาพดีและมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงจากผักเชียงดา. *วารสารพืชศาสตร์สงขลา นครินทร์*, 3(ฉบับพิเศษ (III): M11), 39-47.
- มูลนิธิโครงการหลวง. (2552) *องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของประเทศไทย* (เล่ม 2). เชียงใหม่: มูลนิธิโครงการหลวง.
- ลลิตา วีระเสถียร. (2552). *ฤทธิ์ต้านเชื้อ Helicobacter pylori ของพืชที่ใช้เป็นอาหารท้องถิ่น*. รายงานการวิจัย. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ศศิธร ทองสาย, สุพัฒตรา บุญยศ, พชร พาหะมาก, จิสราพร จันท์จริต, ... กรุณรัตน์ สกุลนามรัตน์. (2560). *ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติเคมีของกระเทียมดำศรีสะเกษ*. ในการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ นวัตกรรมและเทคโนโลยีวิชาการ 2017 คณะเกษตรศาสตร์

- และเทคโนโลยี (หน้า 426-434). สุรินทร์: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์.
- ศิริลักษณ์ อิ่มจงใจรัก, จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ, ภัทรา ผาสอน, รัตติยา แวนนุกูล, . . . กนก รัตน์ะกนกชัย. (2557). สารสกัดเซลล์โพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายสีเขียว (Gracilaria Fisheri) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- สุชาดา มานอก และปวีณา ถิมเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับหอมเทพจิตร. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์*, 15(1), 106-117.
- สุภาพร ปิติพร. (2553). 3 สมุนไพรพิชิตโรคเบาหวาน. *หมอชาวบ้าน*, 32(379), 10-18.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2), 239–244.
- Benzie, I. F. F, & Strain, J. J. (1996). The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Benzie, I. F. F, & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15-27.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*, 92(3), 491-497.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Hojnik, M., Skerget, M., & Knez, Z. (2007). Isolation of chlorophylls from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Separation and Purification Technology*, 57, 37-46.
- Nanasombat, S., Yansodthee, K., & Jongjaited, I. (2018). Evaluation of antidiabetic, antioxidant and other phytochemical properties of Thai fruits, vegetables and some local food plants. *Walailak Journal Science and Technology*, 16(11), 851- 866.

- Pageon, H., Azouaoui, A., Zucchi, H., Ricois, S., & Tran, C. (2019). Potentially beneficial effects of rhamnose on skin aging: an in vitro and in vivo study. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(3), 213-220.
- Rachh, P. R., Patel, S. R., Hirpara, H. V., Rupareliya, M. T., . . . Modi, D. C. (2009). In vitro evaluation of antioxidant activity of *Gymnema sylvestre* R. Br. leaf extract. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology*, 54(2), 141-148.
- Shanmugasundaram, E. R., Rajeswari, G., Baskaran, K., Rajesh Kumar, B. R., . . . Kizar Ahmath, B. (1990). Use of *Gymnema sylvestre* leaf extract in the control of blood glucose in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol*, 30(3), 281-294.
- Tangkanakul, P., Trakontivakorn, G., & Jariyavattanavijit, C. (2005). Extracts of Thai indigenous vegetable as rancid inhibitor in a model system. *Kasetsart Journal (Natural Sciences)*, 39(2), 274-283.
- Wu, X., Mao, G., Fan, Q., Zhao, T., . . . Yang, L. (2012). Isolation, purification, immunological and anti-tumor activities of polysaccharides from *Gymnema sylvestre*. *Food Research International*, 48(2), 935
- Zhang, Z. F., Lv, G. Y., He, W. Q., Shi, L. E., . . . Fan, L. F., (2013). Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1524-1531.

