P-ISSN 0858-4435
E-ISSN 2651-1231
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 30 ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน 2565) หน้า [90-99]

การศึกษาสภาวะการสกัดสารที่เหมาะสม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบและดอกรวงผึ้ง

Study of Optimal Extraction Conditions and Antioxidant Activity of *Schoutenia glomerata King subsp. peregrina* (Craib) Roekm Leaves and Flowers

มยุรา ศรีกัลยานุกูล[1,*], ปานวาด ศิลปวัฒนา[2]
[1]*สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290*
[2]*สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290*
Mayura Srikanlayanukul[1,*], Panwad Silapawattana[2]
[1]*Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290*
[2]*Program in Environmental Technology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290*
Received 21 February 2022; Received in revised 19 April 2022; Accepted 26 May 2022

บทคัดย่อ

ต้นรวงผึ้งจัดอยู่ในวงศ์ Malvaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Schoutenia glomerata* King subsp. peregrine (Craib) Roekm มีชื่อสามัญว่า Yellow star ซึ่งการศึกษาเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยังมีข้อมูลน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเรื่องของสารต้านอนุมูลอิสระในส่วนของใบและดอกรวงผึ้ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าต่อไป โดยทำการรวบรวมใบและดอกของต้นรวงผึ้ง ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอล และเมทานอล ที่อัตราส่วน 1: 20 ทำการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า การใช้เอทานอลในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบและดอกรวงผึ้งมีความเหมาะสมที่สุด ในส่วนของใบและดอกรวงผึ้งให้ให้ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็น (IC_{50}) ที่ 0.53±0.03 และ 0.71±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัม มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ โดยมีค่า TEAC เป็น 1.48±0.86 และ 0.93±0.73 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างในใบและดอกรวงผึ้งตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารของใบและดอกรวงผึ้ง พบว่า ใบและดอกของรวงผึ้งมีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งเท่ากับ 0.34±0.01 และ 0.37±0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ให้ค่า TEAC สูงสุด คือ 1.86±4.26 และ 1.64±4.15

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** mayura@mju.ac.th

มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 4 เปอร์เซ็น (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นเวลา 90 นาที

คำสำคัญ: รวงผึ้ง; สภาวะการสกัดสกัดสาร; สารต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Schoutenia glomerata King subsp. paregrina (Craib) Roekm, commonly known as the yellow star, is a medium perennial plant of the family Malvaceae. Due to the restricted report of bioactive compounds, the present work aims to study the antioxidant activity of leaves and flowers from this species. The data obtained can be further used for value product development. Leaves and flowers of the yellow star were firstly collected and then extracted with three different solvents, including distilled water, methanol, and ethanol, using the ratio of 1:20 for 1 h at 30 ± 2°C. After that, the extracts were determined for the antioxidant activity via ABTS and DPPH methods. The results illustrated that ethanol was the most suitable solvent for extracting the bioactive compound from the leaves and flowers of the yellow star. Antioxidant activity of leaf and flower extracts exhibited an antioxidant potential (IC_{50} = 0.53±0.03 and 0.71±0.01 mg/g). The antioxidant capacity of leaf and flower extracts determined by the ABTS method was equal to 1.48±0.86 and 0.93±0.73 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), respectively. Afterward, the concentration of ethanol and extraction period were studied. The IC_{50} of DPPH scavenging activity of leaf and flower extracted by 4% ethanol (v/v) for 90 min was 0.34±0.01 and 0.37±0.03 mg/mL, respectively, whereas the maximum $ABTS^{\bullet+}$ scavenging capacity was found to be 1.86±4.26 and 1.64±4.15 TEAC, respectively.

Keywords: Yellow star; Extraction conditions; Antioxidant

1. บทนำ

ต้นรวงผึ้งมีชื่อสามัญว่า Yellow star และชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Schoutenia glomerata* King subsp. *peregrina* (Craib) Roekm มีความสำคัญคือเป็นต้นไม้ประจำพระองค์พระบาทสมเด็จพระปรเมนทรรามาธิบดีศรีสินทรมหาวชิราลงกรณ พระวชิรเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 10 พบเวณป่าดิบเขาที่ระดับความสูง 1,000 เมตร ทางภาคเหนือเรียก ดอกน้ำผึ้ง หรือรวงผึ้ง ภาคกลางเรียกสายน้ำผึ้ง ต้นรวงผึ้งเป็นพืชในวงศ์ Malvaceae เป็นไม้หอมมีดอกสีเหลืองสด [1] จากการศึกษาพบว่ามีพืชในวงศ์เดียวกันกับต้นรวงผึ้งได้แก่ กระเจี๊ยบแดง *(Hibiscus sabdariffa)* และชบา *(Hibiscus rosa-sinensis)* ซึ่งพืชสองชนิดนี้มีรายงานว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่สูง พบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ในกระเจี๊ยบ 21.21 ไมโครโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง [2] และพบสารต้านอนุมูลอิสระในชบา 0.21 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง เมื่อวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay [3] ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ต้นจะพบสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ในต้นรวงผึ้ง และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าต่อไปได้ ประกอบกับข้อมูลทางวิชาการของต้นรวงผึ้งยังมี

การศึกษาอยู่น้อยมาก โดยเฉพาะในเรื่องสารสำคัญจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง ซึ่งเป็นส่วนของพืชที่ผู้ปลูกสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย

ในปัจจุบันสังคมการบริโภคของคนไทยนิยมอาหารที่เร่งด่วนซึ่งอุดมไปด้วยน้ำตาลและไขมัน ประกอบกับมีความเครียดที่เกิดจากการเรียน การทำงาน หรือปัญหาสังคมอื่นๆ มากขึ้น จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นมากในร่างกาย ดังนั้นการหันมาดูแลสุขภาพจึงกำลังเป็นที่นิยมของคนยุคใหม่ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่น่าสนใจ เนื่องจากมีประโยชน์หลายอย่างต่อร่างกาย เช่น ช่วยลดอัตราการเสี่ยงต่อโรคต่างๆ ส่งผลทำให้อาหารสุขภาพมีความต้องการมากขึ้น ขณะที่ชนิดและปริมาณของอาหารสุขภาพนี้ยังไม่หลากหลายเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค

Oliverira และคณะ ได้ศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดปริมาณฟินอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay ของพืช 4 ชนิดในวงศ์ Malvaceae ได้แก่ *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell, *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl, *Sida rhombifolia* (L.) E.H.L และ *Herissantia crispa* L. (Brizicky) พบว่าสารสกัดของพืช *W. periplocifolia* โดยใช้เอธิลอะซิเตท ให้ปริมาณฟินอลิกสูงสุดคือ 260.46 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม และ ยังพบว่าการสกัดพืช S. rhombifolia ที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตท มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ดีที่สุดสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 70.50±1.62 และ 20.58±0.27 ตามลำดับ [4] Santos และคณะ ได้ศึกษาพบว่าต้นฝ้าย (*Gossypium hirsutum* L.) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Malvaceae มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยได้นำส่วนใบมาสกัดด้วยเอทานอล และเฮกเซน และวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดจากเอทานอล และเฮกเซน มีค่า EC_{50} เท่ากับ 70.97±.1.53 และ 213.38±.2.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ [5] Azadeh และคณะ ศึกษาปริมาณสารฟินอลิก ของไม้ดอกฮอลลี่ฮ็อค (*Alcae* spp.) 3 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกันกับต้นรวงผึ้งพบฟินอลิก อยู่ในช่วง 26.83 ถึง 82.59 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของ. สารตัวอย่างแห้ง (mg GAE/g DW) และวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH assay พบว่า *A. aucheri var. aucheri* มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 32.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [6]

ชมัยพร และคณะ ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกผล ใบ และกิ่งของส้มซ่า โดย นำมาสกัดโดยใช้น้ำร้อนเปรียบเทียบกับเอทานอลความเข้มข้น 40, 70 และ 95 เปอร์เซ็น (โดยปริมาตร) พบว่าการสกัดสารจากเปลือก ผล และใบของส้มซ่าโดยใช้น้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนมูลอิสระดีที่สุด [7] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง รวมทั้งประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ ABTS radical cation decolorization assay

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างของใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

ทำการรวบรวมใบและดอกของต้นรวงผึ้ง ในจังหวัดเชียงใหม่ ช่วงเดือนมีนาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2564 นำดอกและใบของต้นรวงผึ้งมาทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร (18 เมช) ใส่ภาชนะที่ปิดสนิท ทำการเก็บในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การเตรียมตัวทำละลาย

ทำการเตรียมตัวทำละลาย ได้แก่ เอทานอล และเมทานอล ให้มีความเข้มข้น 2% (ปริมาตร/ปริมาตร) เพื่อนำมาเป็นตัวทำละลายในการสกัด

2.3 การศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

นำดอกและใบของต้นรวงผึ้งที่ผ่านการบดให้ละเอียดแล้วมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล และเมทานอล โดยใช้ตัวอย่างของต้นรวงผึ้ง 5 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ทำการสกัด บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คัดเลือกตัวทำละลายที่ให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมาใช้ในการทดลองต่อไป

2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ดัดแปลงตามวิธีการของ Hatano และคณะ [8]

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล ทำการเจือจางให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในช่วง 0.700-0.900 นำสารที่สกัดได้มาเจือจางแบบทวีคูณปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติม DPPH ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันลงในหลอดทดลอง และบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-crboxylic acid) จากนั้นคำนวณค่า %inhibition จากสมการเพื่อหาค่า IC_{50} ซึ่งค่า IC_{50} คือค่าความเข้มข้นที่สารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50 เปอร์เซ็น

$$\%inhibition = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

เมื่อ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

2.4.2 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ดัดแปลงตามวิธีการของ Cao และคณะ [9]

เตรียมสารละลาย ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย $K_2S_2O_8$ (potassium persulfate) ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ผสมสารละลาย ABTS ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับสารละลาย $K_2S_2O_8$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในที่มืดและเย็น เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นทำการเจือจาง $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยเอทานอล 95% และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวลื่น 734 นาโนเมตร ให้มีค่าในช่วง 0.700-0.900 ผสมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 990 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 1 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ $ABTS^{\bullet+}$ โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ แสดงค่าในรูปของมิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (trolox equivalent capacity (TEAC))

2.5 การศึกษาหาความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

ทำการศึกษาใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 2.3 ที่ความเข้มข้นระดับ 2, 4, 6, 8 และ 10% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3 และ 2.4 คัดเลือกความเข้มข้นของตัว

ทำละลายที่ให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมาใช้ในการทดลองต่อไป

2.6 การศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

ทำการศึกษาใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 2.3 และความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 2.5 ทำการศึกษาโดยใช้เวลาในการสกัด 30-120 นาที และทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3 และ 2.4

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

ทำการรวบรวมใบและดอกรวงผึ้งเป็นส่วนที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย หลังจากผ่านการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่ามีความชื้น เท่ากับ 43.56 ± 0.60 และ 71.87 ± 0.47 ตามลำดับ เมื่อทำการสกัดใบและดอกของต้นรวงผึ้งด้วยน้ำกลั่น เอทานอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็น และเมทานอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็น โดยใช้ตัวอย่าง 5 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ทำการสกัดบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที นำสารสกัดที่ได้มากรอง จากนั้นทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay (Table 1)

Table 1 Antioxidant activity of Schoutenia glomerata King subsp. peregrina (Craib) Roekm by DPPH and ABTS assay with various solvents extraction.

Solvents	IC_{50} (mg/mL)		TEAC (mmol Trolox equivalent/g)	
	Leaves	Flowers	Leaves	Flowers
Distilled water	0.55±0.03	0.85±0.11	1.41±1.46	0.79±2.98
2% Ethanol	0.53**±0.03	0.71**±0.01	1.48*±0.86	0.93*±0.73
2% Methanol	ND	0.22**±0.03	1.50*±0.15	0.69±1.21
Trolox	0.029±0.86		-	-

The values are mean ± standard deviation (n=3); * indicates significance at $P < 0.05$; ** indicates significance at $P < 0.01$ using T-test.

เมื่อทดสอบความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าใบรวงผึ้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมี IC_{50} เท่ากับ 0.55±0.03 และ 0.53±0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่ากระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:10 ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.37±3.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [10] ซึ่งจำเป็นที่จะต้องศึกษาหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมต่อไป ส่วนการสกัดสารจากใบรวงผึ้งด้วยเมทานอล เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ไม่สามารถวัดค่าได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากความมีขั้วของสารออกฤทธิ์ที่มีความจำเพาะต่อตัวทำละลาย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากสามารถสกัดสารออกฤทธิ์จากใบได้ในปริมาณน้อย จนไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ได้ ส่วนสารสกัดจากดอกรวงผึ้งที่สกัดด้วยเมทานอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือดอกรวงผึ้งที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำกลั่น โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.22±0.03, 0.71±0.01 และ 0.85±0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งให้ผลในการต้านอนุมูลใกล้เคียงกับดอกชบาซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับต้นรวงผึ้ง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมต่อกรัม [11]

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ แสดงค่าเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ พบว่าใบรวงผึ้งที่สกัดด้วยเมทานอลและเอทาอลให้ค่า TEAC เท่ากับ 1.50±0.15 และ 1.48±0.86 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ สูงกว่าการสกัดใบรวงผึ้งด้วยน้ำกลั่น จากงานวิจัยของ Dumrongphuttidecha และคณะ (2019) ได้การสกัดสารจากใบชบาด้วยเมทานอล เอาทานอล และน้ำกลั่น จากนั้นวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay พบว่าสารสกัดจากใบชบาสามารถยับยั้งอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้ 54.98±0.00, 62.88±0.01 และ 53.67±0.00 เปอร์เซ็น ตามลำดับ [12] พบว่าการสกัดสารจากใบชบาด้วยเอทานอลให้เปอร์เซ็นในการยับยั้งสูงที่สุด ส่วนการสกัดดอกรวงผึ้งด้วยเอทานอลสามารถกำจัดอนมูล $ABTS^{\bullet+}$ สูงที่สุด โดยให้ค่า TEAC เท่ากับ 0.93±0.73 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง

จากผลการทดลองพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดใบและดอกของต้นรวงผึ้ง ถึงแม้ว่าจะให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าการสกัดด้วยเมทานอล ซึ่งสารสกัดจากเมทานอลจะไม่เหมาะต่อการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารหรือเครื่องดื่ม สำหรับใบและดอกของต้นรวงผึ้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเอทานอล ดังนั้นจึงเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

เมื่อทำการสกัดสารออกฤทธิ์จากใบและดอกของต้นรวงผึ้งโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นที่ระดับ 2, 4, 6, 8 และ10 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) ทำการสกัดที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay (Table 2)

Table 2 Antioxidant activity of Schoutenia glomerata King subsp. peregrina (Craib) Roekm by DPPH and ABTS assay with ethanol extraction at various concentrations.

Ethanol (%)	IC_{50} (mg/mL)		TEAC (mmol Trolox equivalent/g)	
	Leaves	Flowers	Leaves	Flowers
2	0.55±0.03	0.59*±0.05	0.76**±2.98	0.97*±1.66
4	0.45*±0.03	0.44**±0.06	1.7**±0.37	1.00*±2.89
6	0.71**±0.03	0.54*±0.13	0.97**±4.27	1.08*±4.79
8	0.61±0.10	0.69±0.04	0.93**±4.24	0.92*±4.94
10	0.56±0.02	0.59*±0.03	1.26*±1.79	1.00*±3.52
Trolox	0.029±0.86		-	-

The values are mean ± standaed deviation (n=3); * indicates significance at $P < 0.05$; ** indicates significance at $P < 0.01$ using T-test.

จากผลการทดลองพบว่าการสกัดใบและดอกของรวงผึ้งด้วยเอทานอลความเข้มข้น 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) พลความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า มีค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งเท่ากับ 0.45 และ 0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ โดยให้ค่า TEAC ของสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งสูงที่สุดเท่ากับ 1.7±0.37 และ 1.00±2.89 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ ดังนั้นเอทานอลความเข้มข้น 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของรวงผึ้ง

3.3 ผลการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากใบและดอกของต้นรวงผึ้ง

เมื่อทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบและดอกของต้นรวงผึ้งโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นที่ระดับ 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ทำการสกัดที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยใช้เวลา 30-120 นาที ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay (Table 3)

Table 3 Antioxidant activity of Schoutenia glomerata King subsp. peregrina (Craib) Roekm by DPPH and ABTS assay with ethanol extraction at various time.

Time (minutes)	IC_{50} (mg/mL)		TEAC (mmol Trolox equivalent/g)	
	Leaves	Flowers	Leaves	Flowers
30	0.52±0.02	0.47**±0.02	1.13*±5.34	1.15**±3.35
90	0.34**±0.01	0.37**±0.03	1.86**±4.26	1.64±4.15
120	0.54±0.001	0.43**±0.005	1.08**±1.43	1.17±5.33
Trolox	0.029±0.86		-	-

The values are mean ± standard deviation (n=3); * indicates significance at $P < 0.05$; ** indicates significance at $P < 0.01$ using T-test.

จากผลการทดลองพบว่าการสกัดใบและดอกของรวงผึ้งด้วยเอทานอลความเข้มข้น 4 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) เมื่อสกัดเป็นเวลา 90 นาที พบว่าความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า มีค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งเท่ากับ 0.34±0.01 และ 0.37±0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ : ซึ่งเมื่อเทียบกับกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน พบว่าสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เป็น 67.78±0.73 และ71.66±3.82 เปอร์เซ็น ขณะที่กระเจี๊ยบแดงมีค่าการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 74.58 ถึง 89 เปอร์เซ็น [13] และ [14] ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ โดยให้ค่า TEAC ของสารสกัดจากใบและดอกของรวงผึ้งสูงที่สุดเท่ากับ 1.86±4.26 และ 1.64±4.15 มิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วน ดังนั้นเอทานอลความเข้มข้น 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นเวลา 90 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารของใบและดอกของรวงผึ้ง

4. สรุป

จากการศึกษาคุณสมบัติในการการต้านอนุมูลอิสระของรวงผึ้ง พบว่าการสกัดใบและดอกของรวงผึ้งด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 90 นาที ใบและดอกของรวงผึ้งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH และ $ABTS^{\bullet+}$ ได้ดีที่สุด จากการศึกษานี้สามารถนำวิธีการสกัดใบและดอกของรวงผึ้งไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพที่มีสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2563 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้น ขอขอบพระคุณผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในการสนับสนุนการวิจัยจนทำให้การดำเนินงานประสบผลตามที่ตั้งไว้

6. References

[1] Athawongsa, K., Yellow star plant of the King Rama 10, Available Source: https://

pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/377, April 8, 2022. (in Thai)

[2] Halee, A. and Rattanapun, B., 2017, Study of antioxidant efficacies of 15 local herbs, KMUTT R&D Journal. 40(2): 283-293. (in Thai)

[3] Huabbanhyang, O., Buanong, M., Wongs-Aree, C., Techavutthiporn, C. and Srilaong, V., 2010, Study of nutritional and free radical scavenging activity in edible flowers, Agricultural Sci. J. 41(3/1) (Suppl.): 381-384. (in Thai)

[4] Oliverira, A. M. F.D. Lilian, S. P. Charlane, K. S. P. Wemerson, N. M. Roosevelt, A. G. Otemberg, S. C. Maria, D. F. V. D. S. Reinal do, N. D. A. and Temilce, S. D. A., 2012, Total phenolic content and antioxidant activity of some malvaceae family species, Antioxidants. 1(1):33-43.

[5] Santos, B.C.S., Silva, J.J.M., Gasparetto, C.M., Chibli, L.A., Rodrigues, K.C.M., Del-Vechio-Vieira, G., Alves, M.S. and Sousa, O.V., 2014, Antioxidant potential of *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae) using DPPH, ferric reducing antioxidant power, β-carotene bleaching and bioautography assay, Planta Med. 80(16): 1403-1403.

[6] Azadeh, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z., Kiani, M. and Maggi, F., 2020, Organ-oriented phytochemical profiling and radical scavengingactivity of *Alcea* spp. (Malvaceae) from Iran, SN Appl. Sci., https://doi.org/10.1007/s42452-020-2410-3.

[7] Rodglin, C., Srisook, A. and Srisoon, K., 2017, Effects of extraction conditions on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activities of different parts of *Citrus aurantium* L., BUSCIJ. 22(1): 211-225. (in Thai)

[8] Hatano, T., Kasawa, H., Yashuhara, T. and Okuta, T., 1988, Two new flavonoids and other constituents in licorice roots: their relative astringency and radical scavenging effects, Chem. Pharm. Bull. 36: 295-299.

[9] Cao, G., Alessio, H.M. and Cutler, R.G., 1993, Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidant, Free Radic. Biol. Med. 14: 303-311.

[10] Saenprakob, P. and Sangmanee, K., 2019, Application of roselle extract in blush cream, Walailak Procedia. 2019(3): 1-5. (in Thai)

[11] Pulgarín, J.A.M., Bermejo, L.F.G. and Durán, A.C., 2017, Determination of antioxidant activity of *Hibiscus* flowers by flow injection analysis with chemiluminescence detection, Anal. Lett. 50, https://doi.org/10.1080/000332719.2016.1167216.

[12] Dumrongphuttidecha, T., Thungmungmee, S., Khobjai, W., Wisidsri, N. and Techaeoi, S., Antioxidant and free radical scavenging activity of Hibicus acetosella leaves extracts, Int. J. Appl. Pharm. 11(special Issue 5): 86-89.

[13] Pozos, G.I.P., Ruiz-Lopez, M.A., Nátera, J.F.Z., Moya, C.A., Ramírez, L.B., Silva, M.R., Macías, R.R., García-López, P.M., Cruz, R.G., Pérez, E.S. and Radillo J.V., 2020, Antioxidant capacity and antigeno-

toxic effect of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts obtained with ultrasound-assisted extraction process, Appl. Sci., doi: 10.3390/app10020560.

[14] Banwo, K., Sanni, A., Sarkar, D., Ale, O. and Shetty, K., 2022, Phenolics-linked antioxidant and anti-hyperglycemic properties of edible roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) calyces targeting type 2 diabetes nutraceutical benefits *in vitro*, Front. Sustain. Food Syst., doi:10.3389/fsufs.2022.660831.