การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากลำต้นเทียมและดอกดาหลา (*Etlingera sp.*) โดยใช้เทคนิคทีแอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC)

Screening Flavonoids content in crude extracts from pseudo-stem and inflorescences of Dalah (*Etlingera sp.*) By used HPTLC

พรพยุง คงสุวรรณ[1] ณัฐพร ฉันทศักดา[2] สุภาภรณ์ สาชาติ[3] และ นนทกร จันทร์แสง[4]

[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา กรมวิชาการเกษตร ยะลา 95150 [2] กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ 10900

[3] สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ 10900 [4] ข้าราชการบำนาญ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ 10900

บทคัดย่อ

การตรวจหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากลำต้นเทียมและดอกของดาหลา 8 สายพันธุ์ ได้แก่ ดาหลาพันธุ์ กวก. ตรัง 1, 2, 3, 4 และ 5 (*Etlinera elatior*), ดาหลาดำ และดาหลาไฟ (*E. fulgens*), ดาหลาขี้แมว (*E. maingayi*) พบว่า ฟลาโวนอยด์รวมของดาหลามีความแตกต่างกันตามชนิด (species) และพันธุ์ ส่วนของดอกทุกพันธุ์มีฟลาโวนอยด์รวมมากกว่าลำต้นเทียมยกเว้น กวก. ตรัง 1 โดยฟลาโวนอยด์รวมของดาหลาแต่ละชนิดเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ *E. Elatior*, *E. fulgens* และ *E. maingayi* ซึ่งสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นเทียมของดาหลาสามชนิดดังกล่าวมีปริมาณ 2.69-3.68, 2.54-3.29 และ 1.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนของดอกมีปริมาณ 1.70-2.17, 1.65-1.73 และ 1.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดาหลาพันธุ์ กวก. ตรัง 1 มีฟลาโวนอยด์รวมจากส่วนของลำต้นสูงที่สุดและมากกว่าพันธุ์อื่นๆอย่างเด่นชัด แต่พบในส่วนของดอกปานกลาง และมีสกัดสารหยาบจากส่วนของลำต้นและดอกได้ 3.19 และ 1.97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในระดับสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อื่นๆ ดังนั้น จึงมีความเหมาะสมในการนำมาสกัดสารฟลาโวนอยด์

บทนำ

*ดาหลา หรือ Etlingera sp.*เป็นพืชในวงศ์ ZINGIBERACEAE มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศไทย อินโดนีเซีย พม่า และมาเลเซีย เป็นต้น เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นหรือเหง้าอยู่ใต้ดิน ลำต้นเหนือดินเป็นกาบใบที่โอบซ้อนกันแน่น เรียกว่า ลำต้นเทียม สำหรับประเทศไทยดาหลาเป็นพืชพื้นเมืองของภาคใต้ การใช้ประโยชน์ดาหลานอกจากการรับประทานเป็นผัก หรือไม้ตัดดอก ยังใช้ดอกดาหลาเพื่อสกัดน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพย์ สารสำคัญของดาหลาคือสารประกอบ Phenolic ในกลุ่ม Flavonoid และสารต้านอนุมูลอิสระ (Chan *et al.,* 2013) สารในกลุ่ม flavonoid ประกอบด้วย flavonol flavonone flavone isoflavone catechin และ anthocyanin จากรายงานของ Harborne and Williams (2000) ฟลาโวนอยด์มีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคหลายชนิด เช่น มะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ ลดการอักเสบ ต่อต้านจุลชีพ และมีความต่อต้านการแพ้ เป็นต้น วิธีในการวิเคราะห์หาสารฟลาโวนอยมีหลายวิธี ได้แก่ HPLC, UV Spectrophotometer หรือ HPTLC ทั้งในเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ และด้วยข้อดีของการใช้ HPTLC ที่เป็นวิธีที่รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายน้อย ใช้ปริมาณตัวอย่างเพียงเล็กน้อย และมีความแม่นยำสูง (Patel *et al.,* 2015) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิค HPTLC ในการตรวจหาสารฟลาโวนอยด์ในลำต้นเทียม และดอกดาหลา เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

Fig. 1 The picture of 3 type of dalah inflorescences included 8 cultivars

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดาหลา 3 ชนิด ได้แก่ (1) ดาหลาทั่วไป *(Etlingera elatior)* คือ สายพันธุ์ตรัง 1-5 (2) ดาหลาหอม (*Etlingera fulgens*) คือ สายพันธุ์ดาหลาดำ และสายพันธุ์ดาหลาไฟ (3) ดาหลาขี้แมว *(Etlingera manigay)* คือ สายพันธุ์ดาหลาขี้แมว รวม 8 สายพันธุ์ (Fig.1) โดยเก็บตัวอย่างดาหลาที่อายุหลังปลูก 8 เดือน จากศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา ใช้ส่วนลำต้นพร้อมใบ และดอกที่มีลักษณะดอกจริงบานไม่เกิน 10 ดอก ตัวอย่างละ 3 กิโลกรัม

2. การสกัดสารสกัดหยาบ

ล้างทำความสะอาดลำต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา สับให้ละเอียด จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 150 กรัม เติมเอทานอล 95% ปริมาตร 1.5 ลิตร สกัดสารสำคัญด้วยการ sonicate เป็นเวลา 40 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยเครื่องลดปริมาตรสารแบบสูญญากาศ (rotary evaporator)

3. การวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วย HPTLC

นำสารสกัดที่ได้จากลำต้นเทียม และดอก หยอดลงในแผ่น TLC (ชนิด HPTLC plate silica gel 60 F254 ขนาด 20x10 เซนติเมตร) โดยใช้เครื่อง Linomat 5 จากนั้นจะนำแผ่น TLC ใส่ลงใน Automatic developing chamber 2 (ADC2) และนำไปแสกนด้วยเครื่อง TLC scanner 4 และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง TLC Visualizer

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สารสกัดหยาบดาหลา ลำต้นเทียม และดอกของดาหลา 8 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดของลำต้นเทียมทุกสายพันธุ์มีสีน้ำตาลเข้ม ยกเว้นของสายพันธุ์ดาหลาขี้แมวมีสารสกัดเป็นสีน้ำตาลดำ ในส่วนของดอก พบว่า สายพันธุ์ที่มีดอกสีขาวและสีแดงสีของสารสกัดเป็นสีน้ำตาลเหลือง ได้แก่ สายพันธุ์ตรัง 1 (สีขาว) สายพันธุ์ตรัง 3 สายพันธุ์ตรัง 5 (สีแดงเข้ม) และสายพันธุ์ดาหลาไฟ (สีแดง) ขณะที่สายพันธุ์ที่มีดอกสีชมพู (สายพันธุ์ตรัง 2 และ 4) และสายพันธุ์ดาหลาขี้แมว ให้สีของสารสกัดเป็นสีน้ำตาลเข้ม ปริมาณสารสกัดหยาบคิดเป็นเปอร์เซ็นต่อน้ำหนัก พบว่า สารสกัดหยาบของลำต้นเทียมมีค่าเท่ากับ 1.63-3.68% ขณะที่สารสกัดหยาบของดอกอยู่ที่ 1.14-2.12% (Table 1)

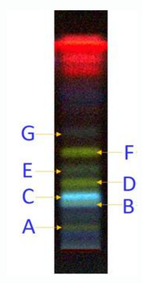
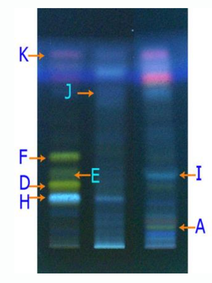
2. ศึกษาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากต้นพร้อมใบ และดอกดาหลา ด้วยเครื่อง HPTLC

สารสกัดหยาบจากลำต้นเทียม พบฟลาโวนอยด์ 7 ชนิด เป็นฟลาโวนอยด์ที่ระบุชนิดไม่ได้ ผู้วิจัยจึงกำหนดให้เป็นฟลาโวนอยด์ชนิด A, B, C, D, E, F และ G โดยมีค่า R_f ดังนี้ 0.12, 0.22, 0.27, 0.31, 0.36, 0.43 และ 0.50 ตามลำดับ (Table 2) สอดคล้องกับงานของ Chan และคณะ (2009) ที่พบว่าใบดาหลาชนิด *E. elatior* มีสารประกอบฟลาโวนอยด์ 7 ชนิด ได้แก่ kaempferol 3-glucuronide, quercetin 3- glucuronide, quercetin 3-glucoside, isoquercitrin, quercitrin,

Table 1 Color and Yield of crude extract from pseudo-stem and inflorescences of 8 dalah cultivars

Cultivars	Crude extract of Pseudo-Stem		Crude extract of Inflorescences	
	Color	Yield (%)	Color	Yield (%)
Trang 1	Dark Brown	3.19	Yellow Brown	1.97
Trang 2	Dark Brown	2.80	Dark Brown	2.17
Trang 3	Dark Brown	2.69	Yellow Brown	2.11
Trang 4	Dark Brown	2.85	Dark Brown	2.12
Trang 5	Dark Brown	3.68	Yellow Brown	1.70
Dalah Dum	Dark Brown	3.29	Red Brown	1.73
Dalah Fire	Dark Brown	2.54	Yellow Brown	1.65
Dalah Kheemeaw	Black Brown	1.63	Dark Brown	1.14

Table 2 R_f value and R_f position of flavonoid on HPTLC fingerprint from crude extract of dalah pseudo stem and Inflorescences

Pseudo Stem			Inflorescences		
Flavonoids	R_f	HPTLC fingerprint	Flavonoids	R_f	HPTLC fingerprint
Flavonoid A	0.12		Flavonoid A	0.11	
Flavonoid B	0.22		Flavonoid H	0.24	
Flavonoid C	0.27		Flavonoid D	0.30	
Flavonoid D	0.31		Flavonoid E	0.35	
Flavonoid E	0.36		Flavonoid I	0.36	
Flavonoid F	0.43		Flavonoid F	0.42	
Flavonoid G	0.50		Flavonoid J	0.70	
Flavonoid A	0.12		Flavonoid K	0.81	

(+)-catechin และ quercetin 3-rhamnoside ดังนั้นเป็นไปได้ว่า ฟลาโวนอยด์ที่พบเป็นฟลาโวนอยด์ตามชนิดข้างต้น โดยมีสเปกตรัมที่มีการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงประมาณ 250 และ 350 nm และจากรายงานของ Masahiko และคณะ (2023) ฟลาโวนอยด์จะมีการดูดกลืนแสงในช่วง 240–295 nm และ 300–380 nm ซึ่งเป็นที่แน่ชัดว่าสารวิเคราะห์ได้เป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ โดยพบว่าฟลาโวนอยด์ A-F มี peak area อยู่ที่ทั้ง 2 ช่วงคลื่น โดยแสดงสเปกตรัมของฟลาโวนอยด์ A - G ซึ่งในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการเทียบตัวอย่างกับสารมาตรฐานจึงได้นำค่า Area peak ของสเปกตรัมของฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง TLC Visualizer มาใช้ในการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ (Table 3) ของลำต้นเทียม พบว่า ดาหลาชนิด *E. elatior* มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดรองลงมาคือดาหลาชนิด *E. fulgens* และชนิด *E. maingayi* ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับงานของ Chan และคณะ (2013) ที่พบว่าใบของดาหลาชนิด *E. elatior* มี total phenolic content สูงที่สุดรองลงมาคือ *E. fulgens* และชนิด *E. maingayi* ตามลำดับ ลำต้นเทียมของดาหลาชนิด *E. elatior* สายพันธุ์ที่มี Area peak ของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุดคือสายพันธุ์ตรัง 1 (49,785) ขณะที่สายพันธุ์ตรัง 2-5 มี Area peak ของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ใกล้เคียงกันดังนี้ 38,988 36,718 35,808 และ 35,933 นอกจากนี้พบว่าฟลาโวนอยด์ชนิด F มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าชนิดอื่น และพบเฉพาะในดาหลาชนิด *E. elatior* ดังนั้นหากมีการนำสารสกัดฟลาโวนอยด์จากลำต้นเทียมไปใช้ ควรใช้สายพันธุ์ตรัง 1

สารสกัดหยาบจากดอกดาหลา พบฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด เป็นฟลาโวนอยด์ที่ระบุชนิดไม่ได้ ผู้วิจัยจึงได้แทนชนิดของฟลาโวนอยด์ด้วย A, H, D, I, F, J, K และ E โดยมีค่า R_f ดังนี้ 0.11, 0.24, 0.30, 0.35, 0.42, 0.70 และ 0.81 ตามลำดับ (Table 2) พบว่าฟลาโวนอยด์ชนิด A D E และF เป็นชนิดเดียวกันที่พบในลำต้นเทียม มีการดูดกลืนแสงทั้งช่วงคลื่น 250 nm และ 350 nm ส่วนฟลาโวนอยด์ที่พบเฉพาะในดอกดาหลา คือฟลาโวนอยด์ I J และ K ที่มีการดูดกลืนแสงช่วงคลื่น 250 nm และฟลาโวนอยด์ H ที่มีการดูดกลืนแสงช่วงคลื่นที่ 350 nm เมื่อนำ Area peak จากสเปกตรัมของฟลาโวนอยด์ของแต่ละสายพันธุ์มาทำการเปรียบเทียบ พบว่า Area peak ของฟลาโวนอยด์ของดอกดาหลาสายพันธุ์ตรัง 4 (57,820) สายพันธุ์ตรัง 2 (54,436) มี Area peak ของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด รองลงมาคือดาหลาดำและดาหลาขี้แมวที่มี Area peak เท่ากับ 52,054 และ 42,607 ขณะที่ดาหลาพันธุ์ตรัง 1, 3 และ 5 มีค่าเท่ากับ 41,817 37,283 และ 39,735 ตามลำดับ และดาหลาไฟมีปริมาณ Area peak ของฟลาโวนอยด์รวมน้อยที่สุดคือ 29,634 (Table 4) ทุกสายพันธุ์พบฟลาโวนอยด์ A และ K ซึ่งทุกสายพันธุ์มีปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิด K สูงที่สุด ฟลาโวนอยด์ H จะพบเฉพาะในดาหลาชนิด *E. elatior* และ *E. fulgens* เท่านั้น ดาหลาชนิด *E. elatior* จะพบว่าสายพันธุ์ที่มีดอกสีขาว (พันธุ์ตรัง 1) และสีแดง (พันธุ์ตรัง 3 และ 5) จะพบฟลาโวนอยด์ชนิดเดียวกัน คือ ฟลาโวนอยด์ A H J และ K ส่วนดอกดาหลาที่มีสีชมพู (สายพันธุ์ตรัง 2 และ 4) จะพบฟลาโวนอยด์ A H D F K และ E

Table 3 Peak area of flavonoid content type A-G of Dalah pseudo-stem from 8 cultivars by HPTLC

Cultivars	Peak area of flavonoid content of Dalah pseudo-stem							
	A	B	C	D	E	F	G	Total
Trang 1	1,746	-	10,820	11,856	6,680	15,212	3,471	**49,785**
Trang 2	1,317	8,084	2,259	6,679	1,552	15,001	4,096	**38,988**
Trang 3	1,208	8,482	4,298	6,826	-	13,543	2,362	**36,718**
Trang 4	1,552	5,622	2,152	6,637	1,672	14,011	4,161	**35,808**
Trang 5	4,031	6,756	-	8,860	2,945	10,760	2,582	**35,933**
Dalah Dum	2,490	-	12,486	-	8,123	-	-	**23,099**
Dalah Fire	2,111	-	-	-	1,976	-	-	**4,087**
Dalah Kheemeaw	3,533	-	-	-	-	-	1,782	**5,315**

Table 4 Peak area of flavonoid content type A, H, D, E, I, F, J and K of Dalah inflorescences from 8 cultivars by HPTLC

Cultivars	Peak area of flavonoid content of Dalah inflorescences								
	A	H	D	E	I	F	J	K	Total
Trang 1	1,182	3,071	-	-	-	-	8,535	29,029	**41,817**
Trang 2	3,097	6,865	10,986	3,512	-	6,888	-	23,088	**54,436**
Trang 3	2,117	3,002	-	-	-	-	9,642	22,522	**37,283**
Trang 4	4,390	7,433	11,908	4,042	-	7,965	-	22,082	**57,820**
Trang 5	2,715	3,283	-	-	-	-	11,142	22,595	**39,735**
Dalah Dum	9,010	6,662	-	4,491	-	-	4,548	27,343	**52,054**
Dalah Fire	1,703	1,653	-	2,273	-	-	-	24,005	**29,634**
Dalah Kheemeaw	4,482	-	2,527	-	3,072	3,191	-	29,335	**42,607**

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนของลำต้นเทียม และดอกของดาหลา 8 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล ให้สีสารสกัดเป็นสีน้ำตาล ได้ปริมาณสารสกัดหยาบจากลำต้นเทียมอยู่ที่ 1.63-3.68% ขณะที่สารสกัดหยาบจากดอกอยู่ที่ 1.14-2.12% เมื่อนำมาวิเคราะห์หาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยวิธี HPTLC พบว่า ลำต้นเทียมพบสารที่คาดว่าอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 7 ชนิด และจาก Area peak พบว่า ดาหลาสายพันธุ์ตรัง1 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดในส่วนของดอก พบว่า สายพันธุ์ตรัง 4 และตรัง 2 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด เห็นได้ชัดว่าลำต้นเทียมมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมน้อยกว่าส่วนดอก

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยการพัฒนาพันธุ์ดาหลา ศึกษาปริมาณน้ำมันหอมระเหยและกลุ่มสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากดาหลาสายพันธุ์ต่างๆ จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม