

การศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิก
ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง
**The Optimization of Extraction Solvent Systems and Total Phenolic, Total
Flavonoids and Antioxidant Activity Extracts from *Tagetate erecta* Leaves**

ปิยนุช เจริญผล* และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง
จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Email: Piyanuch014@gmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา คือ ศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัด เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบดาวเรืองสด ซึ่งยังไม่เคยมีรายงาน โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกันทั้งหมด 12 ระบบ พบว่าตัวทำละลายด้วยระบบ 10% EtOH/EtOAc ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ ร้อยละ 54 ซึ่งสูงกว่าระบบอื่นเป็น 13 เท่า และการวิเคราะห์หาปริมาณ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric assay, วิธี Aluminium chloride colorimetric assay และวิธี DPPH assay ตามลำดับผลการทดลองพบว่า ระบบ 60% H₂O/EtOH มีปริมาณฟีนอลิก (56.1 mg GAE/g crude extract, 10%) ระบบ 50% H₂O/EtOH มีฟลาโวนอยด์ (8.52 mg QGE /g crude extract, 17%) มากที่สุด และ 40% H₂O/EtOH แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (IC₅₀ = 12.44±0.01 ppm) ดังนั้นระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด มี 2 ระบบ คือ 10% EtOH:EtOAc (ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด) และ ระบบ 40-60% H₂O/EtOH (แสดงค่าปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด) (Gallic acid คือ 5.80 ppm)

คำสำคัญ: สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใบดาวเรือง

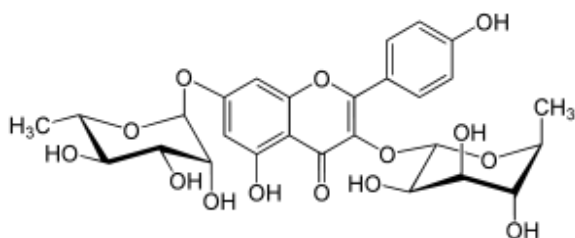
Abstract

The purpose of the study is the observation on extraction solvent system to determine of total phenolics total flavonoids and antioxidant activity of the *Tagetes erecta* leaves extracts. Which have not been reported. The results from the using of 12 different solvent systems were found that solvent of 10% EtOH/EtOAc obtained the highest extract (55%) than the other systems of 13-Fold. The total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity in the extracts were determined by Folin-Ciocalteu Colorimetric assay, Aluminium chloride colorimetric assay and DPPH assay, respectively. The results were shown that 60% H₂O/EtOH content of total phenolics (56.1 mg GAE/g crude extract) 50% H₂O/EtOH total flavonoids (8.52 mg QGE /g crude extract) the most, and 40% H₂O/EtOH revealed the best antioxidant (IC₅₀ = 12.44±0.01 ppm). Therefore, two systems are the most suitable solvent systems with 10% EtOH:EtOAc (the most extract content) and 40-60% H₂O/EtOH (the most total phenolics, total flavonoid contents and best antioxidant activity). (Gallic acid 5.80 ppm)

Keywords: Phenolic compounds, Flavonoids, Antioxidant activity, *Tagetate erecta* leaves

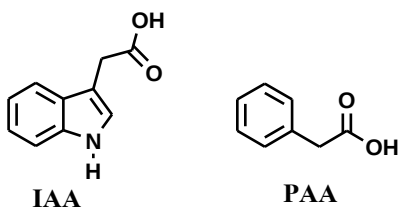
บทนำ

ดาวเรือง (Marigold) เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจ นอกจากจะปลูกเพื่อเป็นไม้ตัดดอกแล้วยังสามารถแปรรูปเป็นชาเสริมสุขภาพ สีส้มอาหาร เครื่องสำอาง สีย้อมผ้าและใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ ซึ่งพบว่าเป็นแหล่งสำคัญของสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และต่อต้านมะเร็ง ปัจจุบันมีการนำฟลาโวนอยด์มาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช สารฟลาโวนอยด์ที่สกัดจากพืช มีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้างโปรตีน เองแบ้ง กระตุ้นการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการขยายเซลล์ของพืช ทำให้พืชมีโครงสร้างแข็งแรง ตูดซึมธาตุอาหารได้มากขึ้น พืชเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีปริมาณผลผลิตมากและมีคุณภาพที่ดี ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมาก ฟลาโวนอยด์มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับออกซิน แต่มีหน้าที่เหมือนกับสารยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซิน เช่น NPA(N-1-Naphthylphthalamic acid) (Winkel-Shirley, 2002) แต่ละส่วนของดาวเรือง มีสารประกอบทางเคมีหลายชนิด ซึ่งในใบดาวเรืองสดยังพบสาร Kaempferitrin ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (Chanut, 2013) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างของ Kaempferitrin ที่พบในใบดาวเรือง

สารที่พบได้ในพืชและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งสำหรับกระบวนการเผาผลาญต่างๆ สำหรับการเจริญเติบโตของพืช สารเร่งการเจริญเติบโตของพืชทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนพืช ฮอร์โมนพืชคือสารเคมีที่สร้างขึ้นภายในต้นพืช และในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถที่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น ออกซิน (Indole-3-acetic acid, IAA) (รูปที่ 2) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต โครงสร้างของออกซินบางกลุ่มมีโครงสร้างคล้ายกับ สารจาก ดาวเรือง หลายกลุ่ม (Tereschuk, M.L et.al 1997)



รูปที่ 2 โครงสร้างของออกซิน

สารประกอบฟีนอลิก พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) (Veliloglu, Y. et.al 1988) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบฟีนอล

(phenolic compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้

ในปัจจุบันเกษตรกรมีการปลูกดาวเรืองเพื่อตัดดอกกันมากขึ้น ใบดาวเรืองที่เหลือไม่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ และจากการศึกษาค้นคว้างานวิจัยของใบดาวเรืองยังมีน้อยมาก โดยพบว่าใบดาวเรืองมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มสารที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรืองสด อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของสิ่งเหลือทิ้ง และขั้นตอนการสกัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญ ถ้าสกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่ไม่เหมาะสมสารที่ได้ก็อาจจะไม่ใช่กลุ่มสารที่ต้องการ และงานวิจัยชิ้นนี้เป็นงานวิจัยที่นำไปสู่การหาสารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชและสารต้านมะเร็งต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) รุ่น LAMBDA 25 บริษัท Perkin elmer จำกัด จากประเทศ USA เครื่อง Shaker เครื่อง Microplate reader รุ่น SEECTROstar Nano บริษัท ไชแอนติฟิค โปรโมชัน จำกัด เครื่อง Vertex รุ่น VTX-3000L สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จากประเทศ Germany สารมาตรฐาน Gallic acid เอทานอล (Ethanol) บริษัท เวลล์เคมีคอลเซ็นเตอร์ เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) บริษัท ทีเค ซายเอนซ์ โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) อลูมิเนียมคลอไรด์ ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) Folin-Ciocalteu's reagent จากประเทศอินเดีย

2. การสกัด

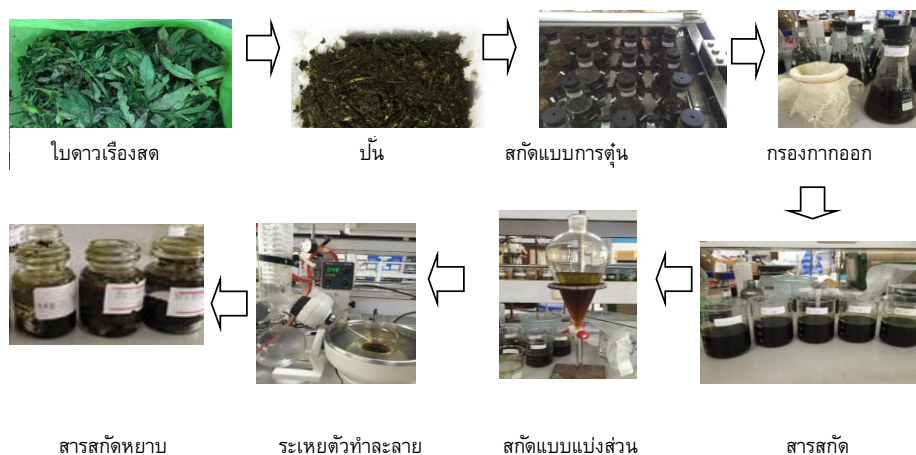
ตอนที่ 1 เตรียมตัวอย่างสารสกัดจากใบดาวเรืองสด

เก็บตัวอย่างใบดาวเรืองสดสด จากบ้านเกาะผ้าย ตำบลยางสูง อำเภอดงรักบุรี จังหวัดกำแพงเพชร น้ำหนักสด 600 กรัม ทำให้เป็นชิ้นเล็กโดยใช้เครื่องปั่น จากนั้นนำใบดาวเรืองสดสดน้ำหนัก 50 g สกัดด้วยวิธีการตุ๋น (Digestion) ด้วยเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง โดยเติมตัวทำละลายในระบบที่ต่างกันทั้งหมด 12 ระบบ เนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มสารที่มีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน อีกทั้งใบดาวเรืองที่นำมาสกัดเป็นใบดาวเรืองสด ดังนั้นจึงเลือกระบบตัวทำละลาย

ดังนี้ 1) 10% EtOH/EtOAc 2) 20% EtOH/EtOAc 3) 100% EtOH 4) 10% H₂O/EtOH 5) 20% H₂O/EtOH 6) 30% H₂O/EtOH 7) 40% H₂O/EtOH 8) 50% H₂O/EtOH 9) 60% H₂O/EtOH 10) 70% H₂O/EtOH 11) 80% H₂O/EtOH และ 12) 90% H₂O/EtOH จำนวน 150 ml ทั้งไว้ให้เป็นสักรู้นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง

ตอนที่ 2 การสกัดแบบแบ่งส่วนโดยใช้กรวยสกัด

นำสารสกัดที่ได้จากตอนที่ 1 มาสกัดต่อโดยใช้การสกัดแบบแบ่งส่วน ด้วยตัวทำละลายคือ 20% EtOH/EtOAc จำนวน 100 ml ทำซ้ำ 2 ครั้ง จะได้สารสกัดที่ต้องการ และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องrotary evaporator และทำให้แห้ง (ดังรูปที่ 3) นำไปคำนวณหาปริมาณสารสกัดที่ได้และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป



รูปที่ 3 ขั้นตอนการสกัดใบดาวเรืองสด

3. การหาปริมาณฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric (Folin และ Ciocalteu, 1927)

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) วัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้สารมาตรฐาน Gallic acid เป็นสาร

มาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 0-600 ppm และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน Gallic acid จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 μ l แล้วเติม 2N Folin-Ciocalteu reagent 100 μ l และเติม Na_2CO_3 80 μ l ตามลำดับ โดยใช้เอทานอล เป็น Blank เขย่า และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm นำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid และแสดงผลเป็นค่า Gallic acid equivalents ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้งหนัก 1 กรัม (GAE/g crude extract)

4. การหาปริมาณ Flavonoids โดยใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric assay (Ordonez et al., 2006)

การตรวจสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ ขึ้นอยู่กับการก่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อน Aluminium-flavonoid วิเคราะห์โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 300-600 nm เตรียมตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 50 ppm ดูดสารตัวอย่างที่เตรียม ปริมาตร 150 μ l เติมน้ำกลั่น 2,850 μ l ผสมกัน หลังจากนั้นเติม 2% AlCl_3 ปริมาตร 1,500 μ l และเติมน้ำ 1,500 μ l เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300-600 nm และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณจากกราฟสารละลายมาตรฐานของ Quercetagenin glycosides และแสดงผลเป็นค่า Quercetagenin glycosides equivalents ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้งหนัก 1 กรัม (QGE/g crude extract)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH (Yen และ Hsieh 1997)

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 μ l เติม DPPH 100 μ l ใช้เอทานอล เป็น Blank เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลต รีดเดอร์ นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหา %Inhibition จากนั้นคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

$$\text{การคำนวณหา \% inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{control}}) * 100$$

$$A_{\text{control}} = \text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม และ } A_{\text{sample}} = \text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}$$

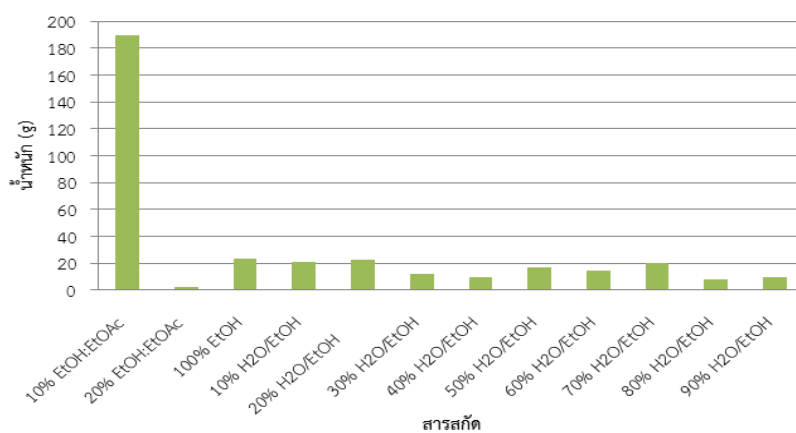
สรุปผลการวิจัย

1. การสกัด

การสกัดจากการสกัดใบดาวเรืองด้วยวิธีการสกัด 2 ขั้นตอน คือ การสกัดแบบตุ๋น และตามด้วยการสกัดแบบแบ่งส่วน ด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกันจาก ได้สารสกัดสีน้ำตาล มีลักษณะหนืด และพบว่าระบบ 10% EtOH/EtOAc เป็นระบบตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดในปริมาณมากที่สุด เนื่องจากระบบนี้เป็นระบบที่มีความขั้วปานกลางจึงทำให้สกัดเอากลุ่มสารออกมาได้มากกว่าระบบอื่น ทำให้มีน้ำหนักของสารสกัดที่ได้มากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5



รูปที่ 4 การเก็บสารสกัดที่ได้จากใบดาวเรืองสด

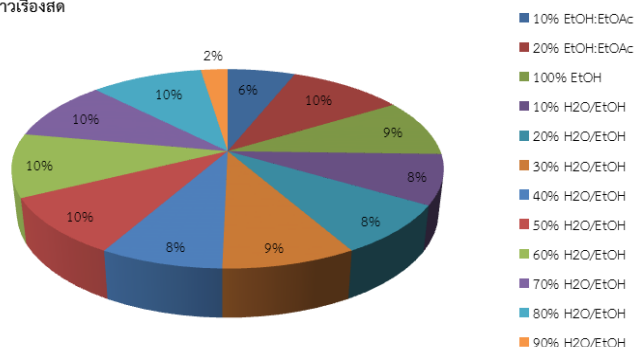


รูปที่ 5 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric

สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มที่สำคัญซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบดาวเรืองสดที่ได้ที่สกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกันทั้งหมด 12 สารสกัด วัดที่ความยาวคลื่น 765 nm เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในช่วง 13.0-56.0 mg GAE/g crude extract และปริมาณฟีนอลิกอยู่ในช่วง 51.5-56.0 mg GAE/g crude extract และพบว่าระบบ 40-80% H₂O/EtOH มีปริมาณมากใกล้เคียงกันระบบที่แสดงค่ามากที่สุดคือ 60% H₂O/EtOH ดังแสดงในรูปที่ 6

กราฟแสดงปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด

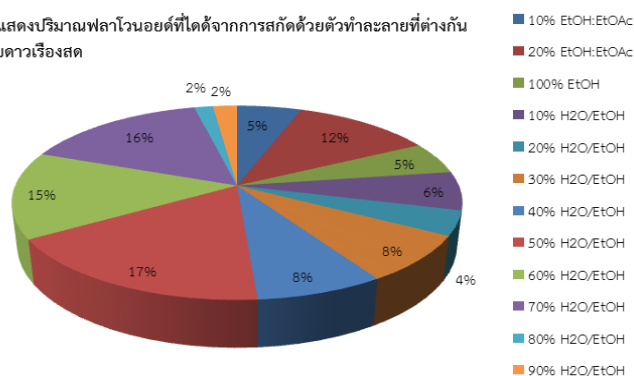


รูปที่ 6 ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด

3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric assay

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่ดี เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวมากขึ้น จึงช่วยยับยั้ง หรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จากการตรวจสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดใบดาวเรืองสดที่ได้ทั้ง 12 สารสกัด ที่ความยาวคลื่น 425 nm พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 0.77-8.52 mg QGE/g crude extract เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Quercetin glycoside (QG) และระบบ 50% H₂O/EtOH แสดงค่าปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 7

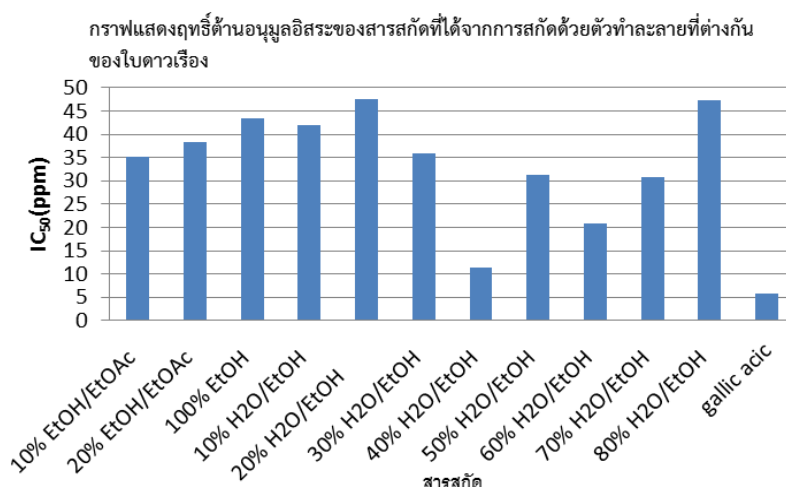
กราฟแสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด



รูปที่ 7 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH assay

วิธี DPPH เป็นการวัดความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่เกิดขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น และใช้สารปริมาณน้อยในการวิเคราะห์ (Mishra et al., 2012) โดยมีหลักการดังนี้ สารละลาย DPPH ที่เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร (มีสีม่วง) เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ถูกรีดิวซ์ด้วยโปรตอนจากสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ ทำให้สีที่เข้มอ่อนลง (เป็นสีเหลือง) สามารถบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ ใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งจะวัดออกมาเป็น % Inhibition จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรืองสด 12 สารสกัด และถูกนำไปคำนวณหาค่า IC_{50} พบว่าระบบ 40% H₂O/EtOH ของสารสกัดใบดาวเรืองสด แสดงฤทธิ์ที่ดีที่สุด แสดงค่า $IC_{50} = 12.44 \pm 0.01$ ppm ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของใบดาวเรืองสด

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การสกัดใบดาวเรืองสดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน ให้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน และระบบตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ 10% EtOH/EtOAc มีปริมาณสารสกัดมากที่สุดเทียบเป็น 13 เท่าของสารสกัดทั้งหมด ส่วนปริมาณฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้ผลที่แตกต่างกันเช่นกัน ซึ่งระบบที่ดีที่สุดแสดงผลดังนี้ ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดที่ได้ คือ 60% H₂O/EtOH และ 50% EtOH:H₂O ตามลำดับ ส่วนระบบที่ดีที่สุดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ 40% H₂O/EtOH ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้ ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในเชิงปริมาณสารสกัดที่ได้คือ 10% EtOH/EtOAc และถ้าต้องการสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ในใบดาวเรืองสด ควรใช้ระบบ 50% H₂O/EtOH หรือ 60% H₂O/EtOH ส่วนระบบตัวทำละลายที่ควรเลือกถ้าต้องการสารต้านอนุมูลอิสระของใบดาวเรืองสด คือ 40% H₂O/EtOH

ข้อเสนอแนะ

การสกัดสารเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อให้ได้สารกลุ่มที่ต้องการ ซึ่งในพืชแต่ละชนิดมีชนิดและปริมาณสารที่แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาพืชชนิดใดควร ทดสอบระบบตัวทำละลายก่อน โดยทำแบบย่อส่วน วิธีการตรวจสอบอาจจะใช้วิธีการที่แตกต่างเลือกให้เหมาะกับกลุ่มสาร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนการทำวิจัย
ปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

- Chanut, B. (2013). Extraction, isolation and identification of major flavonoid M from leaf of *Tagetes erecta*. *Silpakorn University Science and Technology Journal*, 7(1), 97.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in protens. *Journal of Biological Chemistry*, 73, 627-650.
- Ordonez A. A .I., Gomez J. D., Vattuone M. A., & Isla M. I. 2006. Antioxidant actives of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Journal of Food Chemistry*, 97, 452-458.
- Tereschuk, M. L., Riera, M. V., Castro, G. R., & Abdala L. R. (1997). Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. *Journal of Ethnopharmacology*, 56, 227-232.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B.D. (1988). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and gain products. *Journal of Food Chemistry*, 46, 4113-4117.
- Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Plant Biology*, 5, 218-223.
- Yen, G. C., & Hsieh, G. L. (1997). Antioxidant effects on dopamine and related compounds. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry Journal*, 61(10), 1646-1649.