การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรืองสด

The Investigation of the Extraction Solvent System of Total Phenolics and Flavonoids–Rich Extracts and Antioxidant Activity from *Tagetes erecta* Flower

อรชร ไอสันเทียะ* และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Email: orachonisantEtOAc@gmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกดาวเรืองสด ซึ่งในการสกัดใช้ระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 12 ระบบ พบว่า 20% EtOH/EtOAc ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (31%) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay และวิธี Aluminium chloride colorimetric assay ตามลำดับ ผลการทดสอบ พบว่าระบบ 60% H_2O/EtOH แสดงค่าดีที่สุด (510.5 mg GEA/g สารสกัดหยาบ และ 21.36 mg quercetagetin glucoside/g สารสกัด ตามลำดับ) สำหรับการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธี DPPH assay ผลที่ได้พบว่าระบบตัวทำละลาย 60% H_2O/EtOH แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดมีค่า IC_{50} 5.84 ± 0.05 µg/mL

คำสำคัญ: ดอกดาวเรืองสด ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abatract

The total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of the extracts from the flowers of *Tagetes erecta* were determined and compared. Twelve different solvent systems were used for the extraction of phenolics and flavonoids from flower of *Tagestes erecta*. From the study, the 20% EtOH/EtOAc were showed most content of extract (31%). Total phenolics and flavonoids content in the extracts were determined by Folin-Ciocalteu Colorimatric assay and Aluminium chloride colorimetric assay, respectively. The results found that the extract using 60% H_2O/EtOH (510.5 mg GEA/g crude extract and 21.36 mg quercetagetin glucoside/g crude extract,

respectively). The extracts were evaluated the antioxidant activity using by DPPH assay, the result found that the extract using 60% H_2O/EtOH exhibited the potent antioxidant with IC_{50} value 5.84±0.05 µg/mL.

Keywords: marigold, phenolic, flavonoids, antioxidant activity

บทนำ

ดาวเรืองสด (*Tagetes erecta*) เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจ เป็นไม้ตัดดอก เกษตรกรนิยมปลูก เนื่องจากมีรายได้ค่อนข้างดี และยังพบว่าเป็นแหล่งสำคัญของสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านมะเร็ง น้ำมันหอมระเหยจากดาวเรืองสดใช้กำจัดตัวอ่อนของยุง (Singer, 1987) ในแต่ละส่วนของดาวเรืองสดมีสารประกอบทางเคมีหลากหลายกลุ่ม เช่น thiophene, phenolic compound, flavonoids, terpenoide, carotenoid และอื่นๆ (Xu, 2012)

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidant) ในปัจจุบันสารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้ามาก เนื่องจากเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยกว่าสารสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่มีปริมาณน้อยที่สามารถป้องกัน หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies,1992)

ฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารประกอบในกลุ่ม โพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติมีมากกว่า 4,000 ชนิด ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และแอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่างเช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ต้านการอักเสบ (antiinflammation) ต้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับของคลอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects) ได้ (Wipob, 2013)

ในปัจจุบันมีเกษตรกรนิยมปลูกดาวเรืองเพื่อขายดอกเป็นจำนวนมาก แต่ก็มีดอกที่ขนาดไม่ได้มาตรฐานคุณภาพไม่ดีดอกเล็กไม่สมบูรณ์ ขายได้ราคาต่ำ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ดอกดาวเรืองเหล่านี้ จึงสนใจศึกษาสารสำคัญในดอกดาวเรือง และจากข้อมูลที่เคยรายงานพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระ 2 กลุ่ม

หลักที่สำคัญ คือ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และจากการศึกษาก่อนนี้พบสารฟลาโวนอยด์ปริมาณมาก โดยเฉพาะ สาร Quercetagetin ในดอกดาวเรือง ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่สำคัญและพบมากในดอกดาวเรือง (อรชร, 2557) แต่ได้ร้อยละของฟลาโวนอยด์ไม่มากเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดดอกดาวเรือง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) รุ่น LAMBDA 25 บริษัท Perkin elmer จำกัด จากประเทศ USA เครื่อง Shaker เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BMG LABTECH รุ่น Spectro star nano บริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชัน จำกัด เครื่อง Vertex รุ่น VTX-3000L

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จากประเทศ Germany สารมาตรฐาน Gallic acid, Ethanol บริษัท เวิลล์เคมีคอลเซ็นเตอร์, Ethyl acetate บริษัททีทีเค ซายเอนซ์, Na_2CO_3 , $AlCl_3.6H_2O$ และ Folin-Ciocalteu's reagent จากประเทศอินเดีย

2. การสกัดดอกดาวเรืองสดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน

เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีสารไม่เหมือนกันทำให้การเลือกตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่างกันด้วย ดังนั้นจึงต้องศึกษาหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารปริมาณเยอะและตรงเป้าหมายโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายที่ต่างกัน ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทานอล เอทิลอะซิเตด และน้ำ ในอัตราส่วนผสมที่ต่างกัน โดยมีการเตรียมการทดลอง วิธีการทดลอง การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

2.1 ดอกดาวเรืองที่ใช้ในการทดลองเป็นดอกที่คุณภาพไม่ดี ขนาดไม่ได้มาตรฐานในการขาย เหลือจากที่เกษตรกรทิ้ง ลักษณะการเก็บดอกดาวเรือง เก็บเอาเฉพาะส่วนดอก นำดอกดาวเรืองสดปั่นให้ละเอียด น้ำหนัก 50 g ใส่ลงใน ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 mL ใส่ตัวทำละลาย 150 mL โดยระบบตัวทำละลายต่างกันทั้งหมด 12 ระบบ เนื่องจากสารที่ต้องการ คือ ฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วปานกลางถึงสูง และตัวอย่างที่ใช้เป็นดอกดาวเรืองสดจึงเลือกระบบตัวทำละลายทั้ง 12 ระบบนี้

ตารางที่ 1 ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดดอกดาวเรืองสด

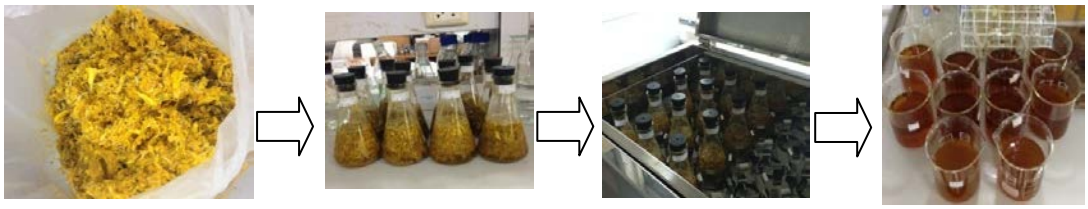
ลำดับ	ระบบตัวทำละลาย	ลำดับ	ระบบตัวทำละลาย
1	10% EtOH/EtOAc	**7**	40% H_2O/EtOH
2	20% EtOH/EtOAc	**8**	50% H_2O/EtOH
3	100% EtOH	**9**	60% H_2O/EtOH
4	10% H_2O/EtOH	**10**	70% H_2O/EtOH
5	20% H_2O/EtOH	**11**	80% H_2O/EtOH
6	30% H_2O/EtOH	**12**	90% H_2O/EtOH

2.2 วิธีการสกัดแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือการสกัดแบบการตุ๋น (Digestion) ในระบบตัวทำละลายที่ต่างกันด้วยเครื่องเขย่า และนำสารสกัดที่ได้มาสกัดต่อด้วยการสกัดแบบแบ่งส่วนด้วยกรวยสกัด

ตอนที่ 1 นำตัวอย่างดอกดาวเรืองสดที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิ 45 ^{0}C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จนเหลือเฉพาะชั้นน้ำ

ตอนที่ 2 นำชั้นน้ำที่ได้ทุกระบบตัวทำละลายใส่กรวยสกัด แล้วเติมตัวทำละลาย คือ 20% EtOH/EtOAc เนื่องจาก ระบบนี้เป็นระบบตัวทำละลายที่มีความมีขั้วมากที่สุดที่สามารถแยกชั้นกับชั้นน้ำได้ปริมาตรที่ใช้สกัด คือ 100 mL ทำ 2 ครั้ง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ ดังแสดงใน รูปที่ 1

ตอนที่ 1



ตัวอย่างดอกดาวเรืองสดที่เตรียมไว้ ใส่ระบบตัวทำละลายในตัวอย่าง ใส่เครื่องเขย่า สารสกัดที่ได้

ตอนที่ 2

สารสกัดหยาบ ได้สารสกัดและระเหยตัวทำละลาย สกัดด้วย 20% EtOH/ETOAC

รูปที่ 1 ขั้นตอนการสกัดดอกดาวเรืองสดแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือการสกัดแช่ในระบบตัวทำละลายที่ต่างกันด้วยเครื่องเขย่า และสกัดต่อด้วยการสกัดแบบแบ่งส่วนด้วยกรวยสกัด

3. การหาปริมาณฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric (Anna Pekal, Krystyna Pyrzynska. 2004)

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) วัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยใช้สารมาตรฐาน Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ที่มีความเข้มข้น 50, 100, 200, 300, 400, 500 และ 600 ppm ใน เอทานอล และสารสกัดตัวอย่างทั้ง 12 ระบบ ที่ความเข้มข้น 500 ppm จากนั้นเติมสารสกัดตัวอย่างลงใน 96-well plate ปริมาตร 20 µl เติมสารละลาย 20% Na_2CO_3 ปริมาตร 80 µl และ สารละลาย Folin Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 µl blank คือ น้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader นำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก นำไปเทียบกับ

กราฟมาตรฐาน Gallic acid และแสดงผลเป็นค่า Gallic acid equivalents ต่อน้ำหนักสารสกัดหนัก 1 g (GAE/g crude extract)

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

การตรวจสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ ขึ้นอยู่กับการก่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อน aluminium-flavonoid เตรียมสารละลายมาตรฐาน quercetagetin glycoside 1 mg ละลายด้วย ethanol 1 mL จะได้สารละลายความเข้มข้น 1000 ppm (stock solution) เจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ppm เตรียมตัวอย่างสารสกัดทั้ง 12 ระบบ ความเข้มข้น 10 ppm วัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer นำสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 1 mL เติม 2% $AlCl_3$ 0.5 mL น้ำกลั่น 0.5 mL ทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปสแกนหาค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 326-600 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 425 nm และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ไปคำนวณหาปริมาณจากกราฟสารละลายมาตรฐานของ Quercetagetin glycosides และแสดงผลเป็นค่า Quercetagetin glycosides equivalent ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง 1 g (QGE/g crude extract)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH (Predner et al. 2008)

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH) เตรียมสารละลาย DPPH 11.8 mg/100 mL ในเอทานอล เตรียมสารสกัดทั้ง 12 ระบบ ที่ความเข้มข้น 1mg/mL ในเอทานอล จากนั้นเติมเอทานอล 80, 100, 180 และ 200 µl ตามลำดับ เติมสารสกัดตัวอย่าง 20 µl ใน 96-well plate และเติม DPPH 100 µl เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหา % Inhibition จากนั้นคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด โดยกลุ่มตัวอย่างคือดอกดาวเรืองสดที่คุณภาพไม่ดี ดอกเล็กไม่สมบูรณ์ พันธ์ทองเฉลิม จากบ้านเกาะฝ้าย ตำบลยางสูง อำเภอขาณุวรลักษบุรี จังหวัดกำแพงเพชร

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

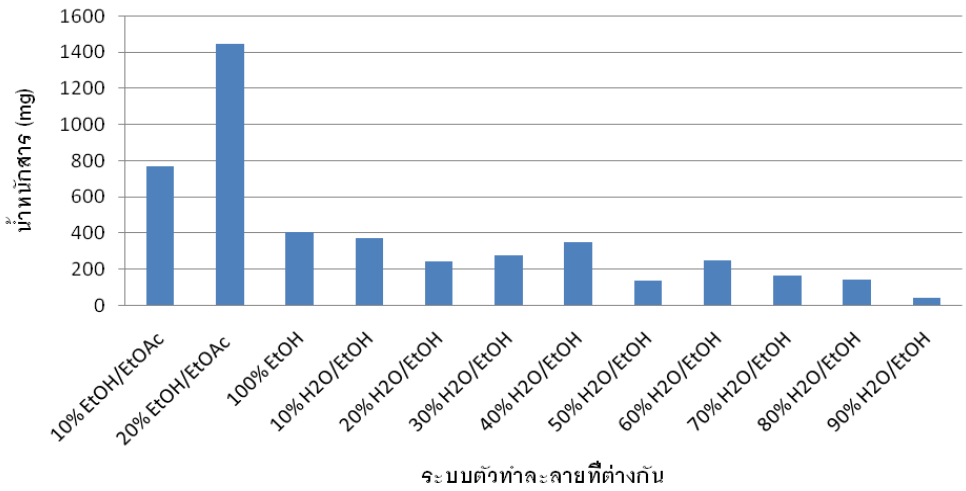
$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

สรุปผลการวิจัย

1. ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของดอกดาวเรืองสด

ดอกดาวเรืองสดสกัดได้ทั้งหมด 12 ระบบ น้ำหนักรวม 4.5 g ลักษณะสารที่ได้เป็นของแข็งสีเหลือง-ส้มน้ำตาล ปริมาณของสารสกัดที่ได้แตกต่างกันตั้งแต่ 46.6-1444.8 mg ซึ่งสารสกัดในระบบตัวทำละลาย 20% EtOH/EtOAc (1444.8 mg) มีปริมาณสารสกัดมากที่สุด รองลงมาเป็นระบบตัวทำละลาย 10% EtOH/EtOAc (769.7 mg) แสดงดังรูปที่ 2

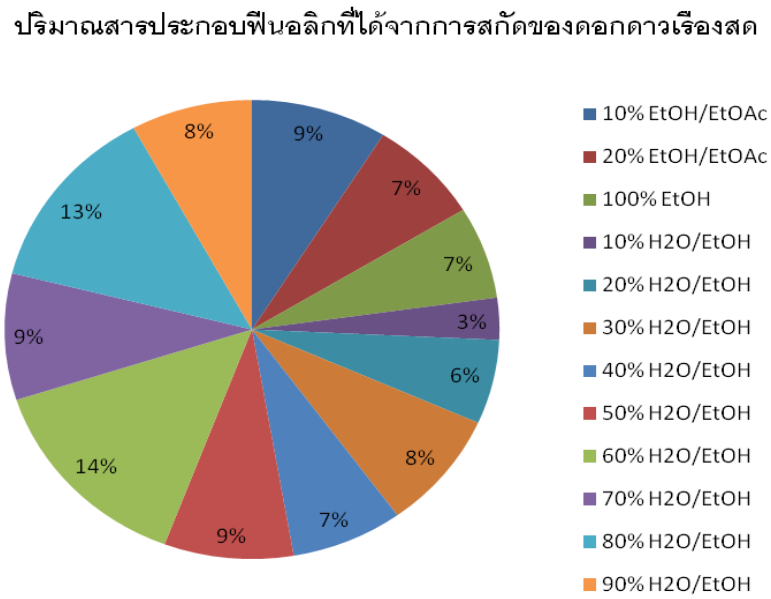


รูปที่ 2 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยระบบต่างกันของดอกดาวเรืองสด

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันของ 12 ระบบ เพื่อหาระบบที่ดีที่สุดที่มีฟีนอลิกในปริมาณมากโดยใช้เครื่อง Microplate reader ซึ่งการคำนวณใช้สมการของกราฟมาตรฐาน gallic acid ($Y = 0.002X + 0.007$, $R^2 = 0.997$) เป็นตัวเทียบเพื่อหาปริมาณฟีนอลิก

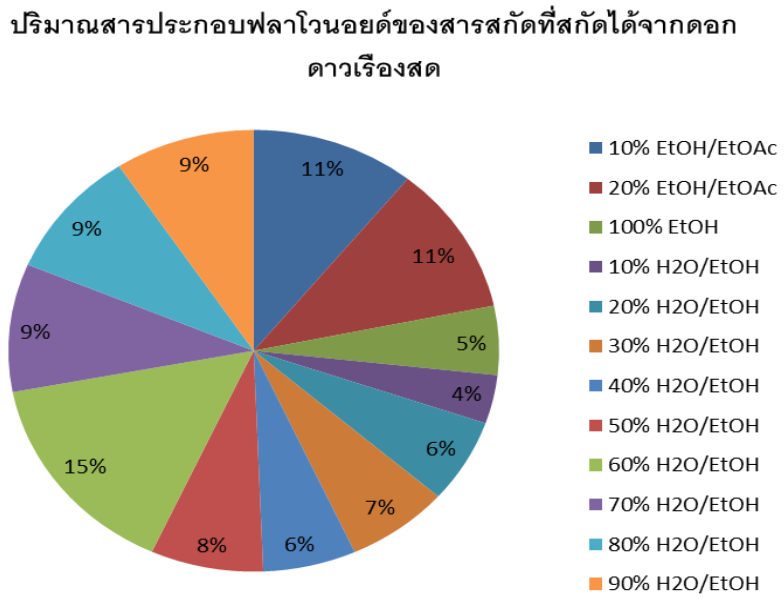
จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดที่ได้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 105-510.5 mgGEA/g crude extract ระบบตัวทำละลาย 60% H_2O/EtOH มีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณมากที่สุด คือ 510.5 mgGEA/g crude extract และระบบ 80% H_2O/EtOH ให้ผลรองลงมา ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดที่ได้ด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกันของดอกดาวเรืองสด

3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ Flavonoids โดยใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric assay

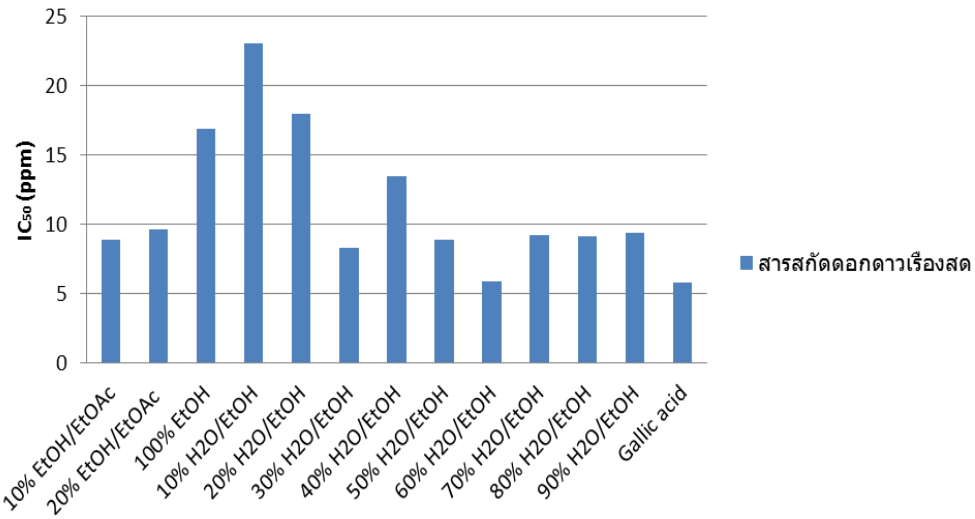
การสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดที่ได้สกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่ต่างกัน 12 ระบบ เพื่อหาระบบที่ดีที่สุดที่มีฟลาโวนอยด์ปริมาณมากที่สุดโดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer ซึ่งการคำนวณใช้สมการของกราฟมาตรฐาน quercetagetin glycoside ($Y = 0.001X + 0.015$, $R^2 = 0.998$) เป็นตัวเทียบเพื่อหาปริมาณ ฟลาโวนอยด์ จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 5-21.36 mg QGE/g crude extract ระบบตัวทำละลาย 60% H_2O/EtOH มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ 21.36 mg QGE/g crude extract และระบบ 10%, 20% EtOH/EtOAc ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่สกัดจากดอกดาวเรืองสดเทียบกับสารมาตรฐาน quercetagetin glycoside

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH assay

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดทั้งหมด 12 ระบบ พบว่าแสดง ค่า % การยับยั้งการเกิดอนุมลอิสระได้มากกว่า 90% จึงไปทดสอบเพื่อหาค่า IC_{50} แสดงค่าดังตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยระบบ 60% H_2O/EtOH แสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุด คือ 5.84 µg/ml ซึ่งเปรียบเทียบค่า IC_{50} แล้วค่าที่ได้เท่ากับค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน Gallic acid คือ 5.80 µg/ml ซึ่งค่า IC_{50} ค่าที่น้อยแสดงว่าฤทธิ์ที่ดี ส่วน IC_{50}ของสารสกัดอื่นๆ แสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกันของดอกดาวเรืองสด

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้งหมด 12 ชนิด

ลำดับ	ระบบตัวทำละลาย	ค่า IC_{50} (ppm)
1	10% EtOH/EtOAc	8.91±0.01
2	20% EtOH/EtOAc	9.62±0.01
3	100% EtOH	16.88±0.04
4	10% H_2O/EtOH	23.04±0.01
5	20% H_2O/EtOH	17.94±0.01
6	30% H_2O/EtOH	8.29±0.02
7	40% H_2O/EtOH	13.43±0.01
8	50% H_2O/EtOH	8.89±0.01
9	60% H_2O/EtOH	5.84±0.05
10	70% H_2O/EtOH	9.17±0.01
11	80% H_2O/EtOH	9.15±0.01
12	90% H_2O/EtOH	9.37±0.00

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สารฟลาโวนอยด์และสารที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารสำคัญในการแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง เพื่อให้ได้ปริมาณมากจึงศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดที่เหมาะสมของดอกดาวเรืองสด จากผลการทดสอบพบว่าระบบตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ 20% EtOH/EtOAc เนื่องจากเป็นระบบที่มีความมีขั้วสูงจึงสามารถดึงสารออกมาได้มากที่สุด ระบบที่มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ 60% H_2O/EtOH และระบบที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดด้วย คือ 60% H_2O/EtOH และพบว่าระบบต่างๆที่มีความเป็นขั้วสูงมากใช้ในการสกัดพบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ นอกจากนี้ระบบ 10% และ 20% EtOH/EtOAc มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากแต่คาดว่าเป็น ฟลาโวนอยด์ที่มีหมู่ของน้ำตาล

ข้อเสนอแนะ

การสกัดสารเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อให้ได้สารกลุ่มที่ต้องการ ซึ่งในพืชแต่ละชนิดมีชนิดและปริมาณสารที่แตกต่างกัน ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาพืชชนิดใดควร ทดสอบระบบตัวทำละลายก่อน โดยทำแบบย่อส่วน วิธีการตรวจสอบอาจจะใช้วิธีการที่แตกต่างควรเลือกให้เหมาะกับกลุ่มสาร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) 2558

เอกสารอ้างอิง

อรชร ไอสันเทียะ. (2557). *การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้จากดอกดาวเรือง*. ปัญหาพิเศษ สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม, พิษณุโลก.

Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radical Biology and Medicine*, 46, 531-542.

Ordonez A. A. L., Gomez J. D., Vattuone M. A., & Isla M. I. (2006). Atioxidant activities of *Sechium edule* (Jecq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97, 452-458.

Predner, D., Hsieh P. Ch., Lai P. Y., & Charles A. L. (2008). Evaluation of drying methods on antioxidant activity, total phenolic and total carotenoid contents of sweet potato (*IpomoEtOAc batatas* (L.) Lam.) var. *Journal of International Cooperation*, 3(2), 73-86.

Pekal A., & Pyrzynska K. (2004). Evaluation of aluminium complexation REtOAcction for flavonoid content assay. *Food analysis*, 7, 1776-1782.

Sies, H., Stahl, W. & Sundquist, A. (1992). Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. *Annals of the New York Academy of sciences*, 368, 7-19.

Singer, J. M. (1987). Investigation of the mosquito larvicidal activity of the oil of marigolds. *Dissertations and Abstracts International Business*, 47(12), 4886.

Suttana W. (2013). Anticancer activities of flavonoids: Mechanisms of actions. *Srinagarind Medical Journal*, 28(3), 567-569.

Xu L. W., Chen J., Huan H. Y. & Shi Y. P. (2012). Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes*. *Journal Chinese Herbal Medicines*, 4(2), 103-117.