Journal of Agricultural Research and Extension 43(1):133-143

การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโดยเทคนิคไมโครเวฟในดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้ง

Comparative Study of the Amount of Bioactive Compounds and Optimum Conditions for Their Extraction Using the Microwave Technique in *Dendrobium lindleyi* Steud

จุฑามาศ พิลาดี[1,*] นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์[2] วัชราภรณ์ สุขขี[3] จีระนันท์ ตาคำ[3] บุญตัน สุเทพ[3] และสุรีย์ชล วงศ์ประสิทธิ์[3]

Jutamas Piladee[1,*], Narin Taokaenchan[2], Watcharaporn Sukkhee[3], Geeranan Takam[3] Boontan Suthep[3] and Sureechon Wongparsit[3]

[1]สาขาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[2]สาขาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[3]กิจการพิเศษ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1]Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[2]Medicinal Plant Science, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[3]Special Affairs Department, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: jibby600@gmail.com

*ORCID iD: https://orcid.org/0009-0009-5845-2863

Received: *December 24, 2024*
Revised: *June 06, 2025*
Accepted: *July 18, 2025*

Abstract

This study aims to compare the amount of bioactive compounds and determine the optimal extraction conditions using microwave-assisted extraction in the flower of *Dendrobium Lindleyi* Steud. Comparative tests were conducted on the amounts of substances extracted from the stem, leaf, flower, and root parts using the microwave technique. The obtained extracts were analyzed for total phenolic content using the Folin–Ciocalteu method, total flavonoid content using the aluminum chloride colorimetric method, antioxidant activity via the DPPH radical scavenging assay, and tyrosinase inhibition activity using the modified dopachrome method. Results indicated that the flower contained the highest amount of flavonoids at 32.53±0.76 mg QE g^{-1} DW. Therefore, further experiments were conducted to optimize the microwave extraction conditions by varying several factors, including microwave power, extraction time, ethanol-to-water ratio, and number of extraction cycles. The optimal conditions were found to be 600 watts of microwave power, 270 seconds of extraction time, an ethanol-to-water ratio of 100:0, and one extraction cycle. This study demonstrates that the flower of *D. lindleyi* Steud. contains bioactive compounds with potential for use in medicinal or skincare products. Moreover, understanding

the appropriate microwave extraction conditions provided a guideline for researchers, students, and interested individuals.

Keywords: *Dendrobium lindleyi* Steud, bioactive compounds, flavonoid

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโดยเทคนิคไมโครเวฟในดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้ง ได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบปริมาณสารจากชิ้นส่วนลำต้น ใบ ดอก และราก โดยนำส่วนต่าง ๆ เหล่านี้มาทำการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin-ciocalteu สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธีอะลูมิเนียมคลอไรด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์ด้วยวิธีการยับยั้งด้วย 2, 2-Dyphenyl-1-picrylhydrazyl (DDPH) และฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified dopachrome พบว่าส่วนดอกมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด ที่ปริมาณ 32.53±0.76 mg QE g^{-1} DW ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโดยเทคนิคไมโครเวฟ ด้วยปัจจัยที่แตกต่างกัน คือ กำลังไฟที่ใช้ในการสกัด ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด อัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำ รวมทั้งจำนวนครั้งในการสกัด พบว่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้ในสกัดที่เหมาะสม คือ 600 วัตต์ ระยะเวลาในการสกัด คือ 270 วินาที อัตราส่วน (ethanol : water) คือ 100:0 และใช้จำนวน 1 ครั้งในการสกัดให้ผลดีที่สุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สามารถนำไปเป็นส่วนผสมของยาหรือผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และทราบวิธีการสกัดสารโดยเทคนิคไมโครเวฟที่เหมาะสม สามารถเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยให้แก่นักวิจัย นักศึกษา และผู้ที่สนใจทั่วไปนำไปต่อยอดงานวิจัยในอนาคตได้

คำสำคัญ: กล้วยไม้เอื้องผึ้ง สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารฟลาโวนอยด์

บทนำ

กล้วยไม้เอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi* Steud) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นป้อมสั้นรูปไข่ถึงรูปวงรี มักจะแบนเล็กน้อยขนาด 5–12 ซม. กว้าง 1.5–2.5 ซม. มีสันและร่องตามยาว ผิวแห้ง สีเขียวเข้ม ขึ้นเป็นกระดูกแน่น แต่ละต้นมี 1 ใบที่ยอด ใบรูปรี ขนาด 6–12 x 2–2.5 ซม. แผ่นใบหนาและเหนียว สีเขียวเข้ม ปลายใบแหลมมน หรือเว้าหยักเว้าตื้นๆ ดอกออกเป็นช่อใกล้ปลายยอด ดอกขนาด 2–2.5 ซม. สีเหลืองอมเขียว กลีบเลี้ยงรูปไข่ถึงรูปหอก กลีบดอกรูปกว้าง กลีบปากเกือบกลม ปลายกลีบหยักเว้า กลางกลีบสีเหลืองเข้มถึงส้ม ระยะเวลาการบานของดอกประมาณหนึ่งสัปดาห์ มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ระยะเวลาออกดอก เดือนกุมภาพันธ์-เมษายน ทั้งนี้ประชาชนส่วนหนึ่งเริ่มกลับมาใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารรวมถึงเครื่องสำอางที่ทำจากสารประกอบจากธรรมชาติเพื่อหลีกเลี่ยงสารเคมี โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง และสารนั้นจะต้องไม่มีผลในทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อย ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีหลายชนิด เช่น สารกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) ฟลาโวนอยด์ (flavoniod) และแอนโทไซยานิน (Obsuwan *et al*., 2019)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลต และป้องกันการสร้างสารก่อมะเร็ง สารกลุ่มนี้ถูกจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ซึ่งสารในกลุ่มฟีนอลิกเป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยเหล่านี้ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และพบมากในพืช เช่น เมล็ด ผล ใบ ดอก ได้แก่ กล้วยไม้ และส่วนอื่น ๆ โดยสามารถพบสารได้ในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีความแตกต่างกันในด้าน

ของชนิดและปริมาณซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย (Watcharakupt *et al.*, 2007)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พบได้ทุกส่วนของพืช เป็นสารมีสีทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงาม มีโครงสร้างหลักได้แก่ ฟีนิลเบนซิล-แกมมา-ไพโรน (C6-C3-C6) คุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ คือ เป็นสารโพลีฟีนอล (Polyphenolic compound) ส่วนใหญ่เป็น o glycoside พบเป็น c glycoside บ้าง และน้ำตาลมักจับตำแหน่ง 3, 5 หรือ 7 ของ Aglycone ฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ต้านการอักเสบ (antiinflammation) เป็นต้น สาระสำคัญกลุ่มนี้ได้แก่ Hesperidin และ Rutin ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้ผนังเส้นเลือดฝอยแข็งแรง ไม่เปราะ ใช้รักษาโรคริดสีดวงทวาร และในธรรมชาติจะพบฟลาโวนอยด์ทั้งในรูปอิสระและในรูปไกลโคไซด์ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์อาจเรียกว่า ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกันมากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส ตัวอย่างเช่น Quercetin และ Catechin (Obsuwan *et al*., 2019)

การสกัดด้วยไมโครเวฟ (MWA) มีรายงานวิจัยของ Suedee (2017) ในการใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร การศึกษาองค์ประกอบจากสารสกัดของพืชสมุนไพร ในปัจจุบันการสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีที่นิยม เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความสะดวก รวดเร็ว ลดระยะเวลาของการสกัดและสามารถลดปริมาณตัวทำละลายและสัดส่วนของตัวทำละลาย การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟนี้มีปัจจัยหรือสภาวะที่เหมาะสมที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญ ดังนี้ ระบบตัวทำละลายและสัดส่วนของตัวทำละลายต่อผงสมุนไพร กำลังของคลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิ ระยะเวลาการสกัด และรอบในการสกัด วิธีนี้อาจเรียกได้ว่าเป็นวิธีการซึ่งส่วนมากจะใช้น้ำหรือแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายในการสกัดร่วมกับการควบคุมอุณหภูมิและสภาวะความดันที่ใช้ให้เหมาะสม ดังนั้น วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือก และ Sopittummakhun and Rattanasinganchan (2017) ศึกษาการสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร กล่าวว่าการแช่ในตัวทำละลายเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร และยังเป็นวิธีที่ใช้กับการสกัดสารจากทุกส่วนของพืช ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และเฮกเซน ซึ่งทำให้สารที่ถูกสกัดออกมาในชั้นของตัวทำละลายแต่ละชนิดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด งานวิจัยนี้มีความสำคัญในเชิงวิทยาศาสตร์และอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นการศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากช่วยลดเวลาและต้นทุนในการสกัด และการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและเครื่องสำอางต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมชิ้นส่วนตัวอย่างของกล้วยไม้เอื้องผึ้งจากต้นที่ปลูกเลี้ยง ในโรงเรือนของโครงการกล้วยไม้ไทยสู่ไพรพฤกษ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อายุประมาณ 5 ปี โดยชิ้นส่วนที่นำมาทำการศึกษาประกอบด้วย ใบ ลำต้น ราก และดอก โดยนำไปล้างน้ำให้สะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำใส่ตู้อบลมร้อน ใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12–15 ชั่วโมง

เปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเทคนิคไมโครเวฟของกล้วยไม้เอื้องผึ้ง ได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบปริมาณสารจากชิ้นส่วนลำต้น ใบ ดอก และราก โดยนำส่วนต่าง ๆ มาทำการสกัดด้วยคลื่น

ไมโครเวฟ หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วยวิธี Folin-ciocalteu's reagent สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม โดยการทำปฏิกิริยากับอะลูมิเนียมคลอไรด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์ด้วยวิธีการยับยั้งด้วย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (ดีพีพีเอช) และฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยสารละลาย Tyrosinase จากนั้นทำการคัดเลือกชิ้นส่วนที่มีสารสำคัญสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด นำมาทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสาระสำคัญ โดยเทคนิคไมโครเวฟ ซึ่งประกอบไปด้วยปัจจัยที่แตกต่างกัน คือ กำลังไฟที่ใช้ในการสกัด ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด อัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำ รวมทั้งจำนวนครั้งในการสกัด

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ประยุกต์มาจากงานวิจัยของ Chang *et al.* (2006) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน ใน DMSO 0.01–0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารมาตรฐานที่เตรียมได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดกล้วยไม้ ปิเปตตัวอย่างจากสารสกัดมา 100 ไมโครลิตร และเติม DMSO ปริมาตร 1,900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสารละลายตัวอย่างจากสารสกัดที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน รายงานปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (mg QE g^{-1} DW)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมประยุกต์มาจากงานวิจัยของ Ueda *et al*. (2019) โดยเตรียมสารละลายกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก 0.003–0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 300 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocaltue's ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสารมาตรฐานที่เตรียมได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น มาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดอกกล้วยไม้ ปิเปตตัวอย่างจากสารสกัดมา 100 ไมโครลิตร และเติม DMSO ปริมาตร 1,900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสารตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเทียบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (mg GAE g^{-1} DW)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชประยุกต์มาจากงานวิจัยของ Singh *et al.* (2002) โดยปิเปตสารตัวอย่างจากสารสกัดมา 30 ไมโครลิตร และเติม DMSO ให้ได้ครบปริมาตร 2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างดังกล่าวลงมาอีก 3 ความเข้มข้น โดยวิธีการเจือจางแบบ two-fold dilution ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้มา 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน สำหรับสารละลายควบคุมใช้ DMSO ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย DPPH เช่นเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของสารตัวอย่างมาคำนวณร้อยละ

การยับยั้ง ดังสมการ หลังจากนั้นค่าร้อยละการยับยั้งที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าสารโทรอกซ์ต่อตัวอย่างพืชแห้ง 1 กรัม (mg Trolox equivalent (TEAC)/ g dry basis) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานโทรอกซ์

$$\text{\% DPPH radical scavenging activity} = \left(\frac{A_{ctrl} - A_{sample}}{A_{ctrl}}\right) x\ 100$$

เมื่อ

A_{ctrl} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

การวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรเนส

การวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรเนส ประยุกต์มาจากงานวิจัยของ Mapoung *et al.* (2021) โดยปิเปตสารละลายสกัดตัวอย่างพืชที่ช่วงความเข้มข้น 80–3000 µg mL^{-1} ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับเอนไซม์ Tyrosinase (Sigma-Al drich, USA) ความเข้มข้น 200 U mL^{-1} ใน 0.1 M Sodium phosphate buffer (pH 6.4) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติม 2 mM L-DOPA (Sigma-Al drich, USA) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำสารละลายตัวอย่างที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรทันที และเริ่มวัดค่าดูดกลืนแสงทุก ๆ 1.5 นาที จนครบ 15 นาที (0–15 นาที) โดยใช้ชุดควบคุมเป็น ethanol แทนสารสกัดจากพืช จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสมการ

$$\text{Tyrosinase inhibition (\%)} = \frac{[(A-B)] \times 100}{A}$$

เมื่อ

A = Slope of vehicle control (ethanol) at 490 nm

B = Slope of sample at 490 nm

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดกับ %inhibition เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC_{50})

การศึกษาหากำลังไฟและระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม

ทำการศึกษาที่กำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟที่แตกต่างกัน ได้แก่ 100, 200, 300, 450, 600, 700 และ 800 วัตต์ ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลคงที่ 100% และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคงที่ 210 วินาที สัดส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายเอาทานอล 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม จากนั้นเติมสารละลายเอทานอล 30 มิลลิลิตร และนำไปสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้าต่างกัน จนครบตามเวลาที่กำหนด กรองสารละลายตัวอย่างที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และระเหยสารละลายตัวอย่างจนแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ละลายและปรับปริมาตรสารสกัดหยาบด้วย DMSO 5 มิลลิลิตร สารละลายตัวอย่างจากสารสกัดที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน รายงานปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (mg QE g^{-1} DW) จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดจากกำลังไฟฟ้าที่แตกต่างกัน และทำการคัดเลือกกำลังไฟฟ้าที่ทำให้สามารถสกัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณที่สูงที่สุด

จากนั้นทำการศึกษาหาระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม ใช้ระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 วินาที โดยทำการสกัดตามขั้นตอนข้างต้นที่กล่าวไว้ ใช้กำลังไฟที่ทำให้สามารถสกัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณสูงที่สุดจากการศึกษาข้างต้น และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดจากระยะเวลาที่แตกต่างกัน ทำการคัดเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการทดลองต่อไป

อัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำและจำนวนครั้งในการสกัดที่เหมาะสม

ทำการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลต่อน้ำที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0:100, 10:90, 20:80, 40:60, 60:40, 80:20 และ 100:0 ตามลำดับ และทำตามขั้นตอนการสกัดข้างต้นที่กล่าวไว้ โดยใช้กำลังไฟและเวลาที่ดีที่สุดของการทดลอง สัดส่วนของดอกกล้วยไม้ต่อสารละลายเอทานอล 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร นำสารตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากความเข้มข้นของเอทานอลต่อน้ำที่แตกต่างกัน และทำการคัดเลือกความเข้มข้นของเอทานอลต่อน้ำที่เหมาะสมที่ทำให้สามารถสกัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณสูงที่สุด จากนั้นศึกษาจำนวนครั้งที่สกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ครั้ง โดยทำตามขั้นตอนการสกัดโดยใช้กำลังไฟ เวลาสกัด และความเข้มข้นเอทานอลต่อน้ำที่ดีที่สุดของการทดลอง และนำสารตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดจากจำนวนครั้งที่แตกต่างกัน และทำการคัดเลือกจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสม ที่ทำให้สามารถสกัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณสูงที่สุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเบื้องต้น พบว่าชิ้นส่วนดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งมีปริมาณสาร ฟลาโวนอยด์มากที่สุดที่ปริมาณ 32.53±0.76 mg QE g^{-1} DW โดยชิ้นส่วนลำต้นมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดที่ปริมาณ 0.36±0.17 mg QE g^{-1} DW ผลวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลลิก พบว่าส่วนดอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกมากที่สุดที่ปริมาณ 9.04±0.22 mg QE g^{-1} DW และชิ้นส่วนลำต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด 1.83±0.01 mg QE g^{-1} DW ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอส พบว่าส่วนดอกมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด 16.08±0.09 mg Trolox g^{-1} DW และ 6.34±0.16 mg Trolox g^{-1} DW ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้าน Antityrosinase พบว่าส่วนดอกมีฤทธิ์ต้าน Antityrosinase มากที่สุด >39 mg mL^{-1} Antityrosinase น้อยที่สุด >6.67 mg mL^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Taokaenchan *et al.* (2021) รายงานว่านำดอกกล้วยไม้สกุลหวาย (เอื้องผึ้ง เอื้องมะลิ และเอื้องสายไหม) จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ผลการทดลองพบว่าดอกกล้วยไม้ เอื้องผึ้ง เอื้องสายไหม และเอื้องมะลิ ตรวจพบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เรียงจากมากไปน้อยดังนี้ ดอกเอื้องผึ้ง เอื้องมะลิ และเอื้องสายไหม (137.68, 48.61 และ 42.02 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบ 1 กรัม ตามลำดับ)

Phunsawan (2013) กล่าวถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นวิธีการตรวจวัดอีกวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยวิธีการตรวจวัดดังกล่าวรายงานค่าเป็น IC50 ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ โดยทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 จากผลการทดลองที่ได้พบว่าดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50) ดีที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องด้วยดอกกล้วยไม้

เอื้องผึ้งมีสีเหลือง และสีเข้มกว่าดอกเอื้องมะลิและเอื้องสายไหม โดยสารสีหรือรงควัตถุ (pigment) มีสีเหลือง ส้ม และส้มแดง ที่พบในพืชและดอกไม้ เป็นสารกลุ่มที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับงานของ Nguyen *et al*. (2018); Siriwattanamethanon (2020)

Table 1 Comparaison of biologically active substances in different parts of *Dendrobium lindleyi* Steud.

Sample	Flavonoids (mg QE g^{-1} DW)	Phenolic compounds (mg GAE g^{-1} DW)	DPPH (mg Trolox g^{-1} DW)	Antityrosinase, IC_{50} ($mg\ mL^{-1}$)
Flower	32.53±0.76a	9.04±0.22a	16.08±0.09a	>39
Leaf	10.31±0.57b	4.12±0.08b	8.30±0.18b	>14
Stem	0.36±0.17d	1.83±0.01d	6.34±0.16c	>6.67
Root	6.69±0.4c4	3.30±0.09c	6.61±0.33c	>6.67

Different letters in column are different significantly (P<0.05).

ผลการทดลองข้างต้นพบว่ามีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากสุดที่สกัดได้จากส่วนดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้ง จากนั้นนำดอกเอื้องผึ้งมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเทคนิคไมโครเวฟ โดยศึกษากำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม เมื่อนำมาสกัดด้วยกำลังไฟฟ้าที่แตกต่างกันมีค่าอยู่ในช่วง 13–28 mg QE g^{-1} DW โดยเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้นจาก 100 วัตต์ ถึง 600 วัตต์ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะมีค่าเพิ่มขึ้นตาม และเมื่อใช้กำลังไฟเพิ่มขึ้นปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะมีค่าลดลง ดังนั้นกำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ สามารถทำการสกัดสารฟลาโวนอยด์ได้มากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 27.53±0.73 mg QE g^{-1} DW (Figure 1A) และเมื่อนำไปทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดคือ 270 วินาที พบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 47.61±4.36 mg QE g^{-1} DW (Figure 1B) เช่นเดียวกับรายงานของ Thanaphat (2016) กล่าวว่ากำลังของไมโครเวฟและอุณหภูมิจะแปรผันตามกัน กำลังไมโครเวฟที่สูงขึ้นจะทำให้อุณหภูมิของระบบเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ผลผลิตจากการสกัดเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งคงที่และลดลงในที่สุด และ Yan *et al*. (2010) รายงานว่าการเพิ่มอุณหภูมิ 50°ซ เป็น 70°ซ สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิต astragalosides และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70°ซ ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและลดลงในที่สุด อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ระบบการสกัดมีความหนืดและแรงตึงผิวลดลง ทำให้ตัวทำละลายสามารถละลายสารได้ดีขึ้น ดังนั้นการเพิ่มกำลังไมโครเวฟจะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตจากการสกัดและลดระยะเวลาการสกัดได้ แต่อย่างไรก็ตาม การเพิ่มกำลังไมโครเวฟอาจทำให้สูญเสียสารสำคัญบางชนิดได้

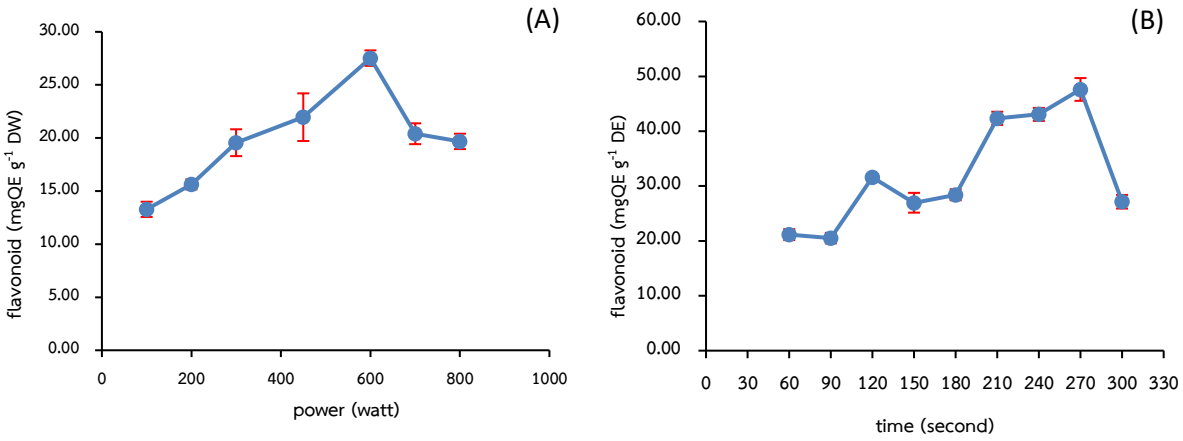


Figure 1 Extraction of bioactive compounds by microwave technique; power (watt) (A) and time (second) (B)

ทำการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลต่อน้ำที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0:100, 10:90, 20:80, 40:60, 60:40, 80:20 และ 100:0 จากผลการทดลองพบว่าสารฟลาโวนอยด์จากดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งที่ได้จากการสกัดจากความเข้มข้นของเอทานอลต่อน้ำแตกต่างกัน พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีค่าอยู่ในช่วง 21–38 mg QE g^{-1} DW โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ทำการสกัดก็มีค่าเพิ่มขึ้นตาม ผลการทดลองที่ได้พบว่าเมื่อใช้เอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำการสกัดสารฟลาโวนอยด์ได้มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 38.33±2.83 mg QE g^{-1} DW (Figure 2A) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้เอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ในการสกัดสาระสำคัญดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้ง เนื่องจากทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสาระสำคัญได้ออกมาในปริมาณมากที่สุด และทำการศึกษาจำนวนครั้งที่สกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ครั้ง ผลการทดลองพบว่า สารฟลาโวนอยด์จากดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งที่ได้จากการสกัดจากจำนวนครั้งที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีค่าอยู่ในช่วง 15–39 mg QE g^{-1} DW เมื่อจำนวนครั้งในการสกัดเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ทำการสกัดมีค่าลดลง จากผลการทดลองที่ได้พบว่า เมื่อสกัดเพียง 1 ครั้ง สามารถทำการสกัดสารฟลาโวนอยด์ได้มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 39.13±2.22 mg QE g^{-1} DW (Figure 2B) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงสกัดสารสำคัญในดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้งเพียง 1 ครั้ง เนื่องจากทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสาระสำคัญได้ปริมาณมากที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดมากขึ้นส่งผลทำให้เกิดความร้อนที่สูงขึ้น ทำให้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์เกิดการสลายตัวไป จึงทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้มีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Taokaenchan *et al.* (2022) ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดที่แตกต่างกันต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในกระชายดำ รายงานว่าเมื่อทำการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟด้วยสารละลายเอทานอลต่ออัตราส่วน 100:0 สามารถสกัดสารฟาโวนอยด์สูงที่สุดเท่ากับ 93.43±9.78 mg QE g^{-1} DW อัตราส่วนนี้มีประสิทธิภาพในการสกัดสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ดี และ Sopittummakhun and Rattanasinganchan (2017) ได้ศึกษาการสกัดและวิธีวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรกล่าวว่าการแช่ในตัวทำละลายเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร และยังเป็นวิธีที่ใช้กับการสกัดสาร

จากทุกส่วนของพืช ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และเฮกเซน ซึ่งทำให้สารที่ถูกสกัดออกมาในชั้นของตัวทำละลายแต่ละชนิดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด

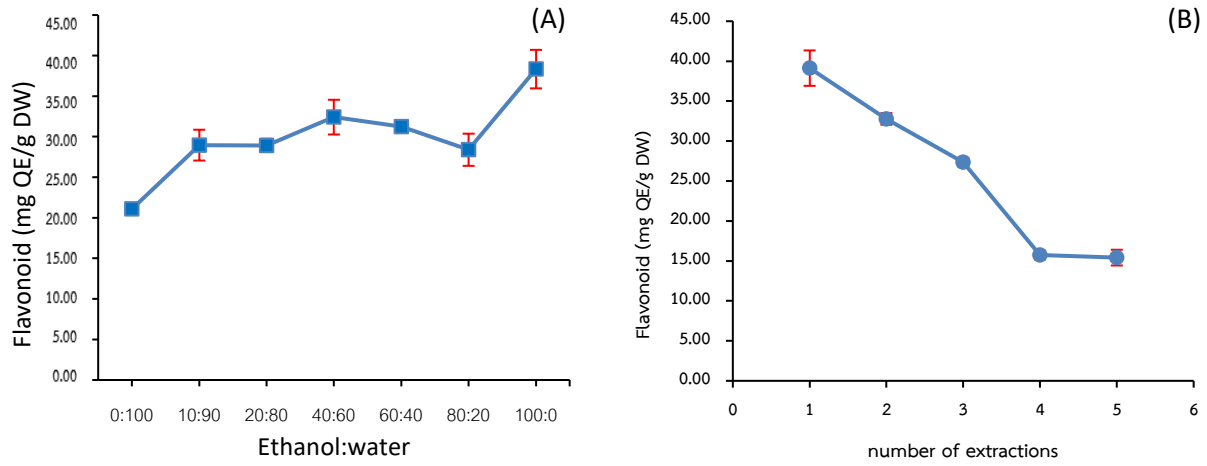


Figure 2 Microwave-assisted extraction: effect of ethanol: water ratio

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดตัวอย่างกล้วยไม้เอื้องผึ้งจากส่วนของลำลูกกล้วย ดอก และใบ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้เอื้องผึ้งจากส่วนใบ ลำต้น ราก และดอก การศึกษาพบว่าชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่นำไปเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าในดอกเอื้องผึ้งพบสารฟาโวนอยด์มากที่สุด และรองลงมาพบสารประกอบฟีนอลลิก DPPH และ Antityrosinase, IC50 จากนั้นนำดอกเอื้องผึ้งไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเทคนิคไมโครเวฟในดอกกล้วยไม้เอื้องผึ้ง พบว่าดอกเอื้องผึ้งพบสารฟาโวนอยด์มากที่สุด ดังนั้นในการเปรียบเทียบการสกัดด้วยเทคนิคของไมโครเวฟ จึงได้ใช้สารกลุ่มดังกล่าวเป็นตัวเปรียบเทียบกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในสกัดที่เหมาะสม 600 วัตต์ ระยะเวลาในการสกัดสารที่เหมาะสม คือ ใช้เวลา 270 วินาที อัตราส่วนระหว่าง ethanol : water ที่เหมาะสมคือ 100:0 และใช้วิธีการสกัดสารจำนวน 1 ครั้ง ในการสกัดให้ผลดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาระบบการปลูกเลี้ยงและการเพิ่มศักยภาพการผลิตในการสกัดกลิ่นหอมของกล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้บางชนิดเพื่อเป็นต้นแบบการนำไปใช้ประโยชน์ด้านเครื่องสำอางและการอนุรักษ์ (Development in Thai Orchids Cultivation System for Aromatherapy Products Cosmetic Prototype Conservation) ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยงานมูลฐาน (Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ขอขอบคุณคณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และโครงการคืนชีวิตกล้วยไม้ไทยสู่ไพรพฤกษ์อันเนื่องมาจากพระราชดำริที่อนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

Chang, C.H., H.Y. Lin, C.Y. Chang and Y.C. Liua. 2006. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering** 77: 478–485.

Mapoung, S., W. Semmarath, P. Arjsri, S. Umsumarng, K. Srisawad, P. Thippraphan, S. Yodkeeree and P. Limtrakul (Dejkriengkraikul). 2021. Determination of phenolic content, antioxidant activity, and tyrosinase inhibitory effects of functional cosmetic creams available on the Thailand market. **Plants** 10(1383): 1–18.

Nguyen, H.A., K.H. Lin, M.Y. Huang, C.M. Yang, T.H. Shin, T.C. Hsiung, Y.C. Lin and F.C. Tsao. 2018. Antioxidant activities of the methanol extracts of various parts of Phalaenopsis orchids with white, yellow, and purple flowers. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca** 46(2): 457–465.

Obsuwan. K., B.R. Jeong and S. Maksup. 2019. Analysis of bioactive compounds, polysaccharides and antioxidant activity in different parts of Dendrobium Sonia Jo Daeng. **Science, Engineering and Health Studies** 13(2): 73–82.

Phunsawan, B. 2013. Free radicals, antioxidants, and antioxidant activity analysis. **Journal of Science and Technology** 21(3): 275–286.

Singh, R.P., K.N. Chidambara and G.K. Jayaprakasha 2002. Studies on the activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50(1): 81–86.

Siriwattanamethanon, N. 2020. Multi-coloured food there are many benefits (Part 1): what are multicolored foods. Retrieved from https://pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge/files/0148.pdf [in Thai]

Sopittummakhun, K. and P. Rattanasinganchan. 2017. Extraction and determination of antioxidant activity in herbal plant. **Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journa** 3(1): 86–94. [in Thai]

Suedee, A. 2017. Microwave-assisted extraction of active compounds from medicinal plants. **EAU HEritAgE JoUrnAlScience and Technology** 11(1): 1–14. [in Thai]

Taokaenchan, N., K. Areesrisom, P. Areesrisom, Y. Maifaey, J. Philadee and S. Sateinperakul. 2021. Contents of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of *Dendrobium* spp. in Maejo University, Chiang Mai province. **Journal of Science and Technology Yala Rajabhat University** 7(1): 21–28. [in Thai]

Taokaenchan, N., K. Areesrisom, P. Areesrisom, V. Maifaey, R. Kongtanajaruanun and S. Sateinperakul. 2022. Comparison of different extraction methods and solvent ratios on yield, content of total phenolic and flavonoid in *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker. **Maejo Journal of Agricultural Production** 4(1): 77–90. [in Thai]

Thanaphat, S. 2016. **Extraction of active chemical constituent of herbal medicinal plant using microwave-assisted extraction technique.** Retrieved from https://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=79

Ueda, Y., N. Apiphuwasukcharoen, S. Tsutsumi, Y. Matsuda, V. Areekul and S. Yasuda. 2019. Optimization of hot-water extraction of dried yacon herbal tea leaves: enhanced antioxidant activities and total phenolic content by response surface methodology. **Food Science and Technology Research** 25(1): 131–139.

Watcharakupt, O., P. Bunjong, C. Boonyarat and A. Sinthong. 2007. **Radical Scavenging Agent.** Bangkok: New Thaimit Printing. 262 p. [in Thai]

Yan, M-M, W., Liu, Y-J. Fu, Y-G. Zu, C-Y. Chen and M. Luo. 2010. Optimisation of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in *Radix astragali*. **Food Chemistry** 119(4): 1663–1670.