การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด

Analyses of Bioactive Ingredients and Antioxidant Activities of Some Edible Flowers

พสุธร อุ่นอมรมาศ[1/] **และ สรณะ สมโน**[1/*]

Pasutorn Ounamornmas[1/] and Sarana Sommano[1/*]

[1/]*ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200*

[1/]*Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200*

**Corresponding author: Email: sarana@cmu.ac.th*

(Received: 29 January 2016; Accepted: 9 June 2016)

Abstract: The research aim was to investigate bioactive compounds and analyse antioxidant capacities and total phenolic content of five common Thai edible flowers, including Marigold (*Tagetes erecta* L.), Paper flower (Bougainvillea hybrid), Ixora (*Ixora chinensis* Lamk), Cape Jasmine (*Gardenia jasminoides* Ellis) and Damask Rose (*Rosa damascene)*. Dried samples were serially extracted with hexane, dichloromethane and methanol and the bioactive compounds were separated and quantitatively identified using Thin Layer Chromatography (TLC). The extracts were then analysed for antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC). Total phenolics content was also assessed. The results illustrated that among the extracting solvent used, yields of methanolic extracts was the highest (8-12%) in all flowers. Staining with the specific solutions, flavonoids and phenolic compounds in methanol extracts were also detected by TLC from all flower types. These same extracts were analysed for antioxidant potential and total phenolic content. Paper flower, Ixora and Damask Rose gave the highest values of DPPH radical scavenging activity (90%) ($p \leq 0.05$). All samples had more than 90% inhibition of free radical activity and equivalent to trolox approximately 17 mg/g sample tested by TEAC assay. Moreover, the greatest amount of total phenolic content was from Damask Rose (31.91 mg GAE/ g sample) ($p \leq 0.05$).

Keywords: Antioxidants, antioxidant activity determination, total phenolic

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์หากลุ่มสารสำคัญ กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดของดอกไม้ไทยที่บริโภคได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ดอกเฟื่องฟ้า (Bougainvillea hybrid) ดอกเข็ม (*Lxora chinensis* Lamk) ดอกพุดซ้อน (*Gardenia jasminoides* Ellis) และดอกกุหลาบมอญ (*Rosa damascene)* ด้วยการสกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากนั้นนำมาจำแนกกลุ่มสารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีแผ่นบาง (TLC) และทำการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay, Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้ปริมาณผลผลิตของสารที่สกัดได้สูงที่สุดร้อยละ 8-12 และการจำแนกสารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีแผ่นบาง (TLC) พบสารสำคัญในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดของดอกไม้ทุกชนิดที่สกัดด้วยเมทานอล สารสกัดเมทานอลจากดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม และดอกดาวเรืองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงถึงร้อยละ 90 และสารสกัดเมทานอลจากดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC สูงถึงร้อยละ 90 มากกว่าสารกัดเฮกเซน และ ไดคลอโรมีเทนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 17 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม ส่วนสารสกัดเมทานอลจากดอกกุหลาบมอญมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (31.91 mg gallic acid equivalents/ g sample) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดอกไม้ที่นำมาทดสอบชนิดอื่น ๆ ($p<0.05$)

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

คำนำ

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาผู้บริโภคมีแนวโน้มที่จะให้ความสนใจเรื่องสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการรับประทานผักและผลไม้เพื่อสุขภาพที่ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเชื่อกันว่าสามารถช่วยชะลอหรือป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ได้แก่สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งพบมากในผักและผลไม้ ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (ลดาชาติ และคณะ, 2544)

นอกจากการบริโภคผักและผลไม้แล้วยังพบว่าการบริโภคดอกไม้ที่สามารถรับประทานได้ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคปัจจุบันให้ความสนใจ ในดอกไม้มีรงควัตถุชนิดต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งดอกไม้แต่ละชนิดมีคุณค่าทางอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไป (สุพัตรา, 2548) นอกจากนี้ในดอกไม้ยังมีทั้งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Shi *et al*., 2008; Kaisoon *et al*., 2011)

ดอกไม้ได้ถูกนำมาบริโภคเป็นอาหารมาตั้งแต่สมัยโบราณ ซึ่งสามารถพบเห็นได้ทั้งในทวีปยุโรป เอเชีย และตะวันออกกลาง ในประเทศไทยดอกไม้หลายชนิดถูกนำมาบริโภคเช่นเดียวกับผัก เช่นนำมาเป็นส่วนผสมในสลัด ตกแต่งในจานอาหารหรือเป็นส่วนประกอบในแกง เช่น ดอกสะเดา (*Azadirachia indica*) ดอกโสน (*Sesbania grandiflora*) ดอกขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) ดอกกุหลาบ (*Rosa damascena*) ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) ดอกเข็ม (*Lxora* chinensis) เป็นต้น (Chaichit, 2004; Chuakul *et al*. 1997; Krasaekoopt and Kongkarnchanatip, 2005; Plailek, 2005; Saralamp *et al*., 1996) ดอกไม้เหล่านี้ ตามหลักฐานทางพฤกษศาสตร์ท้องถิ่นเชื่อว่าสามารถรักษาโรคและอาการเจ็บป่วยได้ เช่น ท้องเสีย ปวดท้อง คลื่นไส้ เป็นต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากศักยภาพในการต้านจุลชีพของดอกไม้เหล่านั้น (Boonyaprapatsara, 2000; Vachirasup, 1995) มีรายงานดอกไม้ที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ ดอกเข็ม กุหลาบ ชบา ขจร แค และ ปลัง โดยมีค่า 0.28, 0.22, 0.21, 0.11, 0.10 และ 0.09 mM Trolox equivalent / g of fresh weight ตามลำดับ (อรสุรินทร์

และคณะ, 2553) ส่วนดอกเฟื่องฟ้า ดอกดาวเรืองและดอกพุดซ้อนยังไม่พบรายงาน

งานวิจัยเกี่ยวกับสารสำคัญในดอกไม้รับประทานได้ของไทยยังมีอยู่ไม่มากนัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารสำคัญและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ไทยกินได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับอาหารสุขภาพ (functional food) ในอนาคต และเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริโภคที่จะรับประทานดอกไม้กินได้ หรือการนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ผักสลัดบรรจุถุง (ready to eat salad mix) เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่อาหารประเภทสลัด เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมและการสกัดตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างดอกไม้กินได้ที่ใช้ประกอบอาหารมา 5 ชนิด ได้แก่ ดอกดาวเรือง (Marigold: *Tagetes erecta* L.) ดอกเฟื่องฟ้า (Paper flower: *Bougainvillea* hybrid) ดอกเข็ม (Ixora: *Lxora chinensis* Lamk) ดอกพุดซ้อน (Cape Jasmine: *Gardenia jasminoides* Ellis) และดอกกุหลาบมอญ (Damask Rose: *Rosa damascene*) เก็บตัวอย่างในบริเวณพื้นที่มหาวิยาลัยเชียงใหม่ ในระยะดอกบานเต็มที่ (fully open stage) โดยใช้เฉพาะส่วนกลีบดอกของดอกไม้ทุกชนิด นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจนมีความชื้นไม่เกิน 5% ตัวอย่างแห้งที่ได้นำมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยสารเคมีเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลตามลำดับ (serial extraction) ดังแสดงในภาพที่ 1 ด้วยอัตราส่วนดอกไม้ : สารเคมี (1 : 20) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองเอากากออก ทำการสกัดด้วยสารเคมีชนิดละ 3 ครั้ง สารละลายที่สกัดได้ทั้ง 3 ชนิดถูกนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ แววจันทร์ และคณะ, 2549) ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) และคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัด (% yield) (Lagu and Frederick, 2012) และเก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสระยะเวลาไม่เกิน 1 เดือน เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

2. การจำแนกชนิดของสารสกัดด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล (0.5 กรัม) จะถูกละลายในตัวทำละลายชนิดเดียวกันในปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปจำแนกหาสารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟฟีแผ่นบาง (TLC) โดยนำสารละลายที่ได้จากการละลายด้วยตัวทำละลายปริมาตร 10 ไมโครลิตร ไปหยดลงบนแผ่น TLC (TLC silica gel 60 F254, Merck) และนำไปจำแนกสารออกฤทธิ์สำคัญโดยสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน และไดคลอโรมีเทน ใช้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) คลอโรฟอร์ม : เอทิล แอซิเตต : กรดฟอร์มิก อัตราส่วน 5 : 4 : 1 (Malbasa *et al*., 2004) สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล ใช้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ คลอโรฟอร์ม : เอทิล แอซิเตต : เมทานอล : กรดฟอร์มิก อัตราส่วน 5 : 4 : 2 : 1 (ดัดแปลงจากวิธีของ Malbasa *et al*., 2004)

จากนั้นนำมาตรวจวิเคราะห์หากลุ่มสารสำคัญดังต่อไปนี้

2.1 การวิเคราะห์หาสารฟลาโวนอยด์ โดยใช้การสเปรย์ด้วยสารละลาย Aluminium Chloride ($AlCl_3$) แล้วนำไปส่องภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร (Touchstone, 2015) หากมีสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์จะปรากฏแถบสีเหลืองหรือสีส้ม

2.2 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก ตรวจสอบโดยทำการสเปรย์ด้วยสารละลาย Ferric Chloride 1% ในสารละลายเมทานอล : น้ำ, 1 : 1 หากมีสารประกอบประเภทฟีนอลจะเกิดสีน้ำเงิน-ม่วงขึ้น (Stahl, 1969)

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยการฉีดพ่นน้ำยาดีพีพีเอช (DPPH reagent) โดยการฉีดพ่นน้ำยาดีพีพีเอช (รัตนา, 2550) ดังนี้ จุดสารสกัดส่วนดอกลงบนแผ่น TLC จากนั้นจุ่มแผ่น TLC ในระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่ทำการฉีดพ่นน้ำยา DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ ให้ทั่วแผ่น TLC ถ้าในสารสกัดมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบ จะเกิดจุดสีม่วงฟอกจาง

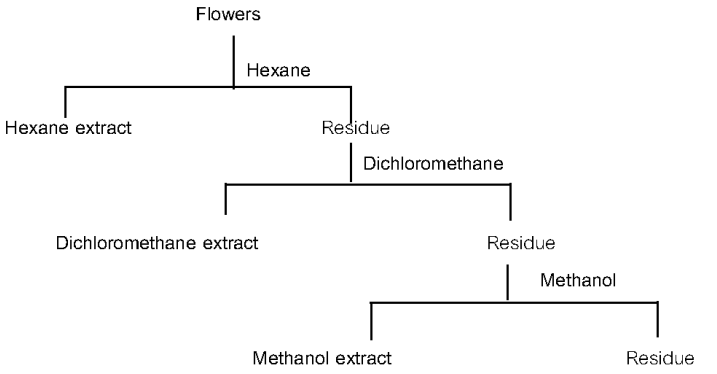


Figure 1 Serial extraction of edible flowers with hexane, dichloromethane and methanol

3. การวิเคราะห์หาความสามารถต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิก

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Molan *et al*., 2009; Duan *et al*. 2011) นำตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติม DPPH (0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ใน 95% เอทานอล) 250 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากสูตร DPPH radical scavenging activity % = [1-(A sample/A blank)] x100

เมื่อ A sample = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง A

A blank = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ DPPH

3.2 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

เตรียมสารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) เข้มข้น (stock solution) โดยผสม ABTS 7 มิลลิโมลาร์ กับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 2.45 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 คืนเพื่อให้สารเคมีทำปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์

วิธีวิเคราะห์นำสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ เข้มข้นมาเจือจางโดยใช้ sodium phosphate buffer (PBS, pH 7.4) ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.40 ที่ความยาวคลื่น 734 nm นำสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ที่เจือจางแล้วปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาทีแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีภายในเวลา 1 นาที ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Sommano *et al*., 2013)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics content) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteau Reagent นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยสารสกัดชนิดนั้น ๆ อัตราส่วน 1 : 10 นำตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับ 10% Folin Ciocalteu reagent 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 1 นาที เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 700 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (ช่วงความเข้มข้น 20-500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และรายงานผลเป็นน้ำหนักเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่าง 1 กรัม (mg GAE/ g sample) (Sommano *et al*., 2013)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) แบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลอง

การศึกษาสารสกัดตัวอย่างพืชที่เหมาะสม

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดสุดท้ายของสารสกัดจากดอกไม้ 5 ชนิด พบว่าการสกัดดอกดาวเรืองด้วยเมทานอลให้ปริมาณสารสกัดสุดท้ายสูงที่สุดร้อยละ 12 รองลงมาคือ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกเข็ม และดอกพุดซ้อน ตามลำดับ การสกัดด้วยเฮกเซน ดอกดาวเรืองให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดร้อยละ 10 รองลงมาได้แก่ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกพุดซ้อนและดอกเข็ม ตามลำดับ

ส่วนการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารสกัดน้อยที่สุด ดอกดาวเรือง มีปริมาณสารสกัดร้อยละ 7 รองลงมาคือ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกกุหลาบมอญ ดอกพุดซ้อนและดอกเข็ม ดังแสดงในตารางที่ 1

การจำแนกชนิดของสารสกัดด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

จากการตรวจสอบสารสำคัญในสารสกัดเฮกเซนด้วยวิธี TLC ไม่พบสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลในดอกไม้ทุกชนิด (ภาพที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับการหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 5) เนื่องจากในสารสกัดเฮกเซนมีสารฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับสารที่สกัดด้วย เมทานอลและไดคลอโรมีเทน และไม่พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยเฮกเซนของดอกดาวเรือง เมื่อทำการสเปรย์ด้วยสารทดสอบจึงไม่ปรากฏแถบสารดังกล่าว (ภาพที่ 3)

ส่วนการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดโดยใช้สารละลายที่ใช้ในการสกัด 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าสารสกัดจากดอกไม้ในสารละลายที่ใช้สกัดทุกชนิดเกิดการฟอกจางสีม่วงจากสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่พบว่าสารสกัดของดอกไม้ในเมทานอล แสดงในตารางที่ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดถึงร้อยละ 90 จึงเกิดการฟอกสีจางเป็นวงกว้างและตลอดแนวการเคลื่อนที่บนแผ่น TLC รองลงมาคือในสารสกัดไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนตามลำดับ (ภาพที่ 4)

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ของสารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตารางที่ 3) พบว่าการสกัดดอกไม้ด้วยสารละลายเมทานอล ให้สารสกัดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดรองลงมาคือการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และการสกัดด้วยเฮกเซนให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด สารสกัดจากดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม และดอกดาวเรืองที่สกัดด้วยเมทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงถึงร้อยละ 90 รองลงมาคือดอกเฟื่องฟ้าร้อยละ 62 และดอกพุดซ้อนร้อยละ 37

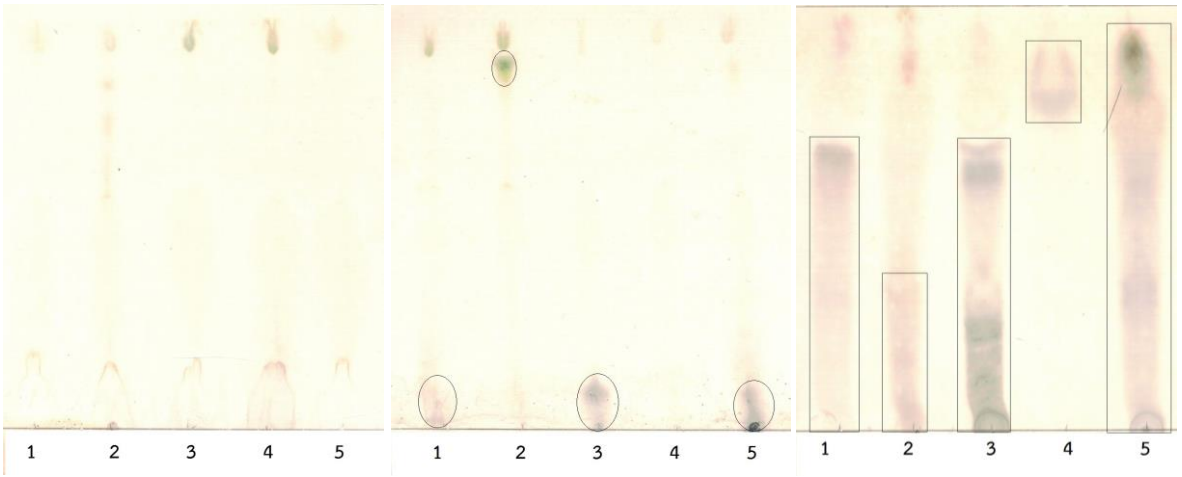
ในสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระรองลงมาระหว่างร้อยละ 23-30 ยกเว้นดอกกุหลาบมอญร้อยละ 67 ส่วนในสารสกัดเฮกเซน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดระหว่างร้อยละ 12-17 ยกเว้นในดอกพุดซ้อนที่ร้อยละ 41

Table 1 Yield (%) of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Yield (%)		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	10.02 ±0.48	7.01^{a} ±0.77	12.21 ±0.96
Paper flower	7.79 ±0.11	5.98 ±0.46	10.05^{b} ±0.41
Ixora	5.42 ±0.16	3.56^{c} ±0.27	9.43^{b} ±0.57
Cape Jasmine	5.69 ±0.19	3.78^{c} ±0.33	8.18^{c} ±0.64
Damask Rose	8.06 ±0.22	4.98^{b} ±0.21	11.54^{a} ±0.89

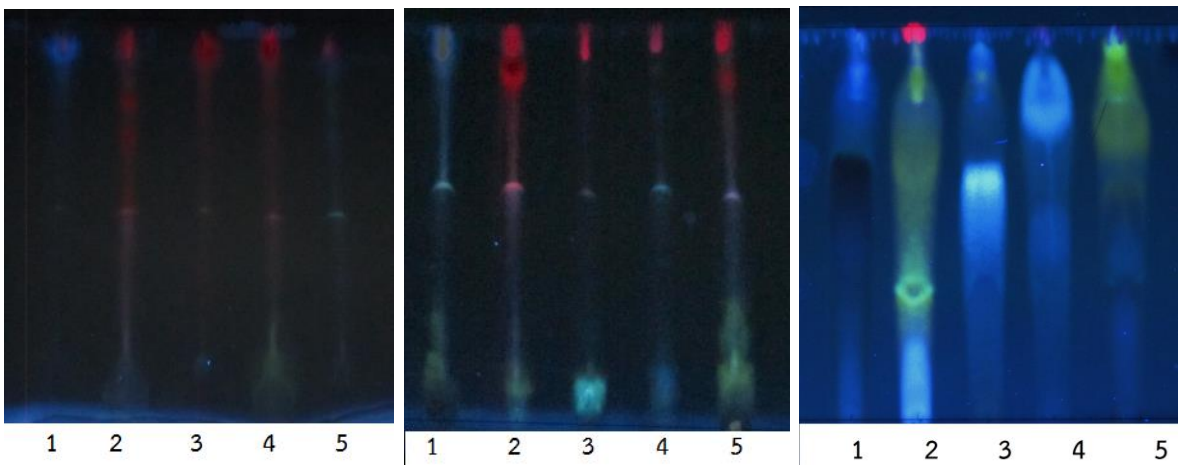
Values are means of three replications ± standard error.

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different ($P \geq 0.05$)



Hexane extract Dichloromethane extract Methanol extract

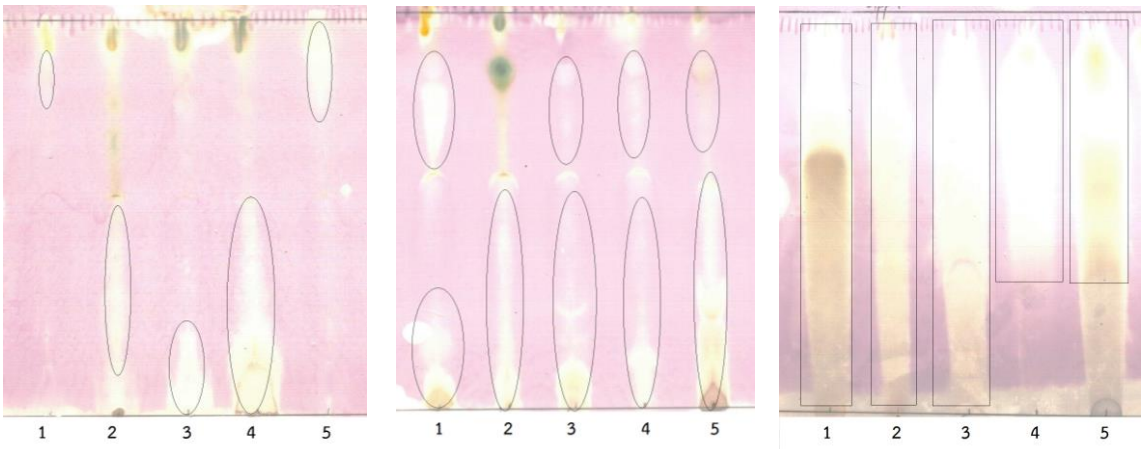
Figure 2 Detection of phenolic compounds on TLC after sprayed with 1% (v/v) ferric chloride reagent of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively



Hexane extract Dichloromethane extract Methanol extract

Figure 3 Detection of flavonoids on TLC after sprayed with aluminium chloride and viewed under UV light (360 nm) of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (ตารางที่ 4) พบว่าสารกัดด้วยไดคลอโรมีเทนของดอกพุดซ้อนและดอกเข็ม มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ร้อยละ 91 และ 55 และมีความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร Trolox 16 และ 10 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัมตามลำดับ ส่วนในดอกไม้ชนิดอื่นมีความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 5 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม และความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 27-30 ส่วนในสารสกัดด้วยเมทานอลของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิด มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) มากกว่าร้อยละ 90 และมีความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 17 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม



Hexane extract Dichloromethane extract Methanol extract

Figure 4 Detection of antioxidant potentials on TLC after sprayed with DPPH reagent of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively

Table 2 Detection of bioactive compounds on TLC of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Test	Hexane extract	Dichloromethane extract	Methanol extract
Marigold	Flavonoids	-	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Paper flower	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Ixora	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Cape jasmine	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	-	+
	DPPH	+	+	+
Damask Rose	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+

+ detected - not detected

Table 3 DPPH Radical Scavenging Capacity of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	% Radical Scavenging		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	15.54^{c} ±2.93	24.44^{c} ±0.49	90.24 ±0.37
Paper flower	11.79^{d} ±2.63	23.70^{c} ±0.31	62.44^{b} ±0.85
Ixora	17.31^{b} ±2.14	30.09^{b} ±1.89	90.07^{a} ±0.61
Cape Jasmine	41.28^{a} ±2.93	29.92^{b} ±0.55	37.61^{c} ±2.26
Damask Rose	15.76^{c} ±2.75	67.75^{a} ±1.77	90.76^{a} ±0.12

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different (P ≥ 0.05)

Table 4 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Hexane		Dichloromethane		Methanol	
	% Inhibition	Trolox (mg/g sample)	% Inhibition	Trolox (mg/g sample)	% Inhibition	Trolox (mg/g sample)
Marigold	0	0	28.25^{c} ±4.45	5.34^{c} ±0.81	94.72 ±0.21	17.45 ±0.04
Paper flower	0	0	30.33^{c} ±1.92	5.72^{c} ±0.35	93.65 ±1.03	17.25 ±0.19
Ixora	0	0	55.23^{b} ±1.78	10.26^{b} ±0.32	95.11 ±0.07	17.52 ±0.01
Cape Jasmine	0	0	91.62^{a} ±0.89	16.88^{a} ±0.16	92.93 ±0.55	17.12 ±0.10
Damask Rose	46.90 ±1.37	8.74 ±0.25	26.99^{c} ±2.26	5.11^{c} ±0.41	94.48 ±0.55	17.40 ±0.10

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different (P ≥ 0.05)

ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิก

จากการวิเคราะห์สารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 5) พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้สารกลุ่มฟีนอลิกสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดอื่น มีสารกลุ่มฟีนอลิกระหว่าง 25-31 mgGAE/g sample พบสารฟีนอลลิกในดอกกุหลาบมอญสูงที่สุด 31.91 ±0.09 mgGAE/g sample การสกัดดอกไม้ด้วยไคคลอโรมีเทนให้สารกลุ่มฟีนอลิกระหว่าง 3-23 mgGAE/g sample โดยพบในดอกเข็มมากที่สุด 23.41 ±0.47 mgGAE/g sample และพบในดอกกุหลาบมอญน้อยที่สุด 3.06 ±0.11 mgGAE/g sample ส่วนการสกัดด้วยเฮกเซนให้สารกลุ่มฟีนอลิกน้อยที่สุดระหว่าง 1-5 mgGAE/g sample เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยเฮกเซนและไดลอโรมีเทน

สรุปและวิจารณ์

ดอกไม้เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ เช่น phenolic acids ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ (Kaur *et al*., 2006; Youwei *et al*., 2008) การสกัดสารสำคัญที่อยู่ในพืชโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ที่นิยมใช้ในปัจจุบันได้แก่ แอซีโทน เอทานอล เมทานอล เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลแอซิเตต และสารสกัดแอลกอฮอล์ผสมกับน้ำ (Hydroalcoholic mixtures) (Peschel *et al*., 2006; Bushra *et al*., 2009) รายงานการวิจัยของวาทิน และคณะ 2556; พัชรีและคณะ 2556 ได้ทำการทดสอบสาร

Table 5 Total phenolics content of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Total Phenolic contents (mgGAE / g sample)		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	2.04^{b} ±0.48	13.18^{b} ±1.07	29.23^{b} ±0.28
Paper flower	5.75^{a} ±0.11	8.32^{c} ±1.12	26.79^{c} ±0.24
Ixora	2.18^{b} ±0.66	23.41^{a} ±0.47	28.96^{b} ±0.16
Cape Jasmine	1.42^{d} ±0.09	6.58^{d} ±0.53	24.34^{d} ±0.40
Damask Rose	1.83^{c} ±0.22	3.06^{e} ±0.11	31.91^{a} ±0.09

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different (P ≥ 0.05)

ต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้กินได้ด้วยเอทานอลพบว่ามีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด เป็นสารที่ใช้สกัดที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากที่มีขั้วน้อยไปมีขั้วมาก ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากการทดลองพบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด รองลงมาคือเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ซึ่งผลผลิตของสารสกัดมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดสารที่ใช้สกัดและความมีขั้วในการสกัดสารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของพืช (Sultana *et al*., 2009) สารสำคัญที่พบในดอกไม้ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ มีความเป็นขั้วสูง (polar compounds) เมื่อสกัดด้วยเมทานอลซึ่งมีขั้วสูง จึงสามารถสกัดสารเหล่านี้ออกมาจากตัวอย่างพืชได้ มากกว่าเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน จึงทำให้มีปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ TEAC พบว่าสารสกัดเมทานอลของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 25-31 mgGAE / g sample) สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเมล็ดลำไยประมาณ 50-100 เท่า (สุรินทร์ และสุริยา, 2558) และมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 90 เฉพาะในดอกดาวเรือง ดอกเข็มและดอกกุหลาบมอญและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมากกว่าร้อยละ 90

จากตัวอย่างดอกไม้ทุกชนิดที่นำมาวิเคราะห์มีสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบในสารสกัดเมทานอล พบว่า ดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม ดอกดาวเรือง มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงใกล้เคียงกัน รองลงมาคือดอกเฟื่องฟ้า และดอกพุดซ้อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณรงควัตถุในดอกไม้ที่ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Youwei *et al*. (2008) ที่ได้ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ของประเทศจีนพบว่าดอกไม้ในกลุ่มสีแดง มีสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลสูงกว่ากลุ่มสีอื่น ๆ และงานวิจัยของ Kaisoon *et al*. (2012) รายงานว่าในดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) มีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า ดอกเฟื่องฟ้า ดอกดาวกระจายและดอกพวงชมพูประมาณ 2 เท่า

จากผลการวิเคราะห์สารสำคัญจากดอกไม้กินได้ทั้ง 5 ชนิดพบว่าดอกไม้กินได้ที่มีศักยภาพเป็นอาหารเชิงสุขภาพ (fuctional food) มีปริมาณสารฟีนอลิกและมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็มและดอกดาวเรือง ดอกไม้กินได้เหล่านี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ผู้บริโภคนำไปเป็นส่วนประกอบเพิ่มเติมในอาหาร และสามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทผักได้

เอกสารอ้างอิง

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2550 (พิมพ์ครั้งที่ 2). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. แอคทีฟ พริ้นท์, กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

พัชรี สิริตระกูลศักดิ์ ประสิทธิ์ ชุติชูเดช เบ็ญจวรรณ ชุติชูเดช มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย และ เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง. 2556. กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้ 15 ชนิด ในจังหวัดมหาสารคาม. วารสารแก่นเกษตร พิเศษ(1): 607-611

ลดาชาติ แต่พงษ์โสรัถ อธิกา จารุโชติกมล วนิดา ไทรชมภู และ ปิยะวรรณ กำลังมาก. 2544. รายงานการวิจัยฤทธิ์ต้าน ออกซิแดนท์ของผักพื้นบ้านในเขตจังหวัดมหาสารคาม. รายงานการวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม. 36 หน้า.

วาทิน พูลสวัสดิ์ และ จีรวัฒน์ สวัสด์พิพัฒน์. 2556. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นและพฤกษเคมีของดอกไม้กินได้. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/specialproject/2556-25.pdf (20 พฤษภาคม 2559).

แววจันทร์ พงค์จันตา พัชราพร ไชยชนะ และ พิทยา สรวมศิริ. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากตะไคร้หอมในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าในมะม่วงและโรคโคนเน่าในผัก. วารสารเกษตร 22(1): 75-80

สุพัตรา แซ่ลิ่ม. 2548. อาหารจานดอกไม้. สำนักพิมพ์คุณพ่อ, กรุงเทพฯ. 176 หน้า.

สุรินทร์ นิลสำราญจิต และสริยา ตาเที่ยง. 2558. สัณฐานวิทยาเมล็ดและสารประกอบโพลีฟีนอลของลำไย. วารสารเกษตร 31(2): 167-175

อรสุรินทร์ ฮวบบางยาง มัณฑนา บัวหนอง เฉลิมชัย วงษ์อารี ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร และวาริช ศรีละออง. 2553. การศึกษาคุณค่าทางอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ที่รับประทานได้ วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ 41(3/1)(พิเศษ): 381-384

Boonyaprapatsara, N. 2000. Thai traditional herbal medicine plant Vols. 1 and 4. Prachachon Publishers, Bangkok.

Bushra, S., A. Farooq and A. Muhammad. 2009. Effect of extraction solvent technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules. 14: 2167-2180.

Chaichit, C. 2004. Thai herbs and herbal products. The National Identity Office. Bangkok. 240 p.

Chuakul, W., P. Saralamp, W. Paonil, R. Temsiri-rikkul and T. Clayton. 1997. Medicinal plants in Thailand Volume II. Amarin Printing and Publishing Public. Bangkok. 248 p.

Duan, X., T. Liu, D. Zhang, X. Su, H. Lin and Y. Jiang. 2011. Effect of pure oxygen atmosphere on antioxidant enzyme and antioxidant activity of harvested litchi fruit during storage. Food Research International 44: 1905-1911.

Kaisoon, O., S. Siriamornpun, N. Weerapreeyakul and N., Meeso. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. Food Research International 3: 88-99.

Kaisoon, O., I. Konczak and S. Siriamornpun. 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. Food Research International 46(2): 563-5.

Kaur, G., M.S. Alamb, Z. Jabbar, K. Javed and M. Athar. 2006. Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers. Jounal Ethnopharmacology 108: 340-348.

Krasaekoopt, W. and A. Kongkarnchanatip. 2005. Anti-microbial properties of Thai traditional flower vegetable extracts. Assumption University Journal of Technology 9(2): 71-74.

Lagu, C. and K.I.B. Frederick. 2012. In vitro antimicrobial activity of crude extracts of *Erythrina abyssinica* and *Capsicum annum* in poultry diseases control in the South

Western agro-ecological zone of Uganda. pp. 597-614. *In*: Perez-Marin, C.C. (Ed.). A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine. InTech. Rijeka.

Malbasa, R., E. Loncar and L. Kolarov. 2004. TLC analysis of some phenolic compounds in Kombucha beverage, Acta Periodica Technologica 35: 199-205.

Molan, A.L., J. Flanagan, W. Wei and P.J. Moughan. 2009. Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. Food Chemistry 114: 829-835.

Peschel, W., F. Sanchez-Rabaneda, W. Dn, A. Plescher, I. Gartzia, D. Jimenez ,R. Lamuela-Raventos, S. Buxaderas and C. Condina. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. Food Chemistry 97: 137-150.

Plailek, W. 2005. Edible flowers. Home and Garden Press (In Thai). Bangkok.

Saralamp, P., W. Chuakul, R. Temsiririrkkul and T. Claylon. 1996. Medicinal plants in Thailand. Volume I. Amarin Printing and Publishing Public. Bangkok. 219 p.

Shi, J., J. Gong, J. Liu, X. Wu and Y. Zhang. 2008. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of Prunsmume in China and its active components. Food Science Technology 42: 477-482.

Sommano, S., N. Caffin and G. Kerven. 2013. Screening for Antioxidant Activity, Phenolic Content, and Flavonoids from Australian Native Food Plants. International Journal of Food Properties 16(6): 1394-1406.

Stahl, E. 1969. Thin Layer Chromatography. 2nd ed. Springer-Verlag. New York. 1041 p.

Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules 14: 2167-2180.

Touchstone, J.C. 2015. Practice of Thin Layer Chromatography. 3rd ed. Wiley-Interscience. New York. 400 p.

Youwei, Z., Z. Jinlian and P. Yonghong. 2008. A comparative study on the free radical scavenging activities of some fresh flowers in southern China. LWT-Food Science and Technology 41: 1586-1591.

Vachirasup, T. 1995. Senna plant in Thailand, 1st ed. Mahidol University, Faculty of Pharmacy, Bangkok