



ISSN 2985-0835

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE

Vol. 46 (1); January-June (2024), pp. 27-33

<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

Antioxidant and Anti-acne Causing Bacteria (*Cutibacterium acnes*) Activities of Essential Oil from Marigold Flower (*Tagetes erecta* L.)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกว่าออสิว (*Cut bacterium acnes*) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.)

ณัฏพร มโนใจ¹, เทยูน โรห์², ปณิตา เดชณัฐภูมิ³, รัชชานนท์ อติศักดิ์ภิรมย์⁴, จินห์นิภา จินวรรณ⁵, ชวยศ อนุรักษ์วงศ์ศรี⁶, จุฑามาต ดวงกมล¹, สาทิด เอี่ยมจงจันทร์^{1*}

Natthaporn Manojai¹, Taeyoon Roh², Pundita Detnattawut³, Ratchanon Adisakpirom⁴, Jinnipa Jinwan⁵, Chawayot Anurakwongsi⁶, Chuthamat Duangkamol¹, Sathid Aiemjongjan^{1*}

¹สาขาวิทยาศาสตร์พื้นฐานและวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี 140 หมู่ 4 ถ.ติวานนท์ ต.บ้านกลาง อ.เมือง จ.ปทุมธานี 10200

²โรงเรียนนานาชาติบรอมส์โกรฟ 55 หมู่ 9 ถ.สุวินทวงศ์ 15 เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร 10510

³โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร (ฝ่ายมัธยม) 176 ซอยสุขุมวิท 23 แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

⁴โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 138 หมู่ที่ 12 ต.ฉลุม อ.เมืองสตูล จ. สตูล 91140

⁵โรงเรียนสาธิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ฝ่ายมัธยม) 254 ซอยจุฬาฯ 11 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

⁶โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ 364 หมู่ 5 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

¹Division of Basic and Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Pathumthani University, 140 Moo 4, Tiwanon Road, Ban Klang, Mueang, District, Pathumthani, Thailand 12000

²Bromsgrove International School, 55 Moo9, Windsor Park Golf Club, Suwinthawong 15 Road, Minburi, Bangkok, Thailand 10510

³Srinakharinwirot University Prasarnmit Demonstration School 176 Soi Sukhumvit 23, Khlong Toei Nuea, Watthana, Bangkok, Thailand 10110

⁴Princess Chulabhorn Science High School Satun, 138 Moo 12, Muang Satun, Satun, Thailand 91140

⁵Chulalongkorn University Demonstration Secondary School, 254 Soi Chula 11, Phaya Thai Road, Wang Mai, Pathumwan, Bangkok, Thailand 10330

⁶Mahidol Wittayanusorn School, 364 Moo 5, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom, Thailand 73170

Article Info

Received 5 March 2024

Revised 7 May 2024

Accepted 12 May 2024

Abstract

The objectives of this research are to study antioxidant activity by DPPH assay, total phenolic content, and anti-acne causing bacteria (*C. acnes*) activity of essential oil extracted from the seed and petal of marigold flower using disc diffusion assay. The essential oil's antioxidant activities were tested using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and the total phenolic content was tested by Folin-Ciocalteu's reagent method using gallic acid as a standard. The results found that the essential oil from petal has antioxidant activity. The percentage of free radical inhibition was 50. The total phenolic content of the essential oil extracted from petal was higher than that of seed extracts. The inhibition zone of essential oils from petals was 19.79 ± 2.45 mm. These results show that essential oil from petals has both antioxidant and antibacterial activities. Therefore, this information can be used for further development in medical and cosmetic science.

Keywords: Marigold Flower, Essential Oil, Antioxidants, Antibacterial Activity

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกว่าออสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี disc diffusion assay จากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้ง โดยนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

(DPPH) และทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวมด้วย Folin-Ciocalteu's reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 50 และพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวด้วยวิธี disc diffusion assay พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีพื้นที่การยับยั้ง 19.79 ± 2.45 จากการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวซึ่งสามารถนำข้อมูลจากการวิจัยนี้ไปพัฒนาในทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: ดอกดาวเรือง, น้ำมันหอมระเหย, สารต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

1. บทนำ

ดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) นอกจากสีที่สวยงามแล้ว ยังมีประโยชน์และสรรพคุณมากมาย มีสารพฤกษเคมีที่สำคัญ ไม่ว่าจะเป็นสารลูทีน (Lutein) และซีแซนทีน (Zeaxantein) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ปกป้องดวงตาบริเวณจุดศูนย์กลางของจอประสาทตา จะช่วยดูดซับแสงสีน้ำเงินก่อนที่จะส่งผลเสียต่อดวงตาได้ มีสารแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังถูกนำมาทำเป็นอาหารเสริมแก่สัตว์ การเสริมสารสีจากธรรมชาติบางชนิดในอาหารไก่ไข่ [1-2] พบว่าไม่มีผลต่อไข่ปริมาณอาหารที่กิน และน้ำหนักฟองไข่ และยังให้สีของไข่แดงมากขึ้น จากคุณสมบัติของดาวเรืองจึงมีการศึกษาสารสกัดดาวเรืองในหลากหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ [3-7] การสกัดของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) [8] การสกัดโดยวิธีไมโครอิมัลชัน (micro-emulsion extraction) [9] รวมไปถึงการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ (ultrasonic extraction) [10]

ในปัจจุบันสารสกัดจากดอกดาวเรืองถูกนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ในยาและเครื่องสำอาง เนื่องจากประกอบด้วยสารฟีนอลิก (phenolic compounds) ที่ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) [11] และลดการเกิดริ้วรอย [12-13] จากการศึกษาสารสกัดดอกดาวเรืองบนผิวหนังมนุษย์พบว่าทำให้เกิดการสังเคราะห์คอลลาเจน [14] และปกป้องผิวหนังจากการทำลายผิวหนังจากแสงแดด [15] อีกทั้งยังช่วยเสริมการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 (alpha-1 type I collagen) [16] ไม่ทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคือง [17] และมีความปลอดภัยสูงในการใช้กับผิวหนัง [18]

สารสกัดจากดอกดาวเรืองช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เป็นอย่างดี เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายน้ำตาลในลำไส้เล็ก โดยสารสกัดจากดอกดาวเรืองจะช่วยลดการดูดซึมน้ำตาล ทำให้น้ำตาลในเลือดลดลง ซึ่งถือได้ว่าเป็นผลดีต่อผนังหลอดเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้เกิดความเสียหายโรคแทรกซ้อนน้อยลง จากการศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองพันธุ์ฝรั่งเศส พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับดาวเรืองพันธุ์อเมริกันและพันธุ์พื้นเมือง แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) นั้น ผลการทดลองยังไม่เด่นชัดมากนัก [19-20] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Calendula officinalis*) ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือด น้ำตาลในปัสสาวะ และไขมันในเลือดในหนูทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลของสารสกัดมีความคล้ายคลึงกับผลของอินซูลิน [21-23] และพบสารเคอเวเซทาเจติน (quercetagetin) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม

โรคเบาหวานและโรคอ้วนได้ดี [24] ใบดอกดาวเรืองพบสารแคมเฟอรอล ได-โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol di-O-rhamnoside), แคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์-โอ-เพนโตไซด์ (kaempferol O-rhamnoside-O-pentoside) และแคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol O-rhamnoside) โดยสารแคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol O-rhamnoside) มีฤทธิ์ต้านเบาหวานสูงสุด [25]

ในทางการแพทย์ สารสกัดจากดอกดาวเรืองถูกนำมาใช้ด้านการอักเสบ และด้านเชื้อแบคทีเรีย [26-28] ช่วยในการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) และไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast) ในระยะการอักเสบ [29-30] สารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Calendula officinalis*) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบต่ออาการบวมที่อุ้งเท้าแบบเฉียบพลันที่เกิดจากคarrageenan (Carrageenan) และเดกซ์แทรน (Dextran) [31] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคผิวหนังอักเสบที่เกิดจากรังสี [32] และมีประสิทธิภาพไม่ต่างจากมาตรฐานการปกป้องผิวหนังที่เกิดจากรังสีอีกด้วย [33]

ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง [34-36] โดยนำสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งที่พบได้ในมนุษย์ 13 ชนิด พบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง [37] อีกทั้งยังสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เนื้องอกในหลอดทดลอง หยุดวงจรชีวิตของเซลล์ในระยะ G0/G1 และ Caspase-3 induced apoptosis รวมถึงยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอกของเซลล์ Ando-2 melanoma ทำให้ยืดเวลาการอยู่รอดของหนูได้ [38]

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าดอกดาวเรืองสีเหลืองสะอาดตาที่นอกจากจะนำมาปลูกประดับตกแต่งบ้านแล้ว ยังนิยมนำมาไหว้พระและบูชาสิ่งศักดิ์สิทธิ์อีกด้วย นอกจากนี้ดาวเรืองมีสรรพคุณมากมายทั้งในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและทางการแพทย์ ในแต่ละวันเราจะพบเห็นดอกดาวเรืองที่ผู้คนนำมาไหว้พระ หรือขอพรสิ่งศักดิ์สิทธิ์ตามสถานที่ต่างๆ มากมาย จึงทำให้ดาวเรืองกลายเป็นขยะที่ต้องกำจัดทิ้งในแต่ละวัน หากเราสามารถที่จะนำพวงมาลัยดอกดาวเรืองที่ต้องทิ้งให้เป็นขยะ มาสร้างมูลค่าให้กับพวงมาลัยดอกดาวเรืองเหล่านั้น ก็จะเป็นการลดขยะและเป็นการสร้างมูลค่าให้ดอกดาวเรืองได้อย่างยั่งยืน

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) แห่งที่เก็บจากศาลพระภูมิและสถานที่ศักดิ์สิทธิ์

3. วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

คัดเลือกพวงมาลัยดอกดาวเรืองสายพันธุ์ฝรั่งเศสที่เก็บจากศาลพระภูมิ และสถานที่ศักดิ์สิทธิ์ มาแยกส่วนเมล็ดและกลีบดอก นำไปล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดฝุ่นละออง แล้วนำไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นผงโดยใช้เครื่องบด

3.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

ชั่งผงเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองอย่างละ 20 g ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 ml เติมน้ำกลั่น 100 ml และนำไปกลั่นด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไประเหยโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มาคำนวณร้อยละผลได้ (percent yield) จากสูตร

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ (g)}}{\text{น้ำหนักของผงดาวเรืองแห้ง (g)}} \times 100$$

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

3.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay [39]

นำน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองที่สกัดได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) โดยเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.25 mM ในเอทานอล 80% และเตรียมสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (10000 µg/ml) โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.063, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml ตามลำดับ

เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ โดยชั่งสารสกัดหยาบ 10 mg แล้วเติม DMSO 1 ml (10 mg/ml) เป็น stock solution นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.063, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml โดยนำสารสกัด 20 µl ใส่ลง 96-well microplate จากนั้นเติมสารละลายที่มีสารละลาย DPPH 180 µl ผสมกับสารมาตรฐานสารสกัดตัวอย่างหรือ blank ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BioTek รุ่น Synergy H1 จากนั้นนำค่า

การดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละ free radical scavenging activity หรือ % scavenging activity ซึ่งค่าที่ได้จะหมายถึงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือค่าที่แสดงถึงการจับกันระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ ซึ่งหาได้จากสูตร

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.3.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Compound) โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric assay [40]

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) 0 - 1000 µg/ml โดยเจือจางด้วยเอทานอล 95% ให้ได้ความเข้มข้น 0.031, 0.062, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml เตรียมสารสกัดโดยเจือจางด้วยเอทานอล 95% ตามความเข้มข้นของ Gallic acid จากนั้นนำสารสกัด 20 µl ใส่ลง 96-well microplate เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent (FCR) (w/v) 100 µl ลงใน 96-well microplate ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เติม 15 % Sodium Carbonate (Na_2CO_3) (w/v) ปริมาตร 80 µl ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BioTek รุ่น Synergy H1 แล้วนำไปหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัด เปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี Disc Diffusion Assay [41]

เตรียมอาหารแข็ง Miller Hilton Agar (MHA) ในจานเพาะเลี้ยง ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรีย *C. acnes* ที่ปรับความชื้นไว้โดยมีปริมาณเชื้อประมาณ $10^5 - 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA จากนั้นวางแผ่น paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA หยดสารสกัดที่จะทดสอบลงบนแผ่น paper disc ตำแหน่งละ 10 µl โดยใช้ความเข้มข้น 0.4 mg/paper disc และใช้ตัวทำละลาย DMSO เป็น control รวมถึงใช้ยา clindamycin 0.03 mg/paper disc เป็น positive control จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) โดยใช้ Vernier caliper ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย mean score โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ independent t-test

ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้โดยใช้กระบวนการทางสถิติ independent t-test ที่ตัวอย่างแต่ละตัวเป็นอิสระต่อกัน เพื่อทดสอบข้อมูล 2 กลุ่มว่า mean score ที่ได้มีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ผลการวิจัย

4.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

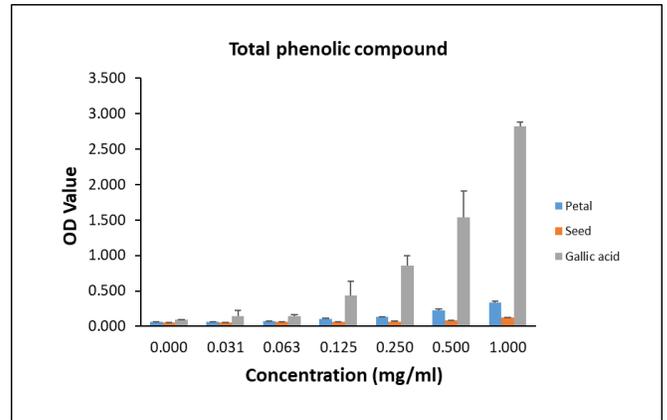
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนประกอบของดอกดาวเรือง ได้แก่ เมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองมีลักษณะเป็นของเหลว สี สีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น ซึ่งแตกต่างจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองที่เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหอมคล้ายดอกดาวเรืองตากแห้ง เมื่อนำไปเปรียบเทียบร้อยละผลได้ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองมีค่าร้อยละผลได้เท่ากับร้อยละ 0.05 และ 1.00 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้งโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

ลักษณะ	เมล็ดดาวเรือง	กลีบดาวเรือง
สถานะ	ของเหลว สี	ของเหลว
สี	สีเหลืองอ่อน	สีน้ำตาลเข้ม
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น	มีกลิ่นดอกดาวเรืองแห้ง
ร้อยละผลได้	0.05	1.00

4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

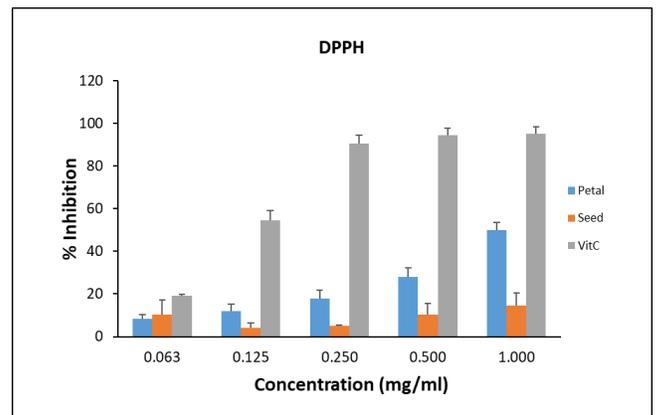
การศึกษาการต้านออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay เปรียบเทียบกับสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (ภาพที่ 1) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ 0.125 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันของ DPPH radicals อยู่ที่ 54.6% ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกดาวเรืองที่ 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันมีค่าเป็น 17, 28, และ 50 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเมล็ดดอกดาวเรืองที่มีความเข้มข้นที่ 0.25, 0.5 และ 1 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันเป็น 4, 10, และ 14 ตามลำดับ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกดาวเรืองมีค่าการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองในทุกความเข้มข้นที่ทดลอง



ภาพที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับความเข้มข้น (mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)

4.3 การหาสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

การทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองที่มีอยู่ในแต่ละตัวอย่างเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ใช้เป็น positive control (ภาพที่ 2) จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่ 0.125, 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่า OD อยู่ที่ 0.43, 0.85, 1.53, และ 2.82 ตามลำดับ โดยค่า OD ที่สูงขึ้นแปรผันตรงกับปริมาณสารฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองพบว่าที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่า OD อยู่ที่ 0.06, 0.06, 0.08, และ 0.12 ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองพบว่ามีค่า OD อยู่ที่ 0.1, 0.13, 0.23, และ 0.33 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่าที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรือง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า OD ที่สูงกว่าในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 2 กราฟแสดงปริมาณค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดที่แสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละความเข้มข้น (mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองเปรียบเทียบกับกรดแกลลิก (gallic acid)

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*)

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี disc diffusion assay ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง แสดงผลลัพธ์ที่ต่างกัน ดังตารางที่ 2 พบว่าค่าเฉลี่ยของ inhibition zone ของยา clindamycin ที่ความเข้มข้น 30 ug/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 57.55 mm สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกลีบดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้น 0.4 mg/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 19.79 mm และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรือง ไม่พบการยับยั้งเชื้อก่อสิว แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อสิว แต่มีความสามารถในการยับยั้งต่ำกว่ายา clindamycin ซึ่งเป็นยาต้านเชื้อก่อสิวจึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย

ตารางที่ 2 แสดงพื้นที่การยับยั้ง (inhibition zone) ของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดดอกดาวเรือง กลีบดอกดาวเรือง และยาคลินดาไมซิน

สาร	พื้นที่การยับยั้ง (inhibition zone)
น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเมล็ดดอกดาวเรือง	0
น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากกลีบดอกดาวเรือง	19.79 ±2.45
ยาคลินดาไมซิน (clindamycin)	57.55 ±0.94

5. สรุปผลการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดแยกจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้ง สายพันธุ์ฝรั่งเศส โดยเก็บดอกดาวเรืองแห้งจากศาลพระภูมิและสถานที่ศักดิ์สิทธิ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มีสีและกลิ่นที่แตกต่างกัน ร้อยละผลได้ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วย Folin-Ciocalteu's reagent พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง ปริมาณสารฟีนอลิกที่พบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีปริมาณมากกว่าที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า OD ที่สูงกว่าในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) โดยวิธี disc diffusion assay มีค่าเฉลี่ย inhibition zone ที่มีความเข้มข้น 0.4 mg/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 19.79 ±2.45 mm จากผลการวิจัยนี้ สามารถที่จะนำไปพัฒนากระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดจากดอกดาวเรือง ซึ่งอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระหรือเป็นตัวยาด้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิวจึงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Manuela G, Zlata K, Gordana K, Olivera G. Effects of Dietary Marigold Extract on Lutein Content, Yolk Color

and Fatty Acid Profile of Omega-3 Eggs. J. Sci. Food. Agric. 2019; 99(5): 2292-2299.

2. N Rajput, M Naeem, S Ali, Y Rui, W Tian. Effect of Dietary Supplementation of Marigold Pigment on Immunity, Skin and Meat Color and Growth Performance of Broiler Chickens. Braz. J. Poultry. Sci. 2012; 14(4): 233-304.

3. Rattanaporn P, Manthana M, Arom S. Study on Chemical Compositions of Marigold (*Tagetes erecta*). The 39th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Agricultural Extension and Communication. 2001; 404-409.

4. Suphod T, Kongsak B, Laddawan P, Onuma C. Phytochemical Contents and Antioxidants Activity of Extracts from Rocco Deep Gold Marigold Flowers (*Tagetes erecta* L.). J. Phranakhon Rajabhat: Science and Technology. 2022; 17(2): 13-25.

5. Maša H, Mojca Št, Željko K. Extraction of Lutein from Marigold Flower Petals Experimental Kinetics and Modelling. Food. Sci. Tech. 2008; 41(10): 2008-2016.

6. Shaziya M, Rubiya R, Bibhu P.P, Vasudha S, Mohd A. Green Extraction of Lutein from Marigold Flower Petals, Process Optimization and Its Potential to Improve the Oxidative Stability of Sunflower Oil. Ultrason. Sonochem. 2022; 85: 105994.

7. P Kasemwattananarot, S Chuachang, P Ramakul. Extraction of Lutein from Marigold Flower Using Solvent Extraction. International Conference on Engineering and Industrial Technology (ICEIT 2020), Pattaya, Thailand. 2020; 965.

8. Wisinee P, Phatthanon P, Motonobu Go, Artiwan S. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Marigold Lutein Fatty Acid Esters: Effects of Cosolvents and Saponification Conditions. Sep. Sci. Technol. 2011; 46(4): 605-610.

9. Qingsong L, Yanting L, Jianwen L, Yunchun W, Shengnan L, Huixi B, Wencheng Z, Zeyu W. Microemulsion-Based Lutein Extraction from Marigold Petals: Process Optimization and Stabilization Evaluation. Ind. Crops. Prod. 2023; 195: 116454.

10. Neha M, Vishal V. K, Ashwin K. Green Ultrasound-Assisted Extraction and Life Cycle Assessment of Lutein from Marigold Flowers Using Biocompatible Surfactants, Int. J. Chem. React. Eng. 2023; 19-24.

11. Diana M, Joaquín N.D.H., David V.B., Ramón F.R., Tiziana F., Guillermo R. Bio-Accessibility and Antioxidant Activity of *Calendula officinalis* Supercritical Extract as Affected by in Vitro Co-Digestion with Olive Oil. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64(46): 8828-8837.

12. Ivan M.S., Ivana M.S.G., Physical, Chemical and Antioxidant Stability Studies of a Topical Formulation Containing Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) Flowers Extract. Adv. Technol. 2021; 0(1): 11-19.
13. K.C. Preethi, Girija K, Ramadasan K. Antioxidant Potential of an Extract of *Calendula officinalis* Flowers in Vitro and in Vivo. Pharm. Biol. 2006; 44(9): 691-697.
14. Chul H.K., Chul H.K., Sung J.R., Y. C.K. Antioxidant and Skin Anti-Aging Effects of Marigold Methanol Extract, Toxicol. Res. 2018; 34(1): 31-39.
15. Molly C, Elma B. Anti-Aging Effects of Select Botanicals: Scientific Evidence and Current Trends. Cosmetics. 2018; 5(3): 54.
16. Chul H.K, Sung J.R, Young C.K. Antioxidant and Skin Anti-Aging Effects of Marigold Methanol Extract. Toxicol. Res. 2018; 34(1): 31-39.
17. Arya P.G., Fathima R., Nanditha Das P.M, Noufira P.N, N. Tamilselvan. Formulation and Evaluation of Marigold Anti-aging Cream. Int. J. Adv. Eng. Manag. 2023; 5(6): 673-678.
18. Raquel M, Elisa L, M. Rosa P.O, Jose S.U, Ana M.M, Concentration of Antioxidant Compounds from *Calendula officinalis* through Sustainable Supercritical Technologies, and Computational Study of Their Permeability in Skin for Cosmetic Use. Antioxidants. 2022; 11(1).
19. Jamnian C, Shetshutchai N, Jutamas M, Ratri B. Effect of Aqueous Extract of Marigold Flowers on Antioxidants and Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase Activities, Khon Kaen Agr. J. 2019; 47(2): 293-306.
20. Wason P, Sakaewan O, Kanokwan K, Kongsak B. In Vitro α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Effects, Antioxidant Activities, and Lutein Content of Nine Different Cultivars of Marigold Flowers. Molecules. 2023; 28: 3314.
21. Guno S.C, Rachna A, Chandana M. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Calendula officinalis*. Int. Res. J. Pharm. 2011; 2(1): 61-65.
22. Esmaeel E, Saeed S, Rahman T, The Protective Effect of Marigold Hydroalcoholic Extract in STZ-Induced Diabetic Rats: Evaluation of Cardiac and Pancreatic Biomarkers in the Serum. J. Bot. 2016.
23. Kusmiati, Wiobet C, Fifi A, Rahmi H. Effect Lutein of Marigold Flower (*Tagetes erecta* L.) on Decreasing Glucose and Malondialdehyde Levels in Alloxan-Induced Blood Mice. International Conference on Biology and Applied Science (ICOBAS), 13–14 March 2019, Malang, Indonesia.
24. Weiyou W, Honggao X, Hua C, Kedong T, Fuguo L, Yanxiang G. In Vitro Antioxidant, Anti-Diabetic and Antilipemic Potentials of Quercetagenin Extracted from Marigold (*Tagetes erecta* L.) Inflorescence Residues. J. Food. Sci. Technol. 2016; 53: 2614–2624.
25. Nellippatta D, Basavan D, Salma K, Divanji M, Hebbani N.S., Tripathy A. Bioactive Compounds from Marigold Processing Waste: Extraction, Isolation, and Antidiabetic Activity, J. Appl. Pharm Sci. 2023; 13(1).
26. Diva S, Marta S.F, José M.S.L, Maria T.C, Isabel F.A. Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* L. Flower Extract. J. Cosmet. 2021; 8(2).
27. V Duran, M Matic, M Jovanovc, N Mimica, Z Gajinov, M Poljacki, P Boza, Results of the Clinical Examination of an Ointment with Marigold (*Calendula officinalis*) Extract in the Treatment of Venous Leg Ulcers, Comparative Study. Int. J. Issue. React. 2005; 27(3): 101-106.
28. M Buzzi, F de Freitas, M de Barros Winter, Therapeutic Effectiveness of a *Calendula officinalis* Extract in Venous Leg Ulcer Healing, J. Wound. Care. 2016; 25(12): 732-739.
29. Leila M. L. P, Ruy S. L. J, Leonice M. F. T, Marina C. V, José R. P, Neusa M. P. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. Evid. Based. Comp. Alternat. Med. 2012; 375671.
30. Deeksheetha P. V, Gheena S, Pratibha R, Rajeshkumar S, Karthikeyan R. In Vitro Evaluation of Antioxidant and Anti-Inflammatory Potentials of Herbal Formulation Containing Marigold Flower (*Calendula officinalis* L.) Tea. Cureus. 2023; 15(8).
31. Korengath C. P, Girija K, Ramadasan K. Anti-Inflammatory Activity of Flower Extract of *Calendula officinalis* Linn. and Its Possible Mechanism of Action. Indian. J. Exp. Biol. 2009; 47(2): 113-20.
32. Fabiana V. S, Valdete O. S, Rodrigo N. S, Rafael C. S. Effectiveness of Skin Protectors and *Calendula officinalis* for Prevention and Treatment of Radiodermatitis: an Integrative Review, Review Rev. Bras. Enferm. 2020.
33. Shihab S, Margaret A. M, Andrew D. V, Eileen G, Robyn C, Scott C, Michael P. Efficacy of Topical *Calendula officinalis* on Prevalence of Radiation-Induced Dermatitis: A Randomized Controlled Trial. Australas. J. Dermatol. 2021; 62(1): 35-40.
34. De Cedron M. G, Mouhid L, Garcia-Carrascosa E, Fornari T, Reglero G, De Molina A. R. Marigold Supercritical Extract as Potential Co-Adjuvant in Pancreatic Cancer: The Energetic Catastrophe Induced via BMP8B Ends up

- with Autophagy-Induced Cell Death, *Front. Bioeng. biotechnol.* 2019.
35. Mouhid L, De Cedron M. G, Vargas T, Garcia-Carrascosa E, Herranz N, Garcia-Risco M. R, Reglero G., Fornari T, De Molina A. R. Identification of Antitumoral Agents Against Human Pancreatic Cancer Cells from Asteraceae and Lamiaceae Plant Extracts. *BMC Compl. Alt. Med.* 2018; 18(1).
 36. Sak K, Nguyen H. T. H, Thao D. T, Raal A. Cytotoxic Effect of Chamomile (*Matricaria recutita*) and Marigold (*Calendula officinalis*) Extracts on Human Melanoma SK-MEL-2 and Epidermoid Carcinoma KB Cells. *Cogent. Med.* 2017; 4(1): 1333218.
 37. Abdoul-Latif F. M, Elmi A, Mérito A, Nour M, Risler A, Ainane A, Bignon J, Ainane T, Essential Oils of *Tagetes minuta* and *Lavandula coronopifolia* from Djibouti: Chemical Composition, Antibacterial Activity and Cytotoxic Activity against Various Human Cancer Cell Lines. *Int. J. Plant. Biol.* 2022; 13(3): 315–329.
 38. Jiménez-Medina E, García-Lor A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F. A New Extract of the Plant *Calendula officinalis* Produces a Dual in Vitro Effect: Cytotoxic Anti-tumor Activity and Lymphocyte Activation. *BMC Cancer.* 2006; 6(1).
 39. Kanathip S, Apitsada S, Kanokpich W, Asamaporn M, The Comparison of Phenolic Compounds, Flavonoids and Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Shoots, Leaves, Fruit and Seeds of *Leucaena leucocephala*. *Naresuan Phayao J.* 2020; 13(3): 66-73.
 40. Andressa B, Gisely C. L, João C. P. M. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. 2013; 18(6): 6852–6865.
 41. Amornrat S, Kanlayaporn J, Srisuda H. The Study of Antibacterial in Weed Extracts. *VRU Research and Development Journal of Science and Technology.* 2016; 1: 69-72.