

การวิเคราะห์ลายนิ้วมือทางพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำและเมทานอลจาก
ดอกเก๊กฮวย (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) ด้วย TLC และ FTIR-ATR
Phytochemical Fingerprint Analysis and Antioxidant Activities of Water and Methanolic
Extracts of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. using TLC and FTIR-ATR

สุขฤทัย วงศ์สุบิน¹ อัสณีย์ เหมกระศรี² ปิยานี รัตนชำนาญ³ และ นกสร ชาบาง^{4*}

Sookruthai Wongsubin¹ Assanee Hamkrasri² Piyanee Ratanachamnong³ and Napason Chabang^{4*}

¹หน่วยเครื่องมือกลาง งานวิจัยและนวัตกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400 ประเทศไทย

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400 ประเทศไทย

³ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400 ประเทศไทย

⁴กลุ่มสาขาวิชาชีวนวัตกรรมและผลิตภัณฑ์ฐานชีวภาพอัจฉริยะ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
กรุงเทพมหานคร 10400 ประเทศไทย

¹Central Instrument Facility, Research and Innovation Division, Faculty of Science,
Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

³Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

⁴School of Bioinnovation and Bio-based Product Intelligence, Faculty of Science,
Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

*E-mail: napason.cha@mahidol.ac.th

Received: Feb 06, 2026

Revised: Mar 13, 2026

Accepted: Mar 16, 2026

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพิษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลักษณะสารสำคัญและโครงสร้างเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยขาว (*Chrysanthemum morifolium*) และดอกเก๊กฮวยเหลือง (*Chrysanthemum indicum*) จากการสกัดดอกเก๊กฮวยขาวและดอกเก๊กฮวยเหลืองด้วยตัวทำละลายน้ำและเมทานอล ได้สารสกัดหยาบ 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองด้วยเมทานอล (YM-1) สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวด้วยเมทานอล (WM-2) สารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองด้วยน้ำ (YD-3) และสารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวด้วยน้ำ (WD-4) นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay และวิธี aluminum chloride colorimetric assay ตามลำดับ ประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay, nitric oxide scavenging assay และ ferrous ion chelating assay รวมถึงวิเคราะห์ลักษณะสารสำคัญและโครงสร้างเบื้องต้นด้วยเทคนิค thin-layer chromatography (TLC) และ Fourier transform infrared spectroscopy แบบ attenuated total reflectance (FTIR-ATR) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดเมทานอล โดยสารสกัด YD-3 ให้ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด ขณะที่สารสกัด YM-1 แสดงความสามารถในการจับไอออนเหล็กสูงที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาหมูฟิงก์ซันด้วย FTIR-ATR ที่พบว่าสารสกัดน้ำมีหมูฟิงก์ซันของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเด่นชัด ส่วนการวิเคราะห์ TLC แสดงลายนิ้วมือทางเคมี (chemical fingerprints) ของสารชัดเจนในสารสกัดเมทานอล โดยสรุปสารสกัดด้วยน้ำของดอกเก๊กฮวยขาวและดอกเก๊กฮวยเหลืองมีศักยภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ซึ่งผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากดอกเก๊กฮวยในอนาคต

คำสำคัญ: เก๊กฮวยขาว เก๊กฮวยเหลือง สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์

Abstract

This research aimed to investigate phytochemical contents, antioxidant activities, major chemical characteristics and preliminary structural features of extracts from flowers of white chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) and yellow chrysanthemum (*Chrysanthemum indicum*). From the extraction of white and yellow chrysanthemum flowers using water and methanol as extraction solvents, four crude extracts were obtained including methanolic extract of yellow chrysanthemum flower (YM-1), methanolic extract of white chrysanthemum flower (WM-2), aqueous extract of yellow chrysanthemum flower (YD-3) and aqueous extract of white chrysanthemum flower (WD-4). Total phenolic and flavonoid contents of the extracts were analyzed using the Folin-Ciocalteu assay and aluminum chloride colorimetric assay, respectively. The antioxidant activities of the extract were analyzed using DPPH radical scavenging assay, nitric oxide scavenging assay and ferrous ion chelating assay. In addition, major chemical characteristics and preliminary structural features were analyzed using thin-layer chromatography (TLC) and Fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance (FTIR-ATR). The results revealed that the aqueous extracts contained significantly higher levels of phenolic and flavonoid compounds than the methanolic extracts. Among all samples, YD-3 exhibited the highest content of bioactive compounds and the strongest DPPH radical scavenging activity, whereas YM-1 demonstrated the greatest ferrous ion chelating ability. These findings were consistent with FTIR-ATR analysis, which revealed prominent phenolic functional groups associated with antioxidant activity in the aqueous extracts. TLC analysis revealed distinct chemical fingerprints in the methanolic extracts. In conclusion, aqueous extracts of both white and yellow chrysanthemum flowers possess strong potential as natural antioxidant sources. The results of this study provide fundamental scientific information for the future development of chrysanthemum flower-based products.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium*, *Chrysanthemum indicum*, Antioxidant activity, Phenolic compounds, Flavonoids

1. บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในวงนอก ส่งผลให้มีความไม่เสถียรและมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้สูง อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ในระบบชีวภาพ โดยจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มหลัก ได้แก่ อนุมูลออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) เช่น superoxide anion (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) และ hydroxyl radical ($\bullet OH$) อนุมูลไนโตรเจน (reactive nitrogen species; RNS) เช่น nitric oxide (NO), nitrate (NO_3^-) และ nitrite (NO_2^-) รวมถึงอนุมูลคลอรีน (reactive chlorine species; RCS) เช่น chlorine radical ($Cl\bullet$) และ hypochlorous acid (HOCl) อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้ตามธรรมชาติจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานภายในไมโทคอนเดรีย ซึ่งภายใต้ภาวะปกติร่างกายมีกลไกควบคุมสมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม การได้รับปัจจัยกระตุ้นจากภายนอก เช่น

มลภาวะทางอากาศ คิวบูห์ อาหารที่มีไขมันสูง หรือการสัมผัสยาและสารเคมีบางชนิด อาจทำให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระในระดับที่เกินความสามารถของระบบป้องกัน ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของเซลล์ โปรตีน ไขมัน และสารพันธุกรรม และมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง และโรคทางระบบประสาท [1], [2]

ดอกเก๊กฮวยขาว (*Chrysanthemum morifolium*) และดอกเก๊กฮวยเหลือง (*Chrysanthemum indicum*) เป็นพืชสมุนไพรในสกุล *Chrysanthemum* วงศ์ Asteraceae ที่มีการใช้มาอย่างยาวนานในตำราแพทย์แผนจีนและการแพทย์ทางเลือก โดยนิยมใช้เพื่อรักษาไข้ บรรเทาอาการหวัด และช่วยลดความดันโลหิต [3] รายงานการศึกษาพบว่าชาที่มีส่วนผสมของดอกเก๊กฮวยอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids)

ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ลดการอักเสบของเซลล์ เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด [4], [5] กลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวสอดคล้องกับแนวคิดการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมของเซลล์และการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง นอกจากการใช้ในรูปแบบเครื่องดื่มสมุนไพรแล้ว ดอกเก็กฮวยยังได้รับความสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เนื่องจากสารสกัดจากดอกเก็กฮวยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและลดการอักเสบของผิวหนัง จึงมีรายงานการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในประเทศไทย เพื่อช่วยปกป้องผิวจากความเครียดออกซิเดชันและชะลอการเสื่อมของผิว [6]

การศึกษาลักษณะองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดพืชสมุนไพรสามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิค thin-layer chromatography (TLC) ร่วมกับ Fourier transform infrared spectroscopy แบบ attenuated total reflectance (FTIR-ATR) โดย TLC สามารถใช้แยกและแสดงรูปแบบองค์ประกอบของสารสำคัญในสารสกัด ซึ่งสะท้อนลักษณะลายนิ้วมือทางเคมีของพืชสมุนไพร ขณะที่ FTIR-ATR ให้ข้อมูลเกี่ยวกับหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบผ่านสเปกตรัมอินฟราเรด ทำให้สามารถสร้างลายนิ้วมือสเปกตรัม FTIR ของสารสกัดได้อย่างรวดเร็ว การใช้ทั้งสองเทคนิคร่วมกันจึงช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์ลายนิ้วมือทางพฤกษเคมี และสามารถใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัตถุดิบ รวมทั้งสนับสนุนกระบวนการควบคุมคุณภาพ การพัฒนามาตรฐานของวัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรม [7], [8]

อย่างไรก็ตาม แม้จะมีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเก็กฮวยเป็นจำนวนมาก แต่ข้อมูลเชิงเปรียบเทียบด้านปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกเก็กฮวยในตัวทำละลายที่แตกต่างกันมีอยู่อย่างจำกัด นอกจากนี้ ข้อมูลเกี่ยวกับลายนิ้วมือทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากดอกเก็กฮวยซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัตถุดิบและสนับสนุนการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรยังปรากฏไม่มากนัก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึง

ลักษณะสารสำคัญและโครงสร้างเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกเก็กฮวยขาวและดอกเก็กฮวยเหลือง โดยประยุกต์ใช้เทคนิค TLC และ FTIR-ATR ผลการศึกษาที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาและต่อยอดผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร เครื่องดื่มสมุนไพร และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอนาคต รวมทั้งสนับสนุนการพัฒนามาตรฐานและกระบวนการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรม

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากดอกเก็กฮวย

ดอกเก็กฮวยขาวและดอกเก็กฮวยเหลืองแห้งจากสวนคุณย่าน้องข้าวปั้น จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2567 นำไปบดให้ละเอียด ก่อนนำไปเตรียมสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายน้ำโดยใช้ดอกเก็กฮวยแห้งปริมาณ 500 กรัม ต้มในน้ำเดือดปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นและกรองผ่านกระดาษกรอง สารสกัดที่ได้ถูกนำไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze-drying และเก็บรักษาในที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วนการเตรียมสารสกัดหยาบจากเมทานอลใช้ดอกเก็กฮวยแห้งปริมาณ 250 กรัม แช่หมักด้วยเมทานอลปริมาตร 1 ลิตร ในขวดสีชา ปิดฝาให้สนิท เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองและทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง สารสกัดที่ได้ถูกนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง evaporator และเก็บสารสกัดที่ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เก็กฮวยเหลืองสกัดด้วยเมทานอล (YM-1) เก็กฮวยขาวสกัดด้วยเมทานอล (WM-2) เก็กฮวยเหลืองสกัดด้วยน้ำ (YD-3) เก็กฮวยขาวสกัดด้วยน้ำ (WD-4) ในภาชนะทึบแสง

2.2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay โดยนำสารสกัดดอกเก็กฮวยความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2,370 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) อิ่มตัว ปริมาตร 450 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 735 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

(gallic acid) และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalent (GAE)/g extract) [9]

2.3. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content) วิเคราะห์ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric method โดยนำสารสกัดดอกเก๊กฮวยความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1,680 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมอะซีเตต ($C_2H_3KO_2$) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 60 ไมโครลิตร สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 60 ไมโครลิตร และสารละลายเอทานอล 95% ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคออสิติน และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคออสิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalent (QE)/g extract) [9]

2.4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดศึกษาด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยละลายสารสกัดในสารละลายเมทานอล สารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดน้ำเตรียมที่ความเข้มข้น 0.5-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวและสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดเมทานอลเตรียมที่ความเข้มข้น 2-8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมลงในสารละลาย DPPH ความเข้มข้นที่มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ระหว่าง 1.1-1.3 ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง automated microplate reader ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ค่าที่ได้ถูกนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ DPPH radical scavenging activity และค่า IC_{50} โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox [9]

2.5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Nitric oxide scavenging assay

ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical scavenging activity) ของสารสกัดศึกษาด้วยวิธี Nitric oxide (NO) scavenging assay โดยละลายสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดน้ำเตรียมที่ความเข้มข้น 0.2-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดน้ำเตรียมที่ความเข้มข้น 0.1-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวและสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดเมทานอลเตรียมที่ความเข้มข้น 0.1-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย sodium nitroprusside (SNP) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเตรียมในสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มภายใต้แสงยูวีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารละลาย Griess reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ซึ่งเตรียมจากสารละลาย sulphanilamide ความเข้มข้น 1% ในกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) ความเข้มข้น 5% และสารละลาย N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride ความเข้มข้น 0.1% ในอัตราส่วน 1 : 1 ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ค่าที่ได้ถูกนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ NO radical scavenging activity และค่า IC_{50} โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก [10]

2.6. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย Ferrous ion chelating assay

ฤทธิ์การจับไอออนเหล็ก (Ferrous ion chelating ability) ของสารสกัดศึกษาด้วยวิธี Ferrozine method โดยละลายสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดน้ำเตรียมที่ความเข้มข้น 10-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดน้ำเตรียมที่ความเข้มข้น 5-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดเมทานอลเตรียมที่ความเข้มข้น 5-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดเมทานอลเตรียมที่ความเข้มข้น 4-20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร เติมลงในน้ำกลั่นปริมาตร 185 ไมโครลิตร แล้วทำปฏิกิริยา

กับสารละลาย ferrous sulfate heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร และสารละลาย ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ค่าที่ได้ ถูกนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ferrous ion chelating ability และค่า IC_{50} โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA [11]

2.7. การวิเคราะห์ลักษณะสารสำคัญด้วยวิธี Thin layer chromatography

เตรียมสารสกัดเมทานอลละลายในเมทานอล และ สารสกัดน้ำละลายในเมทานอล : น้ำ สัดส่วน 1 : 1 ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย ตัวอย่างแต้มบนแผ่น TLC ชนิด Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) โดยใช้หลอดคาปิลลารี (capillary tube) ปริมาตรประมาณ 1 ไมโครลิตรต่อจุด โดยเว้นระยะห่างระหว่างจุดแต้มประมาณ 1 เซนติเมตร ปล่อยให้จุดแต้มแห้งสนิทก่อนนำไปจุ่มในภาชนะ ปิดที่ผ่านการทำให้ระบบตัวทำละลายอิ่มตัว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยระบบตัวทำละลายเมทานอล : ไดคลอโรมีเทน สัดส่วน 3 : 7 ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากตัวทำละลายเคลื่อนที่ถึงระยะ ประมาณ 7-8 เซนติเมตร จากเส้นฐาน นำแผ่น TLC ออก ฝึ่งให้แห้งในที่อากาศถ่ายเท จึงตรวจแผ่น TLC ภายใตแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และ บันทึกลักษณะแถบสารของสารสกัดแต่ละชนิดด้วยเครื่อง TLC Explorer ยี่ห้อ Merck เพื่อใช้เปรียบเทียบรูปแบบ แถบสารและองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดทั้ง 4 ชนิด ทั้งนี้ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ เพื่อประเมิน ความสามารถในการทำซ้ำของรูปแบบแถบสาร

2.8. การวิเคราะห์ลักษณะเชิงโครงสร้างของสารสกัด ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy แบบ attenuated total reflectance

นำสารสกัดดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 ชนิด ทำให้แห้งและ ปราศจากความชื้นก่อนการวิเคราะห์ จากนั้นตรวจวิเคราะห์ หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy แบบ attenuated total reflectance (FTIR-ATR) โดยใช้เครื่อง Bruker รุ่น ALPHA ทำการวัด สเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 4000-400 cm^{-1} ประมวลผล สเปกตรัมด้วยซอฟต์แวร์ OPUS (Bruker) เปรียบเทียบข้อมูลเชิง ลายนิ้วมือ (spectral fingerprint) ระหว่างสารสกัดทั้ง 4 ชนิด

2.9. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลผลการทดลองแสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง วิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ สถิติ One-way analysis of variance (one-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ระหว่างกลุ่มด้วย post hoc test โดยใช้ Duncan's multiple range test โปรแกรม IBM SPSS Statistics และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

3. ผลการวิจัย

3.1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดน้ำ (YD-3) มี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงสุด โดยมีค่า เท่ากับ 73.72 ± 3.58 mg GAE/g extract และ 33.13 ± 0.80 mg QE/g extract ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดดอกเก๊กฮวย ขาวสกัดด้วยน้ำ (WD-4) ในขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยที่สกัด ด้วยเมทานอลทั้งชนิดดอกเหลือง และดอกขาว พบปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าสารสกัดน้ำ โดย มีค่าปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงใน Table 1

3.2. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ดอกเก๊กฮวยด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า สารสกัดทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น โดยสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยน้ำ (YD-3) มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.21 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือสารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดด้วยน้ำ (WD-4) และสารสกัด ดอกเก๊กฮวยขาวสกัดด้วยเมทานอล (WM-2) ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยเมทานอล (YM-1) มีค่า IC_{50} สูงที่สุด แสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น (Table 2) โดย IC_{50} ของ trolox ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานอ้างอิงมีค่าเท่ากับ 0.105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Figure 1)

Table 1 Total phenolic and flavonoid contents of chrysanthemum flower extracts

Extract	Total polyphenolic content	Total flavonoid content
	(mg GAE/g extract)	(mg QE/g extract)
YM-1	31.15 ± 0.92 ^c	14.07 ± 0.31 ^c
WM-2	26.07 ± 0.83 ^d	14.51 ± 0.55 ^c
YD-3	73.72 ± 3.58 ^a	33.13 ± 0.80 ^a
WD-4	50.43 ± 1.94 ^b	23.78 ± 0.45 ^b

Data are presented as mean ± standard deviation (SD), n =6.

Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different (p < 0.05).

Table 2 Antioxidant activity of chrysanthemum flower extracts determined by the DPPH radical scavenging assay

Extract	% Inhibition at different extract concentrations (mg/mL)				IC ₅₀ (mg/mL)
	1	2	3	4	
YM-1	22.71 ± 1.48	43.25 ± 1.02	62.26 ± 1.23	80.55 ± 2.55	4.77 ± 0.07 ^d
WM-2	22.54 ± 3.73	48.63 ± 3.39	72.84 ± 3.03	85.39 ± 0.97	4.31 ± 0.27 ^c
YD-3	19.93 ± 1.75	42.26 ± 1.55	63.85 ± 2.16	81.29 ± 2.28	1.21 ± 0.05 ^a
WD-4	24.01 ± 1.28	39.40 ± 1.05	52.33 ± 1.51	68.94 ± 2.54	1.88 ± 0.04 ^b

Data are presented as mean ± standard deviation (SD), n =6.

Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different (p < 0.05).

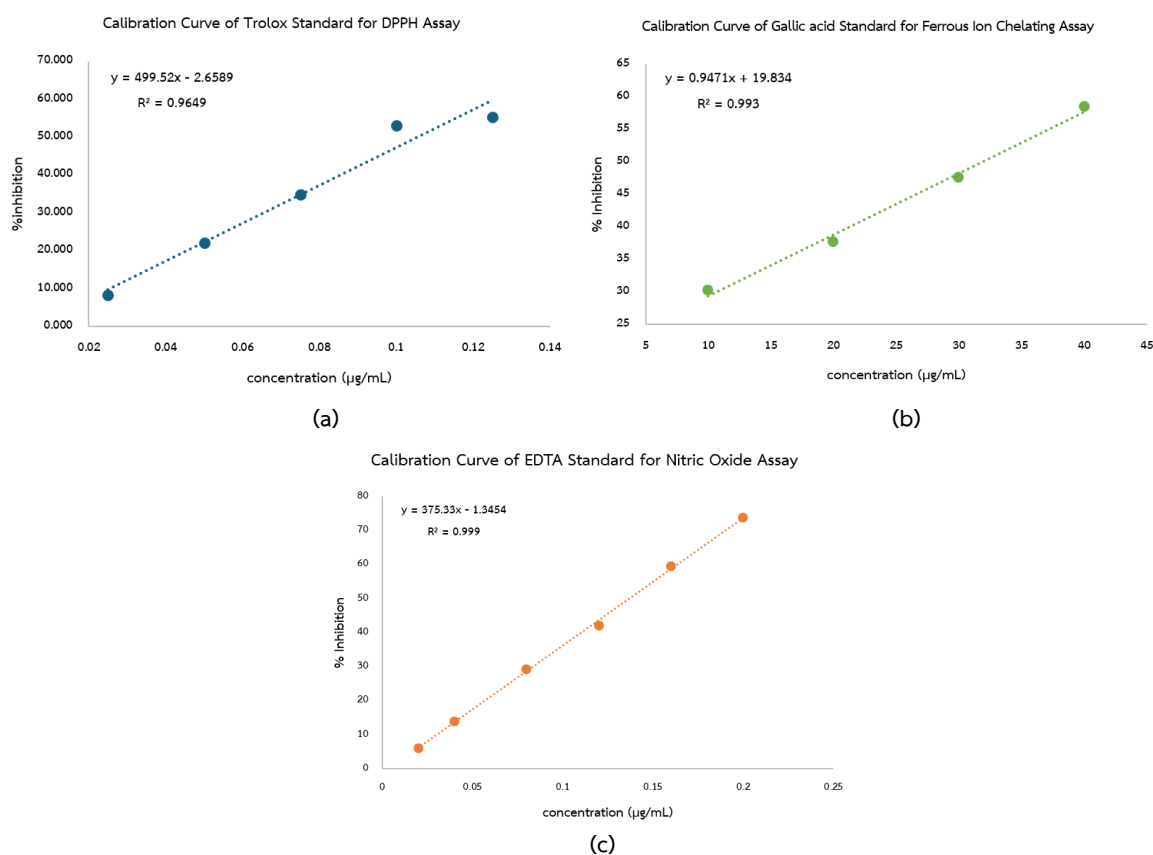


Figure 1 Standard calibration curves of trolox (a), gallic acid (b) and EDTA (c)

3.3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Nitric oxide scavenging assay

ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 ชนิดมีแนวโน้มการยับยั้งอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น โดยสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยเมทานอล (YM-1) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.51 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลือง

สกัดด้วยน้ำ (YD-3) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.56 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดด้วยเมทานอล (WM-2) ให้ค่า IC_{50} สูงที่สุด แสดงถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น (Table 3) โดย IC_{50} ของกรดแกลลิก ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานอ้างอิงมีค่า เท่ากับ 31.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Figure 1)

Table 3 Nitric oxide radical scavenging activity of chrysanthemum flower extracts

Extract	% Inhibition at different extract concentrations (mg/mL)					IC_{50} (mg/mL)
	1	2	3	4	5	
YM-1	16.17 ± 4.77	33.21 ± 4.47	49.97 ± 5.52	58.39 ± 4.51	62.05 ± 4.29	0.51 ± 0.06^a
WM-2	29.07 ± 4.36	41.16 ± 5.9	49.37 ± 4.7	56.32 ± 4.2	61.05 ± 2.7	0.66 ± 0.96^c
YD-3	15.44 ± 2.06	24.48 ± 2.51	43.64 ± 2.24	54.98 ± 2.15	61.74 ± 1.89	0.56 ± 0.02^{ab}
WD-4	29.19 ± 4.51	42.13 ± 6.89	50.55 ± 6.17	57.13 ± 4.97	61.88 ± 3.68	0.64 ± 0.12^{bc}

Data are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD), n = 8.

Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different ($p < 0.05$).

3.4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferrous ion chelating assay

ผลการศึกษาความสามารถในการจับโลหะเหล็ก (Fe^{2+}) พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 ชนิดมีความสามารถในการจับโลหะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น โดยสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยเมทานอล (YM-1) มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 12.64 ± 0.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา

คือสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยน้ำ (YD-3) ส่วนสารสกัดดอกเก๊กฮวยขาวสกัดด้วยน้ำ (WD-4) ให้ค่า IC_{50} สูงที่สุด แสดงถึงความสามารถในการจับโลหะที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น (Table 4) โดย IC_{50} ของ EDTA ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานอ้างอิงมีค่า เท่ากับ 0.1368 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Figure 1)

Table 4 Antioxidant activity of chrysanthemum flower extracts determined by the ferrous ion chelating assay

Extract	% Inhibition at different extract concentrations (mg/mL)					IC_{50} (mg/mL)
	1	2	3	4	5	
YM-1	11.26 ± 1.46	21.23 ± 1.68	37.73 ± 2.61	53.58 ± 3.42	68.27 ± 1.28	12.64 ± 0.62^a
WM-2	18.98 ± 2.46	27.67 ± 2.62	51.04 ± 2.35	63.24 ± 3.68	76.86 ± 1.85	18.96 ± 0.56^c
YD-3	22.07 ± 2.65	38.03 ± 1.60	49.79 ± 2.11	60.27 ± 2.06	66.19 ± 1.29	16.22 ± 0.38^b
WD-4	32.12 ± 1.69	48.69 ± 3.00	57.95 ± 1.56	65.86 ± 1.48	69.74 ± 1.81	24.69 ± 1.45^d

Data are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD), n = 8.

Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different ($p < 0.05$).

3.5. ผลการวิเคราะห์ลักษณะสารสำคัญด้วยวิธี TLC

การวิเคราะห์ลักษณะสารสำคัญด้วย TLC โดยใช้แผ่น Silica gel 60 F₂₅₄ เป็นวัสดุภาคคงที่ และใช้ เมทานอล : ไดคลอโรมีเทน (3 : 7) เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ เพื่อตรวจสอบเปรียบเทียบสารสกัดดอกเก๊กฮวย 4 ชนิด ได้แก่ เก๊กฮวยเหลืองสกัดเมทานอล (YM-1) เก๊กฮวยขาวสกัดเมทานอล (WM-2) เก๊กฮวยเหลืองสกัดน้ำ (YD-3) และเก๊กฮวยขาวสกัดน้ำ (WD-4) เมื่อส่องแผ่น TLC ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบว่า สารสกัดกลุ่มเมทานอล (YM-1 และ WM-2) ให้จุดสีม่วงเด่นชัดจำนวน 3 จุด เมื่อพัฒนาแผ่น TLC และตรวจภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ตรวจพบแถบสารที่

ตำแหน่งค่า R_f เปลี่ยนจากการทดลอง 3 ครั้ง ใกล้เคียงกัน ในสารสกัดเมทานอลจากดอกเก๊กฮวยเหลือง (YM-1) และดอกเก๊กฮวยขาว (WM-2) ที่ช่วง 0.195-0.205, 0.700-0.725 และ 0.875-0.900 ตามลำดับ (Figure 2) ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการมีสารอย่างน้อยสามกลุ่มที่ให้ลักษณะลายนิ้วมือทางเคมี (chemical fingerprints) ที่คล้ายคลึงกันในสารสกัดเมทานอลทั้งสองชนิด (Figure 3) ในขณะที่สารสกัดน้ำทั้งสองชนิด (YD-3 และ WD-4) ไม่พบแถบสารสีม่วงภายใต้เงื่อนไขการตรวจวัดเดียวกัน ซึ่งอาจบ่งชี้ว่าสารประกอบที่ให้สัญญาณดังกล่าวมีความสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล มากกว่าสารสกัดน้ำ

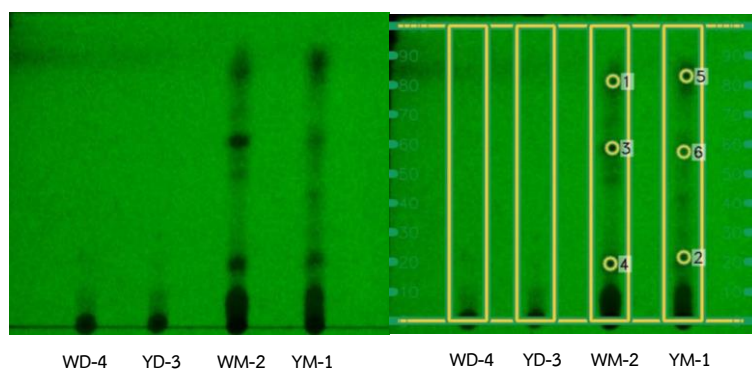


Figure 2 TLC of four chrysanthemum flower extracts (YM-1, WM-2, YD-3 and WD-4) visualized under UV light at 254 nm

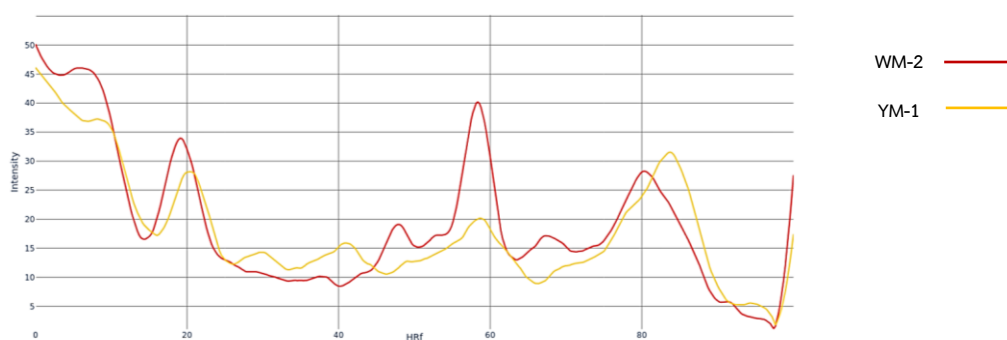


Figure 3 Combined densitogram of methanolic extracts of yellow chrysanthemum flower (YM-1) and white chrysanthemum flower (WM-2)

3.6. ผลการวิเคราะห์ลักษณะเชิงโครงสร้างของสารสกัดด้วยวิธี FTIR-ATR

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR-ATR ช่วงเลขคลื่น 4000-400 cm^{-1} โดยใช้ความละเอียดของสเปกตรัม (spectral resolution) 4 cm^{-1} และเก็บสัญญาณ 32 scans ต่อหนึ่งตัวอย่าง ก่อนการวิเคราะห์ที่ได้ทำการบันทึก background spectrum และปรับ baseline correction ของสเปกตรัมด้วยซอฟต์แวร์ของเครื่องมือ เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่มีความถูกต้องและลดสัญญาณรบกวนจากพื้นหลัง สารสกัดดอกเก๊กฮวย

ทั้ง 4 ชนิด พบแถบดูดกลืนที่ตำแหน่งใกล้เคียงกัน โดยปรากฏแถบกว้างบริเวณประมาณ 3,200-3,400 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นของพันธะ O-H และแถบที่บริเวณประมาณ 1,600-1,700 cm^{-1} สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะ C=O และ C=C ในโครงสร้างสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบแถบดูดกลืนในช่วง 1,000-1,200 cm^{-1} อาจเกี่ยวข้องกับพันธะ C-O โดยรูปแบบสเปกตรัมของสารสกัดแต่ละชนิดมีลักษณะใกล้เคียงกัน แสดงถึงการมีหมู่ฟังก์ชันหลักที่คล้ายคลึงกันในสารสกัดดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงใน Figure 4

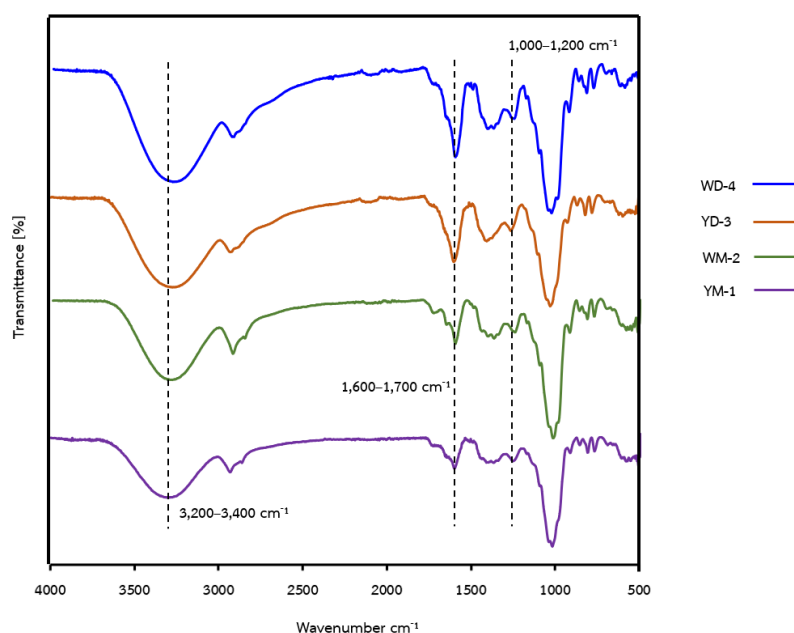


Figure 4 FTIR-ATR spectra showing the functional groups of four chrysanthemum flower extracts

4. อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองและขาวมีความแตกต่างกันทั้งองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งได้รับอิทธิพลจากชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยเฉพาะสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองที่สกัดด้วยน้ำ (YD-3) ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดเมทานอล ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [12] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารกลุ่มดังกล่าวสามารถทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอม ช่วยลดความเสถียรของอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการออกซิเดชันได้

[13] จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดที่มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง แสดงถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารสกัดเมทานอลจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมต่ำกว่า แต่เมื่อทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี Nitric oxide scavenging assay พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยเหลืองสกัดด้วยเมทานอล (YM-1) ยังคงแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งบ่งชี้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นกับชนิดโครงสร้าง และตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการบริจาคอิเล็กตรอนและเสถียรภาพของอนุมูลอิสระด้วย [14] สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferrous ion chelating assay พบว่าสารสกัดเมทานอล

จากดอกเก็กฮวยเหลือง (YM-1) แสดงความสามารถในการจับไอออนโลหะได้ดีกว่าสารสกัดน้ำ ซึ่งแตกต่างจากน้ำมันที่พบในวิธี DPPH ความแตกต่างดังกล่าวสามารถอธิบายได้จากกลไกของการทดสอบ เนื่องจากการจับไอออนโลหะเกี่ยวข้องกับความสามารถของสารในการเกิดคีเลต (chelate) กับไอออนโลหะ มากกว่าการบริจาคอิเล็กตรอนโดยตรง [15] โดยสารที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์และมีหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสม เช่น หมู่คาร์บอกซิลหรือคาร์บอนิล อาจมีบทบาทสำคัญต่อการศึกษารังนี้

แม้ว่าสารสกัดน้ำจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่า แต่ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC พบว่าสารสกัดเมทานอลแสดงแถบสารที่มีความเข้มและจำนวนมากกว่าสารสกัดน้ำเมื่อทำการตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร แสดงถึงการมีสารประกอบที่มีโครงสร้างอะโรมาติก (aromatic structure) หรือระบบพันธะคู่สลับ (conjugated system) เช่น สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด และฟลาโวนอยด์ มักแสดงการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวได้ดี [16], [17] ขณะที่สารประกอบที่มีความเป็นขั้วสูง ซึ่งพบได้มากในสารสกัดน้ำ เช่น น้ำตาลหรือกรดอินทรีย์ อาจไม่ปรากฏแถบสารที่ชัดเจนภายใต้เงื่อนไขดังกล่าว ดังนั้นการใช้ derivatization reagents เช่น natural products-polyethylene (NP/PEG) หรือ anisaldehyde-sulfuric acid อาจช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจพบสารประกอบดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตามรูปแบบ densitogram ที่ใกล้เคียงกันของสารสกัดเมทานอลบ่งชี้ถึงความคล้ายคลึงขององค์ประกอบสารบางกลุ่ม แม้ว่าความเข้มของสัญญาณจะแตกต่างกัน

ส่วนการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วย FTIR-ATR ช่วยยืนยันลักษณะองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด โดยพบแถบดูดกลืนกว้างบริเวณ $3,200-3,400\text{ cm}^{-1}$ สอดคล้องกับการสั่นของพันธะ O-H ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในสารประกอบฟีนอลิกและแอลกอฮอล์ [18] นอกจากนี้ แถบดูดกลืนในช่วง $1,600-1,700\text{ cm}^{-1}$ เกี่ยวข้องกับการสั่นของพันธะ C=O และ C=C ยิ่งบ่งชี้ถึงการมีโครงสร้างอะโรมาติกและคาร์บอนิล (carbonyl) ในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด การที่สเปกตรัมของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดมีรูปแบบใกล้เคียงกันแสดงให้เห็นว่ามีหมู่ฟังก์ชันหลักที่คล้ายคลึงกัน แม้ว่าปริมาณและสัดส่วนของสารประกอบจะแตกต่างกัน

5. บทสรุป

ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าดอกเก็กฮวยทั้งขาวและเหลืองเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบว่าชนิดของตัวทำละลายมีบทบาทสำคัญต่อทั้งปริมาณสารสำคัญองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด โดยเฉพาะสารสกัดน้ำจากดอกเก็กฮวยเหลือง (YD-3) แสดงศักยภาพเด่นในด้านปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ขณะที่สารสกัดเมทานอลแสดงลายนิ้วมือทางเคมีที่ชัดเจนจากการวิเคราะห์ TLC และให้ข้อมูลหมู่ฟังก์ชันบางกลุ่มเด่นชัดจากการวิเคราะห์ FTIR-ATR ซึ่งสะท้อนถึงความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีที่สกัดได้จากตัวทำละลายต่างชนิด การใช้เทคนิคการวิเคราะห์หลายวิธีร่วมกันในงานวิจัยนี้ช่วยเสริมความเข้าใจทั้งในเชิงปริมาณ เชิงฤทธิ์ทางชีวภาพ และเชิงโครงสร้างเบื้องต้นของสารสกัดดอกเก็กฮวย ทำให้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่มสมุนไพร และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากดอกเก็กฮวยในอนาคต

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนสนับสนุนการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ของหน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล รหัสเลขทุน PM-PRA-2-66-03 และผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสำเริง บุญเที่ยง นักวิทยาศาสตร์ (ผู้ชำนาญการพิเศษ) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ลักษณะเชิงโครงสร้างของสารสกัดด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy แบบ attenuated total reflectance (FTIR-ATR)

7. References

- [1] Halliwell, B. 2013. Free radicals and antioxidants: The basic principles. **Medicine**. 32(1): 23-28.
- [2] Valko, M. and et al. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 39(1): 44-84.
- [3] Yuan, H. and et al. 2020. The flower head of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. (Juhua): A

- paradigm of flowers serving as Chinese dietary herbal medicine. **Journal of Ethnopharmacology**. 261: 113043.
- [4] Han, A.R. and et al. 2019. Phytochemical composition and antioxidant activities of two different color chrysanthemum flower teas. **Molecules**. 24(2): 329.
- [5] Mohamad, N.V. and Zahari, C.N.M.C. 2024. Biological activities of *Chrysanthemum morifolium* and *Chrysanthemum indicum*: molecular prospective. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 14(11): 029-041.
- [6] Sinanat, P. and et al. 2021. Biological activities of organic chrysanthemum flower extracts for cosmetic applications. **Journal of Research and Promotion in Agriculture**. 38(2): 46-56. (in Thai)
- [7] Sahoo, M.R. and et al. 2023. FTIR-based metabolomics profiling and fingerprinting of medicinal plants for quality control and standardization of herbal materials. **Pharmacognosy Research**. 5(1): 163-167.
- [8] Noviana, E., Indrayanto, G. and Rohman, A. 2022. Advances in fingerprint analysis for standardization and quality control of herbal medicines. **Frontiers in Pharmacology**. 13: 853023.
- [9] Tangpudtasiri, P. and et al. 2026. The effect of *Uvaria rufa* fruit extract for antioxidant and anti-melanogenic activities and phytochemical profiling using LC-MS analysis. **Journal of Medicinal Food**. 29(1): 22-32.
- [10] Ratanachamnong, P. and et al. 2023. HPLC analysis and *in vitro* antioxidant mediated through cell migration effect of *C. hystrix* water extract on human keratinocytes and fibroblasts. **Heliyon**. 9(2). e13068.
- [11] Saltarelli, R. and et al. 2009. Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from central Italy. **Food Chemistry**. 116: 143-151.
- [12] Do, Q.D. and et al. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. **Journal of Food and Drug Analysis**. 22: 296-302.
- [13] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**. 2(4): 152-159.
- [14] Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**. 18: 820-897.
- [15] Perron, N.R. and Brumaghim, J.L. 2009. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**. 53(2): 75-100.
- [16] Harborne, J.B. 1998. **Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis**. 3rd edition. London: Chapman & Hall.
- [17] Wagner, H. and Bladt, S. 2001. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd edition. Berlin: Springer-Verlag.
- [18] Wongsap, P., Phatikulrungsun, P. and Prathumthong, S. 2022. FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions. **Scientific Reports**. 12(1): 663.