



KKU SCIENCE JOURNAL

Journal Home Page : <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/KKUSciJ>

Published by the Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand



ศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเอทานอล จากเกสรเพศผู้ของบัวหลวง

Antioxidant Potential and Antimicrobial Properties of Ethanolic Extracts from *Nelumbo nucifera* Gaertn. Stamens

วิชุดา จันทรวงศ์¹ และ มัลลิกา จันทรวงศ์^{2*}Wichuda Jankangram¹ and Mallika Chantarangsee^{2*}¹คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว จังหวัดสระแก้ว 27160²คณะสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขตหนองคาย จังหวัดหนองคาย 43000¹Faculty of Science and Social Sciences, Burapha University Sakaeo Campus, Sakaeo, 27160, Thailand²Faculty of Interdisciplinary Studies, Khon Kaen University, Nong Khai Campus, Nong Khai, 43000, Thailand

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเอทานอลจากเกสรเพศผู้ของบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) ที่เก็บจากหนองกอมเกาะ จังหวัดหนองคาย โดยวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์ การคีเลตโลหะ และการต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากก้านชูเกสร และละอองเรณูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 2.092 ± 0.200 และ 1.376 ± 0.005 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ โดยมีค่า IC_{50} สำหรับการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 36.249 ± 0.020 และ 121.842 ± 0.0005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดทั้งสองชนิดแสดงความสามารถในการรีดิวซ์สูงถึง 17.461 ± 0.030 และ 16.532 ± 0.020 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ และสามารถคีเลตไอออนโลหะที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 74.890 ± 0.190 และ 100.000 ± 1.000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ และแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC) ภายในเวลา 18 ชั่วโมง

ABSTRACT

This study aimed to investigate the biological activities of ethanolic extracts from sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) stamens collected from Nong Kom Ko, Nong Khai Province, Thailand. The extracts were evaluated for total phenolic content, DPPH radical scavenging activity, reducing power, metal chelating ability, and antibacterial activity. The results revealed that extracts from stamen filaments and pollen exhibited total phenolic contents of 2.092 ± 0.200 and 1.376 ± 0.005 mg GAE/g, respectively. The DPPH radical scavenging activities showed IC_{50} values of 36.249 ± 0.020 and 121.842 ± 0.0005 μ g/ml,

*Corresponding Author, E-mail: mallika@kku.ac.th

Received date: 18 May 2025 | Revised date: 28 July 2025 | Accepted date: 26 August 2025

doi: 10.14456/kkuscij.2025.39

respectively. Both extracts demonstrated significant reducing power with values of 17.461 ± 0.030 and 16.532 ± 0.020 mg GAE/g, respectively. The metal chelating activities exhibited IC_{50} values of 74.890 ± 0.190 and 100.000 ± 1.000 μ g/ml, respectively. Antibacterial evaluation using the agar disc diffusion method demonstrated that the extracts could inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) values were determined to be 2.5 mg/ml for both bacterial strains and also exhibited bactericidal activity (MBC) within 18 hours of incubation.

คำสำคัญ: เกสรเพศผู้ บัวหลวง การต้านอนุมูลอิสระ ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย

Keywords: Stamens, *Nelumbo nucifera* Gaertn., Antioxidant, Antibacterial Activity

บทนำ

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) อยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae ได้รับการขนานนามให้เป็น "ราชินีแห่งไม้น้ำ" เป็นดอกไม้ที่ผู้คนนิยมกันทั่วโลกทั้งในการปลูกเป็นไม้ดอกและไม้ประดับ มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชีย เช่น จีน อินเดีย และไทย บัวหลวงถือเป็นสมุนไพรที่มีคุณค่าและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น โดยมีการนำส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงมาสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ และพบสารสำคัญที่มีสรรพคุณทางยา (Mukherjee *et al.*, 2009, Ono *et al.*, 2006) มีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับยาแผนโบราณ (ธวัชชัย, 2560) และการรักษาทางเลือกที่เน้นในเรื่องของสารสำคัญที่ได้จากธรรมชาติ (ปิยะวัติและคณะ, 2552) นอกจากนี้สารสกัดจากเกสรบัวหลวงยังนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางที่ช่วยชะลอ ชรา ลดกระ ฝ้า จุดต่างดำ จากการสร้างเม็ดสีผิว ช่วยเรื่องความเต่งตึง อ่อนเยาว์ (พัชรภรณ์และคณะ, 2562) และมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการบริโภค (Sridhar and Bhat, 2007) อีกด้วย

จากประโยชน์ดังกล่าวข้างต้น จึงมีการศึกษาสารสำคัญที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง โดยการสกัดด้วยวิธีการที่ต่างกัน จะได้สารสำคัญที่มีความแตกต่างกัน (บุษราคัมและคณะ, 2560) ณพัฐอร (2563) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดเอทานอลในบัวหลวง 3 สายพันธุ์ คือ บัวหลวงปทุม (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) บัวหลวงสัตตบงกช (*Nelumbo nucifera* 'Roseum Plenum') และบัวหลวงสัตตบุษย์ (*Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Album Plenum') พบสารสำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ และจากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม 50.56 ± 0.94 ถึง 94.67 ± 2.10 มิลลิกรัม ปริมาณแทนนินรวม 17.38 ถึง 28.53 มิลลิกรัม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม 24.91 ± 0.84 ถึง 37.32 ± 1.24 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging สูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 22.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และสารสกัดกลีบดอกบัวหลวงปทุม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 25.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม เช่นเดียวกับงานวิจัยของจิรพรรณและคณะ (2567) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกบัวหลวงสีชมพู ทำการสกัดส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู ได้แก่ กลีบดอก เกสร และรังไข่ ทั้งแบบสดและอบแห้ง โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลผสมน้ำ (1:1 โดยปริมาตร) พบว่าสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงในรูปแบบอบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากบัวหลวงสด โดยเฉพาะสารสกัดจากเกสรอบแห้งที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด ($IC_{50} = 9.31 \pm 1.45$ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับรังไข่และกลีบดอกอบแห้ง นอกจากนี้การสกัดด้วยเอทานอลผสมน้ำยังให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด โดยสารสกัดจากเกสรอบแห้งมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (209.70 ± 2.17 mg GAE/g)

งานวิจัยนี้สนใจที่จะสกัดสารสำคัญจากเกสรเพศผู้ของบัวหลวง ที่เป็นพันธุ์ไม้สำคัญที่ขึ้นกระจายตัวบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำท่วมถึงของแม่น้ำโขง ของหนองกอมเกาะ จังหวัดหนองคาย โดยการสกัดด้วยเอทานอล เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะ และการต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการสนับสนุนการนำสารสกัดเกสรเพศผู้ของบัวหลวง ไปเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์และการนำไปใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพหรือเครื่องสำอางต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัดตัวอย่างจากเกสรเพศผู้ของบัวหลวง

เก็บตัวอย่างเกสรเพศผู้บัวหลวง ในช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2560 จากบริเวณหนองกอมเกาะ ตำบลหนองกอมเกาะ อำเภอเมืองหนองคาย จังหวัดหนองคาย นำเกสรเพศผู้มาแยกออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ก้านชูอับเรณูและอับเรณู จากนั้นนำมาทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง นำมาบดหยาบและชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำก้านชูอับเรณูจำนวน 50 กรัม และเติมเอทานอล 95% ปริมาณ 290 มิลลิลิตร และอับเรณูจำนวน 30 กรัม เติมเอทานอล 95% ปริมาณ 181 มิลลิลิตร จากนั้นทำการแช่หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เขย่าเป็นครั้งคราว จากนั้นนำไปกรองและระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน แล้วเก็บสารสกัดตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์ต่อไป

การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

เตรียมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเฟอร์รินปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเติม 7 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วย Vortex Mixer บ่มไว้ในที่มืด 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ครั้ง โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแกลลิก

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical scavenging assay

เตรียมสารละลาย 2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) ในเอทานอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ เก็บในที่มืด จากนั้นนำสารสกัดตัวอย่าง 1000 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารสกัดตัวอย่างเทียบกับวิตามินซี คำนวณเป็น

$$\text{DPPH radical scavenging assay (\%)} = [A_0 - A_1 / A_0] \times 100\%$$

โดยที่ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมของ DPPH ที่ผสมกับเอทานอล (control)

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ DPPH

สร้างกราฟหาค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับ Trolox และสารสกัดก้านชูอับเรณู รายงานค่าเป็น IC_{50} ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Scavenging และความเข้มข้นของสารสกัด

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Reducing power

นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 40 ไมโครลิตร มาเติม phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ pH 6.6 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร แล้วเติม 1% Potassium ferricyanide ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำมาผสมกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้น 10 % (w/v) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง 4000 rpm นาน 10 นาที แล้วนำสารละลายส่วนบน 250 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 250 ไมโครลิตร เติม ferric chloride ($FeCl_3$) ความเข้มข้น 1% (w/v) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน

การทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะ Ion-Chelating Capacity

นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และเติมสารละลายเฟอร์โรซีน (Ferrozine) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการคีเลตโลหะ และคำนวณหา IC_{50} จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การคีเลตไอออนโลหะกับความเข้มข้นของสารสกัด ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง

$$\text{เปอร์เซ็นต์การคีเลตไอออนโลหะ} = \frac{\text{control} - \text{sample}}{\text{control}} \times 100$$

โดยที่ control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำกลั่น เฟอร์รัสซัลเฟต และเฟอร์โรซีน

sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย EDTA หรือส่วนสารสกัด เฟอร์รัสซัลเฟต และน้ำกลั่น

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar disc diffusion assay

เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 15 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปทดสอบกับการยับยั้งเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* บนอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเชื้อแบคทีเรียเจริญบนอาหารแข็งทำการคัดเลือกมาประมาณ 5 - 10 โคโลนี มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเชื้อแบคทีเรียเจริญในอาหารเหลวแล้ว นำไปวัดค่าความขุ่นของสารแขวนลอยที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียเท่ากับค่า McFarland standard No 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 10^5 CFU/มิลลิลิตร เกลี่ยเชื้อ (swab) ให้ทั่วบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ประมาณ 3 - 5 นาที จากนั้นหยดสารสกัดก้านชู่อับเรณูและอับเรณูความเข้มข้น 15 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร นำไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเกลี่ยเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งที่เกิดขึ้น (inhibition zone) ใช้อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมผลบวก และเอทานอลเป็นตัวควบคุมผลลบ

การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

เจือจางสารสกัดก้านชู่อับเรณูและอับเรณูแบบสองเท่า (two-fold dilution) ของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดเริ่มต้น นำหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 6 หลอด ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB ใส่ในหลอดทดลอง 5 หลอด หลอดละ 2.25 มิลลิลิตร และปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 1 ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารในหลอดที่ 1 ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 2 ทำซ้ำแบบเดียวกันไปจนถึงหลอดที่ 5 สำหรับหลอดที่ 5 เมื่อผสมสารสกัดและอาหารเชื้อเข้ากันได้แล้ว ดูดสารละลายทิ้งไป 0.25 มิลลิลิตร โดยความเข้มข้นของสารสกัดในหลอดที่ 1 - 5 มีค่าเท่ากับ 2.5 0.25 0.025 0.0025 และ 0.00025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนหลอดที่ 6 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด (ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับศูนย์) ใช้เป็นตัวควบคุมผลบวก จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ปรับค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ให้สังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับตัวควบคุมผลบวก จดบันทึกค่าความเข้มข้นของหลอดที่สารละลายใสไม่มีความขุ่นของเชื้อจะได้ค่า MIC เมื่อได้ค่า MIC สามารถนำมาหาค่า MBC ได้โดยนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นของเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปเทและเกลี่ยลง

บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MHA ทั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* จดบันทึกค่า MBC หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

การวิเคราะห์ผลการวิจัยทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเบื้องต้น จำนวนของการทดสอบ $n = 3$ รายงานผลที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และทำการทดสอบด้วยวิธี Tukey's honestly significant difference (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

น้ำหนักของสารสกัดเป็นร้อยละของเกสรบัว

สารสกัดตัวอย่างที่ได้จากก้านชูอับเรณูและอับเรณู มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล และสีเหลืองตามลำดับ น้ำหนักของสารสกัดมีค่าเท่ากับ 6.79 และ 3.26 กรัม และมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% yield) เท่ากับ 12.59 และ 11.22 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าของ Paudel and Panth (2015) ที่รายงานเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของเกสรบัวเท่ากับ 8.5 - 13.2 ความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ผลผลิตระหว่างก้านชูอับเรณูและอับเรณูอาจเกิดจากวิธีการการสกัด หรือองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง

ตารางที่ 1 น้ำหนักของสารสกัดเป็นร้อยละของเกสรเพศผู้ของบัวหลวง

ตัวอย่าง	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต	ลักษณะของสารสกัด
ก้านชูอับเรณู	49.18	6.79	12.59	ของเหลวหนืดสีน้ำตาล
อับเรณู	29.05	3.26	11.22	ของเหลวหนืดสีเหลือง

ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะของสารสกัดเกสรเพศผู้ของบัวหลวง

ตัวอย่าง	ฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมสมมูล กรดแกลลิกต่อกรัม)	ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความสามารถในการรีดิวซ์ (มิลลิกรัมสมมูล กรดแกลลิกต่อกรัม)	ความสามารถในการคีเลต ไอออนโลหะ IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ก้านชูอับเรณู	2.092 $\pm$ 0.200 ^b	36.249 $\pm$ 0.020 ^b	17.461 $\pm$ 0.030 ^b	74.890 $\pm$ 0.190 ^b
อับเรณู	1.376 $\pm$ 0.005 ^c	121.842 $\pm$ 0.001 ^a	16.532 $\pm$ 0.200 ^b	100.000 $\pm$ 1.000 ^a
Gallic acid	256.001 $\pm$ 0.001 ^a	-	47.105 $\pm$ 0.000 ^a	-
Trolox	-	3.756 $\pm$ 0.005 ^c	-	-
EDTA	-	-	-	0.158 $\pm$ 0.002 ^c

- ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ความแตกต่าง a b และ c แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในช่วงความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 2 แสดงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์และ ความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะของสารสกัดเกสรเพศผู้ของบัวหลวง พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของ สารสกัดจากก้านชูอับเรณู และอับเรณูเท่ากับ 2.092 $\pm$ 0.20 และ 1.376 $\pm$ 0.005 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ามีปริมาณน้อยกว่างานวิจัยของ ณพัชรอร (2563) ที่ได้รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวมของเกสรบัว มีค่าเท่ากับ 89.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ทั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่า แหล่งที่มาและ

สภาพแวดล้อมที่ต่างกัน มีผลต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และในส่วนของเกษตรกรผู้ของบัวหลวง จะมีค่าสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อยกว่าส่วนอื่น ๆ ของบัวหลวง (สุรัตน์ดีและคณะ, 2014)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH Radical scavenging assay ของสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู พบว่ามีค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัด IC_{50} เท่ากับ 36.249 และ 121.842 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.756 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการวิจัยพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging สูงสุดโดยแสดงในรูปของค่า IC_{50} ของสารสกัดจากก้านชูอับเรณูมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าอับเรณู ต่างจากการศึกษาของบุษราคัมและคณะ (2560) ที่ได้ทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ในเกษตรกรผู้บัวหลวงคล้ายกับผลการวิจัยนี้ คือเกษตรกรบัวมีค่า IC_{50} น้อยกว่าก้านชูอับเรณูและอับเรณู ซึ่งเท่ากับ 0.029 ± 0.008 ส่วนในล้านส่วน (ppm) อาจเกิดจากเกษตรกรที่ต่างชนิดกัน มีผลต่อคุณภาพของสารสกัดทำให้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ต่างกัน

ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สามารถวิเคราะห์โดยใช้เฟอร์ริกคลอไรด์ โดยสารเชิงซ้อนของเฟอร์ริกไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนให้เป็นเฟอร์รัสไอออน ถ้าความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนสูงขึ้นแสดงว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์สูงขึ้นด้วย สารองค์ประกอบบางชนิดออกฤทธิ์โดยการให้อิเล็กตรอนทำให้ปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระสิ้นสุดลงพบว่า ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู เท่ากับ 17.461 ± 0.03 และ 16.532 ± 0.20 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ การทดสอบความสามารถในการ reducing power ของสารสกัดก้านชูอับเรณูมี reducing power มากกว่าอับเรณู

ผลการทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนของโลหะพบว่าสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู มีค่า IC_{50} เท่ากับ 74.89 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA ซึ่งมี IC_{50} เท่ากับ 0.1579 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะ พบว่าสารสกัดก้านชูอับเรณู มีความสามารถเข้าไปจับโลหะทรานซิชันซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าอับเรณู ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลาย EDTA มีความสามารถในการคีเลตได้ดีกว่าสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู ขณะที่ (Chen *et al.*, 2013) ได้ทดสอบความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะของเกษตรกรบัวแดง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 65 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากสารสกัดที่ได้มาจากดอกบัวที่มีความแตกต่างกันในด้านอายุ สายพันธุ์ และที่มาของแหล่งที่ดอกบัว ปัจจัยเหล่านี้อาจส่งผลต่อกระบวนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งจัดเป็นสารทุติยภูมิ ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถในการคีเลตไอออนโลหะที่ต่างกัน

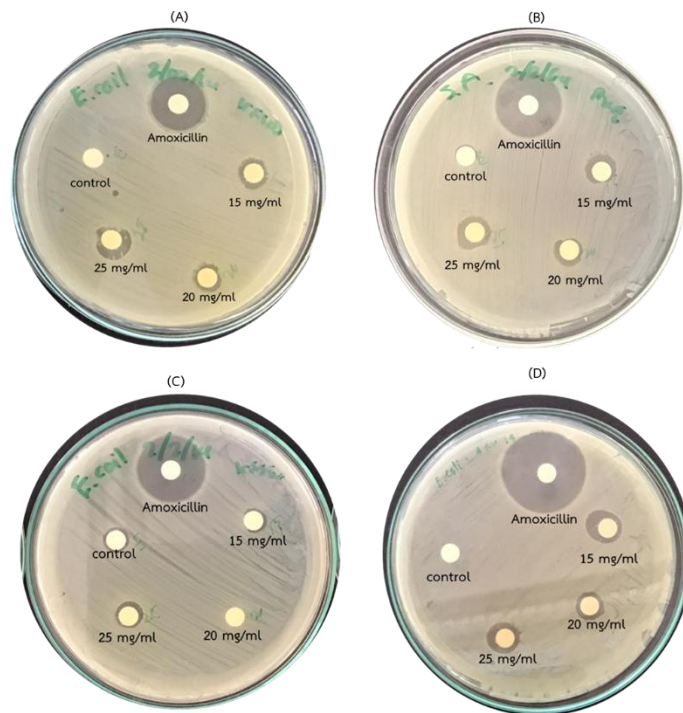
การต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Agar disc diffusion method

จากการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู พบว่าสารสกัดทั้งสองที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* มีขนาดค่าเฉลี่ย Inhibition zone เท่ากับ 11.33 ± 0.57 และ 11.66 ± 1.53 มิลลิเมตร และ *S. aureus* มีขนาดค่าเฉลี่ย Inhibition zone เท่ากับ 11.33 ± 0.57 และ 11.66 ± 0.57 มิลลิเมตร ผลการทดสอบแสดงดังรูปที่ 1 และตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณูมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการศึกษาวิจัยของปิยะวดีและคณะ (2552) และพัชราภรณ์และคณะ (2562) ที่พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและนำไปเป็นส่วนประกอบของเครื่องอุปโภคที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคได้

ตารางที่ 3 การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเกสรเพศผู้บัวหลวง โดยวิธี Agar disc diffusion method

ตัวอย่าง	เส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean $\pm$ SD; มิลลิเมตร)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amoxicillin	20.00 $\pm$ 1.73 ^a	21.67 $\pm$ 1.15 ^a
ก้านชูอับเรณู	11.33 $\pm$ 0.57 ^b	11.33 $\pm$ 0.57 ^b
อับเรณู	11.66 $\pm$ 1.53 ^b	11.66 $\pm$ 0.57 ^b

- ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ความแตกต่าง a และ b แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 1 ขนาดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดเอทานอลจากเกสรตัวผู้ของดอกบัวหลวง: (A) (B) ขนาดยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดก้านชูเกสรความเข้มข้น 15 - 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ และ (C) (D) ขนาดยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดละอองเรณูความเข้มข้น 15 - 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดเกสรเพศผู้บัวหลวง ด้วยวิธี Broth dilution technique โดยมีค่าเริ่มต้นศึกษาที่ค่าความเข้มข้นสูงสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม พบว่าค่า MIC ของสารสกัดจากก้านชูอับเรณูและอับเรณูในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 2.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) พบว่าค่า MBC ของสารสกัดจากก้านชูอับเรณูและอับเรณู ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และ (MBC)

สารสกัด	MIC of <i>Escherichia coli</i> (mg/ml)	MIC of <i>Staphylococcus aureus</i> (mg/ml)	MBC of <i>Escherichia coli</i> (mg/ml)	MBC of <i>Staphylococcus aureus</i> (mg/ml)
ก้านชูอับเรณู	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0
อับเรณู	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0

- ตัวเลขที่แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย และ +/- ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar diffusion method พบว่า สารสกัดก้านชูอับเรณูและอับเรณู มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยสร้างโซนใสที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 11.33 ± 0.57 และ 11.66 ± 1.53 มิลลิเมตร ส่วน *E. coli* โดยสร้างโซนใสที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 11.33 ± 0.57 และ 11.66 ± 0.57 มิลลิเมตร และหาค่า MIC และ MBC สารสกัดก้านชูอับเรณู และอับเรณู มีค่าเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พัทธกรรณ์ และคณะ (2562) ที่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดดอกบัวแดง พบว่าสารสกัดเกสรบัวแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* โดยสร้างโซนใสที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 7.40 ± 0.17 และ 7.10 ± 0.10 มิลลิเมตร และหาค่า MIC และ MBC สารสกัดบัวแดง มีค่าเท่ากับ 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม ค่า MIC และ MBC แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะสารสกัดบัวแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า จึงส่งผลให้ได้ผลการทดลองการต้านเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกัน

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากเกสรเพศผู้ของดอกบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีนัยสำคัญและมีศักยภาพในการนำไปใช้ทางการแพทย์ สารสกัดจากก้านชูอับเรณูแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหนือกว่าสารสกัดจากอับเรณู ซึ่งสังเกตได้จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สูงกว่า (2.092 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่แรงกว่า ($IC_{50} = 36.249$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และความสามารถในการรีดักซ์ที่ดีกว่า (17.461 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม) สารสกัดทั้งสองชนิดแสดงความสามารถในการคีเลตโลหะที่โดดเด่นและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพต่อทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) และแกรมลบ (*E. coli*) โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สังเกตได้นี้เกิดจากการมีอยู่ของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารออกฤทธิ์หลักที่รับผิดชอบต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลินทรีย์ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพชี้ให้เห็นว่าเกสรเพศผู้บัวหลวง สามารถเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีคุณค่า ผลการศึกษานี้เน้นย้ำถึงศักยภาพทางเภสัชกรรมและโภชนเภสัชกรรมของสารสกัดเกสรเพศผู้ของดอกบัวหลวง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการประยุกต์ใช้ในโรคที่เกี่ยวข้องกับความเครียดออกซิเดทีฟและโรคติดเชื้อ ผลลัพธ์นี้สนับสนุนการใช้บัวในการแพทย์พื้นบ้านและให้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงหน้าที่จากดอกบัวหลวง ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไปคือการระบุและวิเคราะห์ลักษณะของสารประกอบฟีนอลิกเฉพาะที่รับผิดชอบต่อฤทธิ์เหล่านี้ ประเมินกลไกการออกฤทธิ์และประเมินความปลอดภัยสำหรับการประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ การศึกษาในสิ่งมีชีวิตจะมีคุณค่าในการยืนยันประสิทธิภาพการรักษาของสารสกัดเหล่านี้ในระบบชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

- จิรพรรณ เทียนทอง, วิรัชรอง แสงอรุณเลิศ, สาวิตรี ชัดลีย์, ดารณี นิลทอง และสุภาวิณี แก้วบังเกิด. (2567). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 12(2): 81 - 96.
- ณพัชร บัวฉวน. (2563). การวิเคราะห์พิษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของบัวหลวง. วารสารวิจัย มทร.กรุงเทพ 14(1): 125 - 136.
- บุษราคัม สิงห์ชัย, นิตา ตระกูลภักดี และสาวิตรี ทองลัม. (2560). น้ำมันหอมระเหยจากเกสรบัวหลวงราชินี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25(1): 28 - 34.
- ธวัชชัย มังคละคุปต์. (2560). บัวหลวง สรรพคุณและประโยชน์ดอกบัวหลวง 83 ข้อ. แหล่งข้อมูล: <http://medthai.com> ค้นเมื่อวันที่ 9 ตุลาคม 2563.
- ปิยะวดี เจริญวัฒน์, สุนา ปานสมุทร, ดำรง คงสวัสดิ์ และอำนาจ เพชรประไพ. (2552). การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากบัวหลวง. ใน: รายงานการวิจัยคณะบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี: 87 หน้า
- พัชรภรณ์ ไชยศรี, วิจิต ไชยเวช, ชาศริต วงศ์ออม และนงศ์ลักษณ์ เหลาพรหม. (2562). ประสิทธิภาพของเจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวแดงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค. PSRU Journal of Science and Technology 4(3): 58 - 71.
- สุรัตน์วดี วงศ์คลัง, เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ และอรุณพร อธิรัตน์. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของบัวหลวง. การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 2: วิชาการก้าวหน้า ภูมิปัญญาแห่งลุ่มน้ำโขง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ, สกลนคร. 84 - 85.
- Chen, S., Xiang, Y., Deng, J., Liu, Y. and Li, S. (2013). Simultaneous Analysis of Anthocyanin and Non-Anthocyanin Flavonoid in Various Tissues of Different Lotus (*Nelumbo*) Cultivars by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ. PLoS One 8(4): e62291.
- Mukherjee, P.K., Mukherjee, D., Maji, A.K., Rai, S. and Heinrich, M. (2009). *Nelumbo nucifera*: A comprehensive review on its phytochemistry and pharmacology. Journal of Pharmacy and Pharmacology 61(4): 407 - 422.
- Ono Y., Hattori E., Fukaya Y., Imai S., and Ohizumi Y. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. Journal of ethnopharmacology 106: 238 - 244.
- Paudel, K.R. and Panth, N. (2015). Phytochemical profile and biological activity of *Nelumbo nucifera*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2015: 789124.
- Sridhar, K.R., and Bhat, R. (2007). Lotus - A potential nutraceutical source. Journal of Agricultural Technology 3(1): 143 - 155.

