

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ

ของดอกบัวหลวงสีชมพู

ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF PINK

NELUMBO NUCIFERA GAERTN. FLOWER EXTRACT

จิรพรรณ เทียนทอง^{*}, วิริงรอง แสงอรุณเลิศ, สาวิตรี ชัดลีย์, ดารณี นิลทอง และ สุภาวิณี แก้วบังเกิด
Jeerapan Tientong^{*}, Wirungrong Sangarunlert, Sawitree Suckley, Daranee Nilthong
and Supawinee Kaewbungkerd

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์
Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University

Received: 16 August 2024

Revised: 30 August 2024

Accepted: 30 August 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกบัวหลวงสีชมพู ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกมากในจังหวัดพิจิตร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่สามารถเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือเครื่องดื่มที่ช่วยลดอนุมูลอิสระในร่างกาย การวิจัยนี้ทำการสกัดส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู ได้แก่ กลีบดอก, เกสร, และรังไข่ ทั้งในรูปแบบสดและอบแห้ง โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลผสมน้ำ (1:1 โดยปริมาตร) จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวัดปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงในรูปแบบอบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากบัวหลวงสด โดยเฉพาะสารสกัดจากเกสรอบแห้งที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด ($IC_{50} = 9.31 \pm 1.45 \mu\text{g/mL}$) เมื่อเปรียบเทียบกับรังไข่และกลีบดอกอบแห้ง นอกจากนี้ การสกัดด้วยเอทานอลผสมน้ำยังให้

^{*} Corresponding author: จิรพรรณ เทียนทอง

E-mail: jeerapan.t@nsru.ac.th

ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด โดยสารสกัดจากเกสรอบแห้งมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (209.70 ± 2.17 mg GAE/g DW)

คำสำคัญ: ถุพธิด้านอนุมลิสระ, ปริมาณฟีนอลิกรวม, บั้วหลวงสีชมพู

Abstract

This research focuses on studying the antioxidant activity and total phenolic content of extracts from pink sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) flowers, a plant widely cultivated in Phichit Province. The objective of this study is to provide preliminary data for the development of agricultural products that can be value-added, such as dietary supplements or beverages that help reduce free radicals in the body. The research involves extracting different parts of the pink lotus flower, including petals, stamens, and ovaries, both in fresh and dried forms, using pure ethanol and ethanol-water (1:1 v/v) as solvents. The crude extracts were then tested for antioxidant activity using the DPPH assay and for total phenolic content using the Folin-Ciocalteu method. The results revealed that extracts from air-dried lotus parts exhibited higher antioxidant activity than those from fresh lotus. Notably, the stamen extract from air-dried lotus, using ethanol-water as the solvent, showed the highest DPPH antioxidant activity ($IC_{50} = 9.31 \pm 1.45$ μ g/mL) compared to the ovary and petal extracts. Additionally, the ethanol-water extraction yielded the highest total phenolic content, with the dried stamen extract having the highest phenolic content (209.70 ± 2.17 mg GAE/g DW).

Keywords: antioxidant activity, total phenolic content, pink *Nelumbo nucifera* Gaertn.

บทนำ

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรเป็นกระบวนการที่ได้รับความนิยมอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน เพราะประเทศไทยมีความอุดมสมบูรณ์ด้วยพันธุ์ไม้และสมุนไพรหลากหลายชนิดที่มีศักยภาพในการใช้รักษาโรคต่าง ๆ อันเนื่องมาจากมีสารสำคัญมากมายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี การทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรไทยเพื่อสำรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะในพืชชนิดใหม่ ถึงแม้สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์นั้นจะมีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัดของการใช้และมีปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค จึงทำให้การแสวงหาสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น (ชนัญ ผลประไพ และ ศรีณยู อุณหวิ, 2562) มีรายงานว่าพืชธรรมชาติมีสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแซนโธน (xanthones) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี (กรรณิการ์ พิมพัส และคณะ, 2563)

บัวหลวงสีชมพู (pink *Nelumbo nucifera* Gaertn.) เป็นพืชสมุนไพรที่พบมากโดยทั่วไปในประเทศไทย มีคุณสมบัติที่น่าสนใจในการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และสมุนไพรต่าง ๆ ทุกส่วนของดอกบัวหลวงสามารถนำมาใช้ประกอบอาหาร รวมถึงมีสรรพคุณในการรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ ได้ เช่น กลีบดอกใช้เป็นยาฝาดสมาน ใบบำรุงร่างกายให้ชุ่มชื้น มีประสิทธิภาพในการขยายหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ และมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่มีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่าง ๆ สารอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นในร่างกายมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคต่าง ๆ การมีอนุมูลอิสระมากเกินไปจนเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรส (oxidative stress) ซึ่งสามารถนำไปสู่การทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ การสกัดสารจากดอกบัวหลวงสีชมพูจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจในการค้นหาสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำมาสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่าง ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ (กุสุมา จิตแสง และ บรรลือ สังข์ทอง, 2560 และ Adwas et al, 2019) การนำดอกบัวหลวงมาแยกเป็นส่วนต่าง ๆ เป็นขั้นตอนสำคัญในการสกัดสารสำคัญจากแต่ละส่วนของดอกบัวหลวงสีชมพูเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบที่ได้ และใช้เป็นข้อมูลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละส่วนของดอกบัวหลวงสีชมพู การนำไปประยุกต์ด้านต่าง ๆ ดังจะเห็นว่ามียานวิจัยมากมายที่สนใจนำสารสกัดสมุนไพรไปต่อยอดเพื่อเพิ่มมูลค่าของ

สมุนไพรไทย โดยการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือเครื่องดื่ม (อรอุมา คำแดง และคณะ, 2565) รวมถึงนำไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ (พนิดา แสนประกอบ และ เกศศิริรินทร์ แสงมณี, 2562; วรรณิสา แก้วบ้านกรุด และคณะ, 2567) เพื่อส่งเสริมสุขภาพและความงามต่อไป

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารสำคัญจากดอกบัวหลวงสีชมพูโดยวิธีแช่หมัก (maceration) ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ง่าย สะดวก ให้ประสิทธิภาพที่ดีในการสกัดสารสำคัญจากพืช และเหมาะสมสำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชที่สภาวะอุณหภูมิห้องโดยช่วยให้คงคุณภาพของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน (Abubakar & Haque, 2020) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยวิธี 1,1-diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) ก็เป็นวิธีที่สะดวกถูกต้องและรวดเร็ว การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จึงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมโดยทั่วไปสำหรับประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ นอกจากนี้การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยผลที่ได้แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชสมุนไพร (จิรภัทร เล่ห์สิงห์ และคณะ, 2567)

ดังนั้นงานวิจัยนี้สนใจสกัดสารจากดอกบัวหลวงสีชมพูในจังหวัดพิจิตร โดยทำการสกัดส่วนต่าง ๆ ของดอกบัว ได้แก่ รังไข่ เกสร และกลีบดอกด้วยวิธี maceration เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดเอ็นระหว่างในตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบที่ได้จากแต่ละส่วนของดอกบัวหลวงทั้งแบบสดและแบบอบแห้ง จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนต่าง ๆ นี้ด้วยวิธี DPPH และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นและการนำไปใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพหรือเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู ทั้งแบบสด และแบบแห้ง ด้วยวิธี DPPH และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมตัวอย่างดอกบัวหลวงสีชมพู จากส่วนต่าง ๆ

เก็บตัวอย่างบัวหลวงสีชมพู (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) จากบึงบัว อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร และนำมาแยกส่วนต่าง ๆ ได้แก่ กลีบดอก (petals) เกสร (stamens) และรังไข่ (ovaries) ดังรูปที่ 1 นำมาล้างทำความสะอาดแล้วพักไว้ให้แห้ง แบ่งเป็นสองส่วนคือแบบสดและแบบอบแห้งโดยนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เวลา 6 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ คำนวณหาค่าร้อยละความชื้น (% moisture) ของส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู จากสมการที่ 1

$$\% \text{ moisture} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}} \quad (1)$$

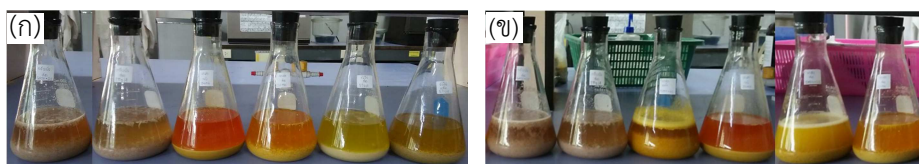
แยกบดตัวอย่างแต่ละส่วนให้ละเอียด จากนั้นจึงนำดอกบัวหลวงแต่ละส่วนมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v)



รูปที่ 1 การเตรียมตัวอย่างดอกบัวหลวงส่วนต่าง ๆ

2. สกัดดอกบัวหลวงแบบสดและแบบอบแห้งโดยวิธีแช่หมัก

ซังตัวอย่างทั้ง 3 ส่วน ทั้งแบบสดและแบบอบแห้ง 50 กรัม บรรจุในขวดรูปชมพู่ที่มีจุลปิดสนิท เดิมตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ เอทานอลบริสุทธิ์ (99.9%) และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) อย่างละปริมาตร 200 mL สกัดด้วยวิธีแช่หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ดังรูปที่ 2 โดยเปิดฝาขวดคนเป็นระยะ ๆ กรองด้วยผ้าขาวบาง เก็บส่วนของเหลวไว้ นำส่วนกากมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเดิมอีก 2 ครั้ง ๆ ละ 200 mL (รวมสกัด 3 ครั้ง)



รูปที่ 2 การสกัดด้วยวิธีแช่หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

(ก) กลีบดอกบัวหลวง เกสร และรังไข่ หมักด้วยตัวทำละลายเอทานอล

(ข) กลีบดอกบัวหลวง เกสรและรังไข่ หมักด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v)

นำส่วนของเหลวที่สกัดได้ทั้ง 3 ครั้ง มากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 °C ความดัน 150 mbar จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ที่มีลักษณะข้นหนืด ซึ่งน้ำหนักของสารสกัด คำนวณหาร้อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบที่ได้ (% yield) จากสมการที่ 2

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของพืชตัวอย่าง}} \quad (2)$$

จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้บรรจุไว้ในขวด ปิดฝาให้สนิท หุ้มด้วยวัสดุทึบแสง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม

3. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดอกบัวหลวงสีชมพูด้วยวิธี DPPH

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) ตามวิธีของ Shirwaikar et al. (2006) และ Zhu et al. (2011) เป็นกระบวนการทางเคมีที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ โดยใช้สาร DPPH radical ที่ความเข้มข้น 6.5 mM ปริมาตรเท่ากับ 2 mL เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10-250 mg/L) แล้วเติมผสมสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่สีม่วงเข้ม ปริมาตรเท่ากับ 2 mL เขย่าส่วนผสมทั้งหมดด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดทันทีเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) โดยใช้สาร BHT และ BHA เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับสารสกัดตัวอย่าง คำนวณค่า

DPPH radical scavenging activity (%) และรายงานผลโดยค่า IC_{50} ในหน่วยความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$) จากผลการทดลองที่ได้คำนวณหา DPPH radical scavenging activity (%) จากสมการที่ 3

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) * 100 \quad (3)$$

เมื่อ A_c คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (Absorbance of control)

A_s คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ผสมกับสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน (Absorbance of sample or standard solution)

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี (UV-visible spectrophotometry) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ตามวิธีของ Singleton and Rossi (1965) ที่ปรับขั้นตอนการวิเคราะห์โดย Meda et al. (2005) กล่าวคือ เตรียมสารสกัดตัวอย่างโดยชั่งสารสกัดตัวอย่าง 0.1000 g ละลายในเอทานอล 2 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 100 mL ปิเปตสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางแล้วมาปริมาตร 0.5 mL ใส่ในหลอดทดลองแยกกัน 3 หลอด เติมสารเติม Folin-Ciocalteu's reagent 2.5 mL เขย่าส่วนผสมทั้งหมดด้วยเครื่องผสมสารละลาย แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5% w/v ปริมาตร 2.0 mL และผสมอีกครั้งด้วยเครื่องผสมสารละลาย จากนั้นตั้งหลอดทดลองไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานภายนอกของกรดแกลลิกในช่วง 0 ถึง 200 mg/L โดยผลการคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดตัวอย่าง แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของสารเทียบเท่ากับกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักรวบรวม (mg GAE/100 g of sample)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ปริมาณความชื้นในส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู

ผลร้อยละความชื้นในส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู แสดงในตารางที่ 1 พบว่า เกสรมีร้อยละความชื้นน้อยที่สุด คือ 68.0 ± 0.6 เมื่อเปรียบเทียบกับกลีบดอกและรังไข่ซึ่งมีร้อยละความชื้นสูงมากคือ 87.0 ± 2.0 และ 84.2 ± 3.1 ตามลำดับ ผลดังกล่าวแสดงว่าน้ำหนักตัวอย่างแบบสดของทั้งกลีบดอกและรังไข่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มาก ผลดังกล่าวจึงทำให้ทราบว่าเมื่อชั่งน้ำหนักของกลีบดอกอบแห้งและรังไข่อบแห้งที่มีการสูญหายของน้ำไปแล้วจะได้ปริมาณของตัวอย่างปริมาณมากขึ้นเมื่อเทียบกับการชั่งน้ำหนักตัวอย่างกลีบดอกแบบสดและรังไข่แบบสด ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักเกสรอบแห้งจะมีความแตกต่างกับเกสรแบบสดน้อยที่สุด เพราะร้อยละความชื้นของเกสรที่น้อยที่สุด

ตารางที่ 1 ปริมาณความชื้นในส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู

ส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวง สีชมพู	ร้อยละความชื้น (% moisture) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)
กลีบดอก	87.0 ± 2.0
เกสร	68.0 ± 0.6
รังไข่	84.2 ± 3.1

2. การสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v)

จากตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดหยาบดอกบัวหลวงสีชมพูจากส่วนต่าง ๆ ทั้งแบบสดและอบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ทั้งหมด 12 ตัวอย่าง มีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวข้นหนืด สารสกัดหยาบที่ได้นี้จะถูกเก็บไว้ในขวดเก็บสารปิดฝาแล้วหุ้มทั้งขวดด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันการสัมผัสแสงและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมต่อไป

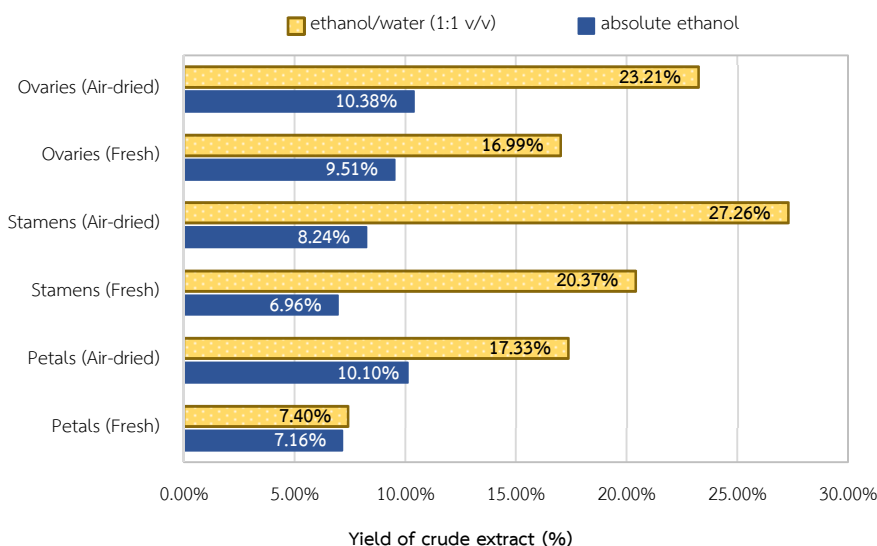
ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	ลักษณะทางกายภาพ
กลีบดอกสด	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
เกสรสด	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีส้มเหลืองเข้ม
รังไข่สด	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลดำเข้ม
กลีบดอกอบแห้ง	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลดำเข้ม
เกสรอบแห้ง	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีส้มเหลือง
รังไข่อบแห้ง	เอทานอล	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
กลีบดอกสด	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม
เกสรสด	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีส้มเหลืองเข้ม
รังไข่สด	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลดำเข้ม
กลีบดอกอบแห้ง	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม
เกสรอบแห้ง	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีส้มเหลือง
รังไข่อบแห้ง	เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	ของเหลวชั้นหนืดสีน้ำตาลเข้ม

จากรูปที่ 3 แสดงร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้ของดอกบัวหลวงสีชมพูทั้งแบบสดและแบบอบแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ และตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ซึ่งแยกสกัดเป็นส่วนต่าง ๆ ได้แก่ กลีบดอก เกสร และรังไข่ พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) มีปริมาณมากกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ตั้งแต่ 1.03 ถึง 3.31 เท่า โดยพบว่าดอกบัวหลวงสีชมพู จากส่วนเกสรอบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จะให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้สูงที่สุดคือ 27.26% โดยได้ปริมาณสารสกัดหยาบที่มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ (8.24%) ถึง 3.31 เท่า เมื่อทำการสกัดส่วนรังไข่อบแห้งด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จะให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้สูงรองลงมาคือ 23.21% โดยได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าที่สกัดจากเอทานอลบริสุทธิ์ (10.38%) ถึง 2.24 เท่า พบว่าการสกัดส่วนของเกสรแบบสดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้สูงมากเช่นกัน (20.37%) และได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ (8.24%) ถึง 2.93 เท่า นอกจากนี้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดดอกบัวหลวงสีชมพูด้วยเอทานอล

ต่อน้ำ (1:1 v/v) สำหรับส่วนของกลีบดอกอบแห้ง (17.33%) รังไข่แบบสด (16.99%) และกลีบดอกแบบสด (7.40%) มีปริมาณสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์จากส่วนกลีบดอกอบแห้ง (10.10%) รังไข่แบบสด (9.51%) และกลีบดอกแบบสด (7.16%) มากกว่าถึง 1.72 1.79 และ 1.03 เท่า ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการสกัดส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูทั้งแบบสดและแบบอบแห้งด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จะให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้จากเกสรอบแห้ง (27.26%) รังไข่อบแห้ง (23.21%) และกลีบดอกอบแห้ง (17.33%) ซึ่งมีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดส่วนต่าง ๆ แบบสดคือ เกสรแบบสด (20.37%) รังไข่แบบสด (16.99%) และกลีบดอกแบบสด (7.40%) ตามลำดับ ในการสกัดดอกบัวหลวงสีชมพูด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับการสกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) โดยพบว่าดอกบัวหลวงสีชมพูที่อบแห้งแล้วจะให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าที่สูงกว่าแบบสด กล่าวคือ รังไข่อบแห้ง (10.38%) กลีบดอกอบแห้ง (10.10%) และเกสรอบแห้ง (8.24%) ซึ่งมีค่าสูงกว่าร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้จากดอกบัวหลวงสีชมพูแบบสดคือ รังไข่แบบสด (9.51%) กลีบดอกแบบสด (7.16%) และ เกสรแบบสด (6.96%) ตามลำดับ



รูปที่ 3 ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้ (%Yield of crude extract) ของส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูทั้งแบบสด (Fresh) และแบบอบแห้ง (Air-dried) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v)

ตารางที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้ (%Yield of crude extract) ของส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูทั้งแบบสด (Fresh) และแบบอบแห้ง (Air-dried) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ด้วยสถิติ t-test

ตัวทำละลาย	ส่วนต่าง ๆ ของ ดอกบัวหลวงสีชมพู	Mean±S.D.	df	t-test
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	เกสรอบแห้ง	27.26±0.01 8.24±0.04	2	-1098.120
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	รังไข่อบแห้ง	23.21±0.03 10.38±0.05	2	-277.778
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	กลีบดอกอบแห้ง	17.33±0.10 10.10±0.08	2	-44.693
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	เกสรแบบสด	20.37±0.15 6.96±0.09	2	-387.113
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	รังไข่แบบสด	16.99±0.07 9.51±0.11	2	-323.894
เอทานอล เอทานอล-น้ำ (1:1 v/v)	กลีบดอกแบบสด	7.40±0.12 7.16±0.06	2	-6.928

นอกจากนี้ พบว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบที่ได้แตกต่างกันเนื่องจากสภาพขั้ว (polarity) ของตัวทำละลาย ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้ การสกัดดอกบัวหลวงสีชมพูด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จะได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบที่ได้สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 3 ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) เป็นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนผสมซึ่งมีสภาพขั้วที่สูงกว่าเอทานอลบริสุทธิ์ ดังนั้นตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จึงสามารถละลายสารที่มีขั้วสูงออกมาจากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูได้มาก ในขณะเดียวกันในตัวทำละลายผสมที่มีเอทานอลซึ่งมีสภาพขั้วต่ำกว่าน้ำจึงช่วยละลายสารที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าน้ำออกมาจากดอกบัวหลวงสีชมพูได้ด้วย ทำให้สารละลายผสมของเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ซึ่งมีสภาพขั้วที่สูงกว่าเอทานอลบริสุทธิ์จึงมีความสามารถในการละลายสารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของ

ดอกบัวหลวงสีชมพูได้มากกว่าเอทานอลบริสุทธิ์ เช่นนี้จึงเป็นผลดีต่อการสกัดสารจากวัตถุดิบธรรมชาติที่ทำให้ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบที่ได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย จันทกานต์ นุชสุข (2561) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากปลีกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอม โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากปลีกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำกลั่น พบว่า การสกัดด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาณผลผลิตร้อยละมากที่สุด รองลงมา คือ เอทานอลและเมทานอลตามลำดับ และงานวิจัยของสุริยา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ทอง (2560) ที่ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในแก่นตะวันสายพันธุ์เบอร์ 2 ที่มีระยะเวลาการเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน โดยทำการเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำเอทานอล และอะซิโตน พบว่าแก่นตะวัน 20 สัปดาห์ที่สกัดด้วยน้ำ มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด เนื่องจากสารทั้งสองเป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายในน้ำได้ดี และน้ำเป็นตัวทำละลายมีขั้วสูงทำให้เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจึงสามารถสกัดสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้ปริมาณสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเอทานอลและอะซิโตน

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู (กลีบดอก เกสร และรังไข่) ที่สกัดจากตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) พบว่าสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่แสดงผลโดยค่า IC_{50} และปริมาณฟีนอลิกรวม แสดงดังตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH รายงานผลโดยค่า IC_{50} ซึ่งแสดงถึงความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ($\mu\text{g/mL}$) ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 ดังนั้นสารสกัดตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณฟีนอลิกรวมระหว่างสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ทั้งแบบสดและแบบอบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) พบว่าการสกัดส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวงในรูปแบบอบแห้งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดจากบัวหลวงสด ทั้งในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมที่สูงกว่า และพบว่าการสกัดส่วนต่าง ๆ ที่อบแห้งแล้วด้วยตัวทำละลาย

เอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ได้สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และมีปริมาณฟีนอลิกรวมที่มากกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพู (กลีบดอก เกสร และรังไข่) ที่สกัดจากตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์และเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v)

No.	Samples of Various Parts of Pink Royal Lotus	Samples Extracted from Ethanol/Water (1:1 v/v)		Samples Extracted from Absolute Ethanol		References IC ₅₀ (µg/mL)
		Total Phenolic Content	IC ₅₀	Total Phenolic Content	IC ₅₀	
		(mg GAE/g DW)	(µg/mL)	(mg GAE/g DW)	(µg/mL)	
1	Ovaries (Air-dried)	184.91 ± 3.24	10.52 ± 1.82	170.44 ± 3.71	17.62 ± 2.50	-
2	Ovaries (Fresh)	160.72 ± 4.11	13.44 ± 2.01	118.72 ± 4.31	26.14 ± 2.21	-
3	Stamens (Air-dried)	209.70 ± 2.17	9.31 ± 1.45	198.21 ± 2.52	16.53 ± 1.42	-
4	Stamens (Fresh)	163.58 ± 3.82	12.56 ± 2.15	175.60 ± 3.10	24.33 ± 2.14	-
5	Petals (Air-dried)	136.61 ± 2.54	14.90 ± 1.92	128.94 ± 2.73	18.90 ± 2.71	-
6	Petals (Fresh)	61.73 ± 4.30	27.11 ± 3.24	83.90 ± 3.02	21.00 ± 2.87	-
7	BHT	-	-	-	-	7.04 ± 1.20
8	BHA	-	-	-	-	3.12 ± 1.16

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกบัวหลวงสีชมพูส่วนต่าง ๆ โดยทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สารสกัดจากส่วนเกสรอบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) มีค่า IC₅₀ น้อยที่สุด เท่ากับ 9.31 ± 1.45 µg/mL จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรองลงมาคือรังไข่อบแห้ง และกลีบดอกอบแห้ง โดยมีค่า IC₅₀ คือ 10.52±1.82 และ 14.90±1.92 µg/mL ตามลำดับ พบว่า สารสกัดที่ได้จากกลีบดอกแบบสด มีค่า IC₅₀ มากที่สุด เท่ากับ 27.11 ± 3.24 µg/mL จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยที่สุด อย่างไรก็ตาม พบว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของดอกบัวหลวงสีชมพูแบบอบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่น้อยกว่าสารมาตรฐานอ้างอิง BHT และ BHA ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 7.04±1.20 และ 3.12±1.16 µg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าสารสกัดหยาบของเกสรดอกบัวหลวงสีชมพูแบบอบแห้ง มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ 209.70±2.17 mg GAE/g DW รองลงมาคือ รังไข่อบแห้ง เท่ากับ 184.91±3.24 mg GAE/g DW และน้อยที่สุดคือ กลีบดอกแบบสด เท่ากับ 61.73 ± 4.30 mg GAE/g DW ซึ่งสอดคล้อง

กับงานวิจัยของ On-nom et al. (2023) ที่แสดงว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบที่ได้จากเกสรมีมากกว่ากลีบดอก

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ให้อัตราสารสกัดหยาบที่ได้มากกว่าสารการสกัดด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ โดยส่วนเกสรอบแห้งของดอกบัวหลวง สีชมพูที่สกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) จะให้อัตราผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้มากที่สุด พบว่าสารสกัดจากดอกบัวหลวงทุกส่วนที่ศึกษาได้แก่ ส่วนเกสร รังไข่ และกลีบดอก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเฉพาะสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลต่อน้ำ (1:1 v/v) ของเกสร ดอกบัวสีชมพูที่สกัดจากดอกบัวอบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีปริมาณฟีนอลิก รวมสูงที่สุด อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาชนิดของสารสำคัญและการนำสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกบัวหลวงมาใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพให้แพร่หลายมากขึ้น นอกจากนี้ควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกบัวหลวงที่สะดวกในการบริโภคที่คงการต้านอนุมูลอิสระไว้ได้ดี

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการเปรียบเทียบการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการอื่นร่วมด้วย เนื่องจากวิธี DPPH เป็นวิธีเบื้องต้นที่ง่ายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิธี ABTS assay วิธี FRAP assay เทคนิคโครมาโทกราฟีเพื่อแยกชนิดและหาปริมาณสารเคมีองค์ประกอบในสารสกัด

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ และขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กรรณิการ์ พิมพรัส, เกศริน ทิมาญ และ พิรดา สุดประเสริฐ. (2563). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากพะยอม (*Shorea roxburghii* G. Don). *วารสารวิชาการ มทร. สุวรรณภูมิ*, 8(1), 15-27.
- กุสุมา จิตแสง และ บรรลือ สังข์ทอง. (2560). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม จากส่วนต่าง ๆ ของบัวหลวง 2 พันธุ์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย มหาสารคาม*, 36(2), 154-160.
- จันทกานต์ นุชสุข. (2561). ฤทธิ์การต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอม. *วารสารวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย ราชภัฏนครสวรรค์*, 10(12), 1-10.
- จิรภัทร เล่ห์สิงห์, ธัญญะ พรหมศร, กริยาภา หลายรุ่งเรือง และ เจมส์ พึ่งผล. (2567). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมจากสารสกัดยา อายุวัฒนะ. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 18(1), 79-91.
- ชนัญ ผลประไพ และ ศรัณยู อุ่นทวี. (2562). การพัฒนากระบวนการเตรียมสารสกัดสมุนไพร ไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *Thai Journal of Science and Technology*, 8(5), 479-492.
- พนิดา แสนประกอบ และ เกศศิริรินทร์ แสงมณี. (2562). การประยุกต์ใช้สารสกัดกระเจี๊ยบ แดงในบิลซ์ครีม. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ “วลัยลักษณ์วิจัย” ครั้งที่ 11 วันที่ 27-28 มีนาคม 2562*, 3(ST.101), 1-5.
- วรรณิสา แก้วบ้านกรุด, รินทร์ลดา มหาสถิตย์, กนิษฐา ส่วนโนลี และ วรงค์พร รัตนบุญ. (2567). บาล์มทำความสะอาดเครื่องสำอางจากสารสกัดเปลือกมะเขือเทศราชินี. *วารสารวิจัย มทร.กรุงเทพ*, 18(1), 90-99.
- สุรียา ทุดปอ และ จิตรา สิงห์ทอง. (2560). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้าน อนุมูลอิสระของแก่นตะวันที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 19(3), 45-57.

- อรอุมา คำแดง, รัตนาภรณ์ มะโนกิจ และ เกรียงศักดิ์ สิงห์แก้ว. (2565). คุณภาพทางกายภาพเคมี และประสิทธิภาพสัมผัสของเครื่องดื่มกุหลาบเสริมรากบัวหลวงแบบสดและแบบอบแห้ง. *วารสารเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์และนวัตกรรม*, 1(1), 8-21.
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1-10.
- Adwas, A. A., Elsayed, A., Azab, A. E., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43-47.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3), 571-577.
- On-nom, N., Thangsiri, S., Inthachat, W., Temviriyankul, P., Sahasakul, Y., Chupeerach, C., & Suttisansanee, U. (2023). Seasonal effects on phenolic contents and in vitro health-promoting bioactivities of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*). *Plants*, 12(7), 1441.
- Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Rajendran, K., & Punitha, I. S. R. (2006). In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(9), 1906-1910.
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Zhu, K. X., Lian, C. X., Guo, X. N., Peng, W., & Zhou, H. M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126(3), 1122-1126.