

บทความวิจัย (Research Article)

ปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกอัญชันด้วยวิธีการ
สกัดที่แตกต่างกัน

Phytochemical content and antioxidant activity of Butterfly Pea
extract using different extraction methods

กิตติพจน์ เพ็ญพูล¹, พิมลพรรณ เทียมกระโทก¹, พิมพ์ชนก สดภูมินทร์¹, อินทิรา ขุดแก้ว^{1*}

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัด
นครปฐม 73140

Kittipot Permpul¹, Phimonphan Teamkratok¹, Pimchanok Satapoomin¹,
Intira Koodkaew^{1*}

¹ Department of Sciences and Bioinnovation, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom, 73140, Thailand

* Corresponding author

E-mail address: faasirk@ku.ac.th

Received: 09/04/2025; Revised: 24/04/2025; Accepted: 17/07/2025

คำสำคัญ	บทคัดย่อ
สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แซนโทน สกัดด้วยซอกซ์เลต	อัญชัน (<i>Clitoria ternatea</i>) เป็นพืชที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี และแอนโทไซยานิน รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดดอกอัญชันด้วยวิธีแช่หมัก (maceration) และการสกัดด้วยซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดดอกอัญชันมีปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด (มีค่าสูงถึง 509.81 ± 2.54 mg GAE/g extract) รองลงมา ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ วิตามินซีและแอนโทไซยานิน ตามลำดับ และสารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง โดยมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระมากกว่า 68% ในความเข้มข้นต่ำสุดคือ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดพบว่า วิธีสกัดด้วยซอกซ์เลต ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซีสูงกว่าวิธีแช่หมัก ขณะที่วิธีแช่หมักส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินและสมบัติการรีดิวซ์ของสารสกัดสูงกว่า และวิธีการสกัดทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติต่อฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าดอกอัญชันเป็นแหล่งสารพฤกษเคมีและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีการสกัดมีผลต่อปริมาณสารสำคัญในดอกอัญชัน

KEYWORDS

Phenolic compound
Flavonoid
Maceration
Soxhlet extraction

ABSTRACT

Butterfly pea (*Clitoria ternatea*) is a plant known for its diverse bioactive properties. This study aimed to investigate the phytochemical contents—phenolic compounds, flavonoids, vitamin C, and anthocyanins—as well as the antioxidant activities of butterfly pea flower extracts obtained through maceration and Soxhlet extraction methods. The results revealed that the phytochemical content and antioxidant activity of the extracts increased with concentration. Phenolic compounds were found in the highest amounts (up to 509.81 ± 2.54 mg GAE/g extract), followed by flavonoids, vitamin C, and anthocyanins, respectively. The extract exhibited strong antioxidant activity, demonstrating over 68% free radical scavenging activity at the lowest tested concentration of 1.25 mg/mL. Comparatively, Soxhlet extraction yielded higher levels of phenolic compounds, flavonoids, and vitamin C, whereas maceration resulted in greater anthocyanin content and reducing power. However, there was no statistically significant difference in DPPH radical scavenging activity between the two extraction methods. These findings indicate that butterfly pea flowers are a rich source of phytochemicals and antioxidants, and that the extraction method influences the yield of bioactive compounds.

1. บทนำ

อัญชันมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Clitoria ternatea* L. จัดเป็นพืชเลื้อยพัน อายุหลายปี อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นพืชที่ปลูกง่าย ออกดอกตลอดทั้งปี มักปลูกเป็นไม้ประดับ ดอกมีหลายสี เช่น ม่วง น้ำเงิน ขาว อัญชันมีฤทธิ์และสรรพคุณทางยามากมาย เช่น ลดไข้ แก้หอบหืด กระตุ้นความจำ และสมานแผล เนื่องจากอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีที่เป็นประโยชน์ (Harykrishnan et al., 2025) ดอกอัญชันมีสารแอนโทไซยานิน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด (anti-hyperglycemic) ปกป้องเซลล์สมอง (neuroprotective) ต้านอักเสบ (anti-inflammatory) และต้านไวรัส เป็นต้น (Li et al., 2022) ในประเทศไทย มีการใช้ประโยชน์จากดอกของอัญชันเป็นหลัก ทั้งเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร และสกัดออกเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางต่าง ๆ รวมถึงปลูกเป็นไม้ประดับ นอกจากนี้ ความเป็นประโยชน์ทางยาของอัญชันทำให้มีการศึกษาถึงศักยภาพและประสิทธิภาพ นำไปสู่การนำไปใช้ประโยชน์ของอัญชันและสารสกัดจากอัญชันอย่างกว้างขวาง (ธีร์ และ เกียรติสุตา, 2562)

การสกัดเป็นเทคนิคในการแยกสารอินทรีย์ออกจากของผสมตัวอย่างโดยใช้กระบวนการที่เหมาะสมซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในเคมีอินทรีย์ เช่น การสกัดแยกสารพฤกษเคมีออกจากแหล่งผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ พืช ผัก สมุนไพร รวมทั้งการสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสมหลังทำปฏิกิริยาโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ในปัจจุบันวิธีการสกัดที่นำมาใช้เพื่อสกัดสารออกทางฤทธิ์ทางชีวภาพมีหลายวิธี เช่น การสกัดแบบแช่หมัก (maceration) และการสกัดด้วยชอกห์เลต (Soxhlet extraction) (Masota et al., 2020) วิธีการสกัดแบบแช่หมัก เป็นวิธีการหมักตัวอย่างพืชกับตัวทำละลายในภาชนะปิด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 3 วัน เมื่อครบกำหนดเวลา กรองเอาสารสกัดออกจากกาก และนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ข้อดีของวิธีนี้คือสารเคมีไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย และใช้เวลานาน วิธีสกัดด้วยชอกห์เลต เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยการใช้ความร้อนและตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เช่น เอทานอล หรือเมทานอล

เหมาะสำหรับแยกสารอินทรีย์ที่ไม่เสถียรที่ความร้อนสูงออกจากสารผสมที่เป็นของแข็ง ข้อดีคือ ประหยัดตัวทำละลายและได้สารสกัดที่ความเข้มข้นสูง แต่ใช้เวลานานและอาจทำให้สารบางชนิดสลายตัวได้ ซึ่งวิธีการสกัดที่ต่างกันส่งผลให้ได้สารฟลักซ์เคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่างกัน (รัตนา, 2547; Bitwell et al., 2023)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารฟลักซ์เคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี แอนโทไซยานิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกอัญชันด้วยวิธีสกัดแบบแช่หมักและวิธีสกัดด้วยซอกซ์เลต เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างดอกอัญชันสีม่วงในระยะดอกบานเต็มที่จากพื้นที่จังหวัดนครปฐมและใกล้เคียงในเดือนกันยายน พ.ศ. 2566 นำดอกอัญชันมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสด้วยเครื่องอบลมร้อน เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาบดด้วยเครื่องบด จากนั้น เก็บไว้ในที่แห้งเพื่อใช้ในการสกัดต่อไป

2.2 วิธีการสกัด

2.2.1 วิธีการสกัดแบบแช่หมัก (maceration)

ตัวอย่างดอกอัญชัน 10 กรัม นำไปแช่หมักด้วยตัวทำละลายเอทานอล 99% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้น นำมากรองด้วยกระดาษกรอง และนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Strikee 300) จนแห้งจะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำไปชั่งน้ำหนัก และเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 99% และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2.1 วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต (Soxhlet extraction)

ตัวอย่างดอกอัญชัน 10 กรัม ใส่ลงในปลอกสกัดเซลลูโลส (cellulose extraction thimble) จากนั้นนำหลอดตัวอย่างสกัดด้วยเครื่องสกัดซอกซ์เลต ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 99% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทั้งตัวอย่างให้เย็น และนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน นำไปชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบ และเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 99% และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3 การวิเคราะห์สารฟลักซ์เคมี

2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลตามวิธีการของ Singleton et al. (1999) นำตัวอย่างสารสกัด (ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำ Folin-ciocalteu ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที เติมน้ำละลาย 20% sodium carbonate ปริมาตร 750 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 950 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน $\{y = 0.0348x + 0.160 (R^2 = 0.9982)\}$ ปริมาณสารประกอบฟีนอลแสดงในหน่วย มิลลิกรัมเทียบเท่า gallic acid (gallic acid equivalent; GAE)/กรัมสารสกัด

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีการของ Zhishen et al. (1999) นำตัวอย่างสารสกัด (ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำละลาย 5% sodium nitrite 15 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติม 10% aluminum chloride ปริมาตร 150 ไมโครลิตร sodium hydroxide ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง

สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน ($y = 0.003x - 0.0089$ ($R^2 = 0.9926$)) ปริมาณฟลาโวนอยด์แสดงในหน่วย มิลลิกรัมเทียบเท่า quercetin (quercetin equivalent; QE)/กรัมสารสกัด

2.3.3 การวิเคราะห์วิตามินซี

วิเคราะห์วิตามินซีตามวิธีการของ Li et al. (2012) นำตัวอย่างสารสกัด (ความเข้มข้น 1.2, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 1 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอล 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 0.4% phosphoric acid-ethanol 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ 1,10-phenanthroline 1 มิลลิลิตร และ ferric chloride ความเข้มข้น 0.03 กรัม/ลิตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 534 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน ($y = 0.0056x + 0.0128$ ($R^2 = 0.9974$)) ปริมาณวิตามินซีแสดงในหน่วยมิลลิกรัม/กรัมสารสกัด

2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดตามวิธีการของ Lee et al. (2005) เตรียมบัฟเฟอร์ pH 1.0 และ pH 4.5 การเตรียม pH 1.0 ชั่ง KCl (potassium chloride) 1.86 กรัมลงในปิเก็ตเตอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 980 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร การเตรียม pH 4.5 ชั่ง sodium acetate 54.43 กรัม ลงในปิเก็ตเตอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 960 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เจือจางสารสกัดให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยผสมตัวอย่างสารสกัด 1 ส่วน และบัฟเฟอร์ 4 ส่วน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปริมาณแอนโทไซยานินแสดงในหน่วย มิลลิกรัมเทียบเท่า cyanidin-3-glucoside (cyanidin-3-glucoside equivalent; cyd-3-gluE)/ลิตร

2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Brand-Williams et al. (1995) นำตัวอย่างสารสกัด (ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 1.9 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากสมการ DPPH radical scavenging (%) = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของชุดควบคุม A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

2.4.2 วิธี Reducing power

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ตามวิธีการของ Yen and Chen (1995) สารสกัด (ความเข้มข้น 12.5, 2.5, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นละลาย phosphate buffer (0.2 โมลาร์, pH 6.8) 0.5 มิลลิลิตร 1% potassium ferricyanide 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้น เติมน้ำกลั่น 10% trichloroacetic acid 0.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสเหวี่ยง 1 มิลลิลิตร มาผสมกับน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.1% Iron(III) chloride 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มเป็นเวลา 10 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แสดงผลความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

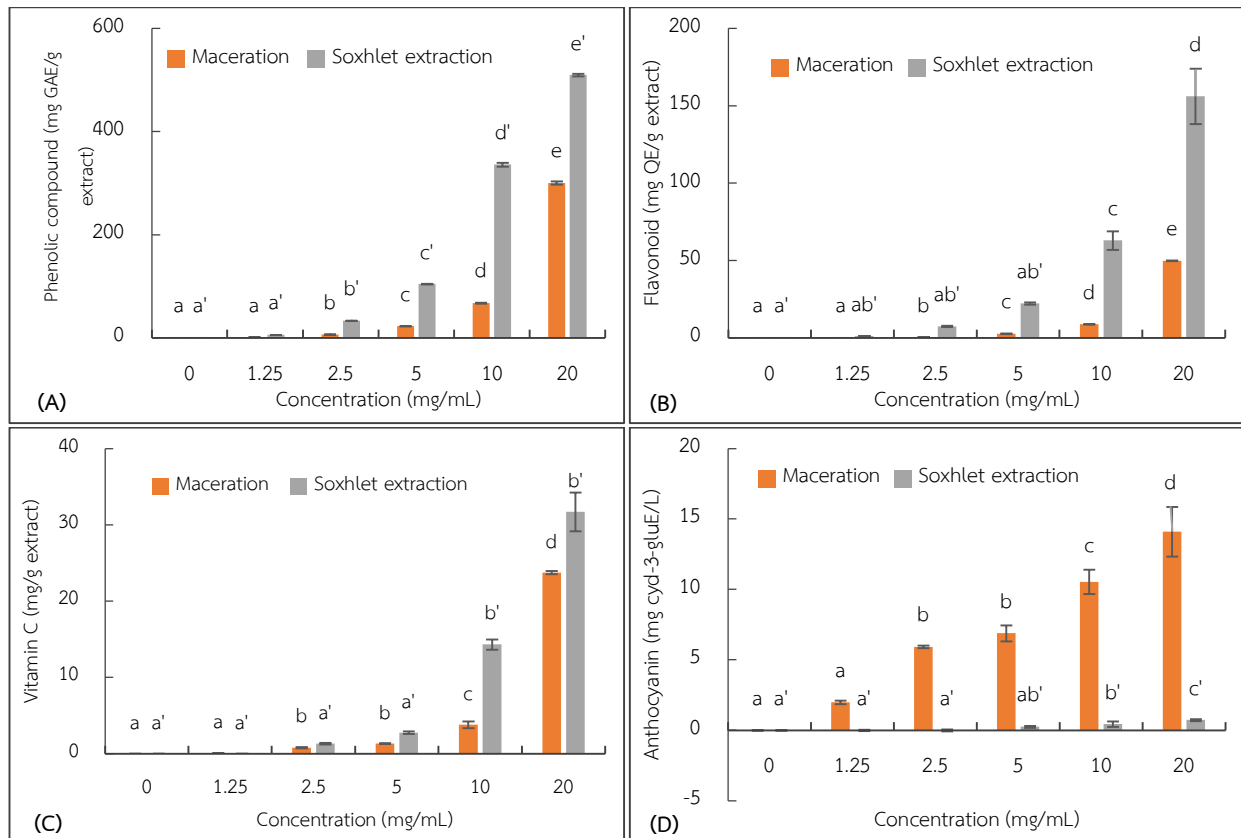
2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีการสกัดจากทุกความเข้มข้นด้วยวิธี t-test ที่ระดับ $p < 0.05$ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.1 ปริมาณสารพฤกษเคมี

ผลการวิเคราะห์สารพฤกษเคมีพบว่า สารสกัดดอกอัญชันด้วยเอทานอลมีปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี และแอนโทไซยานิน ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยปริมาณสารพฤกษเคมีเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ทั้งจากการสกัดด้วยวิธีแช่หมักและการสกัดด้วยซอกซ์ฮเลต สารพฤกษเคมีที่พบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดดอกอัญชัน คือ สารประกอบฟีนอล รองลงมาคือฟลาโวนอยด์ วิตามินซี และแอนโทไซยานิน ตามลำดับ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซี พบค่าสูงที่สุดในสารสกัดด้วยวิธีซอกซ์ฮเลต ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่าเท่ากับ 509.81 ± 2.54 mg GAE/g extract, 156.12 ± 17.98 mg QE/g extract และ 31.70 ± 2.54 mg/g extract ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานินพบสูงที่สุดในสารสกัดด้วยวิธีแช่หมัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า 14.10 ± 1.77 mg cyd-3-gluE/L (ภาพที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดพบว่าวิธีการสกัดด้วยซอกซ์ฮเลตส่งผลให้สารสกัดมีปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซี มากกว่าการสกัดด้วยวิธีแช่หมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่วิธีแช่หมักส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าการสกัดด้วยซอกซ์ฮเลตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

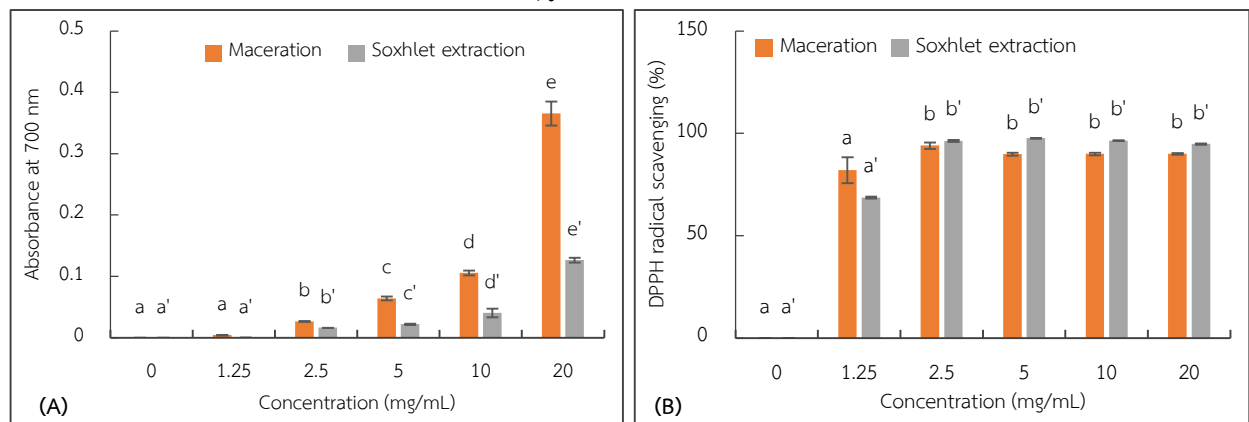


ภาพที่ 1 ปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอล (A) ฟลาโวนอยด์ (B) วิตามินซี (C) และแอนโทไซยานิน (D) ของสารสกัดจากดอกอัญชันที่ความเข้มข้นและวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ข้อมูลแสดงด้วยค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ตัวอักษรที่ต่างกันที่กำกับที่ปลายกราฟแท่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Tukey ที่ระดับ $p < 0.05$

3.2ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชันแสดงในรูปการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัติการรีดิวซ์ ผลการศึกษาพบว่า ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัติการรีดิวซ์ของสารสกัดดอกอัญชันเพิ่มขึ้นแปรผันตรงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) สมบัติการรีดิวซ์ของสารสกัดดอกอัญชันพบว่ามีค่าสูงที่สุดในสารสกัดด้วยวิธีแช่หมัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ภาพที่ 2A) สารสกัดของดอกอัญชันจากทั้งสองวิธีการสกัดมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่สูง โดยมีค่ามากกว่า 68% ที่ความเข้มข้นของสารสกัด

ต่ำสุดคือ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (มีค่า $82.02 \pm 6.40\%$ และ $68.63 \pm 5.53\%$ เมื่อสกัดด้วยวิธีแช่หมักและการสกัดด้วยซอกซ์เลต (ตามลำดับ) (ภาพที่ 2B) เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดพบว่าการสกัดแบบแช่หมักส่งผลให้สมบัติการรีดิวซ์ของสารสกัดมากกว่าวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต ขณะที่ทั้งสองวิธีส่งผลให้ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สมบัติการรีดิวซ์ (A) และการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (B) ของสารสกัดจากดอกอัญชันที่ความเข้มข้นและวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ข้อมูลแสดงด้วยค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ตัวอักษรที่ต่างกันที่ปลายกราฟแท่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Tukey ที่ระดับ $p < 0.05$

ตารางที่ 1 ผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกอัญชัน

Extraction methods	Phenolic compound (mg GAE/g extract)	Flavonoid (mg QE/g extract)	Vitamin C (mg/g extract)	Anthocyanin (mg cyd-3-gluE/L)	Reducing power (Absorbance at 700 nm)	DPPH radical scavenging (%)
Maceration	66.53 $\pm$ 25.98	10.37 $\pm$ 4.36	4.96 $\pm$ 2.06	6.57 $\pm$ 1.17	0.095 $\pm$ 0.005	74.25 $\pm$ 8.11
Soxhlet extraction	165.65 $\pm$ 130.78	41.67 $\pm$ 13.54	8.35 $\pm$ 4.84	0.19 $\pm$ 0.07	0.034 $\pm$ 0.002	75.64 $\pm$ 8.58
t-test	*	*	*	*	*	ns

*ข้อมูลแสดงด้วยค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ns หมายถึงไม่แตกต่างทางสถิติ * หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี t-test

4. วิจัยรณผลการทดลอง

ผลการศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดดอกอัญชันด้วยเอทานอล พบสารพฤกษเคมีกลุ่มฟีนอล ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้า (ธีร์ และ เกียรติสุตา, 2562; Harykrishnan et al., 2025; Li et al., 2022) โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าสารอื่น ๆ รองลงมาคือฟลาโวนอยด์ สอดคล้องกับ Kaisoon et al. (2011) รายงานการสกัดสารประกอบฟีนอลจากดอกอัญชันในประเทศไทย พบเป็นสารประกอบฟีนอลประเภท soluble และ bound phenolic acid ในกลุ่ม hydrobenzoic acids และ hydrocinnamic acid และฟลาโวนอยด์ประเภท soluble และ bound flavonoid โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าฟลาโวนอยด์ อย่างไรก็ตาม ดอกอัญชันจัดว่าเป็นแหล่งของสารแอนโทไซยานิน ที่นำมาใช้เป็นสีย้อมหรือสีผสมอาหารตามธรรมชาติ โดย ธีร์ และ เกียรติสุตา (2562) รายงานปริมาณสารแอนโทไซยานินในดอกอัญชันมีค่าสูงถึง 28.12 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด แต่จากผลการศึกษา จะเห็นว่าสารสกัดดอกอัญชันมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยที่สุด อาจเนื่องมาจากวิธีการสกัด การสกัดแบบแช่หมักใช้เวลานาน (7 วัน) และการสกัดด้วยซอกซ์เลตใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูง (80 องศาเซลเซียส) ระยะเวลาที่นานและอุณหภูมิสูง อาจทำให้เกิดการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ การศึกษานี้ใช้ดอกอัญชันสีม่วง ซึ่งเป็นไปได้ว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินของอัญชันสีม่วงอาจจะน้อยกว่าอัญชันสีน้ำเงิน (Kazuma et al., 2003) สำหรับวิตามินซีพบว่า สารสกัดดอกอัญชันมีสารวิตามินซีเช่นเดียวกับรายงานของ Analeti and Anil (2023) พบวิตามินซีในดอกอัญชันปริมาณปานกลาง (14.64 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

สารสกัดดอกอัญชันด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ทั้งความสามารถในการรีดิวซ์ และการกำจัดอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับรายงานของ Kamkaen and Wilkinson (2009) รายงานค่า EC_{50} ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดดอกอัญชันด้วยน้ำและเอทานอลอยู่ที่ 1 และ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ Kaisoon et al. (2011) พบว่าสารสกัดฟีนอลจากดอกอัญชันของไทยประเภท soluble และ bound phenolic acid มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ที่ $32.7 \pm 2.75\%$ และ $17.59 \pm 2.91\%$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการศึกษานี้ค่อนข้างมาก โดยการศึกษาครั้งนี้ค่าการกำจัดอนุมูล DPPH อยู่ในช่วง $68.63 \pm 6.40\%$ ถึง $97.63 \pm 0.19\%$ อาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน การศึกษาของ Kaisoon et al. (2011) ใช้วิธีการสกัดให้ได้สารประกอบฟีนอลกลุ่มเดียว ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาจากกลุ่มของสารประกอบฟีนอลกลุ่มเดียว จึงมีค่าต่ำกว่า แต่การศึกษานี้วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของดอกอัญชัน ซึ่งให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชันเป็นการออกฤทธิ์เสริมกัน (synergistic effect) ของสารพฤษเคมีหลาย ๆ กลุ่ม เช่น สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และวิตามินซี เป็นต้น

จากการเปรียบเทียบวิธีการสกัดต่อปริมาณสารพฤษเคมีพบว่า วิธีสกัดด้วยซอกซ์เลตส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และวิตามินซีสูงกว่าวิธีแช่หมัก ขณะที่วิธีแช่หมักส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดสูงกว่า แสดงให้เห็นว่าวิธีสกัดด้วยซอกซ์เลตมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลได้ดีกว่าวิธีแช่หมัก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Alara et al. (2018) ที่เลือกใช้วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลตในการสกัดสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ออกจากใบของหน้าดอกขาว (*Vernonia cinerea*) นอกจากนี้ มีรายงานว่าสารสกัดสารฟลาโวนอยด์จากใบชาโดยวิธีการแช่หมักส่งผลให้ปริมาณสาร catechin, gallic acid และ alkaloid ลดลง 2 เท่าจากตัวอย่างเริ่มต้น (Chin et al., 2013) อย่างไรก็ตาม วิธีแช่หมักส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดสูงกว่า อาจเนื่องมาจากวิธีสกัดด้วยซอกซ์เลตใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูงในการสกัดทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยมีรายงานว่าอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Xue et al., 2024)

4. บทสรุป

สารสกัดดอกอัญชันด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี และแอนโทไซยานิน รวมถึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยปริมาณสารพฤษเคมีและสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ วิธีการแช่หมักและการสกัดด้วยซอกซ์เลต ส่งผลต่อปริมาณสารพฤษเคมีที่แตกต่างกัน โดยการสกัดด้วยซอกซ์เลตมีปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซี มากกว่าวิธีแช่หมัก ขณะที่วิธีแช่หมักส่งผลให้มีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่า ซึ่งให้เห็นว่าการเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสม ส่งผลต่อปริมาณสารพฤษเคมีในสารสกัดดอกอัญชัน

เอกสารอ้างอิง

- ธีร์ หะวานนท์, และเกียรติสุดา เหลืองวิสัย. (2562). ผลของเวลาเก็บเกี่ยวและฤดูกาลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณแอนโทไซยานิน และสารฟีนอลิกทั้งหมดในดอกอัญชัน. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 37(4), 655-661.
- รัตน อินทรานุปกรณ์. (2547). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>
- Analeti, P. & Anil, B. (2023). Analysis of antioxidants activity, phenolic content and vitamin-C of *Clitoria ternate*. *International Journal for Research Trends and Innovation*, 8(7), 531-534.
- Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Chin, F. S., Chong, K. P., Markus, A., & Wong, N. K. (2013). Tea polyphenols and alkaloids content using soxhlet and direct extraction methods. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9(3), 266-270.
- Harykrishnan, S., Ganapathy, M., Abinaya, K., Meenakumari, S., Thirumavalavan, M., Anbu, P., & Pachaiappan, R. (2025). An evaluation study on screening, partial purification, and characterization of proteins and antioxidant peptides from two varieties of *Clitoria ternatea*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 285, 138312, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138312>.
- Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., & Meeso, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, 3, 88-99.
- Kamkaen, N., & Wilkinson, J. M. (2009). The antioxidant activity of *Clitoria ternatea* flower petal extracts and eye gel. *Phytotherapy Research*, 23(11), 1624-1625.
- Kazuma K, Noda N, & Suzuki M. (2003). Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 64, 1133-1139.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88, 1269-1278.
- Li, C., Tang, W., Chen, S., He, J., Li, X., Zhu, X., Li, H., & Peng, Y. (2022). Phytochemical properties and *in vitro* biological activities of phenolic compounds from flower of *Clitoria ternatea* L. *Molecules*, 27(19), 6336. <https://doi.org/10.3390/molecules27196336>
- Masota, N. E., Vogg, G., Heller, E., & Holzgrabe, U. (2020). Comparison of extraction efficiency and selectivity between low-temperature pressurized microwave-assisted extraction and prolonged maceration. *Arch Pharm (Weinheim)*, 353(10), e2000147. doi: 10.1002/ardp.202000147
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, 16, 144–158.
- Xue, H., Zhao, J., Wang, Y., Shi, Z., Xie, K., Liao, X., & Tan, J. (2024). Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their stability: A review. *Food Chemistry: X*, 24, 101883. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101883>
- Yen, G. C., & Chen, H. Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27–32.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555–559.