

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และ แอลฟา-กลูโคซิเดส

Effect of Aqueous Extract of Marigold Flowers on Antioxidants and Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase Activities

จำเนียร ชมภู^{1*}, เชษฐชัยชัยย์ นิลารณ์¹, จุฑามาศ เมรสนัด¹ และ ราตรี บุญเรืองรอด²
Jamnian Chompoo^{1*}, Shetsutchai Nilaporn¹, Jutamas Merasanud¹ and Ratri Boonruangrod²

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง 3 ชนิด ได้แก่ ดาวเรืองอเมริกัน ดาวเรืองฝรั่งเศส และดาวเรืองพื้นเมือง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีส่วนประกอบของสารพฤกษเคมี phenolics, saponins และ tannins (321 ± 33.10 mg GA/g extract, 745.30 ± 36.92 mg DE/ g extract และ 312.25 ± 8.07 mg GA/ g extract ตามลำดับ) มากกว่าดาวเรืองชนิดอื่น จึงส่งผลให้สารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองชนิดนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยา DPPH และ ABTS ได้สูงกว่าดาวเรืองชนิดอื่น (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.27 ± 1.91 และ 34.62 ± 1.32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 44.83 ± 2.6 และ 45.61 ± 2.44 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงนั้น พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองฝรั่งเศสก็เช่นเดียวกันที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับดาวเรืองชนิดอื่น (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 118.29 ± 9.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แต่มีประสิทธิภพน้อยแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน acarbose (มีค่า $IC_{50} = 7.21 \pm 0.79$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase นั้นมีผลการทดลองไม่เด่นชัดมากนัก จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าดอกดาวเรืองฝรั่งเศส สามารถนำมาใช้เพื่อต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ อย่างไรก็ตามจะทำการศึกษานิตของสารพฤกษเคมีในสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสต่อไป

คำสำคัญ: ดอกดาวเรือง, สารต้านอนุมูลอิสระ, แอลฟา-กลูโคซิเดส, แอลฟา-อะไมเลส

ABSTRACT: This research aimed to study the photochemical contents, antioxidant activities and hyperglycemia-related enzyme inhibition effects of aqueous extracts from three species of marigold flowers (American marigold, French marigold and Thai native marigold). The results showed that aqueous extract of French marigold contained higher amount of phenolic, saponin

Received July 25, 2018

Accepted October 16, 2018

¹ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140

² ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม 73140

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140

* Corresponding author: agrjnc@ku.ac.th

and tannin contents than the others extracts (321 ± 33.10 mg GA/g extract, 745.30 ± 36.92 me DE/ g extract and 312.25 ± 8.07 mg GA/ g extract, respectively). Moreover, it was found that French marigold aqueous extract showed stronger activities against DPPH and ABTS radical scavenging than other marigold extracts (IC_{50} values = 20.27 ± 1.91 and 34.62 ± 1.32 μ g/mL, respectively) these were no statistically significant difference with positive control, BHT (IC_{50} values = 44.83 ± 2.6 and 45.61 ± 2.44 μ g/mL, respectively). In case of inhibition of hyperglycemia related enzymes activities, α -amylase and α -glucosidase, aqueous extract of French marigold also was found to have greater inhibitory activity than other extracts on α -glucosidase (IC_{50} value = 118.29 ± 9.06 μ g/mL). On statistical analysis of the result, this aqueous extract was weaker inhibitor on α -glucosidase activity than positive control, acarbose (IC_{50} value = 7.21 ± 0.79 μ g/mL). In part of inhibiting α -amylase activity of all flower extracts from marigolds were not pronounced. These results suggest that flower of French marigold could be used a source of bioactive compounds as antioxidant and against α -glucosidase. However, identification of chemical compounds from flower extract of French marigold should be conducted.

Keywords: marigold flower, antioxidant, α -amylase, α -glucosidase

บทนำ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป ความเครียด และการหายใจ เป็นต้น (Sharma et al., 2012) ซึ่งอนุมูลอิสระ (free radical) จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ภายในร่างกายของมนุษย์เพื่อให้ตัวมันเสถียร จึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดเป็นริ้วรอย ผิวหนังเหี่ยวย่น (Percival, 1998) รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น มะเร็ง ไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Lobo et al., 2010) การอักเสบของแผล (Closa and Folch-Puy, 2004) และโรคเบาหวาน (Ullah et al., 2016) สำหรับสถานการณ์การเกิดโรคเบาหวาน สหพันธ์โรคเบาหวานนานาชาติคาดการณ์ว่า ผู้ป่วยโรคเบาหวานทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2558 มีจำนวน 415 ล้านคน และจะเพิ่มขึ้นเป็น 642 ล้านคน ในปี พ.ศ. 2593 ซึ่งประชากรมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ อาศัยอยู่ในแถบทวีปเอเชีย (Nanditha et al., 2016) โดยที่วิธีการในการป้องกันหรือรักษาโรคเบาหวาน ทำได้โดยการควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงจนเกินไป ด้วยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ช่วยย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาล (glucose) ในระบบทางเดินอาหาร เช่น α -amylase และ α -glucosidase ทำให้การดูดซึม

น้ำตาลในลำไส้ภายหลังจากรับประทานอาหารลดลง (Ezeji and Bahl, 2006) เอนไซม์ α -glucosidase จะยึดกับพันธะ glycoside ในโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรต ปลดปล่อย monosaccharide ที่สามารถดูดซึมได้ง่าย ส่วน α -amylase เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล โดย hydrolyte พันธะ 1,4-glycoside ในโมเลกุลของแป้งให้เล็กลง ดังนั้นการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase จึงสามารถช่วยต้านภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) ได้ (Stuart et al., 2004)

ดาวเรือง (marigold) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes* spp. จัดอยู่ในวงศ์ Compositae เป็นไม้ดอกพื้นเมืองของประเทศเม็กซิโกและกัวเตมาลา (Nehr, 1968) มีรายงานการนำดอกดาวเรืองมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ ส่งผลทำให้ไข่ไก่ และเนื้อหมูมีสีแดงขึ้น (Hencken, 1992) สำหรับงานวิจัยสรรพคุณทางยาของดอกดาวเรืองนั้น Mahantesh et al. (2012) รายงานว่า ดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถใช้บำบัดรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากอนุมูลอิสระ และนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคได้หลากหลาย (Manikandan et al., 2016) โดยที่ Chew et al. (1996) รายงานว่า สารสกัดจากดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา autooxidation ในเซลล์ไขมัน (Zhang et al., 1991) ป้องกันการเกิด การเสื่อมสภาพ (Fullmer and Shao, 2001) มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (Martin et al., 1996) และสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคเบาหวานสาเหตุ

จากการขาดอิซูลิน (Ebrahimi et al., 2016) ซึ่งดาวเรืองแต่ละสปีชีส์จะพบสารประกอบทางเคมีพวก phenolics, terpenoids, tocopherols, carotenoids, quinones, coumarins และ volatile oil ในปริมาณและชนิดของสารที่แตกต่างกัน ทำให้มีสรรพคุณทางยาที่แตกต่างกันด้วย (Muley et al., 2009) ดังนั้นการศึกษาดังนี้จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากดอกดาวเรือง 3 ชนิด ได้แก่ ดาวเรืองอเมริกัน (*Tagetes erecta* L.) ดาวเรืองฝรั่งเศส (*Tagetes patula* L.) และดาวเรืองพื้นเมือง (*Tagetes* sp.) นอกจากนี้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกดาวเรืองทั้งสามชนิดนี้ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ซึ่งเกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง โดยที่การศึกษาดังนี้ได้ทำการสกัดตัวอย่างแห้งจากดอกดาวเรืองด้วยน้ำ เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เป็นตัวทำละลายสากล (universal solvent) ไม่ว่าจะเป็นการบริโภคในชีวิตประจำวัน นอกจากนี้ยังเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษหรือก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย (Pohorille and Pratt, 2012) โดยที่น้ำจัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงสามารถสกัดและละลายสารต่างๆ ออกมาได้หลายชนิด โดยเฉพาะสารประกอบ phenolics (Lee et al., 2007) ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยา oxidation ได้สูง เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีหมู่ให้อิเล็กตรอนหรือ H แก่สารอนุมูลอิสระ ได้แก่ หมู่ hydroxyl (-OH) หรือหมู่ methoxy (-OCH₃) ได้อย่างรวดเร็ว เมื่อสารประกอบ phenolics สูญเสียอิเล็กตรอนหรือ H ไปแล้วจะสามารถเกิดเรซินแทนที่ภายในโครงสร้างของสารเอง ทำให้

โมเลกุลของสารประกอบ phenolics เสถียร (Nacz and Shahidi, 2004)

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง

เพาะเมล็ดดาวเรือง ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ดาวเรืองอเมริกัน (เมล็ด F1 พันธุ์ทองเฉลิม) ดาวเรืองฝรั่งเศส (เมล็ด inbred line พันธุ์ KPS08-DO) และดาวเรืองพื้นเมือง (เมล็ด open pollination ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน) ลงในถาดเพาะที่บรรจุพีทมอส ในช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2560 เมื่อดันกล้าอายุประมาณ 4 สัปดาห์ทำการย้ายต้นกล้าลงแปลงปลูก ที่แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ระยะปลูก 50x50 เซนติเมตร โดยมีการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 รองกันหลุมก่อนปลูก ปริมาณ 1 ช้อนชา หลังจากนั้น 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ปริมาณ 1 ช้อนชาต่อต้น นอกจากนี้ทำการตัดดอกดาวเรืองที่ออกดอกในช่วง 2-6 สัปดาห์ทิ้ง เพื่อให้ดาวเรืองมีขนาดดอกที่สม่ำเสมอ เก็บตัวอย่างดอกดาวเรืองชุดแรกที่ออกดอกสม่ำเสมอ ที่อายุ 80, 65 และ 60 วัน สำหรับดาวเรืองอเมริกัน ดาวเรืองฝรั่งเศส และดาวเรืองพื้นเมือง ตามลำดับ (Figure 1)

นำดอกดาวเรืองแต่ละชนิดไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง ทำการสกัดสารจากดอกดาวเรืองด้วยน้ำ

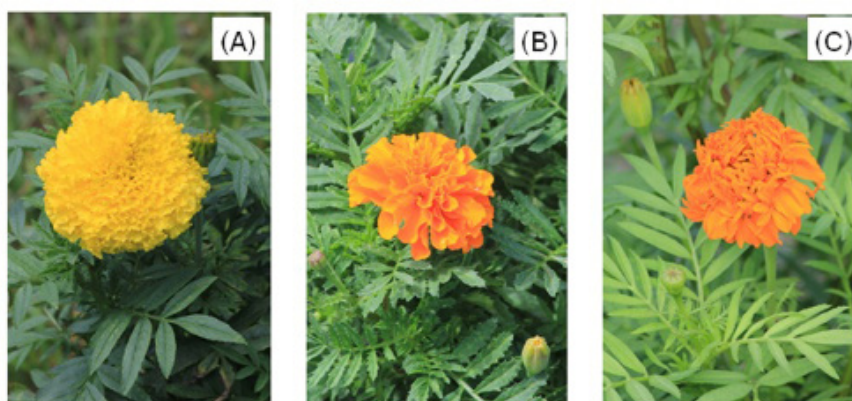


Figure 1 Characteristic of marigold flower in this study including American marigold (A), French marigold (B) and Thai native variety (C).

ต้มเดือด เป็นเวลา 20 นาที (Chompoo et al., 2012) อัตราส่วนของตัวอย่างดาวเรืองต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 10 (กรัม/มิลลิลิตร) กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ได้เป็นสารสกัดด้วยน้ำจากดอกเรือง

วิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี

สารประกอบทางเคมี alkaloids

เติมสาร acetic acid ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ลงในตัวอย่างผงบดของดอกดาวเรือง 5 กรัม เขย่าให้เข้ากัน วางตัวอย่างไว้อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองได้เป็นสารละลายตัวอย่าง หลังจากนั้นหยดสาร ammonium hydroxide เข้มข้น ลงในสารละลายตัวอย่างจนกระทั่งเกิดเป็นตะกอน สีน้ำตาล นำตัวอย่างไปแยกตะกอนด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง นำไปผึ่งลมให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักตะกอน (Obadoni et al., 2001) นำข้อมูลไปคำนวณปริมาณ alkaloids ดังนี้

ปริมาณ total alkaloids (%) = (น้ำหนักแห้งของตะกอน/ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น) x 100

สารประกอบทางเคมี ascorbic acid

นำตัวอย่างผงบดของดอกดาวเรือง 10 มิลลิกรัม สกัดด้วย metaphosphoric acid (1%) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 นาที กรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสาร 2,6-dichloro-indophenol sodium salt hydrate (ความเข้มข้น 50 ไมโครโมล) หลังจากนั้น 30 นาที นำสารผสมตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (Klein and Perry, 1982) เปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบจากกราฟมาตรฐานของ ascorbic acid (AE) เมื่อ $y = 0.460x + 0.16$ ($R^2 = 0.994$)

สารประกอบทางเคมี flavonoids

เติมสารละลาย methanol ของ $AlCl_3$ (ความเข้มข้น 2%) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร วางสารผสมตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร (Djeridane et al., 2006) เปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบจากกราฟมาตรฐานของ rutin (RU) เมื่อ $y = 0.007x - 0.003$ ($R^2 = 0.999$)

สารประกอบทางเคมี phenolics

นำสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 1 มิลลิลิตร ของสาร Folin-Ciocalteu's reagent และเติมสารละลาย sodium carbonate (7.5%) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร วางสารผสมของตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (Kähkönen et al., 1999) เปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบจากกราฟมาตรฐานของ gallic acid (GA) เมื่อ $y = 0.004x + 0.087$ ($R^2 = 0.994$)

สารประกอบทางเคมี saponins

เตรียมสารผสมของตัวอย่างด้วยการเติม distilled water ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และ vanillin reagent (ที่มีส่วนผสมของ vanillin ปริมาตร 800 มิลลิกรัม ใน 10 มิลลิลิตร ของ ethanol (99%)) ลงในสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสาร sulphuric acid (72%) เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และนำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 544 นาโนเมตร (Makker et al., 2007) เปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบจากกราฟมาตรฐานของ diosgenin (DE) เมื่อ $y = 0.0004x + 0.017$ ($R^2 = 0.999$)

สารประกอบทางเคมี tannins

นำสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย polyvinyl polypyrrolidone (100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร วางสารละลายตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายใส ส่วนบน (free phenolics) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร (Siddhuraju and Manian, 2007) คำนวณปริมาณของ tannin จากสูตร ดังนี้

ปริมาณ tannins (mg GA per g extract) = total phenolic - free phenolics

ทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยา DPPH radical scavenging

นำตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง ความเข้มข้นต่างๆ (10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และสารละลาย sodium acetate buffer (ความเข้มข้น 0.1 โมล มีค่า pH เท่ากับ 5.5) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารผสมตัวอย่างวางไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Boskou et al., 2006) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองกับสาร tert-butyl hydroxy-toluene (BHT) และ tocopherol (positive control) โดยที่น้ำ (ชุดควบคุม)

ปฏิกิริยา ABTS radical scavenging

เตรียมสารละลายอนุมูลอิสระของ ABTS (ในรูป ABTS^{•+}) ด้วยการผสมสาร ABTS (ความเข้มข้น 7 มิลลิโมล) ในสารละลาย potassium persulfate (ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมล) เก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลามากกว่า 16 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่สมบูรณ์ นำสารละลายที่ได้ไปเจือจางด้วย distill water นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าประมาณ 0.700 ± 0.05 หลังจากนั้น นำสารละลายอนุมูลอิสระใส่ลงในตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้นต่างๆ (10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Hsu et al., 2011) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองกับสาร BHT, tocopherol (positive control) และน้ำ (ชุดควบคุม)

คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จากปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging จากสูตรดังนี้

$$\text{การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (เปอร์เซ็นต์)} = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}} - \text{OD}_{\text{ตัวอย่าง}}) / \text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}}{1} \right] \times 100$$

เมื่อ $\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำ
 $\text{OD}_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง และ positive control

ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์

กิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ด้วยวิธีของ Kwon et al. (2006) เติมสารละลาย sodium phosphate buffer (ความเข้มข้น 0.02 โมล มีค่า pH เท่ากับ 6.9) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ที่มีส่วนผสมของ α -amylase (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ลงในสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้นต่างๆ (10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำสารละลายตัวอย่างไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 10 นาที ใส่สารละลายแป้ง (ความเข้มข้น 1% ละลายใน buffer) วางไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย dinitrosalicylic acid ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ต้มเดือดสารละลายตัวอย่างใน water bath เป็นเวลา 5 นาที แล้วเจือจางด้วย distill water ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ positive control ได้แก่ สาร acarbose โดยที่น้ำเป็นชุดควบคุม

กิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase

นำสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองความเข้มข้นต่างๆ (10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลายเอนไซม์ α -glucosidase (ความเข้มข้น 0.0073 ยูนิต/มิลลิลิตร ใน sodium phosphate buffer ความเข้มข้น 0.5 โมล ที่มีส่วนผสมของ NaCl) วางสารผสมตัวอย่างในที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้น เติมสารละลาย p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (ความเข้มข้น 0.7 มิลลิโมล มีค่า pH เท่ากับ 6.8) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (Ahmad et al., 2011) เปรียบเทียบกับน้ำ (ชุดควบคุม) และ positive control ได้แก่ สาร catechine

คำนวณประสิทธิภาพการในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ด้วยสูตรดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพในการยับยั้ง (เปอร์เซ็นต์)} = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}} - \text{OD}_{\text{สิ่งทดสอบ}}) / \text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}}{1} \right] \times 100$$

เมื่อ $\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำ
 $\text{OD}_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง และ positive control

นอกจากนี้คำนวณค่าความเข้มข้นของสารนั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา DPPH, ABTS และกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (the half maximal inhibitory concentration; IC_{50}) จากสมการเส้นตรงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมของเอนไซม์เทียบกับความเข้มข้นของสารสกัดนั้น ดังสมการต่อไปนี้

$$Y = mx + c$$

เมื่อ Y คือ ประสิทธิภาพในการยับยั้ง (50%) และ x คือ ความเข้มข้นของสารนั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สิ่งทดลอง คือ สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง 3 ชนิด จำนวน 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($p = 0.01$) และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (R) แบบเพียร์สัน (Pearson product moment correlation)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองแต่ละชนิด (Table 1) พบว่าดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีปริมาณของสารประกอบพวก

phenolics, saponin และ tannin มากที่สุด (เท่ากับ 321.68 ± 8.07 mg DE/ g extract, 745.30 ± 36.92 mg DE/ g extract และ 312.25 ± 8.07 mg GA/ g extract ตามลำดับ) ในขณะที่ดอกดาวเรืองอเมริกันมีสารประกอบทางเคมีพวก flavonoids มากที่สุด (เท่ากับ 594.29 ± 5.58 mg RU/ g extract) ส่วนปริมาณของสารประกอบทางเคมีพวก ascorbic acid และ alkaloids พบว่ามีปริมาณน้อย และมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P = 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับในสารสกัดด้วยน้ำของดอกดาวเรืองอเมริกัน ดาวเรืองฝรั่งเศส และดาวเรืองพื้นเมือง

การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลของ DPPH $\cdot$ ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองชนิดอื่น ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.27 ± 1.91 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยที่พบว่าดอกดาวเรืองชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา DPPH ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p = 0.01$) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHT (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 44.87 ± 2.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH ได้ดีกว่าสาร tocopherol (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 77.48 ± 3.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) (Figure 2A) สำหรับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยา

Table 1 Contents of phytochemicals containing in flower of marigolds

Phytochemical content	Species of marigold		
	American marigold	French marigold	Thai native marigold
Alkaloids (mg/ g extract)	$7.58 \pm 1.23a^1$	$7.42 \pm 0.68a$	$8.20 \pm 0.94a$
Ascorbic acid (mg AE/ g extract)	$1.60 \pm 0.05a$	$1.74 \pm 0.03a$	$1.61 \pm 0.01a$
Flavonoids (mg RU/ g extract)	$594.29 \pm 5.58a$	$550.33 \pm 3.78b$	$535.29 \pm 2.40c$
Phenolics (mg GA/ g extract)	$243.39 \pm 20.54b$	$321.68 \pm 33.10a$	$151.39 \pm 18.00c$
Saponins (mg DE/ g extract)	$342.80 \pm 20.07c$	$745.30 \pm 36.92a$	$545.30 \pm 30.83b$
Tannins (mg GA/ g extract)	$234.28 \pm 9.34b$	$312.25 \pm 8.07a$	$145.03 \pm 5.94c$

¹ Mean $\pm$ SD within a row followed by different letters indicate significant differences according to Duncan's multiple range test at $P = 0.01$.

ABTS พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศส อีกเช่นเดียวกันที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลของ $ABT^{\bullet+}$ ได้ดี (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 34.62 ± 1.37 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับดาวเรืองอเมริกัน (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 25.11 ± 1.75 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารมาตรฐาน BHT (มีค่า IC_{50} เท่ากับ

45.61 ± 2.44 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสและดาวเรืองอเมริกันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา ABTS ได้ดีกว่าสารมาตรฐาน tocopherol (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 71.07 ± 2.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) (Figure 2B)

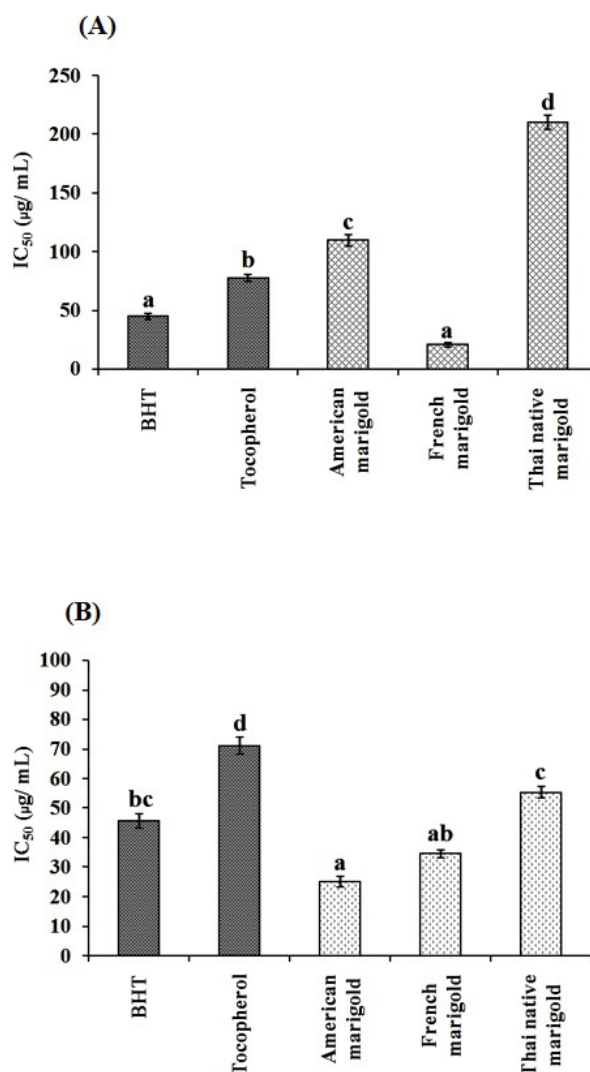


Figure 2 Inhibitory effect at 50% of aqueous extract of marigolds on DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging. The data are displayed with mean $\pm$ SD (bars) of six replications.

การทดสอบประสิทธิภาพการในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์

สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ถูกยับยั้งมากที่สุดด้วยสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศส ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 559.83 ± 14.13 และ 118.29 ± 9.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตามลำดับ มีค่าแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับดาวเรืองอเมริกันและดาวเรืองพื้นเมือง อย่างไรก็ตาม สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ได้ดีกว่าสาร acarbose และ catechin ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.21 ± 0.79 และ 2.69 ± 0.28 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 3)

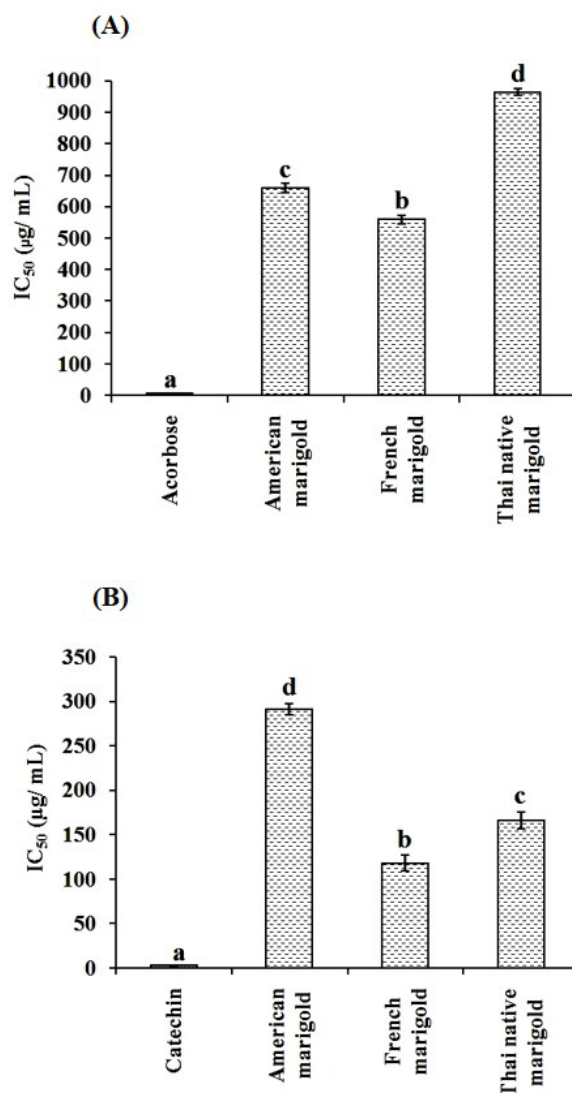


Figure 3 Inhibitory effect at 50% of aqueous extract of marigolds on α -amylase (A) and -glucosidase (B) activities. The data are displayed with mean $\pm$ SD (bars) of six replications.

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (Table 2) พบว่าปริมาณของสาร phenolics และ tannins (ซึ่งเป็นสารประกอบพวก phenolics ที่มีหมู่ hydroxyl เป็นจำนวนมาก มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน) มีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ในระดับมาก มีค่า R เท่ากับ 0.930, 0.674 และ 0.673 ตามลำดับ นั่นคือ สารสกัดที่มีปริมาณสาร phenolics สูงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวข้างต้นสูงเช่นเดียวกัน ส่วนปริมาณของสารประกอบ flavonoids มีความสัมพันธ์ทางลบกับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ ABTS และกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase แต่มีความสัมพันธ์ทางบวกกับกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase มีค่า R เท่ากับ -0.869, -0.824 และ 0.85 ตามลำดับ แสดงว่าสารประกอบ flavonoids ที่มีปริมาณสูงจะทำให้สารสกัดสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ดี แต่จะมีประสิทธิภาพลดลงในการต้านอนุมูลอิสระของ ABTS และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase นอกจากนี้ยังพบว่า สารประกอบ saponin มีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase มีค่า R เท่ากับ 0.616, 0.952 และ 0.929 ตามลำดับ แต่มีความสัมพันธ์ทางลบกับกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase มีค่า R เท่ากับ -0.684 ในขณะที่สารประกอบ ascorbic acid มีความสัมพันธ์

ทางลบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase มีค่า R เท่ากับ -0.683 และ -0.628 ตามลำดับ จากการศึกษาของ Benamrouche and Madani (2013) พบว่า สารประกอบ phenolics สามารถเป็น donor ให้อะตอมของ H แก่อนุมูลอิสระได้ง่าย จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระยังขึ้นอยู่กับโครงสร้างและชนิดของสารประกอบ phenolics ที่เป็นส่วนประกอบของสารสกัดด้วย (Su et al., 2008) ส่วน Barreca et al. (2011) รายงานว่า ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสาร flavonoids ขึ้นอยู่กับหมู่แทนที่ตรงตำแหน่งของวงแหวน B ถ้าหมู่แทนที่เป็นสารประกอบ phenol หรือ methoxyphenol ก็จะส่งผลให้สารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH $^{\bullet}$ และ ABTS $^{\bullet+}$ เป็นวิธีการที่นิยมในการทดสอบความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน (Niederländer et al., 2008) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรือง 3 ชนิด ผลการทดลองพบว่า ดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH และ ABTS ได้ดีที่สุด ในขณะที่ดาวเรืองอเมริกันมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา ABTS ได้ดี อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองฝรั่งเศสมีสารประกอบพวก phenolics, saponins และ tannins ปริมาณสูง ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองอเมริกันมีสารประกอบ flavonoids ปริมาณที่สูง จึงทำให้สารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองสองชนิดนี้มี

Table 2 Correlations between phytochemical contents and antioxidant capacities (DPPH and ABTS) and inhibitory effect on enzymatic activities (α -amylase and α -glucosidase)

Phytochemicals	Antioxidants		Enzymatic activities	
	DPPH	ABTS	α -Amylase	α -Glucosidase
Alkaloids	0.367	0.170	0.394	-0.040
Ascorbic acid	-0.683*	-0.128	-0.237	-0.678*
Flavonoids	-0.388	-0.869**	-0.824**	0.850**
Phenolics	0.930**	0.674*	0.293	0.673**
Saponins	0.616*	0.952**	0.929**	-0.684*
Tannins	0.978**	0.619*	0.304	0.717**

* Significance level at $P < 0.05$ and ** significance level at $P < 0.01$.

ประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ และยังเป็นผลทำให้สารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองฝรั่งเศสสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ดีกว่าสารสกัดจากดาวเรืองชนิดอื่น ซึ่ง Martínez et al. (2009) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองอเมริกันมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย 25 ชนิด โดยมีสาร linalool, 2-hexyl-1-decanol, piperitone, 4-terpinyl acetate และ caryophyllene เป็นสารประกอบหลัก ส่วนดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย 21 ชนิด ซึ่งมีสาร α -terthienyl, pentatriacontane และ 2-ethyl-1-dodecanol เป็นสารประกอบหลัก ส่วน Morotti et al. (2004) รายงานว่า ดาวเรืองอเมริกัน ดาวเรืองฝรั่งเศส และดาวเรืองซีกเน็ต (*T. tenuifolia*) มีสารประกอบของน้ำมันหอมระเหยชนิดเดียวกัน ได้แก่ dihydrotagetone, tagetones, ocimenones และ piperitone และมีความแตกต่างกันของสาร (E)-tagetone, terpinolene และ (E)-ocimenine ขึ้นอยู่กับชนิดของดาวเรือง นอกจากนี้ Jain et al. (2012) พบว่า สารสกัดจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำเย็น และ methanol ในขณะที่สารสกัดด้วย methanol จากดอกดาวเรืองอเมริกันจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำเย็น สารพฤษเคมีเป็นสารเคมีที่พบได้ในพืชมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคในร่างกายของมนุษย์ โดยที่สารประกอบทางเคมีพวก phenolics เป็นสารที่มีความซับซ้อนและพบมากที่สุด ในพืช (Walton et al., 2003) มีรายงานว่า สารพวก phenolics นี้มีความจำเป็นต่อมนุษย์และมีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์ (Dai and Mumper, 2010) ส่วนสารพวก flavonoids เป็นสารประกอบพวก polyphenolic compounds ที่พบได้ทั่วไปในพืชธรรมชาติ และมีการใช้เป็นยาสมุนไพรมาตั้งแต่โบราณจนถึงปัจจุบัน (Saxena et al., 2013) สารสกัดจากพืชมีส่วนประกอบของสารพฤษเคมีชนิดต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ alkaloids, steroids, terpenoids, polyphenolics, glycosides เป็นต้น ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีสรรพคุณทางยาที่แตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อนำสารสกัดมาใช้สำหรับป้องกันหรือรักษาโรคที่มีเฉพาะเจาะจง อาจจะมี

ประสิทธิภาพพร้อมกันหรือสารประกอบบางชนิดอาจไม่มีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคนั้น การใช้สารบริสุทธิ์ซึ่งมีการตรวจสอบสรรพคุณทางยาแล้วว่า มีฤทธิ์เฉพาะในการรักษาโรคดังกล่าวจึงมีประสิทธิภาพมากกว่าสารสกัดหยาบ (Rasoanaivo et al., 2001) โดยที่ Rigane et al. (2013) รายงานว่า พบสารพวก flavonoids เช่น rutin, quercetin-3-O-glucoside, scopoletin-7-O-glucoside, isorhamnetin-3-O-glucoside และ gallic acid ในดอกดาวเรือง และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยา DPPH และ FRAP ได้ดี ส่วน Wang et al. (2016) พบสาร quercetagenin เป็นสารพวก flavonoids หลักในดอกดาวเรือง สารนี้สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase และ pancreatic lipase และสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ได้ปานกลาง นอกจากนี้สาร quercetagenin ยังสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี อย่างไรก็ตามปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ การใช้น้ำ (water availability) ชนิดและส่วนประกอบของดิน ที่มีอิทธิพลต่อชนิดและปริมาณของสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ทางยา สารนี้จะไม่แน่นอนและยากต่อการคาดการณ์ พืชชนิดเดียวกันที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจะมีสารพฤษเคมีที่แตกต่างกัน (Szakiet et al., 2011) ดังนั้นจากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำจากดาวเรืองฝรั่งเศสมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้ดีกว่าดาวเรืองอเมริกันและดาวเรืองพื้นเมือง การจำแนกชนิดของสารพฤษเคมีในสารสกัดจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสที่ใช้สำหรับการทดลองนี้ จึงควรมีการศึกษาต่อไป

สรุป

สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองฝรั่งเศสมีสารพฤษเคมีพวก phenolics, saponins และ tannins ปริมาณที่สูง จึงส่งผลให้สารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองนี้มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase ได้สูงกว่าดาวเรืองอเมริกันและดาวเรืองพื้นเมือง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนอุดหนุนงานวิจัยพืชไร่ 2562 ซึ่งเป็นโครงการสนับสนุนและส่งเสริมการวิจัยของภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบทุนอุดหนุนสำหรับการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, R., H.M. Hashim, Z.M. Noor, N.H. Ismail, F. Salim, N.H. Lajis and K. Shaari. 2011. Antioxidant and antidiabetic potential of Malaysian *Uncaria*. Res. J. Med. Plant 5: 587-595.
- Barreca, D., E. Bellocco, C. Caristi, U. Leuzzi and G. Gattuso. 2011. Distribution of C- and O-glycosyl flavonoids, (3-hydroxy-3-methylglutaryl)glycosyl flavanones and furocoumarins in *Citrus aurantium* L. juice. Food Chem. 124: 576-582.
- Benamrouchea, L.L. and K. Madani. 2013. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: peels and leaves. Indus. Crop Prod. 50: 723-730.
- Boskou, G., F.N. Salta, S. Chrysostomou, A. Mylona, A. Chiou and N.K. Andrikopoulos. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. Food Chem. 94: 558-564.
- Chew, B.P., M.W. Wong and T.S. Wong. 1996. Effects of lutein from marigold extract on immunity and growth of mammary tumours in mice. Anticancer Res. 16: 3689-3694.
- Chompoo, J., A. Upadhyay, M. Fukuta and S. Tawata. 2012. Effect of *Alpinia zerumbet* components on antioxidant and skin diseases-related enzymes. BMC Compl. Alt. Med. 12: 106.
- Closa, D. and E. Folch-Puy. 2004. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. IUBMB Life 56: 185-191.
- Dai, J. and R. Mumper. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecule 15: 7313-7352.
- Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker and N. Vidal. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem. 97: 654-660.
- Ebrahimi, E., S. Shirali and R. Talaei. 2016. The protective effect of marigold hydroalcoholic extract in STZ-induced diabetic rats: evaluation of cardiac and pancreatic biomarkers in the serum. J. Bot. Artical ID 9803928, 6 p.
- Ezeji, T.C. and H. Bahl. 2006. Purification, characterization, and synergistic action of phytate-resistant alpha-amylase and alpha-glucosidase from *Geobacillus thermodenitrificans* HRO10. J. Biotechnol. 125: 27-38.
- Fullmer, L.A. and A. Shao. 2001. The role of lutein in eye health and nutrition. Am. Asso. Cereal Chem. 46: 408-413.
- Hencken, H. 1992. Chemical and physiological behaviour of feed carotenoids and their effects on pigmentation. Poult. Sci. 71: 711-717.

- Hsu, C.F., H. Peng, C. Basle, J. Travas-Sejdic and P.A. Kilmartin. 2011. ABTS^{•+} scavenging activity of polypyrrol, polyaniline and poly (3,4-ethylenedioxythiophene). *Polym. Int.* 60: 69-77.
- Jain, R., N. Katore, V. Kumar, A.K. Samanta, S. Goswami and C.K. Shrotri. 2012. *In vitro* anti bacterial potential of different extracts of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula*.
- Kähkönen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala and M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- Klein, B.P. and A.K. 1982. Ascorbic and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United State. *J. Food Sci.* 47: 941-945.
- Kwon, Y.I., H.D. Jang and K. Shetty. 2006. Evaluation of *Rhodiola crenulata* and *Rhodiola rosea* for management of type II diabetes and hypertension. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 15: 425-432.
- Lee, Y.L., G.W. Huang, Z.C. Liang and G.L. Mau. 2007. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *Food Sci. Technol. Leb. Wis. Tech.* 40: 823-833.
- Lobo, V., A. Patil, A. Phatak and N. Chandra. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4: 118-126.
- Mahantesh, S.P., A.K. Gangawane and C.S. Patil. 2012. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines in human health: future perspets. *World Res. J. Med. Aroma Plant* 1: 6-10.
- Makker, H.P., P. Siddhuraju and K. Becker. 2007. *Methods in molecular biology: plant secondary metabolites*. Human Press, Totowa, New Jersey.
- Manikandan, R., A.V. Anand, S. Kumar and Pushpa. 2016. Phytochemical and *in vitro* antidiabetic activity of *Psidium guajava* leaves. *Pharmacogn. J.* 8: 392-394.
- Martin, K.R., M.L. Ealla and J.C. Smith. 1996. β -Carotene and lutein protect HepG2 human liver cells against oxidant-induced damage. *J. Nutr.* 126: 2098-2106.
- Martínez, R., B. Díaz, L. Vásquez, R.S. Compagnone, S. Tillett, D.J. Canelón, F. Torrico and A.I. Suárez. 2013. Chemical composition of essential oils and toxicological evaluation of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula* from Venezuela. *Jeobp* 12: 476-481.
- Marotti, M., R. Piccaglia, B. Biavati and I. Marotti. 2004. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *J. Essent. Oil Res.* 16: 440-444.
- Muley, B.P., S.S Khadabadi and N.B. Banarase. 2009. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): a review. *Tropical J. Pharm. Res.* 8: 455-465.
- Naczki, M. and F. Shahidi. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chrom. A.* 1054: 95-111.
- Nanditha, A., R.C.W. Ma, A. Ramachandran, C. Snehalatha, J.C.N. Chan, K.S. Chia, J.E. Shaw and P.Z. Zimmet. 2016. Diabetes in Asia and the Pacific: implications for the global epidemic. *Diabetes Care* 39: 472-485.

- Nehr, N.T. 1968. The ethnobotany of tagetes. Econ. Bot. 22: 317-324
- Niederländer, H.A., B.T.A. Van, A. Bartasiute and I.I. Koleva. 2008. Antioxidant activity assays online with liquid chromatography. J. Chromatogr. A 1210: 121-134.
- Obadoni, B.O. and P.O. Ochuko. 2001. Phytochemical studies and comparative efficacy of the crude extracts of some homeostatic plants in Edo and Delta state of Nigeria. Global J. Pure Appl. Sci. 8: 203-208.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. Clin. Nutr. Insight 31: 1-4.
- Pohorille, A. and L.R. Pratt. 2012. Is water the universal solvent for life?. Orig. Life Evol. Biosph. DOI 10.1007/s11084-012-9301-6.
- Poulsen, H.E., H. Prieme and S. Loft. 1998. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. Eur. J. Cancer Prev. 7: 9-16.
- Rasoanaivo, P., C.W. Wright, M.L. Willcox and B. Gilbert. 2001. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interaction. Malaria J. 10(Suppl 1): S4.
- Rigane, G., M. Boukhris, M. Bouaziz, S. Sayadi and R.S. Ben. 2013. Analytical evaluation of two monovarietal virgin olive oils cultivated in the south of Tunisia: Jemri-Bouchouka and Chemlali-Tataouin cultivars. J. Sci. Food Agric. 93: 1242-1248.
- Saxena, M., J. Saxena, R. Nema, D. Singh and A. Gupta. 2013. Phytochemistry of medicinal plant. J. Pharm. Phytochem. 1: 168-182.
- Sharma, P, A.B. Jha, R.S. Dubey and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J. Bot. Article ID 217037, 26 p.
- Siddhuraju, P. and S. Manian. 2007. The antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of dietary phenolic extracts from horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) seeds. Food Chem. 105: 950-958.
- Stuart A.R., E.A. Gulve and M. Wang. 2004. Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. Chem. Rev. 104: 1255-1282.
- Su, M.S., Y.T. Shyu and P.J. Chien. 2008. Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. Food Chem. 111: 892-896.
- Szakiel, A., C. Paczkowski and M. Henry. 2011. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponin in plants. Phyto. Reveiws 10: 471-491.
- Ullah, A., A. Khan and I. Khan. 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress-a concise review. Saudi Pharmaceutical J. 24: 547-553.
- Walton, N.J., M.J. Mayer and A. Narbad. 2003. Molecules of interest: vanillin. Phytochemistry 63: 505-515.
- Wang, W., H. Xu, H. Chen, K. Tai, F. Liu and Y. Gao. 2016. *In vitro* antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.). J. Food Sci. Technol. 53: 2614-2624.

Zhang, L.X., R.V. Coney and J.S. Betram. 1991.
Carotenoids enhance gap functional
communication and inhibit lipid peroxidation
in C3H/10T/2 cells: relationship to their
cancer chemo preventive action.
Carcinogenesis 12: 2109-2111.