

การสกัดแยกแอนโทไซยานินจากกลีบดอกอัญชันสีน้ำเงิน

Extraction and separation of anthocyanins from petals of blue butterfly peas

นันทิยา วงศ์แสงตา, ศรีสมพร ปรีเปรม, นาฏศจี นวลแก้ว, อรุณศรี ปรีเปรม*

Nanthiya Wongsangta, Srisomporn Preeprame, Nasajee Nuankaew, Aroonsri Priprem*

บทคัดย่อ: การศึกษาเปรียบเทียบการสกัดแยกแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันสีน้ำเงินโดยวัดปริมาณแอนโทไซยานินรวม ใช้วิธีการของ AOAC และตรวจสอบเชิงคุณภาพโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีเหลวและยูวีสเปกโตรโฟโตเมตรี พบว่าสัดส่วนระหว่างปริมาณตัวอย่างกับตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินรวมจึงกำหนดให้คงที่ในการทดลองนี้ ความร้อนที่ให้อุณหภูมิการสกัดและพื้นที่แห้งลดปริมาณแอนโทไซยานินรวมจากการสกัดได้ กลีบดอกสดให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวม 0.24 ± 0.02 mg/g ซึ่งสูงกว่าดอกสดทั้งดอก (0.15 ± 0.04 mg/g) อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลีบดอกแห้งเมื่อเทียบน้ำหนักตัวอย่างแห้ง กลีบดอกแห้งที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 ปีในภาวะป้องกันแสง อากาศและความชื้นให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมไม่แตกต่างจากกลีบดอกสดเมื่อเทียบน้ำหนักตัวอย่างแห้ง ($p < 0.05$) ชนิดและพีเอชของตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงคุณภาพของสารที่สกัด อัลกอฮอล์ที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 2 ช่วยคัดแยกแอนโทไซยานินได้ ผลการศึกษานี้เป็นส่วนช่วยในการกำหนดมาตรฐานเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของวิธีการสกัดแอนโทไซยานิน จากดอกอัญชัน

คำสำคัญ: Anthocyanins, blue butterfly pea flowers, *Clitoria ternatea* Linn

Abstract: A study to compare the extraction and separation of anthocyanins from blue flowers of butterfly peas (*Clitoria ternatea* L.) by quantitative measurement of total anthocyanins using the AOAC method and qualitative analysis using column chromatography and UV spectrophotometry. Volume ratio of samples and solvents used in the extraction, affected the total anthocyanins extracted, was fixed in this study. Heating during extraction and spray dry process reduced total anthocyanins to a certain level. Fresh petals gave an average total anthocyanins of 0.24 ± 0.02 mg/g which was significantly higher than **that of** whole flowers ($p > 0.05$) but equivalent to that obtained from dried petals. Storage of dried petals in **light, air and moisture** protected conditions for 1 year did not significantly affect the total anthocyanins extracted ($p < 0.05$). Type and pH of solvents used in the extraction affected the quality of the extract. Alcohol at a pH lower than 2 selectively separated anthocyanins extracted from the petals. Results could be used as a part of quantitative and qualitative standardized protocol of anthocyanins extraction from blue butterfly pea flowers.

Keywords: Anthocyanins, blue butterfly pea flowers, *Clitoria ternatea* Linn

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Faculty of Pharmaceutical Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

* Corresponding author: aroonsri@kku.ac.th

35

จัดอยู่ใน family อะไร

บทนำ

36

อัญชัน (*Clitoria ternatea* Linn) Leguminosae หรือ Papilionaceae ชื่อเรียกตามท้องถิ่นได้แก่ เอื้องขัน แดงขัน อู

37

บีก็อลิง หญ้าลินจัน มีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพันธุ์ไม้เลื้อยเขตร้อน ขึ้นได้ในดินทั่วไป ความชื้นปานกลาง

38

และแสงแดดจัด ลำต้นมีสีเขียวมีขนอ่อน กลีบดอกอัญชันสะสมแอนโทไซยานินหลายชนิด เฉพาะที่มีการรายงานว่ามีพบมากใน

39

กลีบดอกอัญชันสีน้ำเงินคือเทอนาทิน (ternatins) ซึ่งเป็น 15 (poly) acylated delphinidin glucoside เป็นสารหนึ่งในกลุ่ม

40

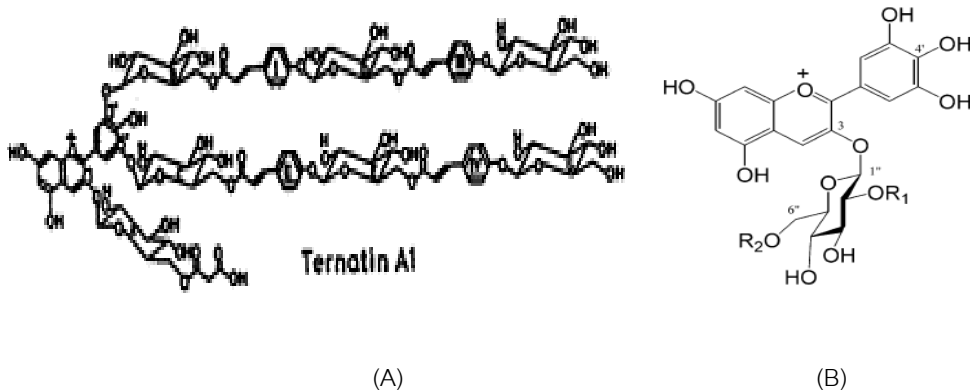
แอนโทไซยานิน [Kazuma, 2003] ดังตัวอย่างโครงสร้างของเทอนาทิน เอ 1 ที่แสดงใน Figure 1 ดอกอัญชันสีม่วง สีฟ้าและสี

41

ขาวมีสารแอนโทไซยานินต่างปริมาณและ/หรือชนิด แต่ดอกอัญชันสีน้ำเงินที่มีกลีบดอกเดี่ยวหรือดอกซ้อนมีชนิดของ

42

สารสำคัญไม่แตกต่างกัน [Kazuma, 2003] การศึกษานี้จึงเลือกใช้ดอกอัญชันสีน้ำเงิน



43

44

45

Figure. 1 Chemical structure of (A) ternatin A from *C. ternatea* (Terahara et al, 1990) (B) anthocyanins (Kazuma, 2003)

47

48

สีที่แตกต่างกันของแอนโทไซยานิน เกิดจากโครงสร้างเรโซแนนซ์ (resonant structure) ของอิออนฟลาโวลีียม (flavylium ion) ดัง

49

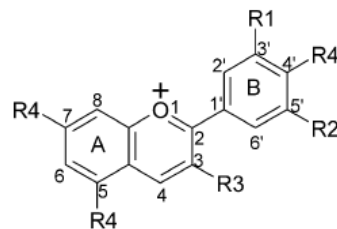
Figure 2 ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) เป็นอะไกลโคน (aglycone) ของ

50

แอนโทไซยานิน แอนโทไซยานิดินประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก เอ (aromatic ring A) ซึ่งติดกับวงแหวน ซี (heterocyclic ring

51

C) ซึ่งมีออกซิเจน 1 อะตอม วงแหวน ซี ยังเชื่อมกับวงแหวน บี ด้วยพันธะระหว่างอะตอมของคาร์บอนของแต่ละวงแหวน



52

53

Figure 2 เปลี่ยนจาก [Andersen & Jordheim, 2006] เป็น (Andersen and Jordheim, 2006) cosyl

54

55

แอนโทไซยานินเป็นกลุ่มของสารที่หมู่ฟลาโวลีียม (Figure 2) ซึ่งอาจเป็นอนุพันธ์ต่าง ๆ และอาจแสดงหรือไม่แสดง

56

ประจุบวกก็ได้ ปัจจุบันมีรายงานการพบแอนโทไซยานินต่าง ๆ กันกว่า 500 ชนิด แอนโทไซยานิดิน 23 ชนิด [Andersen &

57

Jordheim, 2006] และคาดว่าจะยังมีการค้นพบเพิ่มเติมต่อไปอีกความแตกต่างที่สำคัญของแอนโทไซยานินแต่ละตัวต่างกันที่หมู่

58

ไกลโคไซด์ และชนิดของกรดอินทรีย์ของหมู่ไกลโคไซด์ ความแตกต่างของโครงสร้างในรายละเอียดทำให้เกิดสารแอนโทไซยานิน

59 หลากหลายชนิดในธรรมชาติเคมีของสารกลุ่มนี้จึงมีความซับซ้อนจากความแตกต่างเล็ก ๆ น้อย ๆ แต่ก็ทำให้เกิดเอกลักษณ์ของ
60 สารที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด นอกจากนี้สีของแอนโทไซยานินยังขึ้นกับการรีไซเคิลของประจุบวกของอิออนฟลาโวลีเยมทำ
61 ให้พีเอช (pH) มีผลต่อคุณสมบัติของแอนโทไซยานินด้วย หลักการวัดผลต่างของการดูดกลืนแสงที่พีเอชต่างกันจึงนำมาใช้เป็น
62 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารแอนโทไซยานินที่เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล [AOAC, 2005] และได้รับการพิสูจน์ว่าไม่
63 แตกต่างจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่น เช่น HPLC

64 สีจากสารแอนโทไซยานินเป็นภูมิปัญญาเดิมของหลายชนชาติพบได้ทั้งในยุโรป ตะวันออกกลางและเอเชียที่ใช้ผลไม้สี
65 ม่วงเข้มในการทำไวน์ อาหารและเครื่องสำอาง ไทยใช้ดอกอัญชันในการทำขนมโบราณ และเครื่องสำอางพื้นบ้าน ต่อมาเป็นที่
66 สนใจศึกษากันมากขึ้นเมื่อค้นพบว่ามียาระงับยีสต์ต่อสุขภาพ เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอักเสบ [M. Teresa Satue'-
67 Gracia et al, 1997] ป้องกันรังสียูวี [Woodall and Stewart, 1998] ป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด และเกร็ดเลือด [P. K.
68 Mukherjee et al, 2008] ควบคุมน้ำตาลในเลือด [Dilip et al, 2007] ด้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง เพิ่มการไหลเวียนในหลอดเลือด
69 เลือดเล็ก [Matsumoto et al, 2005] ประกอบรายงานสรรพคุณที่เคยใช้ในตำรายาอายุรเวท [Mukherjee et al, 2008] พบกลไก
70 สำคัญในการเพิ่มการไหลเวียนในหลอดเลือดขนาดเล็กมีประโยชน์ต่อตา โรคเบาหวาน โรคเลือด [G. Dilip et al, 2007] สีเป็น
71 สารปรุงแต่งที่มีบทบาทสำคัญในการเตรียมผลิตภัณฑ์ ผู้บริโภคส่วนใหญ่ตัดสินใจเลือกคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในขั้นต้นจากสีที่มองเห็นจึง
72 มีการให้ความสำคัญกับการใช้สารแต่งสีในผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะยา อาหาร เครื่องสำอาง รวมถึงผลิตภัณฑ์สุขภาพหรือผลิตภัณฑ์
73 สำหรับสัตว์ กระแสความต้องการที่จะบริโภคสีอย่างปลอดภัย ทำให้มีการใช้สีธรรมชาติทดแทนสีสังเคราะห์มากขึ้นโดยเฉพาะการ
74 ใช้สารแต่งสีที่ให้เสริมสุขภาพได้ด้วย สีที่สกัดจากดอกอัญชันให้สารที่มีคุณประโยชน์อีกทั้งประเทศไทยเป็นแหล่งที่เพาะปลูก
75 อัญชันได้ดี จัดเป็นพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจสูง
76 การที่จะนำสารสกัดจากพืชมาใช้ประโยชน์ต่อสุขภาพจำเป็นต้องควบคุมวิธีการสกัดเพื่อกำหนดปริมาณและขนาดใช้ที่ถูกต้อง
77 สีที่สกัดจากดอกอัญชันเป็นสารที่สกัดได้ง่าย มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างง่ายในหลายบทบาท แต่การสกัดเพื่อที่จะให้ได้แอนโท
78 ไซยานินต้องคำนึงถึงการเก็บ การคัดแยก การเลือกใช้สารสกัด และกระบวนการ การศึกษานี้มุ่งกำหนดวิธีการสกัดแอนโทไซยา
79 นินจากกลีบดอกอัญชันโดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินรวมด้วยวิธี AOAC เปรียบเทียบวิธีการสกัดต่าง ๆ และ
80 กำหนดวิธีการที่เหมาะสม

81 82 วิธีการศึกษา

83 84 กลีบดอกอัญชันสดและแห้ง

85 เก็บดอกอัญชันสีน้ำเงินแล้วแยกเอาเฉพาะกลีบดอก หากนำกลีบดอกที่แยกทันทีที่เก็บมาใช้งานจัดเป็นตัวอย่างของกลีบดอกสด
86 ส่วนตัวอย่างกลีบดอกแห้งเตรียมด้วยการอบในตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven ED400, Tuttlingen, Germany) ที่อุณหภูมิ 50°C จน
87 น้ำหนักคงที่เมื่อชั่งที่เวลาต่าง ๆ กัน ใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 6 ชั่วโมง น้ำหนักกลีบดอกสดเฉลี่ย 2.91 กรัมเมื่ออบแห้งน้ำหนักคงที่แล้ว
88 จะเหลือน้ำหนักกลีบดอกแห้งเฉลี่ย 0.20 กรัม ซึ่งคิดเทียบได้ว่าตัวอย่างแห้งคิดเป็น 7% โดยน้ำหนักของตัวอย่างสด (n = 10)
89 ตัวอย่างกลีบดอกแห้งเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นตลอดการทดลอง

90
91

92 การสกัดและการทำแห้ง

93 สกัดตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากอิออน (deionized water) หรือ acidified methanol ซึ่งประกอบด้วย 0.2 M กรดไฮโดรคลอริกใน
94 50% เมทานอล 0.1% โซเดียมบอเรต ปรับน้ำหนักให้คงที่ กรองเอากากออกได้สารสกัดเข้มข้น

95
96 การสกัดสารแห้งด้วยความเย็น(Freeze drying extract, FDExt)

97 สารสกัดเข้มข้นใน acidified methanol แล้วนำมาสกัดแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี นำสารที่สกัดแยกได้ไปทำแห้งที่ภาวะ
98 ควบคุมความดันที่ 2200 – 2300 psi และอุณหภูมิ – 46°C (Freeze dryer, Flexi-Dry FTS systems, U.S.A.)สารที่ได้เก็บใน
99 ภาชนะปิดสนิทในตู้ดูดความชื้น

100
101 การสกัดสารแห้งด้วยการสเปรย์ร้อน (spray drying extract, SPExt)

102 ทำการฟ่นละของสารสกัดเข้มข้นในน้ำปราศจากอิออนโดยใช้อัตราเร็ว 4 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 160°C (ขาเข้า) และ 80 – 90°C
103 (ขาออก) ความดัน 1.0 Bar (Spray Dryer, Niro DK-2860; Denmark) เก็บสารในภาชนะปิดสนิทในตู้ดูดความชื้น

104
105 Thin Layer Chromatography (TLC)

106 สารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase solution) ประกอบด้วยบิวทานอล (n-Butanol) 57% กรดอะซิติก (Glacial acetic acid)
107 14% ในน้ำปราศจากอิออน (Deionized water) เตรียมขึ้นเพื่อใช้พาสารสกัดเข้มข้นปริมาตร 2 ไมโครลิตรที่หยดบนแผ่น TLC
108 aluminium เคลือบด้วยซิลิกาเจล 60 F₂₅₄ (Merck, Germany) จนปรากฏแถบ (ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง)

109
110 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินรวม [AOAC, 2005]

111 เจือจางสารสกัดตัวอย่างที่จะทดสอบ 1 ส่วนใน 9 ส่วนโดยปริมาตรของสารละลายบัฟเฟอร์ 2 ชนิดคือโปตัสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์
112 (0.025 M, pH 1.0) หรืออะซีเตตบัฟเฟอร์ (0.4 M, pH 4.5) แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 nm จาก
113 สารละลายทั้งสอง คำนวณหาปริมาณของแอนโทไซยานินรวมตามสมการต่อไปนี้

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{(A_{\text{correction}} \times MW \times DF \times 1000)}{\epsilon \times L}$$

$$A_{\text{correction}} = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}=4.5}$$

114
115
116
117
118 เมื่อ A₅₂₀ และ A₇₀₀ แทนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer
119 (UV-1700 Pharmaspec; SHIMADZU, Japan) ตามลำดับ MW แทนน้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (เทียบกับ cyanidin-
120 3-glucoside 449.2 กรัมต่อโมล) DF แทนสัดส่วนที่ทำการเจือจาง L แทนช่วงความยาวที่แสงผ่านสารละลายที่ทำการวัด (ในที่นี้
121 คือ 1 เซนติเมตร) ε แทน molar extinction coefficient ซึ่งมีค่า 26,900

122

123 การสกัดแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีเหลว เตรียมคอลัมน์บรจเรซิน แลกเปลี่ยนไอออน Ion exchange resins (Diaion ion
 124 exchange resin HP 20, Mitsubishi, Japan) ที่อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายให้พร้อมแล้วผ่านสารสกัดเข้มข้นใน acidified methanol
 125 แยกเป็นส่วน (fractions, F) ดังนี้
 126 F 1 นำปราศจากไอออนเพื่อกำจัดน้ำตาลและกรด
 127 F 2 เมทานอล (methanol)

128
 129 **ผลการศึกษาและวิจารณ์**
 130

131 Table 1 Comparison of extraction. (n = 9)

Method	Extraction			Average total anthocyanins (mg/g dried petals)
	Solvent ion	Temperature (°C)	Ratio w/v	
Freeze drying	Deionized water	25	1 : 50	0.3 ± 0.7
Hot Air Oven	Acidified methanol	80	4 : 100	3.8 ± 0.7
Spray drying	Acidified methanol	25	1 : 1000	3.3 ± 1.2

132

133 **สารสกัดจากทั้งดอกเปรียบเทียบกับกลีบดอก**

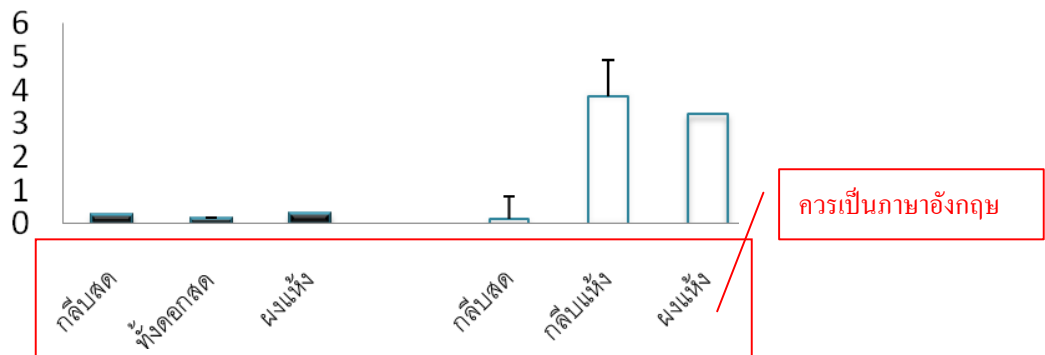
134 การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินรวมที่ได้จากการสกัดโดยใช้ดอกสดทั้งดอกกับกลีบดอก (แยกเอา
 135 เฉพาะกลีบดอกส่วนที่มีสีน้ำเงิน) มาสกัดด้วยน้ำและไม่ใช้ความร้อน พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินรวมแตกต่างกันอย่างมี
 136 นัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยกลีบดอกสดให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ 0.24 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนดอกสดทั้งดอก
 137 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ 0.15 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบว่าการสกัดดอก
 138 สดทั้งดอกมีสารสีเขียวจากฐานรองดอกเจือปน สารสกัดที่ได้มีความหนืดสูงกว่า เป็นอุปสรรคต่อการที่จะนำไปใช้ต่อในขั้นตอน
 139 ฟ้นแห้งหรือทำแห้งด้วยความเย็นจัด ดังนั้นการนำกลีบดอกมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นของการสกัดสารแอนโทไซยานินเป็นวิธีการ
 140 จัดการที่ดีกว่าการใช้ทั้งดอก การตัดแยกในเบื้องต้นทำให้ลดขั้นตอนที่มีความซับซ้อนโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อผลิตในชั้น
 141 อุตสาหกรรม

142

143 **ปริมาณแอนโทไซยานินในกลีบดอกแห้ง สีอหว่าข้อนี้ไม่สื่อ เพราะไม่สัมพันธ์กับการเปรียบเทียบ**

144 การศึกษาวิธีการเก็บรักษา กลีบดอกด้วยการอบแห้งที่เก็บในภาชนะปิดสนิทป้องกันแสงและควบคุมความชื้นเป็น
 145 เวลา 1 ปี ทำการสกัดด้วยน้ำโดยไม่ใช้ความร้อน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินรวมที่ได้จากการสกัดกลีบดอกสดกับ
 146 กลีบดอกอบแห้ง พบว่ากลีบสดให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวม 0.13 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนกลีบอบแห้ง 0.16 ± 0.05
 147 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าวิธีการเก็บรักษา กลีบอบแห้งในภาชนะปิดสนิท
 148 ป้องกันแสงและควบคุมความชื้นมีส่วนช่วยให้สารสำคัญในกลีบดอกอบแห้งมีความเสถียรหรือคงตัว

149



150
151

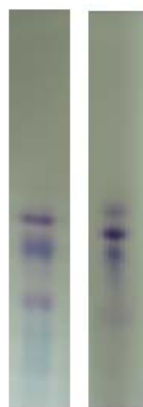
152 Figure 3 Graph of total anthocyanins (right) water extract and (left) acid extract from fresh petal, fresh flowers and dried
153 petals

154

155 ผลของ pH อุณหภูมิและเวลาต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

156 กรดมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินรวมที่สกัดได้โดยในที่นี้เปรียบเทียบโดยใช้กลีบดอกสดในการสกัดทั้งหมดและ
157 ปรับ pH ของการสกัดให้มีค่าเท่ากับ 2, 4, 6, 7 และ 9 พบว่าได้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ 0.18 ± 0.06 , 0.10 ± 0.06 ,
158 0.15 ± 0.02 , 0.14 ± 0.03 และ 0.14 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมตามลำดับ การสกัดที่อุณหภูมิ $25 - 50^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 60 นาที ให้
159 ปริมาณสารไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ถ้าใช้เวลาสกัดนานเกินกว่า 60 นาทีพบว่าให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมลดลงอย่าง
160 มีนัยสำคัญโดยเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของ pH ในสารสกัด ($p < 0.05$) จึงสรุปว่าการสกัดแอนโทไซยานินจากกลีบดอก
161 อัญชันควรควบคุมอุณหภูมิและเวลาโดยมีการติดตามวัดค่าความเป็นกรดต่างซึ่งจะช่วยบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณ
162 สารสำคัญที่ได้

163



คำว่า Table 1... และ Figure
1... ให้ใช้ตัวหนา
 $^\circ\text{C}$ เปลี่ยนเป็น $^\circ\text{ซ}$ ทั้งหมด
ส่วนหน่วยให้ใช้ตัวย่อ เช่น มล./ก.
ชม. ชม. เป็นต้น

164
165

Figure 4 Thin layer chromatography (TLC), system n-Butanol : Glacial acetic acid : DI water ratio 4 : 1 : 2

166 Figure 4 แสดงผลจากการวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วย TLC พบว่าเมื่อสกัดกลีบดอกอัญชันด้วยน้ำปรากฏแถบของ
167 สาร 3 แถบ (คอลัมน์ขวา) ที่มีค่า Rf เท่ากับ 0.52 0.45 และ 0.40 แต่เมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำดังกล่าวมาเติมกรดและทำการแยก
168 ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีก่อนนำมาวิเคราะห์พบว่าสารสกัด 2 ชนิดสามารถละลายแยกออกจากอนุภาคเรซินที่ใช้ในการแยก

169 โดยใช้ 50% เมทานอล (คอลัมน์ซ้าย) มีค่า Rf เท่ากับ 0.48 และ 0.43 แสดงให้เห็นว่ากรดช่วยคัดแยกแอนโทไซยานินจากสาร
170 สกัดได้ ซึ่งคาดว่าเกิดจากการตัดหมู่น้ำตาลจากไกลโคไซด์ทำให้ได้เป็นอะไกลโคนซึ่งลดความสามารถในการละลายน้ำซึ่ง
171 เป็นไปตามลักษณะทางกายภาพที่ปรากฏและผลการทดลองที่เคยมีรายงานไว้ การทดลองนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ช่วย
172 ประกอบการยืนยันสารสกัดที่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินอีกแนวทางหนึ่ง อย่างไรก็ตามควรต้องมีการพิสูจน์
173 เอกลักษณะทางเคมีต่อไป

174

175

สรุป

176

177 ตัวอย่างอัญชันกลีบสด – กลีบอบแห้ง ที่เก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ปี เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซ
178 ยานินรวมที่ได้จากการสกัด โดยใช้น้ำเป็นตัวสกัดและไม่มีการให้ความร้อน แสงที่ใช้เป็นการเขย่าหรือปั่นให้ละเอียด พบว่ากลีบ
179 สดให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวม 0.24 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนกลีบอบแห้ง 3.6 ± 0.6 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งแตกต่างกัน
180 อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าวิธีการเก็บรักษา กลีบอบแห้งในภาชนะปิดสนิทป้องกันแสงและความชื้นมี
181 ส่วนช่วยให้สารสำคัญในกลีบดอกอบแห้งมีความเสถียรหรือคงตัวมากขึ้น

182 เปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินรวมที่ได้จากการสกัดกลีบดอกสดที่ตัดแยกเฉพาะส่วนที่มีสีกับดอกสดทั้งดอก (มีส่วนของ
183 ฐานรองดอก เกสรและรังไข่) โดยใช้น้ำเป็นตัวสกัดและไม่มีการให้ความร้อน แสงที่ใช้เป็นการเขย่าหรือปั่นให้ละเอียด พบว่า
184 กลีบสดให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวม 0.24 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนดอกสดทั้งดอก 0.15 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่ง
185 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งในการสกัดดอกสดทั้งดอกยังมีสารสีเขียวเจือปนและเพิ่มความหนืดของสารสกัด เป็น
186 อุปสรรคต่อการที่จะนำไปใช้ต่อในขั้นตอนพ่นแห้งหรือทำแห้งด้วยความเย็นจัด ดังนั้นการนำกลีบดอกมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นของ
187 การสกัดสารแอนโทไซยานินเป็นวิธีการจัดการที่ดีกว่าการใช้ทั้งดอก การตัดแยกในเบื้องต้นทำให้ลดขั้นตอนที่มีความซับซ้อน
188 โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อผลิตในขั้นอุตสาหกรรม

189

190

คำขอบคุณ

191 ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัยสัญญาเลขที่ ภค./2552 – 36

192 ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่

193

194

เอกสารอ้างอิง

195

196 Dilip G. and Konishi T. 2007. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pac J Clin Nutr.* 16
197 (2): 200 – 208.

198 Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G. and Kulling, S. E. 2006. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in
199 vitro. *European Journal of Nutrition.* 45(1): 7 – 18.

200 Heredia, F.J., Francia-Aricha, E.M., Rivas-Gonzalo, J.C., Vicario, I.M. and Santos– Buelga, C. 1998. Chromatic characterization of
201 anthocyanins from red grapes – I. pH effect. *Food Chemistry.* 63(4): 491 – 498.

202 Hitoshi, M., Eri, T., Keiko, I.K., Takuya, O., Toshihito, K. and Takafumi, H. 2005. Effects of blackcurrant anthocyanin intake on
203 peripheral muscle circulation during typing work in humans. *Eur J Appl Physiol.* 94: 36 – 45.

ให้แก่ในรูปแบบการเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ตรงตาม
รูปแบบที่วารสารกำหนดโดยดูได้จาก website:
ags.kku.ac.th/kaj

204 Kamkaen, N. and Wilkinson, J.M. 2007. The antioxidant activity of *Clitoria ternatea* flower petal extracts and eye gel. *Phytotherapy*
205 *Research*. 23(11): 1624 – 1625.

206 Kazuma, K., Noda, N. and Suzuki, M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*.
207 *Phytochemistry*. 64: 1133 – 1139.

208 Kennedy, J.A. and Waterhouse, A.L. 2000. Analysis of pigmented high - molecularmass grape phenolics using ion-pair, normal -
209 phase high - performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 866(1): 25 – 34.

210 Mukherjee, P.K., Kumara, V., Kumar, N.S. and Heinrich, M. 2008. Review The Ayurvedic medicine *Clitoria ternatea* - from traditional
211 use to scientific assessment. *Journal of Ethnopharmacology*. 120: 291 – 301.

212 Norihiko, T. and Kazuo, N. 2000. Antioxidative activity of anthocyanins from butterfly pea flowers. *Urakami Foundation Memoirs*. 8:
213 17- 27.

214 Taranalli, A.D. and Cheeramkuczhi, T.C. 2000. Influence of *Clitoria ternatea* on memory and central cholinergic activity in rats.
215 *Pharmaceutical Biology*. 38: 51 – 56.

216 Terahara, N., Saito, N., Honda, T., Toki, K. and Osajima, Y. 1990. Structure of ternatin A1, the largest ternatin in the major blue
217 anthocyanins from *Clitoria ternatea* flowers. *Tetrahedron Letters*. 31(20): 2921 – 2924.

218 Teresa Satue´- Gracia, M., Heinonen, M. and Frankel, E. N. 1997. Anthocyanins as Antioxidants on Human Low-Density Lipoprotein
219 and Lecithin-Liposome Systems. *J. Agric. Food Chemistry*. 45: 3362 – 3367.

220 Woodall, G.S. and Stewart, G.R. 1998. Do anthocyanins play a role in UV protection of the red Juvenile leaves of *Syzygium*?. *Journal*
221 *of Experimental Botany*. 49 (325): 1447 – 1450.

222

223