



## การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดอกอัญชัน ด้วยไมโครเวฟ

### Optimization of bioactive compounds extract from *Clitoria ternatea* Linn. by microwave-assisted extraction

ยุพารัตน์ โพธิเศษ<sup>1\*</sup> และ ชินกฤต ศรีนวล<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาความปลอดภัยทางอาหาร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

<sup>2</sup>ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

Yuparat Potisate<sup>1\*</sup> and Chinnakrit Srinuan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Safety, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao, 56000 Thailand

<sup>2</sup>Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University,  
Phitsanulok, 65000 Thailand

\*Corresponding Author, E-mail: yuparat.po@up.ac.th

Received: 26 November 2020 | Revised: 17 February 2021 | Accepted: 31 March 2021

#### บทคัดย่อ

อัญชัน (*Clitoria ternatea* Linn.) มีสารแอนโทไซยานินที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดจากดอกอัญชันถูกใช้เป็นส่วนผสมหรือเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร การสกัดด้วยไมโครเวฟ (MWA) เป็นวิธีสกัดที่มีประสิทธิภาพช่วยลดเวลาการสกัดและคงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดอกอัญชัน โดยใช้กำลังของไมโครเวฟ (MWA) 3 ระดับ ได้แก่ 150 450 และ 750 วัตต์ (W) และ 3 ระดับของระยะเวลาในการสกัด ได้แก่ 3 5 และ 10 นาที เปรียบเทียบวิธีการสกัดระหว่างวิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟ วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (90 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง) และวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิคส์ ผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 150 วัตต์ เวลา 10 นาที มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด ( $44.27 \pm 0.977$  mg/100g) และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay สูงสุด ( $77.88 \pm 0.92$  mg/100g) ( $p < 0.05$ ) การสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 750 วัตต์ เวลา 5 นาที พบว่ามีค่าร้อยละการยับยั้งสูงสุดเท่ากับ  $13.37 \pm 0.34$  โดยวิธี DPPH ( $p < 0.05$ ) การสกัดด้วยไมโครเวฟเวลาการสกัดได้ 91.67% เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ดังนั้นการสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 150 วัตต์ เวลา 10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม และเป็นแนวทางเลือกในการสกัดดอกอัญชันที่มีศักยภาพ

#### ABSTRACT

Butterfly peas (*Clitoria ternatea* Linn.) are contain anthocyanins that as antioxidant activity. The extracted from the butterfly peas were used as an ingredient or supplement in food products. Microwave- assisted (MWA) extraction was an effective extraction method that reduces extraction time and maintains antioxidant activity. The objective of this research was to select the appropriated conditions for the extraction of bioactive compounds

extract from the butterfly. The three levels of MWA output power including 150, 450 and 750 W and three levels of extraction times including 3, 5 and 10 mins. Compare extraction methods between MWA, conventional (90°C, 2 hr.) and ultrasonic methods. The results were found that the microwave-assisted extraction at 150 W for 10 min had the highest of total phenolic content ( $44.27 \pm 0.97$  mg/100g) and antioxidant capacity by ABTS assay ( $77.88 \pm 0.92$  mg/100g) ( $p < 0.05$ ). The MWA at 750 W for 5 minutes found that the highest of % inhibition was  $13.37 \pm 0.34$  by DPPH assay ( $p < 0.05$ ). The MWA extraction at 150 W could reduce extraction times 91.67% when comparing with the conventional extraction method. Therefore, MWA extraction at 150W for 10 min. was the optimal conditions and it was an alternative extraction method for potential butterfly peas extract.

**คำสำคัญ:** อัญชัน การสกัด ไมโครเวฟ

**Keyword:** Butterfly pea, Extraction, Microwave-assisted

## บทนำ

อัญชัน (*Clitoria ternatea* Linn.) ชื่อสามัญ คือ butterfly pea หรือ blue pea อยู่ในตระกูล *Leguminosae* ตระกูลย่อย *Papilionoideae* มีลักษณะลำต้นเป็นไม้เลื้อยล้มลุก พบได้ทั่วไปในป่าโล่งแจ้งหรือในที่ที่ร่ม ป่าเบญจพรรณไปจนถึงป่าดิบเขาสูง พบในทุกประเทศในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียใต้ และหมู่เกาะแปซิฟิก ออกดอกได้ตลอดทั้งปี อัญชันสามารถแบ่งตามลักษณะกลีบดอก ได้แก่ กลีบดอกเดี่ยว และกลีบดอกซ้อน และยังแบ่งตามสีของกลีบดอก ได้แก่ สีน้ำเงิน สีฟ้า และสีขาว ซึ่งกลีบดอกแตกต่างกันออกไปตามโครงสร้างของรงควัตถุที่ให้สีแตกต่างกัน มีสรรพคุณทางยา และเป็นดอกไม้ที่สามารถรับประทานได้ (Kazuma et al., 2003) ดอกอัญชันมีสีเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ และไม่มีกลิ่น ไม่มีรสชาติ จึงได้รับความนิยมนำมารับประทาน เป็นแหล่งสีธรรมชาติในอาหารและเครื่องสำอาง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยแอนโทไซยานินชนิดที่พบมากในดอกอัญชัน คือ สารเทอนาทิน (ternatin) และในดอกอัญชันสีน้ำเงินยังพบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลางถึงระดับสูง (วีรยา และคณะ, 2552)

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสามารถเลือกใช้ได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เช่น เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน เป็นต้น (Do et al., 2013) การสกัดโดยใช้ความร้อนแบบดั้งเดิม (Conventional extraction) เช่น การใช้เทคนิครีฟลักซ์ (heat reflux) การสกัดด้วย Soxhlet เป็นการสกัดสารสำคัญในพืช (สมุนไพร) กับตัวทำละลายโดยใช้ความร้อนที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

เป็นจำนวนมาก โดยตัวอย่างจะสัมผัสกับความร้อนโดยตรงจนเดือด จากนั้นตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปด้านบนถูกควบแน่น กลับลงมาเพื่อสกัดอย่างต่อเนื่อง จนได้การสกัดที่สมบูรณ์ และได้สารสกัดที่เข้มข้น การใช้อ่างความร้อน (water bath) เป็นต้น 10 กว่าปีที่ผ่านมามีใช้วิธีการสกัดแบบใหม่เพื่อเป็นการลดระยะเวลาการสกัดและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ลดลง เป็นการลดมลพิษและช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเตรียมตัวอย่าง (Came, 2000) ปัจจุบันมีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ (ultrasound extraction) เป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในช่วง 20 KHz ถึง 2,000 KHz เพื่อทำให้เกิดการสั่นสะเทือน หรือเสียดสีกันจนเกิดความร้อน จึงทำให้เกิดการสกัดและเกิดการปลดปล่อยสารสำคัญจากพืช มีรายงานการวิจัย Mehmood et al. (2019) สกัดดอกอัญชันโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ 240W 20 kHz 3 วินาที เปรียบเทียบกับการสกัดในอ่างน้ำร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส 150 นาที พบว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดดอกอัญชันมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดในอ่างน้ำร้อน การสกัดด้วยไมโครเวฟ (microwave assisted extraction, MWA) เป็นวิธีการสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยคลื่นจะเปลี่ยนเป็นความร้อน ทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อน เมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจึงเกิดแรงต้านการเคลื่อนที่หรือเสียดสีกันทำให้เกิดความร้อนมีผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดสารสำคัญออกมา นอกจากนี้การสกัดสารด้วย MWA เป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยทั่วไปจะใช้เวลาดำกว่า 30 นาที ซึ่งสามารถช่วย

หลีกเลี่ยงการสลายตัวของสารที่ไวต่อความร้อนหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ การเพิ่มระยะเวลาและจำนวนรอบการสกัดมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญจากสารสกัด ในการเพิ่มจำนวนรอบของการสกัดนั้น หากเพิ่มถึงในระดับหนึ่งแล้วปริมาณสารสกัดที่ได้จะคงที่จนกระทั่งไม่สามารถสกัดเพิ่มได้อีก (อารีรัตน์, 2560) การสกัดจากกาแฟด้วย MWA พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายนาน 24 ชั่วโมง (น้ำอ้อย, 2561) Sinha et al. (2012) ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้ MAE สกัดดอกอัญชันเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (3 ชั่วโมง) พบว่าวิธี MAE ใช้เวลาสกัดเพียง 2 นาที และให้สารสีน้ำเงินที่มีคงตัวมากกว่า ทางคณะวิจัยสนใจคัดเลือกวิธีการสกัดดอกอัญชันที่เหมาะสมสำหรับคงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชันโดยใช้เทคนิค MWA และเปรียบเทียบกับเทคนิคสกัดแบบดั้งเดิม และการใช้คลื่นอัลตราซาวด์โดยศึกษาระดับกำลังของไมโครเวฟ และเวลาในการสกัดแตกต่างกันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในดอกอัญชัน เพื่อจะได้กระบวนการสกัดสารสำคัญจากดอกอัญชันที่เหมาะสม และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าในอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ เวชภัณฑ์ และเครื่องสำอางต่อไป

## วิธีดำเนินงานวิจัย

### 1. วัตถุดิบ

ดอกอัญชันบริเวณมหาวิทยาลัยพะเยา เก็บช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคม ทำการตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น ไขมัน ใยอาหาร และโปรตีน ตามวิธีของ AOAC (2000) การวิเคราะห์คุณสมบัติกายภาพ คือ การวัดสีด้วยเครื่อง Hunter Lab colorimeter โดยรายงานค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$

### 2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดอกอัญชันด้วยไมโครเวฟ (MWA)

ตัวอย่างผงดอกอัญชันที่มีความชื้นต่ำกว่า 12% ปริมาณ 2 กรัม เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 70% (v/v) ปริมาตร

25 มิลลิลิตร การสกัดด้วยไมโครเวฟโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ (Household microwave, ยี่ห้อ Samsung รุ่น GE711K, 20L, 100W/750W, 2450 MHz, 220V 50 Hz; Thailand) กำลังของไมโครเวฟ (power output) 3 ระดับ คือ 150 450 และ 750 วัตต์ เป็นเวลา 3 5 และ 10 นาที จากนั้นตัวอย่างที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

### 3. การเปรียบเทียบวิธีการสกัด

**3.1 การสกัดความร้อนแบบดั้งเดิม** การสกัดด้วยความร้อนดัดแปลงวิธีการจาก Qin et al. (2010) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 กรัม เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 70% (v/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงให้ความร้อนในอ่างควบคุมความร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น ทิ้งให้เย็นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

**3.2 การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์** การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ ดัดแปลงวิธีจาก Prommajak et al. (2014) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 กรัม เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 70% (v/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิค (GT SONIC VGT-1990QTD) ที่กำลัง 36 MHz เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วจึงปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

**3.3 การสกัดด้วยไมโครเวฟ (MWA)** ทำการสกัดตัวอย่างผงดอกอัญชันด้วยไมโครเวฟโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ (Household microwave, ยี่ห้อ Samsung รุ่น GE711K, 20L, 100W/750W, 2450 MHz, 220V 50 Hz; Thailand) กำลังของไมโครเวฟ (power output) จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในข้อ (3) กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) ปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

#### 4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดดัดแปลงวิธีการจาก เอนก และบุญญกฤต (2560) โดยนำตัวอย่างจาก กระบวนการ MWA ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เติม 10% Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที แล้วเติมสารละลาย 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ปริมาตร 2.5 มิลลิตร เขย่า 30 วินาที และตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักรับตัวอย่างแห้งโดยเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟสารมาตรฐาน gallic acid

#### 5. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

**5.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay** การทดสอบ DPPH assay ดัดแปลงวิธีการจาก Makasana et al. (2017) โดยเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล ทำการทดสอบสารตัวอย่าง โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH 3 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่า 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร คำนวณค่า % DPPH inhibition จากเปอร์เซ็นต์สีม่วงที่หายไป แสดงดังสมการที่ 1

$$\% \text{ DPPH inhibition} = [A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}] * 100 \quad (1)$$

เมื่อ  $A_{\text{control}}$  คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (Blank)

$A_{\text{sample}}$  คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดผสมกับสารละลาย DPPH

**5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดย ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) assay** การทดสอบ ABTS assay ดัดแปลงวิธีจาก Boulekbache-Makhlouf et al. (2013) โดยใช้สารละลาย ABTS 7 มิลลิโมล และ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 2.45 มิลลิโมล (1:1) แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง การทดสอบสารตัวอย่าง โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS<sup>•+</sup> ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโน

เมตร สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox กับค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาปริมาณฤทธิ์ในการต้าน ABTS<sup>•+</sup> ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักรับตัวอย่างแห้ง โดยเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟสารมาตรฐาน Trolox

#### 6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จัดหน่วยทดลองแบบแฟกทอเรียลและวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ (triplication) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

#### ผลการทดลอง

##### 1. คุณสมบัติด้านเคมี และกายภาพของดอกอัญชัน

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติด้านเคมี และกายภาพของดอกอัญชัน โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดอกอัญชัน ได้แก่ ความชื้น ไขมัน เยื่อใย และโปรตีน (ตารางที่ 1) พบว่า ดอกอัญชันมีปริมาณความชื้น 89.1% และปริมาณเยื่อใย ไขมัน และโปรตีน ดังตารางที่ 1 ค่าสีของดอกอัญชันอยู่ในช่วงน้ำเงิน-ม่วง แสดงค่าสีแดง  $a^*$  ( $4.3 \pm 0.5$ ) และค่าสีน้ำเงิน  $b^*$  ( $-12.5 \pm 1.0$ )

##### 2. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดอกอัญชันด้วยไมโครเวฟ

ผลของกำลังไมโครเวฟจากการสกัดด้วย MWA ที่ 150 450 และ 750 วัตต์ เป็นเวลา 3 5 และ 10 นาที (ตารางที่ 2) พบว่า การใช้กำลังไมโครเวฟที่ 150 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ( $44.8 \pm 1.0$  mg/100g dry sample) ( $p < 0.05$ ) การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดย DPPH และ ABTS assay ของดอกอัญชันที่สกัดด้วย MWA ที่กำลัง และเวลาที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) พบว่า MWA ที่ 750 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ( $p < 0.05$ ) การสกัด MWA ที่ 150 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS สูงสุด เท่ากับ  $77.9 \pm 0.9$  mg/100g dry sample

ตารางที่ 1 คุณสมบัติด้านเคมีและกายภาพของดอกอัญชัน

Parameter	Value
ความชื้น (%)	89.1 ± 0.2
เถ้า (%)	4.7 ± 0.3
ไขมัน (%)	2.4 ± 0.4
เยื่อใย (%)	7.1 ± 0.7
โปรตีน (%)	0.2 ± 0.1
L*	36.6 ± 0.3
a*	4.3 ± 0.5
b*	-12.5 ± 1.0

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชัน โดยการสกัดด้วยไมโครเวฟ

กำลัง (วัตต์)	เวลา (นาที)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg/100g dry sample)	DPPH (% inhibition)	ABTS (mg/100g dry sample)
150	3	34.9±0.3 <sup>d</sup>	7.8±0.2 <sup>d</sup>	62.3±0.8 <sup>d</sup>
	5	37.5±0.4 <sup>c</sup>	10.0±0.2 <sup>c</sup>	63.8±0.4 <sup>c</sup>
	10	44.3±1.0 <sup>a</sup>	9.7±0.3 <sup>c</sup>	77.9±0.9 <sup>a</sup>
450	3	38.5±0.1 <sup>b</sup>	3.9±0.1 <sup>f</sup>	49.7±0.7 <sup>f</sup>
	5	33.3±0.3 <sup>e</sup>	5.3±0.1 <sup>e</sup>	57.2±1.2 <sup>e</sup>
	10	37.2±0.2 <sup>c</sup>	2.9±0.1 <sup>g</sup>	65.3±0.5 <sup>b</sup>
750	3	20.3±0.4 <sup>g</sup>	10.2±0.1 <sup>c</sup>	35.9±0.8 <sup>h</sup>
	5	21.5±0.3 <sup>f</sup>	13.4±0.4 <sup>a</sup>	41.3±0.7 <sup>g</sup>
	10	33.7±0.7 <sup>e</sup>	12.7±0.5 <sup>b</sup>	62.6±0.2 <sup>cd</sup>

<sup>a-h</sup> คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

### 3. ผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชัน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดอกอัญชันด้วยไมโครเวฟ พบว่า การใช้กำลังไมโครเวฟที่ 150 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (44.8±1.0 mg/100g dry sample) ( $p < 0.05$ ) การเปรียบเทียบระหว่างวิธีการสกัดด้วย MWA การสกัดโดยใช้ความร้อนที่

อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ แสดงในตารางที่ 3 พบว่า วิธีการสกัดด้วย MWA ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (43.7±0.26 mg/100g dry sample) นอกจากนี้ยังพบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ ABTS) สูงที่สุด (13.6±0.16% และ 78.4±0.6 mg/100g dry sample) ซึ่งแตกต่างกับวิธีการสกัดด้วยความร้อนและการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของดอกอัญชันด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

วิธีการสกัด	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg/100g dry sample)	DPPH (% inhibition)	ABTS (mg/100g dry sample)
ความร้อนแบบดั้งเดิม (90 องศาเซลเซียส 2 ชม.)	23.1±0.58 <sup>b</sup>	9.3±0.24 <sup>c</sup>	33.8±0.19 <sup>b</sup>
อัลตราโซนิคส์	20.5±0.17 <sup>c</sup>	12.3±0.08 <sup>b</sup>	35.6±0.97 <sup>b</sup>
MWA (150W 10 นาที)	43.7±0.26 <sup>a</sup>	13.6±0.16 <sup>a</sup>	78.4±0.58 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดอกอัญชัน (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับรายงานของ Muhammad Ezzudin and Rabeta (2018) พบว่า ในดอกอัญชันมีปริมาณความชื้น 92.40% เถ้า 0.45% ไขมัน 2.5% เยื่อใย 2.10% และโปรตีน 0.32% ซึ่งมีปริมาณความชื้น ไขมัน และโปรตีนสอดคล้องกับวิจัยนี้ แต่มีปริมาณเถ้าน้อยกว่า มีค่าสีสอดคล้องกับ ศุภฤชชญา (2558) แสดงค่าความสว่าง  $L^*$  ( $27.67 \pm 1.5$ ) ค่าสีแดง  $a^*$  ( $4.85 \pm 1.53$ ) และค่าสีเหลือง  $b^*$  ( $-20.54 \pm 3.34$ ) อย่างไรก็ตาม ปริมาณองค์ประกอบโดยปริมาณและค่าสีเป็นผลมาจากพันธุ์ของอัญชัน พื้นที่ปลูกและฤดูการเก็บเกี่ยว

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วย MWA เมื่อใช้กำลังของไมโครเวฟและเวลาในการสกัดแตกต่างกัน พบว่า ทั้ง 2 ปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันส่งผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้เวลาในการสกัดและการเพิ่มกำลังของไมโครเวฟทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณสูงขึ้น ยกเว้นการสกัดด้วย MWA ที่กำลัง 450 วัตต์ เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง สืบเนื่องจากกำลังไมโครเวฟและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น อาจส่งผลต่อโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกถูกทำลายด้วยความร้อน ส่งผลต่อการสลายตัวและให้ผลผลิตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง (Routray and Orsat, 2014) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกด้วยการสกัด MWA ของเมลิ็ดล่าย ที่กำลัง 450 วัตต์ และเวลา 300 วินาที การเมื่อเพิ่มเวลาจนถึง 210 วินาที (3 นาที 30 วินาที) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด และเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 300 วินาที (5 นาที) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง (กาญจนา และคณะ, 2562) สอดคล้องกับการใช้ไมโครเวฟต่อการสกัด เคอคูมินอย์จากขมิ้นชัน เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณสูงสุดที่เมื่อใช้

เวลาสกัด 3 นาที และมีปริมาณลดลงในนาทีที่ 4 และ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงดังกล่าวเป็นผลจากการได้รับความร้อนสูงขึ้นและใช้เวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นซึ่งทำลายพันธะเอสเธอร์ของสารประกอบฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารชนิดอื่น (Singh et al., 2017)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตารางที่ 2) พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจาก 3 นาที เป็น 5 นาที ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาจาก 5 นาที เป็น 10 นาที ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดลง อันเนื่องมาจากการเพิ่มกำลังของไมโครเวฟซึ่งแปรผันตามอุณหภูมิและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนกระทั่งคงที่และเมื่อใช้เวลาในการสกัดต่อไปสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณลดลง เป็นผลจากโครงสร้างของสาระสำคัญบางชนิดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาจเกิดการสลายตัวหรือมีการเปลี่ยนโครงสร้างของสารประกอบในรูปแบบอื่นได้ (อารีรัตน์, 2560) นอกจากนี้ สารละลาย DPPH มีความจำเพาะเจาะจงกับสารต้านอนุมูลอิสระและค่อนข้างเสถียรจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้การแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจมีค่าน้อยกว่าความเป็นจริง สารปนเปื้อนและโลหะรบกวน (interfere) เป็นตัวรบกวนส่งผลต่อสีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลง (บุหริน, 2556)

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสกัดด้วย MWA ด้วยวิธี ABTS โดยคำนวณปริมาณกับสารมาตรฐาน Trolox (ตารางที่ 2) พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น จะเห็นว่าเมื่อกำลังของไมโครเวฟคงที่ การเพิ่มเวลาในการสกัดมีผลทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดดอกอัญชันมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มกำลังของไมโครเวฟและเพิ่มเวลาในการสกัดจะทำให้ปริมาณการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลงอันเนื่องจากการเพิ่มกำลังของไมโครเวฟซึ่งแปรผันตามอุณหภูมิความร้อนส่งผลจาก

โครงสร้างของสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อาจเกิดการสลายตัว หรือมีการเปลี่ยนโครงสร้างของสารประกอบในรูปแบบอื่น ดังกล่าว (อารีรัตน์, 2560)

จากตารางที่ 3 ในการเปรียบเทียบวิธีการสกัด ดอกอัญชันโดยการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิมที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์โดยใช้เครื่องอัลตราโซนิคส์ และการสกัดด้วยไมโครเวฟที่ 150 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที ผลพบว่า ตัวอย่างสารสกัดด้วย MWA มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ ABTS สูงกว่าตัวอย่างการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ สอดคล้องกับ Sinha et al. (2012) ดอกอัญชันโดยใช้ MWA สามารถลดเวลาในการสกัดเหลือเพียง 2 นาที เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิม เช่นเดียวกับในการสกัดดอกอัญชันด้วยอัลตราซาวด์ช่วยลดเวลาในการสกัดและส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิมดังกล่าว (Mehmood et al., 2019) อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟทำให้โมเลกุลน้ำในเซลล์พืชสั่นสะเทือนและความร้อนทำให้ผนังเซลล์ของตัวอย่างเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทำให้เซลล์แตกออกจากกันได้รับความร้อนยิ่งยวด และปล่อยสารสีหรือรงควัตถุภายในเซลล์ของพืชถูกสกัดออกมาและแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี (ดวงกมล, 2557)

### สรุปผลการวิจัย

การสกัดดอกอัญชันด้วยไมโครเวฟที่กำลังของไมโครเวฟ 150 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพและศักยภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกอัญชันได้ดีกว่าการสกัดด้วยความร้อนแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ ดังนั้น MWA อาจเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในการสกัดสารสีจากดอกอัญชันเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยาและเครื่องสำอางต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาความปลอดภัยทางอาหาร และสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา

ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และห้องปฏิบัติการ ทำให้การดำเนินการวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

### เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา นาคประสม หยาดฝน ทนงการกิจ ภาณุภา แสงเจริญรัตน์ และ นักรบ นาคประสม. (2562). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากเมล็ดลำไยโดยวิธีไมโครเวฟรวม. *วิทยาศาสตร์บูรพา* 24(1): 48-63.
- ดวงกมล เรืองงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง* 23(2): 120-139.
- น้ำอ้อย บุญมาก และบุญยกฤต รัตนพันธุ์. (2561). ผลของกำลังไฟฟ้าและเวลาต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากกาแฟโดยเครื่องไมโครเวฟ. *รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5 มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร*. 674-679.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 21(3): 275-286.
- วีรยา ศักดิ์คำดวง นันทิยา วงศ์แสงตา และอรุณศรี ปรีเปรม. (2552). สารจากดอกอัญชัน: องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น* 17(1-4): 10-15.
- ศุภฤชญา เหมะจุลิน สุภาพร โสภางกร และอินฉิวา ศรีพันธ์มย์. (2558). ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชนิดเข้มข้นเพื่อสุขภาพจากดอกไม้หลากหลาย. *แก่นเกษตร* 43(1): 305-310.
- อารีรัตน์ ชี้อติ. (2560). การใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย: ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 11(1): 1-14.
- เอนก हालิ และบุญยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*. 40(2): 283 – 293.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis of AOAC*. International 17<sup>th</sup> edition; Gaithersburg, MD, USA Association of Analytical Communities.
- Boulekbache-Makhoulouf, L., Medouni, L., Medouni-Adar, S., Arkoub, L. and Madani, K. (2013). Effect of solvents extraction on phenolics content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Industrial Crops and Products* 49: 668-674.
- Came, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 19(4): 229-248.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. and Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total

- flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22(3): 296-302.
- Kazuma, K., Noda, N. and Suzuki, M. (2003). Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry* 64(6): 1133-1139.
- Makasana, J., Dholakiya, B. Z., Gajbhiye, N. A. and Raju, S.. (2017). Extractive determination of bioactive flavonoids from butterfly pea (*Clitoria ternatea* Linn.). *Research on Chemical Intermediates* 43(2): 783-799.
- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Yaqoob, S., Safdar, B., Nadeem, M., Munir, M., Wang, C. (2019). Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics Sonochemistry* 51: 12-19.
- Muhammad Ezzudin, R. and Rabeta, M.S.. (2018). A potential of Telang tree (*Clitoria ternatea*) in human health. *Journal of Food Science* 2: 415-420.
- Prommajak, T., Surawang, S., & Rattanapanone, N. (2014). Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail (*Houttuynia cordata* Thunb.). *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 36: 65-72.
- Qin, C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., Shang, X. (2010). Analysis and characterisation of anthocyanins in mulberry fruit. *Czech Journal of Food Sciences* 28(2): 117-126.
- Routray, W. and Orsat, V. (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products* 58: 36-45.
- Sinha, K., Sah, PD., Ramya, V., Datta, S. (2012). Improved extraction of natural blue dye from butterfly pea using microwave assisted methodology to reduce the effect of synthetic blue dye. *International Journal of Chemical Technology* 4(2): 57-65.
- Singh, K., Simapaisan, P. and Utama-ang, N. (2017). Effect of microwave-assisted extraction on curcuminoid from turmeric and application in germinate-coated rice. *Food and Applied Bioscience Journal* 5(1): 11-22.

