บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

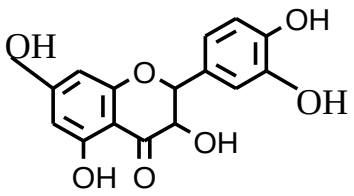
ดาวเรือง

ดาวเรือง ชื่อวิทยาศาสตร์ :*Tagetes erecta L*. ชื่อสามัญ : (Marigold) จากข้อมูลที่เคยมีรายงานพบว่าดาวเรืองได้รับการตีพิมพ์ในการเป็นพืชสมุนไพรที่มีสารสกัดของสารต้านอนุมูลอิสระสูง, เป็นยาต้านจุลชีพ, ป้องกันมะเร็งและต้านการอักเสบ(Z. etal 2008.93–95.และ M.L. etal 2009.439–445.) และนอกจากนี้อีกหลายๆ ประเทศยังนิยมนำดอกดาวเรืองแห้งมาชงเป็นชาสมุนไพรดื่มเพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับดวงตา โรคริดสีดวงทวารและแผลที่ลำไส้ (H.J.D. etal 2000.308–316., M.S.H. etal 2009.41–51.และ M. et.al.1994.446) ดอกดาวเรืองยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารไก่ซึ่งจะมีผลต่อผิวหนังและไข่แดง และดอกดาวเรืองจะมีน้ำมันหอมระเหย ที่มีกลิ่นหอมซึ่งนำมาใช้ในน้ำหอม และมีสารกลุ่ม ไทโอฟีน ที่มีกลิ่นฉุนที่สามารถขับไล่ศัตรูพืชได้ (Zakayo etal 2017.453–458) องค์ประกอบทางเคมีหลักของดอกดาวเรืองจะมีน้ำมันหอมระเหย เทอร์พีน, ฟีนอล, ฟลาโวนอยด์, และ แคโรทีนอยด์ (LMAS etal 2005) เป็นต้น

ภาพ 1 รูปดอกดาวเรืองที่ใช้ศึกษา (*Tagetes erecta* L.)

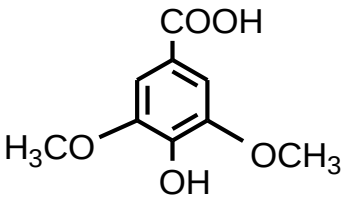
องค์ประกอบทางเคมีของดอกดาวเรือง

1. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น ฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ฟลาโวนอยด์เป็นส่วนประกอบซึ่งอยู่ในอาหารที่เรารับประทานในชีวิตประจำวัน รวมถึงพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำราแพทย์แผนโบราณ งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่า ฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ต้านการอักเสบ (antiinflammation) เป็นต้น



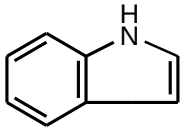
ภาพ 2 ตัวอย่างโครงสร้างของฟลาโวนอยด์

2. สารประกอบฟีนอล (Phenolic compound) เป็นโมเลกุลรูปวงแหวนหกเหลี่ยมวงเดียว มีหมู่แอลกอฮอลล์ หรือหมู่อัลดีไฮด์ หรือ หมู่คาร์บอกซิลิกเชื่อมต่อกับวงแหวนหกเหลี่ยม ได้แก่ ผลของวานิลลา ประโยชน์ของฟีนอลิก หลายชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สามารถป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัว



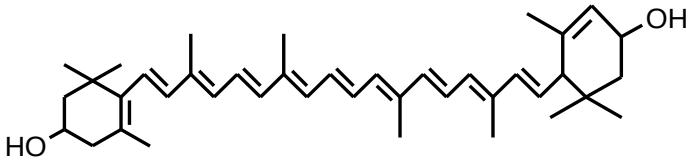
ภาพ 3 ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอล

3. อัลคาลอยด์ (Alkaloids) อัลคาลอยด์ มีประโยชน์ในการรักษาโรค เช่น เป็นยาระงับปวด เป็นยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยารักษาแผลในกระเพาะ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น พืชสมุนไพรที่มีอัลคาลอยด์ เช่น หมากลำโพง ซิงโคนา ยาสูบ ฝิ่น กลอย เป็นต้น



ภาพ 4 ตัวอย่างโครงสร้างของอัลคาลอยด์

4. แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นสารประกอบซึ่งให้สีเหลืองหรือสีส้ม ในกลีบดอกไม้ เปลือกและเนื้อของผลไม้ แบ่งออกเป็นสารสองกลุ่ม คือ แคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) โดยพบว่าสารเบต้า-แคโรทีนมีสมบัติในการป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งในร่างกายของมนุษย์และสัตว์และยังนำไปสร้างในวิตามินเอ ซึ่งมีผลต่อการมองเห็น (Xu LW etal 2012, Pankaj Gupta etal 2012)



ภาพ 5 ตัวอย่างโครงสร้างของแคโรทีนอยด์

วิธีการสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์

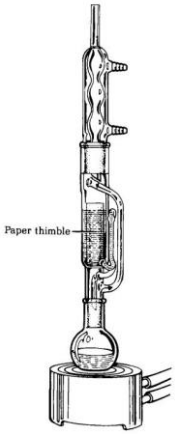
การสกัด

1. การชง (Infusion) คือการเอาสมุนไพรหรือพืชที่ต้องการสกัดมาแช่ด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็นในเวลาเพียงสั้นๆ สารสกัดที่ได้จะเป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิไม่สูงมาก

2. การต้ม (Decoction) คือการสกัดสารที่ละลายได้ดีในน้ำและสามารถทนความร้อนได้ดีโดยการต้มสมุนไพรหรือพืชในน้ำจนเดือด

3. การหมัก (Maceration) คือ เป็นวิธีการสกัดโดยนำสมุนไพรหรือพืชหมักกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด ทิ้งไว้ 3-7 วัน เขย่าหรือคนบ่อยๆ แล้วกรองเอาสารสกัดไปใช้ ถ้าต้องการให้สารออกจนหมดอาจต้องสกัดหลายครั้ง ข้อดี คือสารจะไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย

4. การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet Extractor) เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาสำหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งนิยมใช้ในกรณีที่สารที่จะสกัดละลายได้ไม่ดีนักในตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะสกัด การสกัดทำโดยอาศัยหลักการการให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอ จากนั้นกลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปในสาร (ของแข็งหรือของเหลว) จากนั้นตัวทำละลายที่ได้สัมผัสกับสารจะไหลลงสู่ขวดรองรับ ตัวทำละลายที่พาสารลงมาในขวดนี้จะถูกระเหยกลับขึ้นไป (ทิ้งสารที่สกัดออกมาไว้ในขวดรองรับ) แล้วกลั่นตัวลงบนสารซ้ำแล้วซ้ำอีกดังนี้ไปเรื่อยๆ การกระทำเช่นนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดในขวดรองรับ



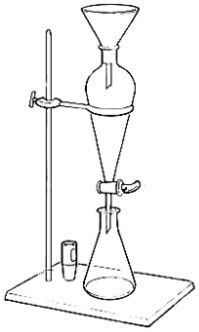
ภาพ 6 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัดโดยใช้ Soxhlet Extractor

5. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) เป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออกจากแหล่งที่เกิดในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ และพืชสมุนไพร การสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสมหลังทำปฏิกิริยา หลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสม เช่น

1) การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid/Liquid Extraction) เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารซึ่งเป็นของแข็ง เช่น เปลือกไม้ ใบไม้ ดอกไม้ เป็นต้น โดยการแช่ในตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้องหรือต้มให้ความร้อน

2) การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid/Liquid Extraction) ซึ่งมีหลักการ คือ ทำให้ตัวถูกละลายที่ละลายในตัวทำละลายที่ 1 (ปกติคือตัวทำละลายของน้ำ) กระจายไปสู่ตัวทำละลายที่ 2 (ปกติคือตัวทำละลายอินทรีย์) โดยที่ตัวทำละลายทั้งสองชนิดนี้ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วิธีการสกัดสามารถทำได้ง่ายๆ คือ นำสารละลายของน้ำที่มีตัวถูกละลายที่ต้องการแยกใส่ในกรวยแยก (Separatory funnel) แล้วเติมตัวทำละลายอินทรีย์ตามลงไปในกรวยแยก จากนั้นเขย่ากรวยแยก 2-3 นาที ให้คว่ำกรวยแยกแล้วเปิดจุกเพื่อระบายความดัน แล้วทำการ

เขย่าต่อ จนกระทั่งการกระจายของตัวถูกละลายระหว่างตัวทำละลายทั้งสองถึงสมดุล ตั้งกรวยแยกทิ้งไว้จนกระทั่งตัวทำละลายทั้งสองแยกชั้น (Handley AJ.1999.)



ภาพ 7 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับการสกัดโดยใช้กรวยสกัด

การแยกสารใชห้บริสุทธิ์

1. การตกตะกอน (Sedimentation) ใช้แยกของผสมเนื้อผสมที่เป็นของแข็งแขวนลอยอยู่ในของเหลว ทำได้โดยนำของผสมนั้นวางทิ้งไว้ให้สารแขวนลอยค่อยๆ ตกตะกอนนอนก้น ในกรณีที่ตะกอนเบามากถ้าต้องการให้ตกตะกอนเร็วขึ้นอาจทำได้โดย ใช้สารตัวกลางให้อนุภาคของตะกอนมาเกาะ เมื่อมีมวลมากขึ้น น้ำหนักจะมากขึ้นจะตกตะกอนได้เร็วขึ้น

2. โครมาโตกราฟี (Chromatography) เป็นการแยกสารผสม วิธีการนี้จะมีเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ (stationary phase) กับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยที่สารในเฟสคงที่จะทำหน้าที่ดูดซับ (adsorb) สารที่ใช้ทำเฟสคงที่จึงมีลักษณะเป็นผง ละเอียดมีพื้นที่ผิวมากเช่น อลูมินา (alumina, Al_2O_3) ซิลิกาเจล (silica gel, SiO_2) ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่ชะ (elute) เอาสารผสมออกจากเฟสคงที่ให้เคลื่อนที่ไปด้วย สารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จึงได้แก่ ตัวทำละลายเรียงตามลำดับจากมีขั้วน้อยไปมาก ได้แก่ hexane < diethyl ether < dichloromethane < ethyl acetate < ethanol < methanol < acetic acid

ชนิดของโครมาโตกราฟี

1. โครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ (Column chromatography) ทำได้โดยการบรรจุสารที่เป็นเฟสคงที่ เช่น อลูมินาหรือซิลิกาเจล ไว้ในคอลัมน์แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลวลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวพาไป สารในเฟสคงที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็วทำให้สารผสมแยกจากกันได้

การบรรจุคอลัมน์

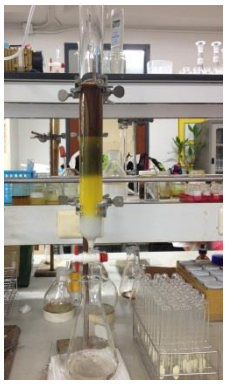
1. เตรียมเฟสคงที่เป็นสารแขวนลอยที่มีลักษณะข้นเหลว โดยผสมกับตัวทำละลาย

2. ค่อยๆเทเฟสคงที่ ที่เตรียมไว้ลงในคอลัมน์ที่มีสำลีอุดที่ปลายด้านในโดยระวังมิให้ตัวทำละลายไหลออกควรเคาะคอลัมน์เบาๆ เพื่อไล่ฟองอากาศออกให้หมด

3. ปล่อยให้เฟสคงที่นอนก้น (โดยทำจนได้ความสูงของเฟสคงที่สูงตามต้องการ)

4. เปิดให้ตัวทำละลายไหลออกไปจนเหลืออยู่เหนือระดับเฟสคงที่เล็กน้อย

5. บรรจุสารลงในคอลัมน์แล้วเปิดให้ตัวทำละลายไหลลงจนผิวหน้าเกือบแห้ง แล้วชะสารในคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเล็กน้อยทำซ้ำจนแน่ใจว่าสารตัวอย่างถูกล้างลงสู่เฟสคงที่หมดแล้ว จากนั้นเติมตัวทำละลายได้มากๆ

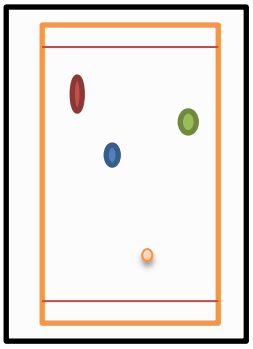


ภาพ 8 โครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์

2. โครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography หรือ TLC) เป็นโครมาโตกราฟีที่ทำเฟสคงที่ให้มีลักษณะเป็นครีมข้น แล้วเคลือบบนแผ่นกระจกให้ความหนาของการเคลือบเท่ากันตลอดแล้วนำไปอบให้แห้ง สปอร์ตสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกบนแผ่นที่เคลือบเฟสคงที่นี้ไว้ แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยให้ระดับของตัวทำละลายต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของจุดที่สปอร์ตสารผสม ตัวทำละลายจะซึมไปตามเฟสคงที่ ตัวทำละลายจะชะเอาองค์ประกอบในสารผสมนั้นไปด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้ว (polarity) ของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย

ภาพ 9 โครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC)

3. โครมาโตกราฟีแบบกระดาษ (Paper chromatography) เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบอีกแบบหนึ่ง มีวิธีการและหลักการเหมือนกับโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง แตกต่างกันที่เฟสคงที่ใช้กระดาษที่สามารถดูดซับได้แทนกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล (เผด็จ สิทธิสุนทร และคณะ 2543



ภาพ 10 โครมาโตกราฟีแบบกระดาษ

สเปกโทรสโกปีในการพิสูจน์โครงสร้างของสารอินทรีย์

วิธีทางสเปกโทรสโกปี เพื่อการวิเคราะห์ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งนับว่ามีวิวัฒนาการอย่างมากสำหรับการตรวจวัดและการวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบอินทรีย์ที่มีปริมาณสารจำนวนน้อยได้ถึงระดับนาโนกรัม เทคนิคที่สำคัญซึ่งจะกล่าวถึงเป็นการประยุกต์ใช้สเปกโทรสโกปี 4 แบบ ได้แก่ อัลตราไวโอเลตสเปกโทรสโกปี (Ultraviolet Spectroscopy, UV) อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Infrared Spectroscopy, IR) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) และแมสสเปกโทรสโกปี (Mass spectroscopy, MS)

อัลตราไวโอเลต-วิซิเบิลสเปกโทรสโกปี (Ultraviolet-Visible Spectroscopy, UV) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่า intensity ในช่วงรังสียูวีความยาวคลื่นที่ใช้อยู่ระหว่าง 190-400 nm และถ้าขยายไปถึงช่วงของวิซิเบิลจะอยู่ระหว่าง 380-800 nm ช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้

องค์ประกอบเครื่อง

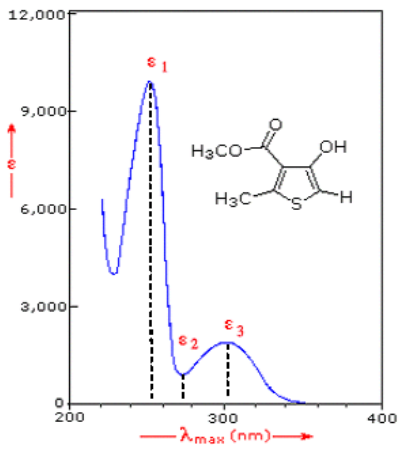
1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) แหล่งกำเนิดแสงจะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอ รังสีอัลตราไวโอเลตนิยมใช้หลอดดิวทีเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 160-360 nm ส่วนหลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นที่ครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือ ตั้งแต่ 380-800 nm

2. โมโนโครเมเตอร์ (monochromator) เป็นส่วนสำคัญที่ทำหน้าที่แยกองค์ประกอบแสงที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องให้เป้นแสงที่มีความยาวคลื่นเดียว มักใช้ diffraction grating ที่มีคุณภาพ ทำงานคล้ายกับแท่งปริซึม แสงจะถูกส่งต่อเนื่องที่กระจกเว้ารับแสง และแยกออกเป็น 2 ลำแสงในความเข้มเท่าๆกัน เพื่อผ่านเข้าสู่ตัวอย่าง (sample) สารอ้างอิง (reference) ก่อนเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ (detector) เพื่อตรวจวัดและแปลผลต่อไป

3. อุปกรณ์บันทึกสัญญาณ (recorder) จะรับข้อมูลจากตัวรับสัญญาณและบันทึกในรูปของกราฟ

ลักษณะของ UV สเปกตรัม

UV สเปกตรัมเป็นการบันทึกกราฟความสำพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (A) ในแกนตั้ง กับ ความยาวคลื่น (λ) ในแกนนอน ในบาง กรณีอาจบันทึกค่า logε ในแกนตั้งและความยาวคลื่นในแกนนอน



ภาพ 11 ตัวอย่างของยูวีสเปกตรัม

อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Infrared Spectroscopy, IR) โมเลกุลของสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยอะตอมที่ยึดเกาะกันด้วยพันธะเคมี ซึ่งโดยปกติแล้วอะตอมเหล่านี้ จะมีการเคลื่อนไหวหรือสั่น (vibrate) อยู่เสมอ การสั่นแบบพื้นฐานของพันธะเคมีมีอยู่ 2 แบบ คือ การยืด (stretching) และการงอ (bending) พลังงานในช่วง IR ระหว่าง 4000-4000 ซม. จะมีผลต่อการสั้นของพันธะเคมีแต่ละชนิดแตกต่างกันไป เช่น 3800-3400 ซม. มีผลต่อการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H หรือที่ 3000-2800 ซม. เป็นการยืดของพันธะ C-H ที่ 1250-1000 ซม. จะเป็นการยืดของ C-O จากความแตกต่างกันของพลังงานที่มีผลต่อการสั่นของพันธะเคมีแต่ละชนิด ทำให้สามารถจำแนกชนิดของหมู่ฟังก์ชันในองค์ประกอบนั้นได้

ย่าน 4000-2500 ซม. เป็นค่าการสั่นพันธะ X-H (X= C,O,N,S) ซึ่งเป็นพันธะของอะตอม 2 อะตอมที่มีผลรวมของมวลต่ำ

หมู่ไฮดรอกซี (O-H) จะพบพีคที่กว้าง (broad) ที่ประมาณ 3500 ซม. เกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล

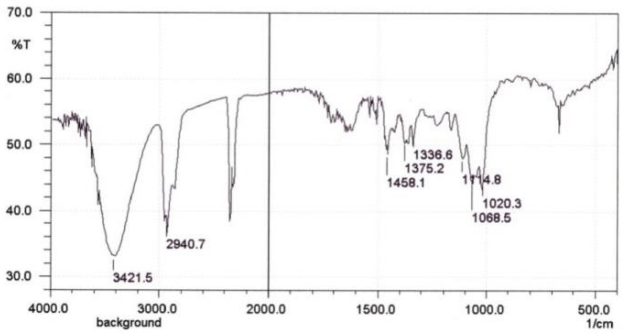
เอมีน (amine) หมู่ N-H พบค่าการดูดกลืนในย่านเดียวกับ O-H สังเกตได้จาก O-H ยืด จะพบพีคร่วมคือ C-O ที่ประมาณ 1050-1250 ซม. เสมอ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของแอลกอฮอล์

เอไมด์ (amide) เอไมด์จะพบ N-H ยืดเช่นเดียวกับเอมีน แต่ในเอไมด์จะบค่าการดูดกลืนแสงของหมู่ C=O ยืดที่ประมาณ 1670 ซม. และ N-H งอที่ประมาณ 1557 ซม. ควบคู่เสมอ

อัลดีไฮด์ (aldehydes) จะพบค่าการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ คือ C-H ยืด 2 พีค ที่ช่วง 2900-2700 ซม. ซึ่งเป็นพีคสำคัญที่จะยืนยันได้ว่าเป็นสารประกอบอัลดีไฮด์

ย่าน 2500-1900 ซม. ย่านการดูดกลืนแสงนี้จะพบเพียงพีคของพันธะสาม หรือพันธคู่ที่เป็น cumulated double bond แอลไคน์ (alkyne) การยืดของแอลไคน์จะประกฏในช่วง 2200-2100 ซม.

ย่าน 1900-1500 ซม. เป็นย่านที่สำคัญมาก เนื่องจากเป็นย่านการดูดกลืนของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล C=O , C=C และ N=C เป็นต้น พีคของ C=O ยืด จะพบในลักษณะเข้ม โดยหมู่ C=O ของสารประกอบคาร์บอนิลทุกชนิดจะปรากฏในช่วง 1800-1650 ซม. แต่ไม่อาจกำหนดได้แน่นอนขึ้นอยู่กับสภาพสิ่งแวดล้อมของกลุ่มต่างๆ ที่ต่ออยู่กับหมู่คาร์บอนิลนั้นๆ เช่น คีโตน พบพีคที่ประมาณ 1725-1705 ซม. อัลดีไฮด์จะพบที่ 1720-1700 ซม. เอสเทอร์พบที่ 1750-1735 ซม. กรดคาร์บอกซี พบที่ 1710 ซม.



ภาพ 12 ลักษณะของสเปกตรัม IR

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) มีพลังงานอยู่ในช่วงที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง "สปิน" ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของนิวเคลียสแต่ละชนิดเมื่ออยู่ภายใต้สนามแม่เหล็ก ไม่ใช่นิวเคลียสทุกชนิดที่จะสามารถเกิดการดูดกลืนคลื่นวิทยุได้ แต่จะต้องเป็นนิวเคลียสที่มีค่า "สปิน" ไม่เป็นศูนย์เท่านั้น ตัวอย่างเช่น ^{1}H, ^{13}C, ^{31}P, ^{19}F เป็นต้น ในที่นี้ ^{1}H เป็นนิวเคลียสที่มีความสำคัญมากที่สุดเนื่องจากเป็นธาตุที่พบมากในสารประกอบอินทรีย์ทั่วไป เป็นที่น่าเสียดายว่าคาร์บอน ซึ่งเป็นธาตุองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์นั้นมีเพียง ^{13}C ซึ่งพบในปริมาณน้อยมาก (1%) เท่านั้นที่ให้สัญญาณ NMR ในขณะที่ ^{12}C ไม่ให้สัญญาณเนื่องจากมีสปินเป็นศูนย์

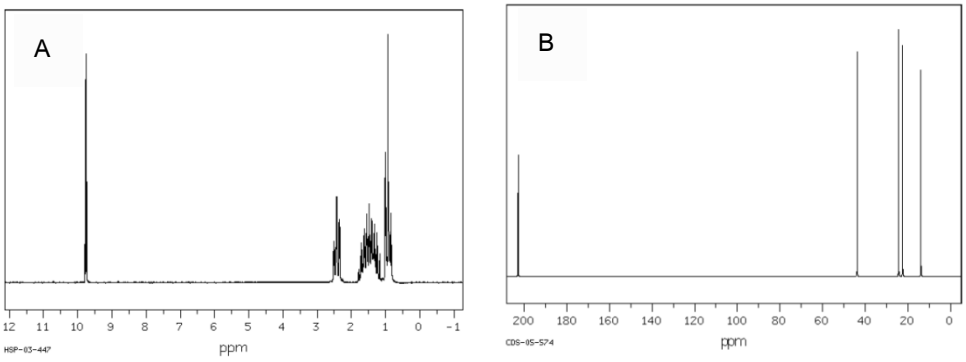
การวัด NMR spectrum (Measuring of NMR spectrum)

โดยปกติ ^{1}H NMR spectrum ของสารตัวอย่างใดๆ ทำ ได้โดย

1. นำสารตัวอย่างมาประมาณ 2 - 3 mg.ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มี ^{1}H อยู่ เช่น CCl_4, $CDCl_3$, CD_3OD แล้วใส่สารอ้างอิง (reference) ลงไปด้วย

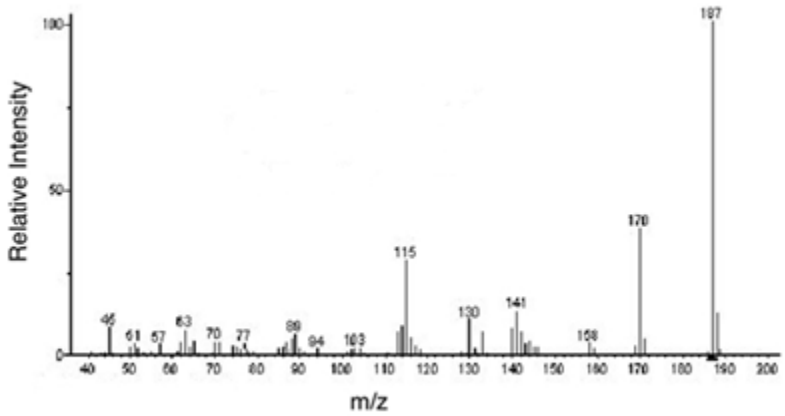
2. นำหลอดใส่ลงไปใน radiofrequency (rf) coil ซึ่งจะวางอยู่ระหว่างขั้วแม่เหล็กกำลังสูง ทำ ให้ nuclei เกิดการวางตัวแบบขนานหรือสวนทางกับสนามแม่เหล็ก

3. เพิ่มพลังงานให้แก่ nuclei ไปเรื่อยๆโดยใช้ rf coil จนกระทั่งมีพลังงานเท่ากับความแตกต่างของระดับพลังงาน ณ จุดนี้ nuclei ก็จะ absorb พลังงานเข้าไปทำให้ได้เป็น NMR spectrum



ภาพ 13 ลัษณะสเปกตรัม A คือ ^{1}H NMR spectrum และ B คือ ^{13}C NMR spectrum

แมสสเปกโทรสโกปี (Mass spectroscopy, MS) จะแตกต่างจาก spectroscopy ชนิดอื่นในแง่ที่ว่า เทคนิคนี้ไม่ขึ้นกับ transition ระหว่างระดับพลังงาน Mass Spectroscopy จะเปลี่ยนโมเลกุลเป็นไอออน แล้วจะเรียงไอออนเหล่านี้ตามอัตราส่วนระหว่างมวลต่อประจุ (mass/charge; m/z) หลังจากนั้นจะวัดปริมาณของไอออนเหล่านั้นที่มีอยู่ การทำการวิเคราะห์ทำได้โดยการใส่ สารตัวอย่างลงใน high-vacuum chamber ซึ่งจะเกิดการระเหยของตัวทำละลายและถูก bombard ด้วย electron ที่มีพลังงานสูง electron ที่ถูก bombard จะถูกยิงเข้าไปที่โมเลกุล M ทำ ให้ electron ที่อยู่ในโมเลกุลถูกยิงหลุดออกไป กลายเป็น cation radical ซึ่งเราเรียนว่า molecular ion; M^{+} (สมเดช กนกเมธากุล 2547)



ภาพ 14 ตัวอย่างสเปกตรัมของ MS

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

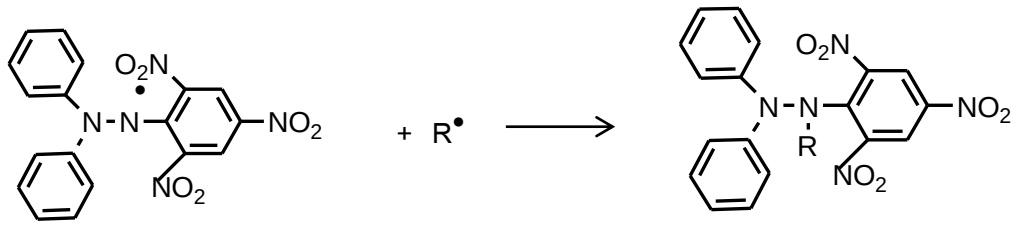
สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องจากการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกายโดยสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปยุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับ อนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน

DPPH assay หรือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง DPPH เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) สารละลายนี้มีสีม่วง ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร โดย $DPPH^{\bullet}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\bullet}$)

$$DPPH^{\bullet} + AH \text{----------} DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \text{----------} DPPH\text{-}R$$

เมื่อ $DPPH^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ BHT ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลงซึ่งจะรายงานผลเป็นค่า IC_{50} หรือ EC_{50}



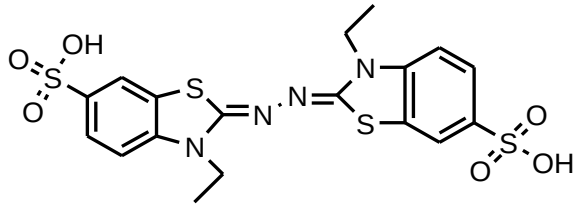
$DPPH^{\bullet}$ สีม่วง สารต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ สีเหลือง

ภาพ 15 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ $DPPH^{\bullet}$ กับ สารต้านอนุมูลอิสระ

ABTS assay หรือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical -scavenging assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) ซึ่งจะ stable radical ในตัวทำละลาย aqueous solution สารละลายนี้มีสีเขียวดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

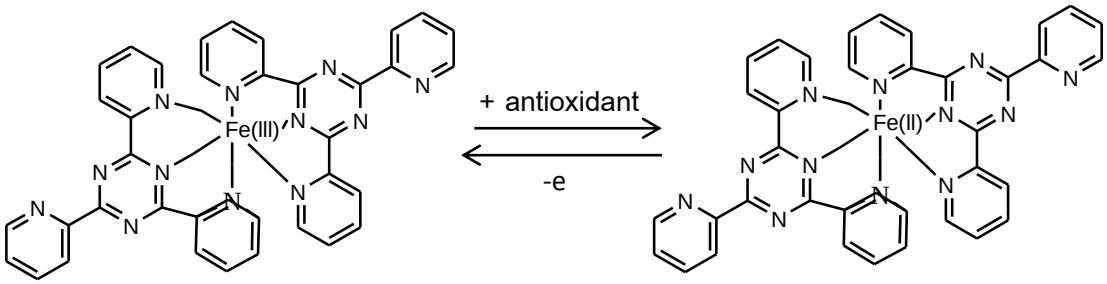
$OH^{\bullet}$ + ABTS---------- $ABTS^{\bullet +}$ + H_2O antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ ABTS+ ดังนี้

$ABTS^{\bullet +}$ + AH ---------- ABTS + $A^{\bullet}$ ซึ่งถ้าความเข้มของสารละลายสีเขียวลดลงจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทาให้ความเข้มข้นของ $ABTS^{+}$ เหลืออยู่ 50% หรือรายงานผลเป็น 50% inhibition concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $ABTS^{+}$ ลดลง 50%



ภาพ 16 โครงสร้างของ ABTS

FRAP assay หรือ Ferric reducing antioxidant power เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อสารประกอบ เชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ดังภาพ 2.17 (ปรียนันท์ บัวสด 2549)

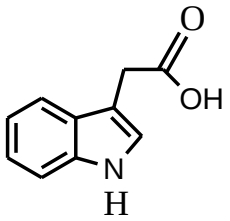


ภาพ 17 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ ferric tripyridyltriazine

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

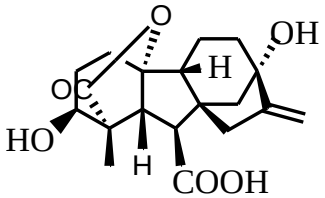
ฮอร์โมนพืช (plant hormones) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นเองในปริมาณน้อยมาก แต่มีผลในด้านการส่งเสริมหรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในต้นพืชนั้นๆ ทั้งนี้ไม่รวมถึงน้ำตาลหรือสารอาหารที่เป็นอาหารพืชโดยตรง โดยปริมาณที่ฮอร์โมนสร้างขึ้นเพียงพอที่จะควบคุมการเติบโตภายในต้นพืชนั้นๆ ดังนั้นการสกัดฮอร์โมนออกมาจากต้นพืช เพื่อไปพ่นให้ต้นไม้อื่นๆ จึงเป็นเรื่องยากและไม่คุ้มค่า จึงได้มีการค้นคว้าและสังเคราะห์สารต่างๆ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์แทน เช่น

1. ออกซิน คุณสมบัติที่สำคัญของออกซิน คือ ความสามารถในการกระตุ้นการเกิดรากและการเจริญของรากจึงได้มีการนำออกซินมาใช้กับกิ่งปักชำหรือกิ่งตอนของพืชทั่วๆ ไป เพื่อเร่งให้เกิดรากเร็วขึ้นและมากขึ้น สารที่นิยมใช้ในการเร่งราก คือ เอ็นเอเอ(NAA) และไอบีเอ (IBA) ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้จัดว่าเป็นออกซิน อย่างอ่อน มีพิษต่อพืชน้อย



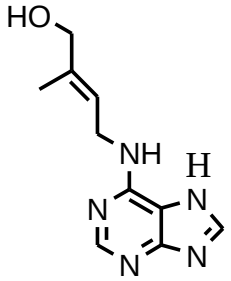
ภาพ 18 โครงสร้างของ ออกซิน IBA

2. จิบเบอเรลลิน มีคุณสมบัติสำคัญเกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ ดังนั้น จึงใช้ในการเร่งการเติบโตของพืชทั่วๆ ไป ผักกินใบหลายชนิดตอบสนองต่อจิบเบอเรลลินได้ดี โดยจะมี การเติบโตของเซลล์รวดเร็วขึ้นทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ผักบางชนิดที่มีการเติบโตของต้นเป็นแบบกระจุก (rosette plant) เช่น ผักกาดหอม ผักกาดขาวปลี กะหล่ำปลี ถ้ามีการใช้จิบเบอเรลลิน กับพืชเหล่านี้ในระยะต้นกล้าจะทำให้เกิดการยืดตัวของต้นอย่างรวดเร็ว และออกดอกได้ดี



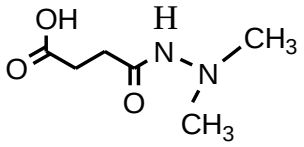
ภาพ 19 โครงสร้างของจิบเบอเรลลิน GA1

3. ไซโตไคนิน ช่วยในการแบ่งเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ใช้เร่งการแตกตาของพืช พืชที่ขยายพันธุ์ด้วยการติดตาแล้ว ไซโตไคนินยังมีคุณสมบัติชะลอการแก่ชราของพืชได้ จึงสามารถยืดอายุการเก็บเกี่ยวของผักกินใบ ผลไม้ และดอกไม้หลายชนิด



ภาพ 20 โครงสร้างของไซโตไคนิน

สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืช แต่เป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติสำคัญ คือ ยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืชจึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนา เขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ทำให้พืช ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง ดินเกลือ สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่ แอนซิมิดอล (ancymidol), คลอมีควอน (chlormequat), ดามิโนไซด์ (daminozide), พาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) (Tsavkelova.E.A etal 2006.117-126., Leena Borah etal 2016.75–84)



ภาพ 21 โครงสร้างของดามิโนไซด์ (daminozide)

ไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics)

เป็นการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนับเป็นวิธีการใหม่ในการปลูกพืชโดยเฉพาะผักและพืชที่ใช้เป็นอาหาร เนื่องจากประหยัดพื้นที่ และไม่ปนเปื้อนกับสารเคมีต่างๆ ในดิน ทำให้ได้พืชที่ปลอดสารพิษ ปัจจุบันเทคนิคการปลูกพืชแบบไร้ดินมีหลายแบบ

การปลูกพืชโดยให้ส่วนของรากแช่อยู่ในสารละลายธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง แต่ส่วนของลำต้นและส่วนอื่นๆจะอยู่เหนือสารละลาย หรือปลูกบน

วัสดุอื่นที่ไม่ใช้ดิน และรดด้วยสารละลายธาตุอาหารหรือน้ำปุ๋ย วัสดุที่ใช้ปลูก เช่น กรวด ทราย หิน ขี้เลื่อย เปลือกไม้ ขุยมะพร้าว ถ่านแกลบ เป็นต้น

ขั้นตอนการปลูก

1. เพาะเมล็ดในกระบะเพาะ โดยใช้ฟองน้ำสำหรับเพาะเมล็ด นำฟองน้ำมาแช่น้ำและกดฟองน้ำให้น้ำซึมทั่วทั้งฟองน้ำ
2. ใส่เมล็ดพันธุ์ที่ต้องการเพาะลงในฟองน้ำ โดยให้เมล็ดจมลงในฟองน้ำเพียงครึ่งเมล็ด
3. เทน้ำลงในกระบะเพาะ รักษาระดับน้ำประมาณ 3/4 ของความสูงของฟองน้ำ
4. นำกระบะที่ลงเมล็ดแล้วเก็บให้พ้นแสงแดด เย็น และชื้น โดยไม่ต้องปิดฝากระบะเพาะ
5. หลังจาก 1-2 วัน สังเกตเมื่อเมล็ดเริ่มงอก ให้นำกระบะเพาะออกไปรับแสงแดด เป็นแดดตอนเช้า แล้วเก็บเข้าที่ร่มโดยไม่ต้องเก็บในที่มืด
6. ทำตามข้อ 5. ไปจนต้นกล้าได้อายุประมาณ 7 วัน นับจากวันที่งอกโดยทุกๆวันให้หมั่นเติมน้ำ 3/4 ของฟองน้ำ
7. ต้นกล้าอายุ 8 วัน สังเกตว่าต้นกล้าเริ่มมีใบที่ 3 งอกออกมาจากนั้นให้เติมสารละลายธาตุอาหาร A,B
8. ทำตามข้อ 7. ไปจนต้นกล้าอายุ 14 วัน โดยรักษาระดับสารอาหารโดยจะวัดค่า pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง 5.8-6.2 และค่า EC ให้อยู่ในช่วง 1.3 - 1.4 ms/cm
9. สังเกตว่าต้นกล้าเริ่มมีใบที่ 4 สมบูรณ์ และมีรากงอกออกมาจากฟองน้ำ นำต้นกล้าที่งอกสมบูรณ์แล้วย้ายลงภาชนะปลูก

พืชที่ใช้ในงานวิจัย

ผักกาดหอม ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lactuca sativa* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ ASTERACEAE (COMPOSITAE) มีคุณค่าทางโภชนาการ คือ ประกอบด้วยวิตามินบี วิตามินซี เบต้าแคโรทีน และลูเทียน มียาง (latex) ชื่อ แลคทูคาเรียม (lactucarium) ซึ่งมีปริมาณสูงมากขณะออกดอก สรรพคุณของผักกาดหอมและการใช้ประโยชน์ของผักกาดหอม นั้นมักใช้เป็น ผักสลัด มีสารต้านมะเร็งและสารต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับผักสลัดที่มีสีเขียวอื่นๆ ส่วนที่ใช้ประโยชน์ของผักกาดหอมคือ ใบ เมล็ด และต้น ซึ่งแต่ละส่วนจะให้สรรพคุณแตกต่างกันดังต่อไปนี้

- ต้นผักกาดหอม ทั้งต้นคั้นเอาแต่น้ำ นำน้ำที่ได้มาทาฝีมะม่วง(รีดเอาหนองออกก่อน) ใช้ขับพยาธิ แก้พิษ ขับลม เป็นยาระบาย
- ใบผักกาดหอม น้ำคั้นจากใบ ใช้แก้ไอ ทำให้หลับง่าย แก้ไข้ ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ
- เมล็ดผักกาดหอม ใช้รักษาโรคตับ ขับปัสสาวะ ขับน้ำนม ระงับปวด แก้ปวดเอว และรักษาโรค

เรดโอ๊ค เป็นผักตระกูลสลัดใบมีสีแดงเข้มและเขียวเข้มแล้วแต่สายพันธุ์ มีธาตุเหล็กและวิตามินซีสูงมีกากใยอาหารสูง ย่อยง่าย ช่วยบำรุงสายตา บำรุงกล้ามเนื้อ บำรุงผิวพรรณ ช่วยป้องกันโรคปากนกกระจอก และยังช่วยล้างผนังลำไส้ กำจัดพวกไขมันและอนุมูลอิสระที่เกาะตามผนังลำไส้ และวิตามินซีสูง

เรดคอรัล เป็นผักคล้ายเรดโอ๊ค ใบมีสีเขียวอมแดง หวานกรอบกว่าเรดโอ๊ค มีกากใยอาหารมากเช่นกัน และช่วยบำรุงสายตา บำรุงเส้นผม บำรุงประสาทและกล้ามเนื้อ บำรุงผิวพรรณ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เปรมชัย เอี่ยมศิรินพกุล และคณะ (2555) ได้ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี agar diffusion พบว่าสารสกัดหยาบของดอกดาวเรืองด้วยสารละลาย 95% ethanol สารสกัดส่วนที่ละลายใน hexane, chloroform, ethyl acetate และน้ำ สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ เชื้อ *E. coli* ได้ ดังนั้นจึงนำสารสกัดส่วนที่ละลายใน ethyl acetate ซึ่งมีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด มาเตรียมสบู่ก้อนโดยผสมกับ soap chip ในอัตราส่วนตั้งแต่ 10:90, 20:80, 30:70 จนถึงอัตราส่วน 70:30 โดยน้ำหนัก และทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อพบว่าอัตราส่วนต่ำสุดที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ มอก. 29-2545 คือ การใช้สารสกัดร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก

ศิริธร ศิริอมรพรรณ และคณะ (2555) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลและแคโรทีนอยด์ (ไลโคปีน, *β*-แคโรทีน, ลูทีน) ของดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta L.*) ที่เกิดจากกระบวนการอบแห้งที่แตกต่างกัน กระบวนการอบแห้งที่แตกต่างกันคือ การอบแห้งแช่แข็ง (FD), อากาศร้อนแห้ง (HA) และ รังสีอินฟราเรดที่มีการหมุนเวียนอากาศร้อน (FIR-HA) พบว่า HA ให้ปริมาณ สูงสุดของ *β*-แคโรทีน (15.5 มก./100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ในขณะที่ FIR-HA และ FD ให้ระดับสูงสุดของลูทีนและไลโคปีน ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า FIR-HA เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการอบแห้งดอกดาวเรืองที่เกี่ยวกับการรักษาสีและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการผลิตภาคอุตสาหกรรมของผงดอกดาวเรือง

ชัยอาทิตย์ อิ่นคำ และ คณะ (2557) ได้ศึกษาผลของการใช้สารสกัดชีวภาพเพื่อเป็นแหล่งของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรพอนิกส์ มี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 สูตรของสารสกัดชีวภาพ 2 สูตร (สูตรที่สกัดจากพืช และสูตรที่สกัดจากสัตว์) และปัจจัยที่ 2 อัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดชีวภาพต่อน้ำ 3 ระดับ (1:250 1:500 และ 1:1000) จากผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว (45 วันหลังปลูก) จำนวนใบ ความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม และพื้นที่ใบ ของกรรมวิธีที่ได้รับสารสกัดชีวภาพจากสัตว์ ให้ค่าที่สูงกว่ากรรมวิธีที่ได้รับสารสกัดชีวภาพจากพืช และอัตราส่วนความเข้มข้นของสารสกัดชีวภาพต่อ

น้ำที่ 1:250 ให้ความสูงต้น และพื้นที่ใบ มากกว่า อัตราส่วน 1:1000 สำหรับปัจจัยร่วมระหว่างสูตรสารสกัดชีวภาพกับอัตราส่วนความเข้มข้น พบว่า ผักสลัดที่ได้รับสารสกัดชีวภาพจากสัตว์ร่วมกับ อัตราส่วนความเข้มข้นที่ 1:250 และ 1:500 (สารสกัดชีวภาพ: น้ำ) ให้น้ำหนักสดของพืชสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ

Pankaj Gupta etal (2012) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในดอกดาวเรือง ไทโอฟีน เช่น 5-(4-acetoxy1butenyl)-2,2-bithienyl, 5-(3-buten-1-ynyl)-2,2'bithienyl และ 5-(3-buten-1-ynyl)-2,2' bithienyl, ฟลาโวนอยด์ เช่น quercetagetin, 6-hydroxykaempferol-7-Oglucoside, quercetin-3-galactoside, kaempferol-7-Orhamnoside และ quercetin, แคโรทีนอยด์ เช่น lutein และ zeaxanthin, สารประกอบฟีนอล เช่น syringic acid และ methyl-3,5-dihydroxy-4-methoxy benzoate

Ying Gong etal (2012) พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากเอทานอล/น้ำ (7:3) มีปริมาณสารฟีนอลและฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 62.33 mg gallic acid equivalent (GAE)/g และ 97.00 mg rutin equivalent (RE)/g ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดได้ทดสอบโดยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณของฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด(R2> 0.900) ซึ่ง gallicin acid, quercetagetin, 6-hydroxykaempferol-O-hexoside, patuletin-O-hexoside และ quercetin เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่นในสารสกัด, และ quercetagetin แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด

Anna Pekal etal (2015) ได้ศึกษาความเป็นพิษของ Tagetes erecta L. และ Tagetes patula L.ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช มีการทดสอบ สารต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความเป็นพิษ จากสารสกัด ทดสอบในห้องปฏิบัติการทั้งก่อนและหลังการงอก ทดสอบใน เมล็ดผักกาดหอม และ หอมหัวใหญ่ พบว่ามีการงอกและการพัฒนาของต้นกล้าลดลง ดังนั้น T.erecta และ T.patula มีความเป็นสารพิษที่ทำให้การงอกของเมล็ดพืชและการพัฒนาต้นกล้าลดน้อยลงจากเกษตรอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในผัก

Zakayo Kazibwe etal (2017) ได้ศึกษาวิธีการสกัดสารจากดอกดาวเรืองโดยเปรียบเทียบระหว่างการสกัดโดยใช้น้ำด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกกับการสกัดแบบน้ำร้อนธรรมดา พบว่า การสกัดโดยใช้น้ำด้วยเทคนิคอังตราโซนิก สกัดได้ปริมาณของฟีนอลรวมสารต้านอนุมูลอิสระและฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนธรรมดา