การศึกษาคุณภาพเกสรบัวหลวงนี้ได้จัดทำวิธีตรวจเอกลักษณ์ และพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแคมป์เฟอรอล และโททอลแคโรทีน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีเหลวสมรรถนะสูง และตรวจหาปริมาณสารในตัวอย่างเกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) ทั้ง 4 สายพันธุ์และจากร้านขายยาสมุนไพร 10 ตัวอย่างโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นและตรวจหาปริมาณโททอลฟลาโวนอยด์โดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตริก นอกจากนี้ยังได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อดูความสัมพันธ์ขององค์ประกอบบางตัวต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ และได้ศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

การศึกษาเอกลักษณ์โดยวิธีรงคเลขผิวบาง ที่สามารถตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้โดยมีเควอร์ซิตินและเบต้าแคโรทีนเป็นสารเปรียบเทียบ นอกจากนี้ได้แยกสารจากเกสรบัวหลวง ซึ่งจากการหาสูตรโครงสร้างโดยเทคนิคสเปกโตรสโคปีได้สาร kaempferol 3-glucoside การศึกษาระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าละอองเรณูของเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์มีรูปร่างกลมหรือกลมรี มีขนาดประมาณ 50 ไมโครเมตร การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมได้จัดทำเป็นแผนภาพดีเอ็นเอของเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์ โดยทคนิค RAPD-PCR และไพรเมอร์ OPS3, OPS11, OPS13 และ OPE3 ซึ่งสามารถระบุสายพันธุ์ปทุม บุณฑริก สัตตบงกช และสัตตบุษย์

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแคมป์เฟอรอลในเกสรบัวหลวงโดยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีเหลวสมรรถนะสูง ได้ค่าพารามิเตอร์ความสัมพันธ์เชิงเส้นช่วงความเข้มข้น 0.8-6.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.9980 -0.9984 ค่าความเที่ยงตรงภายในวันเดียวและระหว่างวันเท่ากับ 1.80 เปอร์เซ็นต์ (n=3) และ 6.94 เปอร์เซ็นต์ (n=3) ตามลำดับ ค่าความถูกต้องเท่ากับ 102.03 เปอร์เซ็นต์ พิกัดความเข้มข้นของสารที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบได้และสามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 173 และ 523 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโททอลแคโรทีนในเกสรบัวหลวงโดยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีเหลวสมรรถนะสูง ได้ค่าพารามิเตอร์ความสัมพันธ์เชิงเส้นช่วงความเข้มข้น 6.50-58.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.9997-0.9998 ค่าความเที่ยงตรงภายในวันเดียวและระหว่างวันเท่ากับ 0.26 และ 8.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ค่าความถูกต้องเท่ากับ 100.10 เปอร์เซ็นต์ พิกัดความเข้มข้นของสารที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบได้และสามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 10 และ 30 นาโนกรัมต่อ

มิลลิลิตร การนำมาใช้หาปริมาณสารในตัวอย่างเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์และตัวอย่างจากร้านขายยาสมุนไพร 10 ตัวอย่าง และหาปริมาณโททอลฟลาโวนอยด์โดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตริก พบว่าตัวอย่างเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์มีปริมาณโททอลฟลาโวนอยด์ แคมป์เฟอรอล และโททอลแคโรทีนในช่วง 306.30-349.78, 2.77-8.89 และ 465.77-1150.80 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และตัวอย่างจากร้านขายยาสมุนไพรพบปริมาณโททอลฟลาโวนอยด์ แคมป์เฟอรอล และโททอลแคโรทีนในช่วง 151.68-269.70, 3.74-12.46 และ 4.70-41.73 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าปริมาณแคมป์เฟอรอลและโททอลฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ตากแห้งเองและจากร้านขายยาสมุนไพรไม่แตกต่างกันมากนัก แต่แคโรทีนในตัวอย่างจากร้านขายยาสมุนไพรมีปริมาณต่ำกว่าตัวอย่างที่ตากแห้งเองประมาณ 10 เท่า ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากการที่แคโรทีนสลายตัวได้ง่าย ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์เมื่อสลายตัวจะเปลี่ยนเป็นอะไกลโคน

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมธานอลของเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์ในแบบจำลอง DPPH และ TBARS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 32-69 และ 23-47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตัวทำละลายผสมของเกสรบัวหลวง 4 สายพันธุ์ในแบบจำลอง DPPH และ TBARS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1290-2230 และ 304-625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ โททอลฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบในสารสกัดเมธานอล แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ตัวทำละลายผสมในแบบจำลอง TBARS มีความสัมพันธ์กับปริมาณโททอลแคโรทีน แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติทางเคมีของแคโรทีนอยด์สามารถเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อที่นำมาทดสอบในแบบจำลอง TBARS

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปแบบแกรนูล ได้ศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์โดยการทดสอบภายหลังเปิดใช้ พบว่าสารสำคัญมีปริมาณใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา และการทดสอบแบบเร่ง ได้ค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของโททอลฟลาโวนอยด์ แคมป์เฟอรอล และโททอลแคโรทีนเท่ากับ 0.00017, 0.00019 และ -0.0317 ต่อเวลา ตามลำดับ ได้อายุการใช้ผลิตภัณฑ์ (shelf life) ประมาณ 10 เดือน 9 เดือน และ 3 วัน ตามลำดับ การศึกษาความคงสภาพนี้แสดงถึงผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์

In this study, identification and quantitation methods were developed to determine the quality of lotus stamens. Four varieties of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) stamens and samples purchased from 10 traditional drug stores were investigated. Antioxidant activity and its correlation to the contents of some actives constituents were determined. A health product was formulated, and evaluated for its stability.

The four varieties of lotus stamens were identified by Thin-layer chromatography (TLC), microscopy and DNA fingerprint. Antioxidant activity of the compositions in Lotus stamens were located by the TLC-fingerprint using quercetin and β-carotene as markers. Kaempferol 3-glucoside was isolated and identified spectroscopically. Pollens sizes were approximately 50 micrometers. The PCR amplification was used for identification of Lotus DNA by using OPS3, OPS11, OPS13 and OPE3 random-decamer primers. The result showed variety-specific markers of Pathum, Sattabongkot, Boontharik and Sattabutre varieties.

Determination of kaempferol and total carotenes method was developed by high-performance liquid chromatography (HPLC). Validation parameters of the kaempferol were as follows: the linearity at the concentration range of 0.8-6.4 $\mu g.mL^{-1}$ were 0.9987-0.9984; the repeatability and intermediate precision were 1.80 % CV (n=5) and 6.94 % CV (n=3), respectively; the accuracy was 102.03 %; the detection limit (DL) was 173 $ng.mL^{-1}$ and the quantitation limit (QL) was 523 $ng.mL^{-1}$. The validation parameters of the total carotenes were as follows: the linearity at the concentration range of 6.50-58.50 $\mu g.mL^{-1}$ were 0.9997-0.9998; the repeatability and intermediate precision were 0.26 % CV (n=5) and 8.14 % CV (n=3), respectively; the accuracy was 100.10 %; the DL was 10 $ng.mL^{-1}$ and the QL was 30 $ng.mL^{-1}$. The developed HPLC methods were used to determine the components in the four varieties and ten purchased dried samples. The total flavonoids, kaempferol and total carotenes contents of 4 varieties lotus stamens were

306.30-349.78, 2.77-8.89 and 465.77-1150.80 mg%, respectively. Whereas those purchased from traditional drug stores were 151.68-269.70, 3.74-12.46 and 4.70-41.73 mg%, respectively. It was found that carotenes content in purchased samples were ten times lower than the four varieties which were air-dried in the laboratories. However, total flavonoids in samples from drug stores were about two times less, but kaempferol, an aglycone of glycosides content in lotus stamens, in both sources were not much different.

The antioxidant activities (IC_{50}) of methanol extract of four lotus varieties by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) model were 32-69 and 23-47 $\mu g.mL^{-1}$, respectively. The antioxidant activities (IC_{50}) of mixed solvent extract by DPPH and TBARS model were 1290-2230 and 304-625 $\mu g.mL^{-1}$, respectively. The result showed that their antioxidant activities of methanol extract did not correspond to the total flavonoids content, but the antioxidant of mixed solvent extract by TBARS model corresponded to total carotenes content. This is possibly due to the miscibility of carotenoids and tissue in the TBARS model.

The health supplement of lotus stamens products were formulated as granules, the stability studies were investigated by open-dish study and accelerated test. The result showed that the total flavonoids, total carotenes and kaempferol content in the product were stable through the open-dish study. In the accelerated test, in the degradation rate is first order. The rate constant of total flavonoids, total carotenes and kaempferol were 0.00017, 0.00019 and -0.0317 $time^{-1}$, respectively, and the shelf life were determined and approximately, 10 months, 9 months and 3 days, respectively. This stability study indicated the temperature effect on the stability of these constituents.