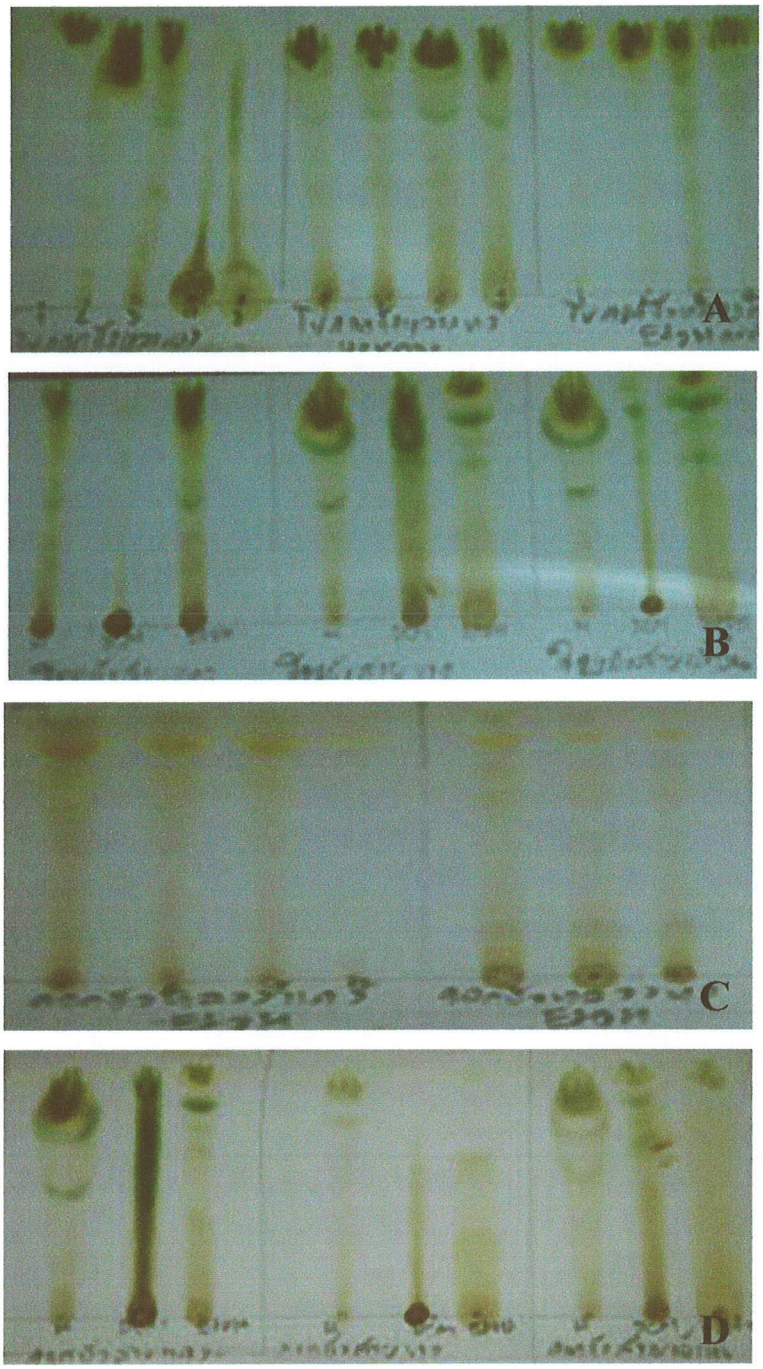
ผลและวิจารณ์

1. การสกัดสารจากบัวหลวงและบัวสาย

เมื่อสกัดบัวด้วยตัวทำละลาย Ethanol ปริมาตร 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้งได้สารสกัด Ethanol มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น (Crude extract) สีน้ำตาลเข้ม จากใบ กลีบดอก และเกสรของบัวทั้ง 6 ชนิด นำ Crude ที่มีปริมาณพอเพียงมาทำ Column Chromatography โดยใช้ Silica gel G_{60} เป็นตัวดูดซับผสมกับ Hexane แล้วผ่านลงใน Column โดยใช้อัตราส่วน สารสกัด: Silica gel อัตราส่วน 1:10 โดยใช้ Hexane เป็นตัวชะ โดยให้ระดับของ Silica gel เรียบสม่ำเสมอจากนั้นผ่าน Hexane ลงใน Column ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.3 เซนติเมตร) และ 100 มิลลิลิตร (Column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร) สารละลายสำหรับชะใช้ Hexane : Dichloromethane, Dichloromethane: Ethyl acetate, Ethyl acetate : Ethanol , Ethanol : Methanol และ Methanol 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนแต่ละครั้งจะเก็บ Fraction ครั้งละ 10 มิลลิลิตร (Column ขนาด 1.3 เซนติเมตร) และ50 มิลลิลิตร (Column ขนาด 3.0 เซนติเมตร) ใส่ขวดเก็บสารที่แยกได้จาก Column chromatography ซึ่งสารที่ได้จาก Column chromatography นี้ใช้เทคนิค TLC เพื่อตรวจสารและรวม Fraction ที่มีเหมือนกันไว้ด้วยกัน (ภาพที่ 14) พบว่าสามารถรวม Fraction เป็นกลุ่มในตัวทำละลายนิดต่างๆ ได้ดังภาพที่ 15 เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป



ภาพที่ 14 รูปแบบ ส่วน (Fraction) ต่างๆ ของสารสกัดบัวที่ได้จากการแยกด้วย TLC

A. Fraction ของสารสกัดจากใบบัวหลวง

B. Fraction ของสารสกัดจากใบบัวสาย

C. Fraction ของสารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวง

D. Fraction ของสารสกัดจากกลีบดอกบัวสาย

1-1A/H/F1-3

1-1A/H/F1= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 1-3

1-1A/H/F2= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 4-11

1-1A/H/F3= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 12-23

1-1B/H/F1-3

1-1B/H/F1= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 24-35

1-1B/H/F2= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 36-41

1-1B/H/F3= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นHexaneส่วนที่ 42-46

1-2/E-Crude

1-2/E/crude= สารสกัดหยาบดอกบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นEthanol

1-3/E-Crude

1-3/E/crude= สารสกัดหยาบเกสรบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นEthanol

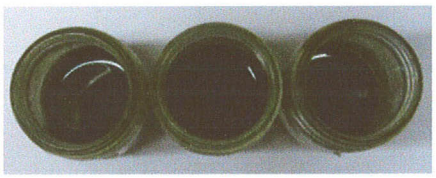
ภาพที่ 15 สารสกัดที่ได้จากบัวหลวงสัตตบงกช

2-1A/H/F1-3

2-1A/H/F1= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 1

2-1A/H/F2= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 2-4

2-1A/H/F3= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 5-10

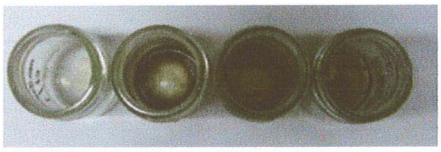


2-1B/H/F1-3

2-1B/H/F1= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 11-18

2-1B/H/F2= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 19-30

2-1B/H/F3= สารสกัดใบบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้นHexaneส่วนที่ 31-42



2-2/E/F1-4

2-2/E/F1= สารสกัดดอกบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้น Ethanol ส่วนที่ 1

2-2/E/F2= สารสกัดดอกบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้น Ethanol ส่วนที่ 2-3

2-2/E/F3= สารสกัดดอกบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้น Ethanol ส่วนที่ 4-6

2-2/E/F4= สารสกัดดอกบัวหลวงสัตตบุตย์ในชั้น Ethanol ส่วนที่ 7-10

ภาพที่ 15 (ต่อ) สารสกัดที่ได้จากบัวหลวงสัตตบุตย์

3-1/E/F1-4

3-1/E/F1= สารสกัดใบบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 4

3-1/E/F2= สารสกัดใบบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 9

3-1/E/F3= สารสกัดใบบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 27

3-1/E/F4= สารสกัดใบบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 37

3-2/E/F1-4

3-2/E/F1= สารสกัดดอกบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 1-5

3-2/E/F2= สารสกัดดอกบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 6-10

3-2/E/F3= สารสกัดดอกบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 11-15

3-2/E/F4= สารสกัดดอกบัวหลวงปทุมในชั้น Ethanol ส่วนที่ 16-18

ภาพที่15 (ต่อ) สารสกัดที่ได้จากบัวหลวงปทุม

4-1/H/ DCM/E

4-1/H = สารสกัดใบบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Hexane

4-1/DCM = สารสกัดใบบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Dichloromethane

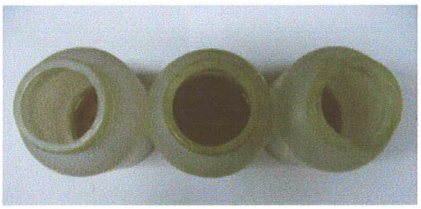
4-1/E = สารสกัดใบบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Ethanol

4-2/H/ DCM/E

4-2/H = สารสกัดดอกบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Hexane

4-2/DCM = สารสกัดดอกบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Dichloromethane

4-2/E = สารสกัดดอกบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Ethanol



4-3/H/ DCM/E

4-3/H = สารสกัดเกสรบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Hexane

4-3/DCM = สารสกัดเกสรบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Dichloromethane

4-3/E = สารสกัดเกสรบัวสายมะเหมี่ยวในชั้น Ethanol

ภาพที่ 15 (ต่อ) สารสกัดที่ได้จากบัวสายมะเหมี่ยว

5-1/H/ DCM/E

5-1/H = สารสกัดใบบัวสายขาวมงคลในชั้น Hexane

5-1/DCM = สารสกัดใบบัวสายขาวมงคลในชั้น Dichloromethane

5-1/E = สารสกัดใบบัวสายขาวมงคลในชั้น Ethanol

5-2/H/ DCM/E

5-2/H = สารสกัดดอกบัวสายขาวมงคลในชั้น Hexane

5-2/DCM = สารสกัดดอกบัวสายขาวมงคลในชั้น Dichloromethane

5-2/E = สารสกัดดอกบัวสายขาวมงคลในชั้น Ethanol

ภาพที่ 15 (ต่อ) สารสกัดที่ได้จากบัวสายขาวมงคล

6-1/H/ DCM/E

6-1/H = สารสกัดใบบัวสายฉลองขวัญในชั้น Hexane

6-1/DCM = สารสกัดใบบัวสายฉลองขวัญในชั้น Dichloromethane

6-1/E = สารสกัดใบบัวสายฉลองขวัญในชั้น Ethanol

6-2/H/ DCM/E

6-2/H = สารสกัดดอกบัวสายฉลองขวัญในชั้น Hexane

6-2/DCM = สารสกัดดอกบัวสายฉลองขวัญในชั้น Dichloromethane

6-2/E = สารสกัดดอกบัวสายฉลองขวัญในชั้น Ethanol

6-3/E-Crude

6-3/E /crude= สารสกัดหยาบเกสรบัวสายฉลองขวัญในชั้นEthanol

ภาพที่ 15 (ต่อ) สารสกัดที่ได้จากบัวสายฉลองขวัญ

2. การทดสอบหากลุ่มสารสำคัญในสารสกัด

จากการแยกด้วยคอลัมภ์โครมาโทรกราฟี จากสารสกัดหยาบเฮกเซนพบว่ามี β-sitosterol ของใบบัว ดอกบัว และเกสรบัว ซึ่งส่วนมาก β-sitosterol มักพบในสารสกัดหยาบของเฮกเซน โดยนำสารที่ได้มาตกผลึกด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดครอโรมีเทน-เอทานอล ได้ผลึกใสไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 134-136 องศาเซลเซียส และสารที่พบมากที่สุดจะเป็น Phenolic, Flavonoid และ Alkaloid (อ้อมบุญ, 2536) จากผลการทดลอง ในกลีบดอกบัวทั้ง 6 ชนิด พบสารกลุ่ม Flavonoids, Triterpenes, Steroids, Cardiac Glycosidesและ Antraquinones และส่วนใบพบสารกลุ่ม Alkaloids, Steroidsและ Cardiac Glycosides ดังตารางที่ 2 การทดลองในส่วนนี้ จะเป็นวิธีการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากบัวและใบบัวทั้ง 6 ชนิด โดยการใช้ปฏิกิริยาทางเคมีในการตรวจสอบสารสกัด ผลการทดสอบที่ได้อาจจะเป็น false positive หรือ false negative ได้ในบางกรณี แต่ก็ยังคงให้ข้อมูลองค์ประกอบพื้นฐานที่มีประโยชน์สำหรับตรวจสอบว่าในสารสกัดมีสารกลุ่มใดหรือมีโครงสร้างที่มีคุณสมบัติทางเคมีคล้ายสารกลุ่มใด เพื่อเป็นประโยชน์ในการทดลองวิจัยขั้นต่อไป

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบหากลุ่มสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากใบและกลีบดอกบัว

พันธุ์บัว	% Crude EtOH	Alkaloids	Condensed Tannins	Other Phenolic Compounds	Flavonoids	Triterpenes	Steroids	Cardiac Glycosides	Antraquinones
ดอกบัวหลวงสัตตบงกช	2.4	-	-	√	√	√	√	√	√
ดอกบัวหลวงสัตตบุษย์	3.5	-	-		√	√	√	√	
ดอกบัวหลวงปทุม	2.5	-	-	√	√	√	√	√	√
ดอกบัวสายมะเหมี่ยว	7.8	-	-	-	√	√	√	-	√
ดอกบัวสายฉลองขวัญ	9.5	-	-	-	√	√	√	-	√
ดอกบัวสายขาวมงคล	6.5	-	-	-	√	√	√	-	-
ใบบัวหลวงสัตตบงกช	11.1	√	-	-		-	√	-	-
ใบบัวหลวงสัตตบุษย์	9.8	√	-	-		-	√	-	-
ใบบัวหลวงปทุม	7.8	√	-	-	-	-	√	√	-
ใบบัวหลวงปทุม	10.2	√	-	-	-	-	√	√	-
ใบบัวสายมะเหมี่ยว	11.3	√	-	-	-	-	√	√	-
ใบบัวสายขาวมงคล	9.7	√	-	-	-	-	√	√	-

3. การสกัด การทดสอบสารกลุ่ม Flavonoids และการทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.1 การสกัดสารกลุ่ม Flavonoids จากกลีบดอกบัวสาย โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

กลีบดอกบัวสายฉลองขวัญ (สีน้ำเงิน) แห้ง 234.08 กรัม (ความชื้น 87% เทียบกับน้ำหนักสด) สกัดด้วยตัวทำละลาย Ethanol ปริมาตร 3 ลิตร จำนวน 3 ครั้งได้สารสกัด Ethanol มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น สีน้ำตาลเข้มหนัก 32.02 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้ (% yield) เท่ากับ 14% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง สกัดแยกสารออกด้วย Dichloromethane จำนวน 3 ครั้ง ได้ Crude Dichloromethane หนัก 1.45 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 0.7% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง นำส่วนสกัด Ethanol ที่เหลือจากการสกัดด้วย Dichloromethane มาสกัดต่อด้วย Ethyl acetate จำนวน 3 ครั้ง ได้ Crude Ethyl acetate หนัก 2.92 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 1% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้งและได้ Crude Ethanol 27.00 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 11% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง

กลีบดอกบัวสายมะเหมี่ยว (สีแดง) แห้ง 198.87 กรัม(ความชื้น 89% เทียบกับน้ำหนักสด) ทำการสกัดเช่นเดียว กับบัวสายสีน้ำเงินได้สารสกัด Ethanol มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น สีน้ำตาลเข้มหนัก 65.07 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้ (% yield) เท่ากับ 33% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง ได้ Crude Dichloromethane หนัก 4.10 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 2% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง ได้ Crude Ethyl acetate หนัก 24.53 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 12% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้งและได้ Crude Ethanol 35.46 กรัมคิดเป็นปริมาณของสารที่แยกได้เท่ากับ 18% เทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง (ตารางที่ 3)

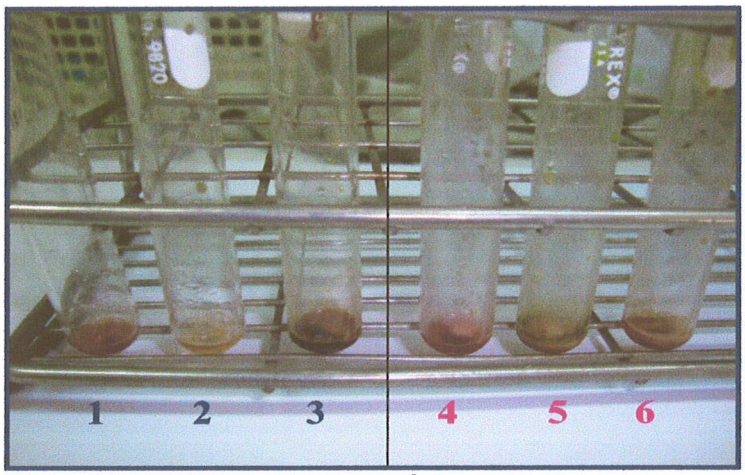
ตารางที่ 3 น้ำหนักและปริมาณของสารสกัดหยาบบัวสายที่แยกได้ (%yield) เปรียบเทียบกับน้ำหนักกลีบดอกแห้ง

Crude	บัวสายฉลองขวัญ		บัวสายมะเหมี่ยว	
	น้ำหนัก (g)	%yield	น้ำหนัก (g)	%yield
Dichloromethane	1.45	0.7	4.10	2
Ethyl acetate	2.92	1	24.53	12
Ethanol	27.00	11	35.46	18

3.2 ทดสอบกลุ่มสาร Flavonoids (Screening for Flavonoids (Shinoda test)) และทดสอบหมู่ฟังก์ชัน

จากผลการทดลองทั้งบัวสายฉลองขวัญ (สีน้ำเงิน) และบัวสายมะเหมี่ยว (สีแดง) พบสาร Flavonoids ทั้ง 6 Crude สังเกตได้จากสีของสารมีสีส้มถึงสีส้มแดง (ภาพที่ 15) เนื่องจากโครงสร้าง

สารกลุ่ม Flavonoids มีหมู่ฟังก์ชันไม่อิ่มตัวจึงนำ Crude ทั้งหมดที่พบ Flavonoids ตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันไม่อิ่มตัวด้วย $Br_2/CHCl_3$ ได้ผลดังตารางที่ 4



ภาพที่ 16 การทดสอบสารกลุ่ม Flavonoids ที่ให้ผลบวก (positive) ในสารสกัดจาก

1 บัวสายฉลองขวัญในรูปของ crude dichloromethane

2 บัวสายฉลองขวัญในรูปของ crude ethyl acetate

3 บัวสายฉลองขวัญในรูปของ crude ethanol

4 บัวสายมะเหมี่ยวในรูปของ crude dichloromethane

5 บัวสายมะเหมี่ยวในรูปของ crude ethyl acetate

6 บัวสายมะเหมี่ยวในรูปของ crude ethanol

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบหมู่ฟังก์ชันไม่อิ่มตัว

สารสกัด	$Br_2/CHCl_3$
บัวสายฉลองขวัญ crude dichloromethane	+
บัวสายฉลองขวัญ crude ethyl acetate	+
บัวสายฉลองขวัญ crude ethanol	+
บัวสายมะเหมี่ยว crude dichloromethane	+
บัวสายมะเหมี่ยว crude ethyl acetate	+
บัวสายมะเหมี่ยว crude ethanol	+

หมายเหตุ : + positive, - negative

3.3 การแยกสารโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

จากการทดสอบกลุ่มสาร Flavonoids พบว่า ทั้งบัวสายฉลองขวัญและบัวสายมะเหมี่ยว พบสารFlavonoids ทั้ง 6 Crude นำ Crude ทั้งหมดที่พบ Flavonoids มาทำ Column chromatography โดยใช้ Silica gel G_{60} เป็นตัวดูดซับผสมกับ Hexaneแล้วผ่าลงใน Column โดยใช้อัตราส่วน สาร: Silica gel 1:10 โดยใช้ Hexaneเป็นตัวชะโดยให้ระดับของ Silica gel เรียบสม่ำเสมอจากนั้นผ่าน Hexane ลงใน Column ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (Column ขนาดไดมิเตอร์ 1.3 เซนติเมตร) และ 100 มิลลิลิตร (Column ขนาดไดมิเตอร์ 3.0 เซนติเมตร)โดยน้ำหนัก Crude และ silica gel G_{60} แสดงได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงน้ำหนัก crude และ silica gel G_{60} ที่ใช้ในColumn Chromatography

น้ำหนัก/ขนาด	บัวสายฉลองขวัญ			บัวสายมะเหมี่ยว		
	dichloromethane	**ethyl acetate**	**ethanol**	**dichloromethane**	**ethyl acetate**	**ethanol**
crude (g)	0.60	2.92	20.00	1.57	9.86	16.6
silica gel G_{60} (g)	6	30	200	16	100	170
Column diameter (cm.)	1.30	3.00	3.00	1.30	3.00	3.00

สารละลายสำหรับชะโดยใช้ Hexane : Dichloromethane, Dichloromethane: Ethyl acetate, Ethyl acetate : Ethanol , Ethanol : Methanol และ Methanol 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนแต่ละครั้งจะเก็บ Fraction ครั้งละ 10 มิลลิลิตร(Column ขนาด 1.3 เซนติเมตร) และ50 มิลลิลิตร (Column ขนาด 3.0 เซนติเมตร) ใส่ขวดเก็บสารที่แยกได้จาก Column Chromatography มีจำนวน Fraction ที่ได้ทั้งหมดแสดงได้ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงจำนวน Fraction ทั้งหมดที่ได้จาก Column Chromatography

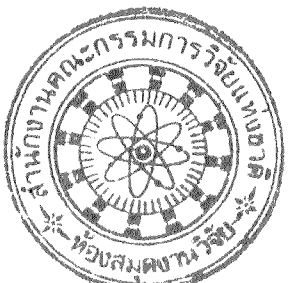
บัว	สารสกัด	จำนวน Fraction
บัวสายฉลองขวัญ	Dichloromethane	13
	Ethyl acetate	22
	Ethanol	22
บัวสายมะเหมี่ยว	Dichloromethane	13
	Ethyl acetate	26
	Ethanol	22

ซึ่งสารที่ได้จาก Column Chromatography จะมีการแยกออกมาทำ TLC เพื่อตรวจสารและรวม Fraction ที่มีเหมือนกันไว้ด้วยกัน(รูปที่ 16) พบว่าสามารถรวม Fraction เป็นกลุ่มได้ดังตารางที่ 7 และ ตารางที่ 8

ตารางที่ 7 แสดงการรวมกลุ่มสารที่ได้จาก Column Chromatography ในแต่ละ Fraction ด้วย TLC (บัวสายฉลองขวัญ)

สารสกัดบัวสายฉลองขวัญ	Fraction	กลุ่ม
Dichloromethane	1-6	B1*
	7-8	B2
	9-13	B3
Ethyl acetate	1-13	B4
	14-22	B5*
Ethanol	1-9	B6
	10-13	B7
	14-22	B8

หมายเหตุ : * กลุ่มสารที่ให้ผล positive กับ Shinoda test



ตารางที่ 8 แสดงการรวมกลุ่มสารที่ได้จาก Column chromatography ในแต่ละ Fraction ด้วย TLC (บัวสายมะเหมี่ยว)

สารสกัดบัวสายมะเหมี่ยว	Fraction	กลุ่ม
Dichloromethane	1-7	P1*
	8-13	P2
Ethyl acetate	1-6	P3*
	7-13	P4
	14-26	P5
Ethanol	1-7	P6
	8-16	P7
	17-22	P8

หมายเหตุ : * กลุ่มสารที่ให้ผล positive กับ Shinoda test

จากผลการทดลอง(ตารางที่ 7 และ 8) นำกลุ่มสารที่ได้มาทำการทดสอบ Screening for flavonoids (Shinoda test) พบว่า

- บัวสายฉลองขวัญชั้น Dichloromethane กลุ่ม B1 (Fraction 1-6) และชั้น Ethyl acetate กลุ่ม B5 (Fraction 14-22) พบสาร Flavonoids

- บัวสายมะเหมี่ยวชั้น Dichloromethane กลุ่ม P1 (Fraction 1-7) และชั้น Ethyl acetate กลุ่มที่ P3 (Fraction 1-6) พบสาร Flavonoids

3.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดเฉพาะชั้น Dichloromethane และ Ethyl acetate Fraction 1-6 (B1), 14-22 (B1) และ 1-7 (P1), 1-6 (P3) ของกลีบดอกบัวสายฉลองขวัญและบัวสายมะเหมี่ยวเนื่องจากพบว่ามีกลุ่มสารสำคัญ คือ Flavonoid ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดี มาทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH หาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยเทียบกับ Vitamin E วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง UV – Visible Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 517 nm เป็นการวัดอนุมูล DPPH ที่เหลือ และนำค่า Absorbance ที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังผลการทดลองในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของสารตัวอย่างเทียบกับ Vitamin E

พันธุ์บัว	สาร (5 มิลลิกรัม)	การยับยั้ง (%)
บัวสายฉลองขวัญ	Dichloromethane (B1)	6
	Ethyl acetate (B5)	95
บัวสายมะเหมี่ยว	Dichloromethane (P1)	5
	Ethyl acetate (P3)	15
	Vitamin E	99

จากตารางที่ 9 พบว่าบัวสายฉลองขวัญและบัวสายมะเหมี่ยวชั้น Ethyl acetate มีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยบัวสายฉลองขวัญชั้น Ethyl acetate มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้ใกล้เคียงกับ Vitamin E คือ 95% และให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าบัวสายมะเหมี่ยวชั้น Ethyl acetate (15%) ดังนั้นบัวสายฉลองขวัญชั้น Ethyl acetate จึงมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าบัวสายมะเหมี่ยวที่อยู่ในชั้นตัวทำละลายเดียวกัน

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบบัวโดยวิธี Disc Diffusion

สารสกัดบัว 6 ชนิด คือ บัวหลวงสัตตบงกช สัตตบุศย์ ปทุม และบัวสายมะเหมี่ยวขาวมงคล ฉลองขวัญ โดยสกัดจากส่วนใบ กลีบดอก และเกสร ได้สารสกัดหยาบบัวในชั้นเอทานอล จากนั้นนำสารสกัดหยาบบัวมาแยกส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟฟีได้สารสกัดบัวส่วนต่างๆ ที่อยู่ในชั้นตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล ใช้เทคนิค TLC เพื่อตรวจสารและรวม Fraction ที่มีเหมือนกันไว้ด้วยกัน เมื่อนำแผ่นดิสท์ที่หยดสารสกัดดังกล่าวความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสท์ มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *B. subtilis, S. aureus* และ *E.coli* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 5.2×10^{8}, 1.7×10^{8} และ 2.1×10^{8} CFU ml^{-1} ตามลำดับ และเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Sclerotium* sp.7, *Sclerotium* sp.8 และ *Lasiodiplodia* sp. พบว่าสารสกัดจากบัว 6 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดี โดยทำให้เกิดบริเวณใสดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 16, 17 และ 18 แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด

สารสกัดจากใบบัวหลวงสัตตบงกช ในชั้นของตัวทำละลายเฮกเซนส่วนที่ B2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือ *B. subtilis, S. aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสเท่ากับ 25 มิลลิเมตร

สารสกัดจากเกสรบัวสายมะเหมี่ยว ในชั้นของตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสเท่ากับ 28 มิลลิเมตร

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ของสารสกัดหยาบบัวในชั้นเอทานอล สารสกัดบัวส่วนต่างๆ ในชั้นเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทานอล พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของดันแคน (Duncan's new multiple range test, DMRT) ดังตารางที่ 11 พบว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* สารสกัดจากใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นเฮกเซนส่วนที่ B2, ส่วนที่ B3 และสารสกัดจากใบบัวสายฉลองขวัญ ให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุด โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 25, 24 และ 23 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาเป็นสารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงสัตตบุศย์ในชั้นเอทานอลส่วนที่ 3 และสารสกัดจากใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นเฮกเซนส่วนที่ B1 โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 20 มิลลิเมตร

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* สารสกัดจากใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นเฮกเซนส่วนที่ B2 ให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 25 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นสารสกัดจากใบบัวหลวงสัตตบงกชในชั้นเฮกเซนส่วนที่ B3 สารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงสัตตบุศย์ในชั้นเอทานอลส่วนที่ 3 และ 4 โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 21, 18 และ18 มิลลิเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Li and Xu (2008) ที่พบว่าสาร Quercetin ในสารสกัดจากใบบัวมีฤทธิ์สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบส่วนมากมีความต้านทานสูงกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (Tomas-Barberan *et al.*, 1988)

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* สารสกัดจากเกสรบัวสายมะเหมี่ยวในชั้นไดคลอโรมีเทนให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 28 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นเกสรบัวสายมะเหมี่ยวในชั้นเอทานอล ใบบัวสายฉลองขวัญในชั้นไดคลอโรมีเทน กลีบดอกบัวสายมะเหมี่ยวในชั้นไดคลอโรมีเทน ใบบัวสายมะเหมี่ยวในชั้นไดคลอโรมีเทน ใบบัวสายมะเหมี่ยวในชั้นเอทานอล และกลีบดอกบัวสายฉลองขวัญในชั้นเอทานอล โดยมีขนาดบริเวณใสเท่ากับ 23, 23, 22, 20, 19 และ19 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 10 การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ของสารสกัดบัวด้วยวิธี Paper Disc Diffusion

พันธุ์บัว	สารสกัดในชั้นตัวทำละลายชนิดต่างๆ	ขนาดบริเวณใส (มิลลิเมตร)					
		B. subtilis	*S. aureus*	*E. coli*	*Sclerotium* sp.7	*Sclerotium* sp.8	*Lasiodiplodia*
1.บัวหลวงสัตตบงกช	1-1A/H/F1	-	4±0.38	7±0.06	-	-	-
	1-1A/H/ F2	7±0.06	4±0.35	7±0.06	-	-	-
	1-1A/H/ F3	2±0.40	-	7±0.06	-	-	-
	1-1B/H/ F1	20±0.06	9±0.20	8±0.06	-	-	-
	1-1B/H/ F2	25±0.20	25±0.62	10±0.10	-	-	-
	1-1B/H/ F3	24±0.35	21±0.06	7±0.10	-	-	-
	1-2/E-Crude	10±0.25	13±0.35	10±0.21	-	-	-
	1-3/E-Crude	3±0.52	-	6±0.06	-	-	-
2. บัวหลวงสัตตบุตย์	2-1A/H/ F1	-	-	6±0.06	-	-	-
	2-1A/H/ F2	-	4±0.35	6±0.06	-	-	-
	2-1A/H/ F3	13±0.35	1±0.26	8±0.06	-	-	-
	2-1B/H/ F1	10±0.23	4±0.38	7±0.10	-	-	-
	2-1B/H/ F2	11±0.21	6±0.00	8±0.06	-	-	-
	2-1B/H/ F3	15±0.42	13±0.55	9±0.00	-	-	-
	2-2/E/ F1	-	-	6±0.00	-	-	-
	2-2/E/ F2	16±0.44	13±0.21	12±0.26	-	-	-
	2-2/E/ F3	20±0.20	18±0.35	12±0.10	-	-	-
	2-2/E/ F4	17±0.15	18±0.15	12±0.06	-	-	-
3. บัวหลวงปทุม	3-1/E/ F1	-	-	7±0.00	-	-	-
	3-1/E/ F2	-	-	6±0.00	-	-	-
	3-1/E/ F3	-	2±0.35	6±0.00	-	-	-
	3-1/E/ F4	9±0.06	11±0.06	7±0.06	-	-	-
	3-2/E/ F1	11±0.15	11±0.26	6±0.06	-	-	-
	3-2/E/ F2	11±0.15	13±0.59	6±0.00	-	-	-
	3-2/E/ F3	11±0.06	11±0.12	6±0.06	-	-	-
	3-2/E/ F4	12±0.06	13±0.15	8±0.12	-	-	-

พันธุ์บัว	สารสกัดในชั้นตัวทำละลายชนิดต่างๆ	ขนาดบริเวณใส (มิลลิเมตร)					
		B. subtilis	*S. aureus*	*E. coli*	*Sclerotium* sp.7	*Sclerotium* sp.8	*Lasiodiplodia*
4. บัวสายมะเหมี่ยว	4-1/H	6±0.00	5±0.40	7±0.00	-	-	-
	4-1/DCM	18±0.21	8±0.12	20±0.46	-	-	-
	4-1/E	16±0.21	9±0.21	19±0.74	-	-	-
	4-2/H	-	-	10±0.44	-	-	-
	4-2/DCM	10±0.38	9±0.32	22±0.32	-	-	-
	4-2/E	16±0.46	9±0.35	23±0.82	-	-	-
	4-3/H	2±0.35	-	6±0.06	-	-	-
	4-3/DCM	13±0.21	1±0.21	28±0.15	-	-	-
	4-3/E	7±0.06	-	9±0.30	-	-	-
5. บัวสายขาวมงคล	5-1/H	7±0.00	7±0.10	7±0.06	-	-	-
	5-1/DCM	10±0.12	12±0.06	13±0.15	-	-	-
	5-1/E	14±0.15	9±0.17	18±0.35	-	-	-
	5-2/H	8±0.10	3±0.46	8±0.35	-	-	-
	5-2/DCM	9±0.15	9±0.21	7±0.06	-	-	-
	5-2/E	7±0.00	-	5±0.40	-	-	-
6.บัวสายฉลองขวัญ	6-1/H	6±0.06	4±0.38	7±0.06	-	-	-
	6-1/DCM	23±0.35	17±0.21	23±0.25	-	-	-
	6-1/E	11±0.23	14±0.42	15±0.20	-	-	-
	6-2/H	6±0.00	6±0.65	7±0.10	-	-	-
	6-2/DCM	7±0.00	6±0.00	5±0.44	-	-	-
	6-2/E	8±0.12	9±0.31	19±0.17	-	-	-
	6-3/E-Crude	12±0.31	1±0.20	16±0.51	-	-	-

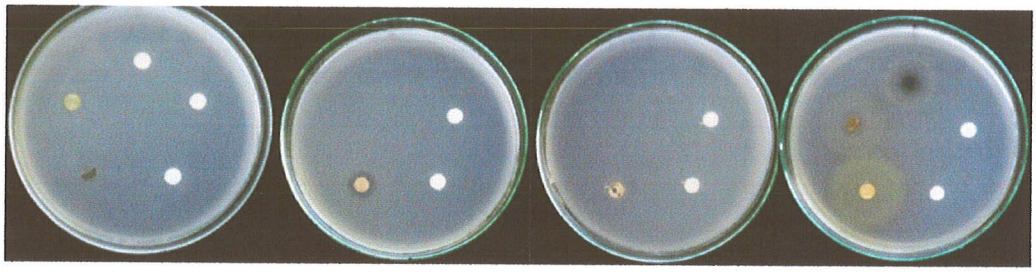
หมายเหตุ: - ไม่เกิดบริเวณใส

ตารางที่ 11 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ของสารสกัดบัวด้วยวิธี Paper Disc Diffusion

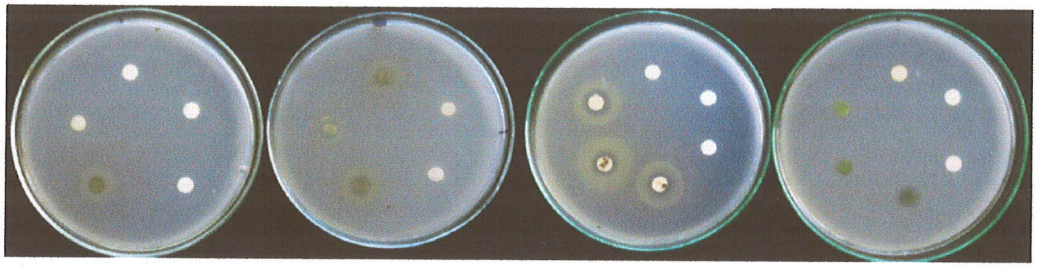
พันธุ์บัว	สารสกัดในชั้นตัวทำละลายชนิดต่างๆ	ขนาดบริเวณใส (มิลลิเมตร)					
		B. subtilis	*S. aureus*	*E. coli*	*Sclerotium* sp.7	*Sclerotium* sp.8	*Lasiodiplodia*
1.บัวหลวงสัตตบงกช	1-1A/H/F1	-	4^{klmn}	7^{ijk}	-	-	-
	1-1A/H/ F2	7^{klm}	4^{lmn}	7^{ijk}	-	-	-
	1-1A/H/ F3	2^{n}	-	7^{ijk}	-	-	-
	1-1B/H/ F1	20^{cd}	$9^{fghijklm}$	8^{hijk}	-	-	-
	1-1B/H/ F2	25^{a}	25^{a}	10^{ghij}	-	-	-
	1-1B/H/ F3	24^{ab}	21^{ab}	7^{hijk}	-	-	-
	1-2/E-Crude	10^{hijkl}	13^{cdefgh}	10^{ghijk}	-	-	-
	1-3/E-Crude	3^{mn}	-	6^{jk}	-	-	-
2. บัวหลวงสัตตบุตย์	2-1A/H/ F1	-	-	6^{jk}	-	-	-
	2-1A/H/ F2	-	4^{h}	6^{jk}	-	-	-
	2-1A/H/ F3	13^{efghi}	$1^{fghijklm}$	8^{hijk}	-	-	-
	2-1B/H/ F1	10^{hijkl}	4^{klmn}	7^{hijk}	-	-	-
	2-1B/H/ F2	11^{fghijk}	6^{ijklmn}	8^{hijk}	-	-	-
	2-1B/H/ F3	15^{efg}	13^{cdefg}	9^{ghijk}	-	-	-
	2-2/E/ F1	-	-	6^{jk}	-	-	-
	2-2/E/ F2	16^{def}	13^{cdefgh}	12^{fgh}	-	-	-
	2-2/E/ F3	20^{bcd}	18^{bc}	12^{fgh}	-	-	-
	2-2/E/ F4	17^{de}	18^{bcd}	12^{fghi}	-	-	-
3. บัวหลวงปทุม	3-1/E/ F1	-	-	7^{hijk}	-	-	-
	3-1/E/ F2	-	-	6^{jk}	-	-	-
	3-1/E/ F3	-	2^{n}	6^{jk}	-	-	-
	3-1/E/ F4	9^{hijkl}	$11^{efghijk}$	7^{ijk}	-	-	-
	3-2/E/ F1	11^{ghijkl}	11^{efghij}	6^{jk}	-	-	-
	3-2/E/ F2	11^{fghijk}	13^{cdefg}	6^{jk}	-	-	-
	3-2/E/ F3	11^{ghijkl}	11^{efghi}	6^{jk}	-	-	-
	3-2/E/ F4	12^{fghij}	13^{cdefgh}	8^{hijk}	-	-	-

พันธุ์บัว	สารสกัดในชั้นตัวทำละลายชนิดต่างๆ	ขนาดบริเวณใส (มิลลิเมตร)					
		B. subtilis	*S. aureus*	*E. coli*	*Scleroti um* sp.7	*Sclerotiu m* sp.8	*Lasiodipl odia*
4. บัวสายมะเหมี่ยว	4-1/H	6^{mn}	5^{jklmn}	7^{hijk}	-	-	-
	4-1/DCM	18^{del}	$8^{fghijklm}$	20^{bcd}	-	-	-
	4-1/E	16^{def}	$9^{fghijklm}$	19^{bcde}	-	-	-
	4-2/H	-	-	10^{ghij}	-	-	-
	4-2/DCM	10^{hijkl}	$9^{fghijkl}$	22^{bc}	-	-	-
	4-2/E	16^{def}	$9^{fghijklm}$	23^{b}	-	-	-
	4-3/H	2^{n}	-	6^{jk}	-	-	-
	4-3/DCM	13^{fghij}	$1^{fghijkl}$	28^{a}	-	-	-
	4-3/E	7^{klm}	-	9^{ghijk}	-	-	-
5. บัวสายขาวมงคล	5-1/H	7^{klm}	$7^{ghijklmn}$	7^{hijk}	-	-	-
	5-1/DCM	10^{ghijkl}	12^{defi}	13^{fg}	-	-	-
	5-1/E	14^{efgh}	$9^{fghijklm}$	18^{cde}	-	-	-
	5-2/H	8^{jkl}	3^{mn}	8^{hijk}	-	-	-
	5-2/DCM	9^{ijkl}	$9^{fghijklm}$	7^{hijk}	-	-	-
	5-2/E	7^{klm}	-	5^{k}	-	-	-
6.บัวสายฉลองขวัญ	6-1/H	6^{lmn}	4^{kmn}	7^{ik}	-	-	-
	6-1/DCM	23^{abc}	17^{bcde}	23^{b}	-	-	-
	6-1/E	11^{fghijk}	14^{cdef}	15^{ef}	-	-	-
	6-2/H	6^{klmn}	$6^{hijklmn}$	7^{hjk}	-	-	-
	6-2/DCM	7^{lm}	6^{ijklmn}	5^{jk}	-	-	-
	6-2/E	8^{jl}	$9^{fghijklm}$	19^{bcde}	-	-	-
	6-3/E-Crude	12^{fghij}	$1^{fghijkl}$	16^{def}	-	-	-

หมายเหตุ: อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

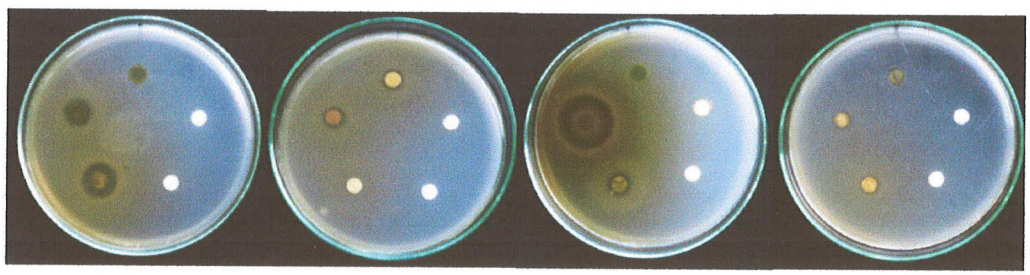


1-1A/H/F1-3 1-1B/H/F1-3 1-2/E-Crude 1-3/E-Crude



2-1A/H/F1-3 2-1B/H/F1-3 2-2/E/F1-4 3-1/E/F1-4

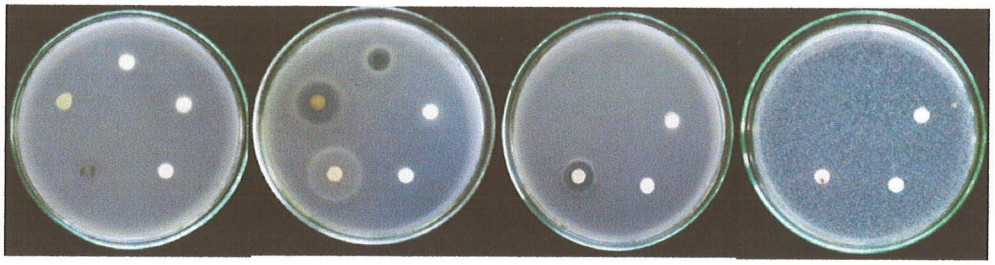
3-2/E/F1-4 4-1/H/DCM/E 4-2/H/DCM/E 4-3/H/DCM/E



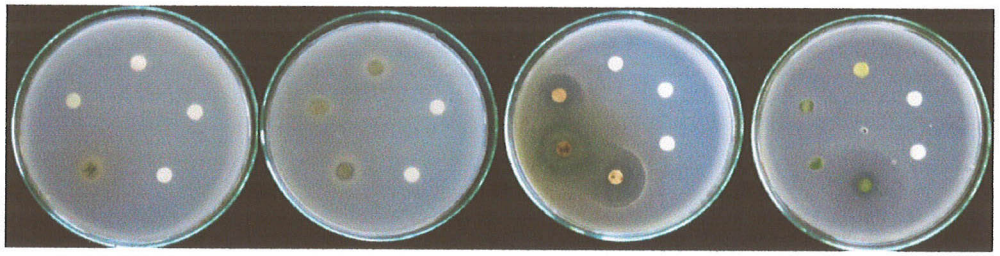
5-1/H/DCM/E 5-2/H/DCM/E 6-1/H/DCM/E 6-2/H/DCM/E

6-3/E-Crude

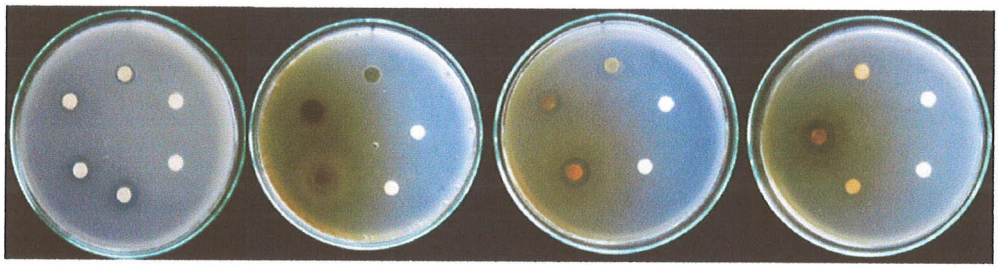
ภาพที่ 17 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ของสารสกัดบัวใน ตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยวิธี Paper Disc Diffusion



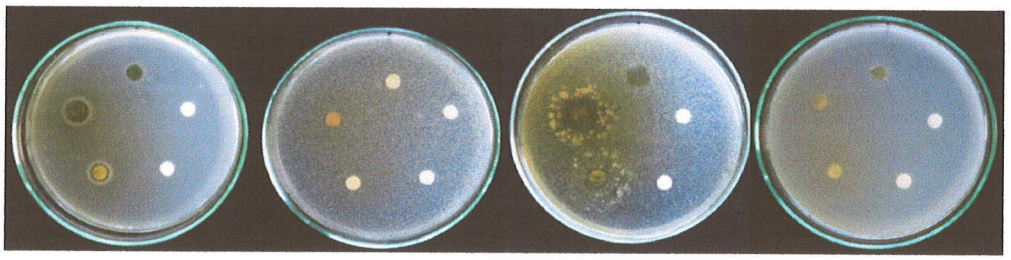
1-1A/H/F1-3 1-1B/H/F1-3 1-2/E-Crude 1-3/E-Crude



2-1A/H/F1-3 2-1B/H/F1-3 2-2/H/F1-4 3-1/E/F1-4



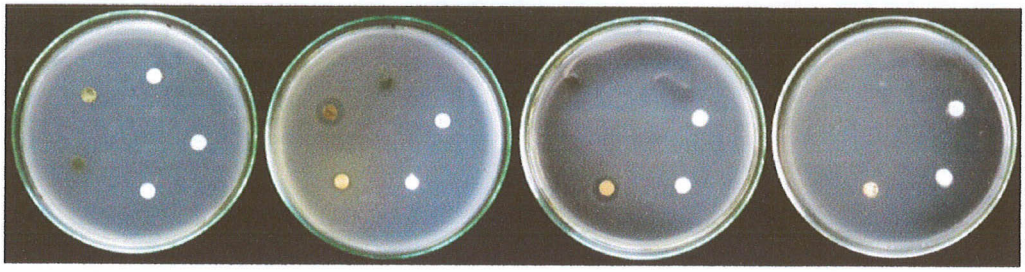
3-2/E/F1-4 4-1/H/DCM/E 4-2/H/DCM/E 4-3/H/DCM/E



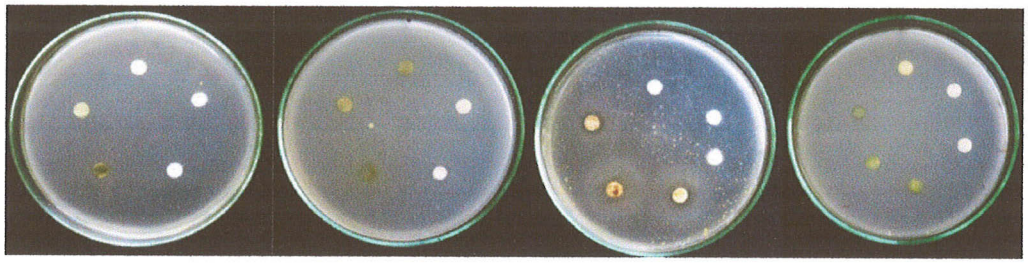
5-1/H/DCM/E 5-2/H/DCM/E 6-1/H/DCM/E 6-2/H/DCM/E

6-3/E-Crude

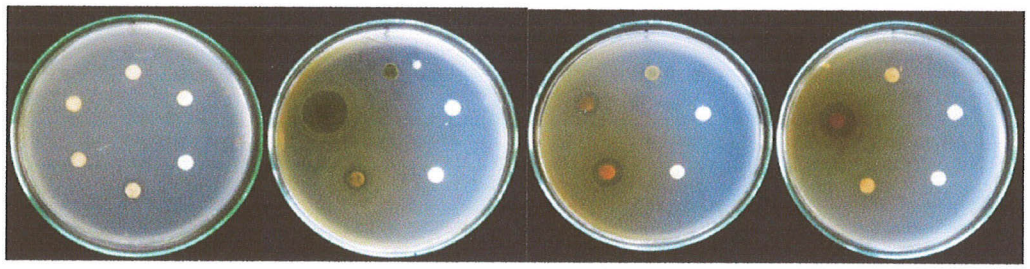
ภาพที่ 18 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดบัวในตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยวิธี Paper Disc Diffusion



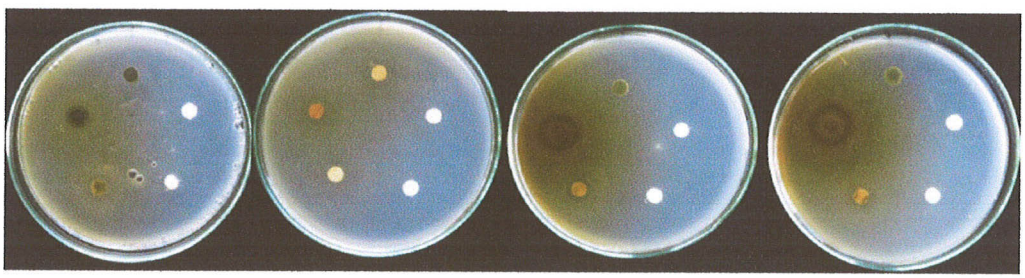
1-1A/H/F1-3 1-1B/H/F1-3 1-2/E-Crude 1-3/E-Crude



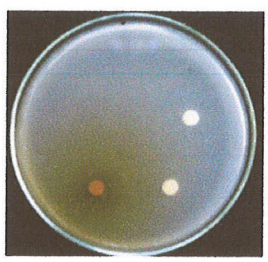
2-1A/H/F1-3 2-1B/H/F1-3 2-2/H/F1-4 3-1/E/F1-4



3-2/E/F1-4 4-1/H/DCM/E 4-2/H/DCM/E 4-3/H/DCM/E



5-1/H/DCM/E 5-2/H/DCM/E 6-1/H/DCM/E 6-2/H/DCM/E



6-3/E-Crude

ภาพที่ 19 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ของสารสกัดบัวในตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยวิธี Paper Disc Diffusion