Published online: 20 July 2018

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นและความคงตัวในเซรั่ม

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *SALACIA CHINENSIS* L. EXTRACT AND ITS STABILITY IN SERUM

ธัญธิดา นวมทอง
อีเมล์: Weeherb@gmail.com
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ดร. ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ
อีเมล์: phanuphong@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบและต้นกำแพงเจ็ดชั้นที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอลจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) antioxidant และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) จากการทดสอบพบว่า ต้นกำแพงเจ็ดชั้นที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุดคือ 381.98±2.45 mg GAE/g extract และ 193.99±6.91 mg CE/g extract ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงผลเป็นปริมาณความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) มีค่าเท่ากับ 10.35±0.17 µg/ml และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 223.01±12.72 mg TE/g extract การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มที่มีส่วนผสมของ สารสกัดต้นกำแพงเจ็ดชั้นที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ปริมาณร้อยละ 0.2 ในสูตรตำรับพบว่า การเก็บตำรับที่มีสารสกัดที่อุณหภูมิห้อง ทำให้มีความคงตัวของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการเก็บไว้ที่ 50 องศาเซลเซียส และ ในสภาวะเร่งแบบร้อนสลับเย็นจำนวน 5 รอบ โดยผลิตภัณฑ์มีสีที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/สารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น/เซรั่ม/ความคงตัว

Abstract

The aim of this study was to extract antioxidant from leaf and stem of *Salacia Chinensis* L. with water and ethanol, Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity of the extract were measured. The antioxidant activity was assessed by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Ethanolic extract of stem exhibited the highest phenolic content (381.98±2.45 mg GAE/g extract) and the highest flavonoid content (193.99±6.91 mg CE/g extract). In addition it also possessed the highest DPPH radical scavenging activity (IC_{50} = 10.35±0.17 µg/ml) and reducing capacity FRAP (223.01±12.72 mg TE/g extract). Stability of serum containing 0.20 % stem ethanolic extract was studied after 1 month and found that the room temperature storage exhibited better stability of antioxidant capacity than that of the 50 ºC. Heating – cooling accelerated condition also slightly decreased the stability of the extract antioxidant capacity and gradate the color at high temperature condition.

Keywords: Antioxidant capacity/*Salacia Chinensis* L. Extract/Serum/Stability

บทนำ

กำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia Chinensis* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ทั่วทุกภาคในประเทศไทย และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาค่อนข้างกว้าง มีรายงานว่าพบสารกลุ่ม Polyphenols และ Flavonoids ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนของผล ส่วนราก และลำต้น ซึ่งในประเทศไทยนิยมที่ใช้ส่วนของลำต้นกำแพงเจ็ดชั้นเพื่อการรักษาโรคอย่างแพร่หลาย เช่นใช้ต้นต้มน้ำดื่มหรือดองสุรา แก้ปวดเมื่อย บำรุงโลหิต ฟอกโลหิต แก้โรคเบาหวาน เป็นต้น แม้ว่ากำแพงเจ็ดชั้นจะเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณหลายชนิด แต่ยังมีการนำมาศึกษาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอางน้อยมาก ในประเทศไทยมีการปลูกกำแพงเจ็ดชั้นเพื่อใช้ประโยชน์จากลำต้นเพื่อสรรพคุณทางยาเป็นหลัก เมื่อทำการตัดลำต้นก็จะต้องทิ้งใบ หากมีการนำใบจากต้นกำแพงเจ็กชั้นมาใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง จากเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาปริมาณสารกลุ่ม Polyphenols และ Flavonoids รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนของลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำสารสกัดต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นเพื่อพัฒนาตั้งตำรับเครื่องสำอางเพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้

Mae Fah Luang University

ประโยชน์จากสารธรรมชาติ ส่งเสริมการใช้สมุนไพรไทยที่สามารถเพาะปลูกและผลิตได้ในประเทศ เพื่อการลดการนำเข้าวัตถุดิบจากต่างประเทศ อันจะเป็นการสนับสนุนให้เกิดการพัฒนาเครื่องสำอางไทยอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากต้นกำแพงเจ็ดชั้นโดยใช้เอทานอล และน้ำ เป็นตัวทำละลาย
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น
3. เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น
4. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับเซรั่มและทดสอบความคงตัวของตำรับเซรั่มที่มีสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาการสกัดสารสำคัญจากส่วนของลำต้น (stem) และ ใบ (Leaf) ของกำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia Chinensis* L.) ที่บ้านดอนงิ้ว ตำบลนาตาล อำเภอนาตาล จังหวัดอุบลราชธานี ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ สารละลายเอทานอลร้อยละ 95, น้ำ และ เอทานอลร้อยละ 50 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound, TPC) และสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content, TFC) รวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นจำนวน 2 วิธีได้แก่ วิธี DPPH (2,2-Diphenyl- 1-Picrylhydrazyl) Assay และวิธี Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP) และทำการเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์ที่อยู่ในตัวทำละลายที่มีฤทธิ์มากที่สุด นำไปผสมในตำรับเซรั่ม จากนั้นทำการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับเซรั่มที่มีสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

การทบทวนวรรณกรรม

กำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia chinesis* L.) อยู่ในวงศ์ Celastraceae มีชื่อเรียกอื่นๆ เช่น ตะลุ่มนก (ราชบุรี) ตาไก้ (พิษณุโลก) น้ำนอง มะต่อมไก่ (เหนือ) หลุมนก (ใต้) ขอบกระด้ง พรองนก (อ่างทอง); ขาวไก่, เครือตากวาง, ตากวาง, ตาไก่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ); กระดุมนก (ประจวบคีรีขันธ์) ในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค ตามป่าเบญจพรรณ และป่าดงดิบริมแหล่งน้ำหรือที่โล่ง ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของกำแพงเจ็ดชั้น คือส่วนลำต้นและราก มีรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ พบว่า สาระสำคัญ

Mae Fah Luang University

Mangiferin จากกำแพงเจ็ดชั้นมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดเทียบได้กับยา Glybenclamide ลดไขมัน ลดความดัน ต้านอนุมูลอิสระ (Morikawa et al. , 2015) นอกจากนี้ลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นมีสารประกอบหลายชนิด พบว่า สารสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นประกอบด้วย ซาโปนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และ สเตียร์รอยด์ ไกลโคไซด์ ซึ่งสารดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้ เนื่องจากพบว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระ ให้ความชุ่มชื้น และลดเลือนริ้วรอยได้

Keeragalaarachchi et al. (2016) ทำการศึกษาสารสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น ประเทศศรีลังกา โดยทำการสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นด้วยเมทานอล และทำการทดสอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นด้วยเมทานอล พบว่า สารสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นมีพฤกษเคมีที่ประกอบด้วย ซาโปนิน, อัลคาลอยด์, ฟลาโวนอยด์, แทนนิน และ สเตียร์รอยด์ ไกลโคไซด์ และจากงานวิจัยที่ทำการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกรวมของสารสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น โดยผลการทดลองพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกรวมมีมากที่สุดในสารสกัดใบกำแพงเจ็ดชั้น และทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกำแพงเจ็ดชั้นโดนทำการเปรียบเทียบแต่ละสายพันธ์ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ DPPH พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ Trolox พบว่า สารสกัดใบจากกำแพงเจ็ดชั้นที่สกัดด้วยเมทานอล (30.02±3.19 mg TE/g DW) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

เก็บลำต้นและใบของกำแพงเจ็ดชั้น โดยนำลำต้นและใบไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด โดยการนำผงละเอียดของต้นและใบแยกกัน ผ่านแร่งเบอร์ 60 จากนั้นนำมาผสมกับตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ สารละลายเอทานอล 95%, น้ำ 100 % และ เอทานอล 50% จากนั้นกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้น นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ จากนั้นระเหยตัวทำละลายต่อในเครื่องอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) เมื่อได้สารสกัดแล้วเก็บใส่ขวดแก้วหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์อะลูเนียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะได้ตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่างที่มีตัวทำละลายแตกต่างกัน

Mae Fah Luang University

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลรวม โดยวิธี Folin-Ciocalteu Reagent คำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid แล้วรายงานในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิค (mg Gallic Equivalent ต่อกรัมสารสกัด, mg GAE/g)

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม โดยวิธี Aluminum Chloride Method คำนวณหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวมในหน่วย mg Catechin Equivalent (CE)/G สารสกัด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Catechin

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Assay การทดสอบดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams *et al*. (1995) และสร้างกราฟเพื่อคำนวณค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับ Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP) จากนั้นทำการคำนวณค่า FRAP ในหน่วย mg Ascorbic Acid Equivalent ต่อกรัมสารสกัด (mg AAE/g) และ mg Trolox Equivalent ต่อกรัมสารสกัด (mg TE/g)

4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

ศึกษาและพัฒนาตำรับเซรั่มบำรุงผิวหน้า เริ่มจากการหาสูตรที่เหมาะสมโดยดัดแปลงจากสูตรพื้นฐานมาจาก หนังสือเครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง (รศ.พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2008) จากนั้นพัฒนาสูตรตำรับให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสม คัดเลือกสูตรตำรับพื้นที่มีความคงตัวสูงที่สุดเพื่อนำไปผสมกับสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ที่ได้จากการวิจัยก่อนหน้า

<u>วิธีเตรียมตำรับ</u>

1. ชั่งส่วน Part A เข้าด้วยกันให้ความร้อนบนที่ 75 องศาเซลเซียส คนจนใส ทิ้งไว้จนเย็น
2. ชั่งส่วน Part B เข้าด้วยกัน คนจนได้ สารละลายใส
3. ผสมสารใน ข้อ 1. และ 2. เข้าด้วยกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน
4. เตรียม Part C, D, E โดยเตรียมแยกไว้เป็นแต่ละบีกเกอร์ คนผสมให้เข้ากัน
5. นำ Part C, D, E, F ที่ผสมไว้ เทลง ในข้อ 3. คนผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว

Mae Fah Luang University

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในตำรับ

Part	Ingredients	%w/w	Function
A	Distilled Water	85.20	Solvent
	Allantoin	0.30	Anti-inflammatory
	disodium EDTA	0.10	Chelating agent
B	Cellosize PCG-10 (Hydroxyethylcellulose)	0.70	Thickening agent
	Trancutol GC (Ethoxydiglycol)	2.00	Penetration enhancer
	Butylene Glycol	1.00	Humectant
	Propylene Glycol	1.00	Humectant
	Sodium PCA	1.00	Humectant
C	AMC (Glycerin (and) Aqua (and) Sodium PCA (and) Urea (and) Trehalose (and) Hexylene Glycol (and) Polyquaternium-51 (and) Triacetin (and) Caprylyl Glycol (and) Sodium Hyaluronate)	3.00	Moisturizing Agent
D	Polysorbate-20	2.00	Solubilizer
	Fragrance	0.20	Odor adjuster
E	สารสกัดลำต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95	0.20	Active ingredient
	Glycerin	3.00	Solvent
F	Glydant Plus (DMDM Hydantoin (and) Iodopropynyl Butylcarbamate)	0.30	Preservative
	Total	**100.00**	

5. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์มีความจำเป็นอย่างมาก เนื่องจากจะทำให้ทราบอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์, ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์, ทราบถึงบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมแก่ผลิตภัณฑ์ ทราบถึงสภาวะในการเก็บรักษาและสภาวะที่ควรหลีกเลี่ยง

5.1 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating/cooling) จำนวน 5 รอบ โดยตั้งรอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

Mae Fah Luang University

นับเป็น 1 รอบ ทำทั้งหมด 5 รอบ, สภาวะ 50 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน ทำการทดสอบความคงตัวก่อนและหลังการเก็บที่สภาวะเร่งดังนี้

1. ดูการแยกชั้น ด้วยเครื่อง Centrifuge โดยทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 นาทีใช้รอบหมุน 3500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง

2. วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH Meter

3. วัดค่า สี โดยใช้ Colorimeter ทำโดยนำหัววัดวางลงบนภาชนะใส่ผลิตภัณฑ์ และกดปุ่มวัดตามลำดับ ค่าสีจะแสดงขึ้นบนหน้าจอเป็นค่า L^* a^* b^* ดังนี้

ค่า L^* เป็นค่าที่บอกความสว่างของสี นั้นคือขาวกับดำ

ค่า a^* เป็นค่าที่บอกความเป็นสีเขียวหรือสีแดง

ค่า b^* เป็นค่าที่บอกความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่าความแตกต่างของสีที่เป็นตัวเลขโดยใช้สมการ

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2}$$

โดย ΔE คือ ค่าความแตกต่างของสี

4. วัดความหนืด โดยใช้เครื่อง viscometer

5.2 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเซรั่มกำแพงเจ็ดชั้น

การทดสอบความคงตัวของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นที่อยู่ในตำรับเซรั่มเพื่อให้มั่นใจว่าเซรั่มจะให้ประสิทธิภาพตามที่คาดหวัง มีวิธีการดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างจากเซรั่มผสมสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นทำได้โดยการเจือจางเซรั่มด้วยเอทานอลทั้งหมด 12 ความเข้มข้น

2. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเซรั่มกำแพงเจ็ดชั้นเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging จะทำการตรวจวิเคราะห์ DPPH radical – scavenging effect ในสารสกัดโดยอ้างอิงวิธีของ Maier et al. (2010) โดยมีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อยดังนี้ ปิเปตเซรั่มจำนวน 75 µl (84.90 mg) และเจือจางด้วยเอทานอลแบบ 2 fold dilution จนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.33 mg ใน 75 µl จากนั้นเติมสารละลาย DPPH (เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์) 150 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สำหรับชุดควบคุมใช้เอทานอลทำ

Mae Fah Luang University

ปฏิกิริยาแทนสารสกัด คำนวณค่า DPPH radical- scavenging activity คำนวณหาร้อยละค่า Radical Scavenging ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณฤทธิ์ Antioxidant Capacity ในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัม (mg TE/g) สารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox

ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น

จากการสกัดลำต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้นด้วยน้ำ เอทานอลร้อยละ 50 และเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย จะได้ตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่างที่มีตัวทำละลายแตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบจากส่วนของใบที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มและเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดจากส่วนลำต้นจะได้สารสกัดสีน้ำตาลแกมแดง และได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่า ร้อยละปริมาณสารสกัดอยู่ในช่วง 5.02 – 25.48 โดยใบกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 มีปริมาณร้อยละปริมาณสารสกัดหยาบสูงสุดเท่ากับ 25.48±0.84

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากการวิเคราะห์ประมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น โดยวิธี Folin-ciocalteu พบว่า ต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดคือ 381.98±2.45 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม และน้อยที่สุดคือ ต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยน้ำ คือ 91.86±0.40 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิคจากส่วนใบและลำต้น พบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคสูงกว่า

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบต้นและใบกำแพงเจ็ดชั้น โดยวิธี Aluminum Chloride Method พบว่า ลำต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือ 193.99±6.91 มิลลิกรัมสมมูลของสารคาเทชินต่อกรัม และน้อยที่สุดคือใบกำแพงเจ็ดชั้นที่สกัดด้วยน้ำคือ 29.91±0.27 มิลลิกรัมสมมูลของสารคาเทชินต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมจากส่วนใบและลำต้น พบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงกว่า

Mae Fah Luang University

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้น

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl- 1-Picrylhydrazyl) Assay ของกำแพงเจ็ดชั้นเมื่อทดสอบด้วย DPPH Radical Scavenging แสดงโดยใช้ IC_{50} หมายถึงค่าความสามารถในการลดปริมาณสารอนุมูลอิสระลงได้ครึ่งหนึ่ง มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่า IC_{50} ที่น้อยแสดงถึงความสามารถในการลดปริมาณสารอนุมูลอิสระได้ดีกว่าค่าที่มี IC_{50} ที่มากกว่า จากการทดลอง พบว่าต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.35±0.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ใบกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ต่ำที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากัน 188.21±14.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric-Reducing Antioxidant Power) เป็นวิธีทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านออกซิเดชัน เปรียบเทียบในการสกัดต้นและใบของกำแพงเจ็ดชั้นที่มีตัวทำละลายแตกต่างกันทั้งหมด 6 ตัวอย่าง พบว่า ต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ มีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} มากที่สุดโดยมีปริมาณ Fe^{2+} เท่ากับ 223.01±12.72 mg TE/g extract โดยพบว่า สารสกัดจากต้นกำแพงเจ็ดชั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} มากกว่าสารสกัดจากใบกำแพงเจ็ดชั้น โดยมีปริมาณ Fe^{2+} อยู่ในช่วง 62.58 - 223.01 mg TE/g extract ในขณะที่ สารสกัดจากใบของกำแพงเจ็ดชั้นอยู่ในช่วง 25.81 – 56.96 mg TE/g extract

4. การพัฒนาสูตรตำรับเครื่องสำอาง

สูตรตำรับที่พัฒนาขึ้น โดยต้องการให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปที่ใช้ง่าย ไม่เหนียวเหนอะหนะและไม่อุดตันรูขุมขน และง่ายต่อการตั้งตำรับโดยเลือกใช้สารก่อเจล คือ Cellosize PCG-10 ซึ่งสามารถกระจายตัวในน้ำได้อย่างรวดเร็ว ช่วยให้ตั้งตำรับได้ง่ายขึ้น และให้ความรู้สึกนุ่มลื่น และสามารถกระจายตัวได้ดีที่ผิว ซึ่งทำให้ได้สูตรที่แห้งเร็วและไม่เหนียวเหนอะหนะ ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้คือ เนื้อเจลใส ไม่มีสี กระจายตัวได้ดี และไม่มีกลิ่น ซึ่งช่วยให้สามารถทำการทดลองทดสอบสารสกัดในขั้นตอนต่อไปได้ผลอย่างชัดเจน เนื่องจากไม่มีปัจจัยสีและกลิ่นเข้ามารบกวน ทำให้สามารถสังเกตุการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นที่ใส่ลงไปได้ง่าย โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสมีความหนืดเล็กน้อย และไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระรบกวนการทดลองในสูตรตำรับ จากนั้น

Mae Fah Luang University

จึงนำมาเติมสารสกัดต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในปริมาณร้อยละ 0.2 (w/w) จะได้ลักษณะผลิตภัณฑ์ของเหลวมีความหนืดเล็กน้อยสีน้ำตาลอ่อนมีความขุ่นเล็กน้อย

5. ผลการทดสอบความคงตัวของเซรั่มที่มีส่วนผสมสารสกัด ต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในสูตรตำรับ

5.1 จากการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของเซรั่ม

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เบื้องต้น โดยทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์จากการทดสอบดูการแยกชั้นโดยใช้เครื่อง Centrifuge โดยทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 นาทีใช้รอบหมุน 3500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง ไม่พบการแยกชั้นของสูตรตำรับ และทำการทดสอบต่อที่สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating/cooling) จำนวน 5 รอบ โดยตั้งรอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำทั้งหมด 5 รอบ ทำการทดสอบความคงตัวก่อนและหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง เมื่อทดสอบเสร็จตามระยะเวลาที่กำหนด ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อมาประเมินความคงตัว 2 ด้าน คือความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี

จากการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของเซรั่มที่สภาวะอุณหภูมิห้องและ 50 องศาเซลเซียส พบว่า การทดสอบที่สภาวะห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือนไม่พบความเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และการทดสอบที่ 50 องศาเซลเซียส พบความเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มขึ้น การเปลี่ยนแปลงของเซรั่ม ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลงโดยที่ค่าอยู่ในช่วง 5.5-5.6 ซึ่งเหมาะสมกับผิวหนัง การทดสอบความคงตัวด้านสีของผลิตภัณฑ์พบว่า ค่า L* มีค่าสูงขึ้นในทุกสภาวะเร่ง แสดงถึงผลิตภัณฑ์มีสีความสว่างมากขึ้นหรือสีของสารสกัดอ่อนลง และค่า a* สูงขึ้นแสดงถึงผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสีแดงมากขึ้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง 50 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด ค่า b* เพิ่มสูงขึ้นแสดงถึงผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปทางสีเหลืองมากขึ้น ค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะอุณหภูมิห้องไม่แตกต่างจากความหนืดก่อนการทดสอบความคงตัว และเมื่อทดความความคงตัวที่สภาวะร้อนสลับเย็นและสภาวะเร่ง 50 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์มีความหนืดลดลงเล็กน้อย

5.2 ความคงตัวด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเซรั่มกำแพงเจ็ดชั้น

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระของเซรั่มที่มีส่วนผสมสารสกัดลำต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในสูตรตำรับ พบว่าค่าเริ่มต้น Antioxidant capacity ของการทดสอบมีค่า = 9.63±1.49 mg TE/g เมื่อทำการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heat-Cool Cycle (5 Cycle) และที่สภาวะ 50 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่ามีค่า Antioxidant capacity ลดลงคือ 2.43±0.65 mg TE/g

Mae Fah Luang University

และ 9.03±1.05 mg TE/g ตามลำดับ และการทดสอบเก็บสภาวะห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่ามีค่า Antioxidant capacity ลดลงเล็กน้อยคือ 9.03±1.05 mg TE/g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง จากการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ว่าความร้อนอาจส่งผลต่อความเสถียรของสารประกอบในสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นและมีผลทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง

อภิปรายผลการวิจัย

สารสกัดหยาบกำแพงเจ็ดชั้นมีร้อยละผลผลิตอยู่ในช่วง 5.02-25.48 ของน้ำหนักพืชแห้ง ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะข้นหนืด กึ่งแข็งกึ่งเหลว มีสีน้ำตาลถึงดำ สารสกัดจากส่วนต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณ TPC และ TFC สูงที่สุดคือ 381.98±2.45 mg GAE/g extract และ 193.99±6.91 mg CE/g extract ตามลำดับ และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธีพบว่า สารสกัดต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จากการพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เซรั่มที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสมีความหนืดเล็กน้อย จึงนำมาเติมสารสกัดต้นกำแพงเจ็ดชั้นสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในปริมาณร้อยละ 0.2 (w/w) จะได้ผลิตภัณฑ์เซรั่มที่มีลักษณะเป็นของเหลวมีความหนืดเล็กน้อยสีน้ำตาลอ่อนมีความข้นเล็กน้อย และทำการทดสอบเซรั่มที่มีส่วนผสมสารสกัดต้นกำแพงเจ็ดชั้น โดยทำการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี พบว่า การทดสอบที่สภาวะห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือนไม่พบความเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ แต่การทดสอบที่สภาวะ 50 องศาเซลเซียส พบความเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มขึ้น การทดสอบการวัดค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะอุณหภูมิห้องไม่แตกต่างจากความหนืดก่อนการทดสอบความคงตัว และเมื่อทดความความคงตัวที่สภาวะร้อนสลับเย็นและสภาวะเร่ง 50 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์มีความหนืดลดลงเล็กน้อย และจากการทดสอบความคงตัวทางเคมีของผลิตภัณฑ์ ค่าของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเริ่มต้น(D_0) ของการทดสอบมีค่า = 9.63±1.49 mg TE/g extract เมื่อทำการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating-Cooling Cycle (5 Cycles) และที่สภาวะ 50 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่ามีค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงคือ 2.43±0.65 mg TE/g และ 9.03±1.05 mg TE/g ตามลำดับ และการทดสอบเก็บสภาวะห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่ามีค่าของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเล็กน้อยคือ 9.03±1.05 mg TE/g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง จากการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ว่าความร้อนอาจส่งผลต่อความเสถียรของสารประกอบในสารสกัดกำแพงเจ็ดชั้นและมีผลทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง

Mae Fah Luang University

ข้อเสนอแนะ

1. ระยะเวลาในการทดสอบความคงตัวของสารสกัดน้อยเกินไป ควรใช้ระยะเวลาทดสอบ 2-3 เดือนขึ้นไป เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

2. บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม ควรเป็นขวดทึบแสงหรือขวดสีชา การจัดเก็บความหลีกเลี่ยงความร้อนและแสงแดด

เอกสารอ้างอิง

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2532). *เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

Brand-Williams, W, Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 28,* 25-30.

Keeragalaarachchi, K. A. G. P., Dharmadasa, R. M., Wijesekara, R. G. S. & Kudavidanage, E. P. (2016). Natural antidiabetic potential of salacia chinensis L. (Celastraceae) based on morphological, phytochemical, physico-chemical and bioactivity: A promising alternative for *Salacia reticulata* thw. *World Journal of Agricultural Research*, *4* (2), 49-55.

Morikawa, T., Akaki, J., Ninomiya, K., Kinouchi, E., Muraoka, O. (2015). Salacinol and related analogs: New leads for type 2 diabetes therapeutic candidates from the thai traditional natural medicine *Salacia chinensis*. *Nutrients*, *7*, 1480-1493.

Mae Fah Luang University