Published online: 26 July 2019

การเตรียมสารสกัดใบและดอกชบาเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับเส้นผม

Preparation of Leaf and Flower Extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* for Feasibility Study in Hair Product Development

บัญชา คูณณานันท์

อีเมล: koonnanant@gmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

อาจารย์ ดร. ณัฏฐาวุฒิ ฐิติปราโมทย์ อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล: natthawut.thi@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าอิสระนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบและดอกชบาด้วยตัวทำละลาย น้ำ, เอทานอล, เมทานอล และ ปิโตรเลียม อีเทอร์ และทดสอบความคงตัวของตำรับแฮร์โทนิคในการป้องกันเส้นผมจากการแก่ก่อนวัยหรือหลุดร่วงง่ายจากอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากดอกชบาด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) สูงที่สุดคือ 30.32±0.63 µg GAE/mg sample และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบรีดิวเฟอร์ริกไอออนเท่ากับสูงเท่ากับ 203.82±7.65 µg TEAC/g sample, 150.91±22.43 µg TEAC/mg sample และ 144.49±10.70 µg TEAC/mg sample ตามลำดับ ส่วนใบชบาที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์ (TFC) สูงที่สุดคือ 21.42±0.50 µg QE/mg sample และจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง พบว่าสารสกัดดอกชบาด้วยเอทานอล มีปริมาณ gallic acid 2.880 µg/mg sample, quercetin 0.044 µg/mg sample และ kaempferol 0.048 µg/mg sample ในขณะที่ใบชบามีปริมาณ gallic acid 1.593 µg/mg sample, quercetin 0.665 µg/mg sample และ kaempferol 1.486 µg/mg sample จากการที่สารสกัดดอกชบามีกลุ่มกรดฟีนอลิกและสารสกัดใบชบามีกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น quercetin, kaemferol จึงคาดว่าจะสามารถนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับเส้นผมที่ใช้สารสกัดดอกและใบชบาร่วมกัน โดยพิจารณาความเข้มข้นของสาร

สกัดแต่ละชนิดที่ใช้ในตำรับ เพื่อปกป้องเส้นผมแก่ก่อนวัยจากอนุมูลอิสระภายในภายนอก ซึ่งจะช่วยเสริมฤทธิ์ในการป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมจากฮอร์โมนในร่างกาย

คำสำคัญ: ชบา/ฟลาโวนอยด์/ฟีนอลิก/เส้นผม/อนุมูลอิสระ/แฮร์โทนิค

Abstract

The objective of this independent study were to extract bioactive compound and investigate the bioactivity of leaf and flower of *Hibiscus rosa-sinensis* extracted by four different solvents, including DI water, ethanol, methanol, and petroleum ether. The results showed that the ethanol extract of flower had the highest value of total phenolic content of 30.32±0.63 µg GAE/mg sample and also possessed the highest antioxidant activity investigated DPPH, ABTS, and FRAP assay with the free radical scavenging activity of 203.82±7.65 µg TEAC/g sample, 150.91±22.43 µg TEAC/mg sample, and 144.49±10.70 µg TEAC/mg sample respectively. While the ethanol extract of leaf showed the highest flavonoid content of 21.42±0.50 µg QE/mg sample. According to HPLC analysis, flower extract contained 2.880 µg gallic acid/mg sample, 0.044 µg quercetin/mg sample, and 0.048 µg kaempferol/mg sample. While leaf extract contained 1.593 µg gallic acid/mg sample, 0.665 µg quercetin/mg sample, and 1.486 µg kaempferol /mg sample. As the flower extract was rich in phenolic acid, whereas, the leaf extract was rich in flavonoids, i.e. quercetin and kaempferol, both extracts have great potential to be used together in hair product development for anti-aging of hair from free radical, which could synergist with the prevention of the hormone-related hair loss.

Keywords: Antioxidant/Flavonoid/Hair/*Hibiscus rosa-sinensis* /Phenolic/Tonic

บทนำ

ปัญหาผมร่วงผมบางเป็นปัญหาที่ทำให้เกิดความวิตกกังวล ขาดความมั่นใจ ทั้งในเพศชายและหญิง โดยสาเหตุมาจากฮอร์โมน และค่านิยมในการแต่งตัว แต่งทรงผม ที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์ย้อม ดัด แต่งสีผม ซึ่งจะส่งผลเสียต่อหนังศีรษะและเส้นผมในระยะยาวเมื่ออายุมากขึ้น นอกจากนี้ความเครียด วิถีชีวิตที่เร่งรีบ นอนดึก พักผ่อนน้อย ขาดการออกกำลังกาย ล้วนส่งผลกระทบต่อการไหลเวียนเลือดไปยังหนังศีรษะทำให้เส้นผมที่งอกใหม่มีขนาดเล็กลงและดูบางลง รวมถึงอนุมูล

Mae Fah Luang University

อิสระ ที่เกิดจากภายนอกและจากกระบวนการเผาผลาญอาหารของร่างกายเองก็ส่งผลทำให้เกิดการเสื่อมถอยของร่างกาย เกิดริ้วร้อย หรือแม้กระทั่งอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเจริญเติบโตของตัวเส้นผมในระยะ Anagen เองก็เป็นอนุมูลอิสระที่สามารถส่งผลกระทบกับต่อมรากผมได้ (ปิติ จันทร์วรโชติ, 2555) ปัจจุบันนอกจากยาแล้วยังมีผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผมและ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเช่น ไบโอติน โสม วิตตามินต่างๆ สำหรับเสริมสร้างเส้นผมให้แข็งแรง รวมถึงแฮร์โทนิคที่มีสารสกัดจากสมุนไพรที่ช่วยยับยั้งการหลุดร่วงและกระตุ้นการงอกใหม่ เช่น กะเม็ง ใบหมี่ อัญชัน มะหาด ดอกคำฝอย ข้าวสี

ชบา (*Hibiscus rosa-sinensis*) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณหลายด้าน ทั้ง ราก ใบ ดอก เปลือก ในคัมภีร์อายุรเวทพูดถึงสรรพคุณของดอกชบาว่าช่วยฟอกโลหิต บำรุงผิวพรรณและเส้นผม มีงานวิจัยเกี่ยวข้องกับสารสกัดชบาว่าสามารถก่อให้เกิดการเจริญเติบโตของรูขุมขนและเส้นผมได้ และยังช่วยป้องกันการเกิดผมร่วงจากอนุมูลอิสระได้ มีการศึกษาชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีที่มีในดอกชบาสายพันธ์ *Hibiscus rosa-sinensis* โดยใช้เมทานอล เป็นตัวทำละลายและใช้เครื่อง HPLC ตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด คือ rutin, quercetin, kaempferol, และ myricetin (Ayyakkannu et al., 2016) และยังมีศึกษาเปรียบเทียบการสกัดดอกชบาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำ, เอทานอล และ absolute ethanol เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Abd El-Moneim & Hazem , 2016) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบและดอกชบาในตัวทำละลายที่แตกต่างกันยังมีอยู่น้อย และส่วนใหญ่จะเน้นศึกษาเฉพาะดอกชบา ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบและจากดอกชบาด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พร้อมทั้งเตรียมตำรับแฮร์โทนิคที่ช่วยป้องกันเส้นผมไม่ให้แก่ก่อนวัยหรือหลุดร่วงจากอนุมูลอิสระ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบและดอกชบา
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบและดอกชบาจากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
3. เพื่อศึกษาความคงตัวของสารสกัดใบและดอกชบาในตำรับการป้องกันเส้นผมไม่ให้แก่ก่อนวัยหรือหลุดร่วงง่ายจากอนุมูลอิสระ

Mae Fah Luang University

ขอบเขตการวิจัย

สกัดสารสำคัญจากใบและดอกชบาด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ, เอทานอล, เมทานอล และ ปิโตรเลียม อีเทอร์ ในอัตราส่วนพืช (กรัม) : ตัวทำละลาย (มล.) เท่ากับ 1:10 ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยวิธีการหมักแช่ (maceration) ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS FRAP เตรียมผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคโดยนำสารสกัดชบาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมาเป็นสารสำคัญ ตลอดจนประเมินความคงตัวของตำรับในสภาวะเร่งด้วยวิธีร้อนสลับเย็น (Heating-Cooling Cycle Test) โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเข้าตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง รวมนับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำกัน 5 รอบ จากนั้นตรวจสอบลักษณะภายนอก เช่น pH สี ความข่น การแยกชั้น การตกตะกอน

การทบทวนวรรณกรรม

สารต้านอนุมูลอิสระ มีหน้าที่ช่วยควบคุมอนุมูลอิสระให้อยู่ในปริมาณที่สมดุล คอยทำลายสิ่งแปลกปลอมที่ได้จากสิ่งแวดล้อมภายนอก ทั้งมลพิษทางอากาศ แสงแดด ฝุ่น และควันจากของปิ้งย่างทั้งหลาย เพราะหากหนังศีรษะมีความมันมากอยู่แล้ว และได้รับสิ่งเหล่านี้เข้าไปอีก จะทำให้อนุมูลอิสระสะสมตัวกันมากขึ้น จนกลายเป็นสารพิษที่ส่งผลให้เกิดผมร่วงผมบางได้เพราะเหตุนี้ร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อควบคุมเจ้าอนุมูลอิสระที่ไม่ดีให้อยู่อย่างเป็นระเบียบ และเพื่อคงความสมดุลไว้ แต่เมื่อมีอายุมากขึ้นร่างกายจะไม่สามารถควบคุมความสมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระได้ ก็อาจจะส่งผลให้เส้นผมหลุดร่วงได้ง่าย เพราะเหตุผลนี้คนที่มีสภาวะเส้นผมไม่แข็งแรง เส้นผมหลุดร่วงง่าย ผมบาง จึงจำเป็นต้องหาสารต้านอนุมูลอิสระมาเป็นตัวช่วย ดอกชบาและใบชบามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพช่วยต้านอนุมูลอิสระ สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) โดยเพิ่มความแข็งแรงของเส้นใยโปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) จึงลดการทำลายจากอนุมูลอิสระอันตรายที่สำคัญ ได้แก่ DPPH • , $O_2^{\bullet-}$, OH• , O_2 และ H_2O_2 นอกจากนี้ยังช่วยการขยายหลอดเลือดและกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดทำให้เลือดไปเลี้ยงรากผมมากขึ้น เส้นผมจึงแข็งแรง ไม่หลุดร่วง ช่วยลดการหลุดร่วงของเส้นผม กระตุ้นให้เส้นผมดำ ชะลอผมหงอก ช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและมีฤทธิ์ต้านรังสียูวี (อรัญญา จุติวิบูลย์สุข, 2552)

Ayyakkannu et al. (2016) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระ DPPH จากดอกชบาโดยใช้ 80% เมทานอล เป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วน พืช:

Mae Fah Luang University

สารละลาย 50g : 500 mL ด้วยวิธี maceration พบว่าดอกชบามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงและให้ฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระดีเยี่ยม จากนั้นใช้เครื่องโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง (HPLC) ตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ 4 ชนิด คือ rutin, quercetin, kaempferol, และ myricetin โดยมีปริมาณตามลำดับดังนี้ rutin 4104.0 µg /g, quercetin 7.6 µg /g, kaempferol 361.9 µg /g and myricetin 50.7 µg /g (Ayyakkannu et al., 2016) และยังมีงานศึกษาสกัดดอกชบาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำ 80% Ethanol และ Absolute Ethanol ในอัตราส่วน 1 กรัม ต่อ 10 mL พบว่าสารสกัดด้วย 80% Ethanol ให้ปริมาณ Phenolic รวมสูงที่สุด (281.23 ± 21.68) mg/100 g ในขณะที่สารสกัดทั้ง 3 ชนิดให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ใกล้เคียงกัน และพบว่าสารสกัดจาก 80% Ethanol และ Absolute Ethanol ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สูงกว่าสารสกัดน้ำ (Abd El-Moneim & Hazem , 2016)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. นำใบและดอกชบาจากพื้นที่ อำเภอบางกรวย นนทบุรี ทำให้แห้งด้วยการตากแห้ง (Air dry) หรือ อบให้แห้งด้วยตู้อบอุณหภูมิไม่เกิน 45 องศา จนน้ำหนักคงที่แล้วบดละเอียด สกัดสารจากใบและดอกชบาด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ, เอทานอล, เมทานอล และ ปิโตรเลียม อีเทอร์ ในอัตราส่วนพืช (กรัม) : ตัวทำละลาย (มล.) = 1:10 ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยวิธีการหมักแช่ (Maceration) ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกให้แห้งภายใต้การควบคุมความดันด้วย Rotary vacuum evaporator ที่ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบ ทำซ้ำ 3 ชุด

2. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยรายงานค่าในรูปปริมาณเทียบเท่ากรดแกลลิก (Gallic Acid Equivalent; GAE) ต่อกรัมสารสกัด และปริมาณเทียบเท่าเควอซิติน (Quercetin Equivalent; QE) ต่อกรัมสารสกัด ทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP assay ตามลำดับ รายงานผลเป็นปริมาณ เทียบเท่าโทรล็อกซ์ (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC) ต่อกรัมสารสกัด ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

4. นำสารสกัดใบและดอกชบาที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มาวิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง (HPLC) เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ gallic acid quercetin และ kaempferol ใช้ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50 mg/ml

5. นำสารสกัดชบาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมาเตรียมผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคเพื่อทดสอบ pH สี กลิ่น และความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธีร้อนสลับเย็น (Heating-Cooling Cycle Test) โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น

Mae Fah Luang University

นำเข้าตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง รวมนับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำกัน 5 รอบ จากนั้นตรวจสอบลักษณะภายนอก เช่น สี ความขุ่น การแยกชั้น การตกตะกอน

6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยแสดงผลการศึกษาในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และประเมินความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ ANOVA โดยค่า p-value < 0.05 แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ จากนั้นหาค่า Linear regression และ Pearson Correlation โดยค่า p-value < 0.05 แสดงถึงมีความสัมพันธ์กันระหว่าตัวแปร

ผลการวิจัย

1.การสกัดสารจากใบและดอกชบา

สารสกัดด้วยเมทานอล ให้ yield ดีที่สุดทั้งจากดอกชบาและใบชบาด้วยปริมาณร้อยละ 19.46±0.68 และ 15.15±0.44 ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดจากเอทานอล จากดอกชบาและใบชบาด้วยปริมาณร้อยละ 11.82±0.96 และ10.75±0.61 ตามด้วย DI Water และ Petroleum Ether

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

โดยรวมสารสกัดจากดอกจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากใบ ยกเว้นสารสกัดจาก Petroleum Ether โดยสารสกัดจากดอกด้วยเอทานอล ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดคือ 30.32±0.63 µg GAE/mg sample รองลงมาคือสารสกัดจากดอกด้วยเมทานอล 20.41±0.26 µg GAE/mg sample ตามตารางที่ 1

3. ปริมาณสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์

สารสกัดจากใบได้ปริมาณสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดจากดอกชบา โดยสารสกัดจากใบด้วยเอทานอล ได้ปริมาณสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์สูงสุดคือ 21.42±0.50 µg QE/mg sample รองลงมาคือสารสกัดจากใบด้วยเมทานอล 18.89±0.18 µg QE/mg sample ตามตารางที่ 1

Mae Fah Luang University

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และปริมาณสารประกอบรวมฟลาโวนอยด์ (TFC) ของสารสกัดดอกและใบชบา

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	TPC (µg GAE/mg sample)	TFC (µg QE/mg sample)
ดอกชบา	DI Water	16.87±0.95[c]	2.27±0.07[b]
	Ethanol	30.32±0.63[a]	4.56±0.37[a]
	Methanol	20.41±0.26[b]	2.39±0.04[b]
	Petroleum Ether	0.22±0.14[d]	1.45±0.27[c]
ใบชบา	DI Water	10.22±0.98[b]	15.58±1.30[c]
	Ethanol	10.77±0.12[a]	21.42±0.50[a]
	Methanol	6.90±0.34[c]	18.89±0.18[b]
	Petroleum Ether	3.72±0.31[d]	9.84±0.82[d]

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีนัยสำคัญทางสถิติ Duncan test of ANOVA ($p<0.05$)

4. ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

สารสกัดจากดอกด้วยเอทานอล มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงสุดคือ 203.82±7.65 µg TEAC/mg sample รองลงมาคือสารสกัดจากดอกด้วยเมทานอล 176.67±15.48 µg TEAC/mg sample ตามตารางที่ 2

5. ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

สารสกัดจากดอกด้วยเอทานอลมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สูงสุดคือ 150.91±22.43 µg TEAC/mg sample รองลงมาคือสารสกัดจากดอกด้วยเมทานอล 117.21±3.52 µg TEAC/mg sample ตามตารางที่ 2

6. ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

สารสกัดจากดอกด้วยเอทานอลมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงสุดคือ 144.49±10.70 µg TEAC/mg sample รองลงมาคือสารสกัดจากดอกด้วยเมทานอล 124.06±3.26 µg TEAC/mg sample ตามตารางที่ 2

Mae Fah Luang University

ตารางที่ 2 ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP ของสารสกัดใบและดอกชบา

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารต้านออกซิเดชั่น (μg TEAC/mg sample)		
		DPPH	ABTS	FRAP
ดอกชบา	DI Water	147.58±2.85^{c}	83.29±7.12^{c}	112.26±1.41^{c}
	Ethanol	203.82±7.65^{a}	150.91±22.43^{a}	144.49±10.70^{a}
	Methanol	176.67±15.48^{b}	117.21±3.52^{b}	124.06±3.26^{b}
	Petroleum Ether	24.08±3.92^{d}	45.12±7.88^{d}	32.42±1.07^{d}
ใบชบา	DI Water	53.85±4.70^{b}	44.63±0.81^{b}	53.82±2.52^{b}
	Ethanol	35.40±1.80^{c}	46.88±11.09^{b}	48.16±0.72^{c}
	Methanol	28.83±2.10^{d}	40.75±0.77^{b}	49.10±1.32^{c}
	Petroleum Ether	69.34±6.02^{a}	69.66±13.69^{a}	58.01±3.72^{a}

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีนัยสำคัญทางสถิติ Duncan test of ANOVA ($p<0.05$)

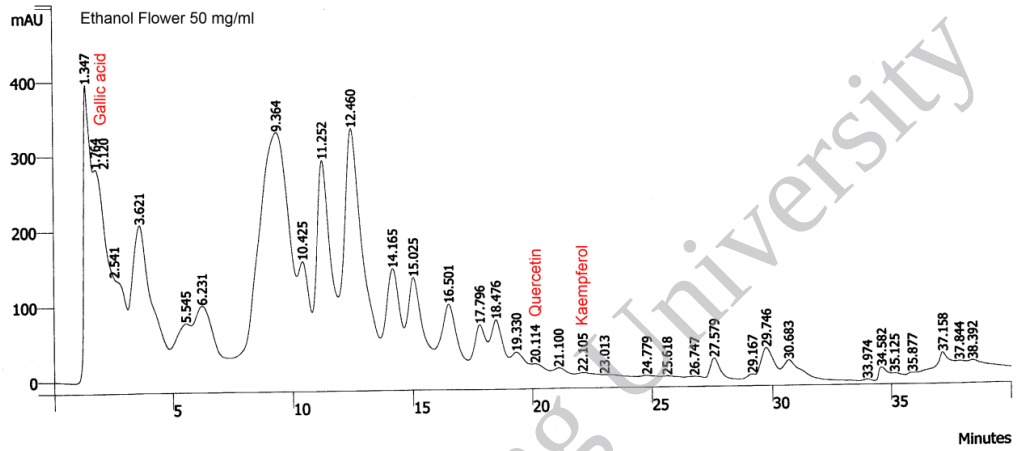
7. ความสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดอกและใบชบา

จากการวิเคราะห์ผลการวิจัยสารสกัดดอกชบาด้วย linear regression และ correlation พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ABTS FRAP มีความสัมพันธ์เชิงบวกระดับสูงด้วยค่า R correlation ที่มากกว่า 0.9 ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (TFC) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ABTS FRAP มีค่าความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับที่น้อยลงมา ในขณะที่สารสกัดจากใบชบาจะมีค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์กับปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงลบระดับสูง เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบในแต่ละตัวทำละลายมีปริมาณใกล้เคียงกันไม่โดดเด่นและมีปริมาณฤทธิ์ต่ำกว่าดอกมาก นอกจากนั้นสารสกัดใบด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ต่ำสุด กลับมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดอื่น ซึ่งสารสกัดใบด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์นี้เองที่มีอิทธิพลสำคัญทำให้ได้ค่า R correlation ติดลบ

Mae Fah Luang University

8. การวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง (HPLC)

นำสารสกัดใบและดอกชบาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลซึ่งมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มาวิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีแบบของเหลวความดันสูง โดยใช้ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ได้ผลแสดงดังภาพที่ 1 พบว่าค่า retention time ของสารมาตรฐาน gallic acid quercetin และ kaempferol อยู่ที่ 1.929, 20.640 และ 23.123 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 โครมาโตรแกรมของดอกชบาที่สกัดด้วยเอทานอล

และมีปริมาณสารสำคัญในสารสกัดใบและดอกชบา ได้ผลดังตารางที่ **6** สารสกัดดอกชบามีปริมาณ gallic acid เท่ากับ 2.880 µg/mg sample ในขณะที่สารสกัดใบชบามีเพียง 1.593 µg/mg sample สำหรับสารสกัดใบชบาพบปริมาณสาร quercetin และ kaempferol 0.665 µg/mg sample และ 1.486 µg/mg sample ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในดอกชบาที่มีเพียง 0.044 µg/mg sample และ 0.048 µg/mg sample ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดใบและดอกชบาด้วยการวิเคราะห์ HPLC

สารสกัด	สารสำคัญ	Retention time		Peak area		ปริมาณ
		Standard	Sample	Standard	Sample	µg/mg sample
ดอกชบา	Gallic acid	1.929	1.764	53,174,408	67,837,144	2.880
	Quercetin	20.640	20.114	38,454,776	835,027	0.044
	Kaempferol	23.123	22.105	24,850,738	603,080	0.048
ใบชบา	Gallic acid	1.929	1.764	53,174,408	37,519,456	1.593
	Quercetin	20.640	20.114	38,454,776	12,500,930	0.665
	Kaempferol	23.123	22.105	24,850,738	18,852,916	1.486

Mae Fah Luang University

9. การเตรียมตำรับแฮร์โทนิคดอกชบา

เตรียมตำรับที่เน้นการดูดซึมได้ดีและไม่ระคายเคือง ในสูตรจึงเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายหลักปริมาณร้อยละ 60 ร่วมกับ DI Water มี Propylene Glycol เป็นสารให้ความชุ่มชื้น Phenoxyethanol เป็นสารกันเสีย ใส่ Peppermint Oil เพื่อปรับกลิ่นและให้ความเย็น โดยใช้สารสกัดชบาที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 , 3

10. การทดสอบความคงตัวตำรับแฮร์โทนิคดอกชบา

นำแฮร์โทนิคไปทดสอบวิธีร้อนสลับเย็น (Heating-Cooling Cycle Test) เป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง ทำซ้ำจำนวน 5 รอบ พบว่าแฮร์โทนิคที่ได้มีลักษณะเหลวใส ไม่เกิดตะกอน ไม่แยกชั้น pH และความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีในผลิตภัณฑ์มีโทนอ่อนลงและสว่างขึ้นจากสีแดงเข้มเป็นสีส้มแดง

สรุปผลการทดลอง

จากการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดจากดอกชบาด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดทั้งสามวิธี และโดยรวมสารสกัดดอกชบามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบชบา ทั้งนี้เนื่องมาจากในดอกชบามีสารกลุ่มกรดฟีนอลิกทั้งหมด เช่น gallic acid ปริมาณสูง ทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าใบชบาที่มีสารหลักกลุ่มฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังอาจสอดคล้องกับสีแดงของดอกชบาที่มีสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารที่ให้ฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระที่สูงด้วยเช่นกัน และจากการทดสอบทางสถิติพบว่าสารสกัดดอกชบามีค่า R correlation ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงถึง 0.969 สำหรับสารสกัดจากใบชบานั้น สารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดทั้งสามวิธี ถึงแม้ว่าสารสกัดใบด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ต่ำที่สุด แสดงว่าสารสำคัญที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารสกัด Petroleum Ether นี้ น่าจะเป็นสารในกลุ่มอื่นที่นอกเหนือจากฟลาโวนอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับศึกษาของ Punasiya et al., (2014) ที่พบว่าสารสกัดใบชบาที่สกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ มีสารกลุ่ม Steroids และ Tannins สูง ในขณะที่ฟลาโวนอยด์มีปริมาณต่ำ นอกจากนี้การเตรียมตำรับแฮร์โทนิคและทดสอบความคงตัว พบว่าแฮร์โทนิคที่ได้ มีเนื้อใส ไม่เกิดตะกอน ไม่แยกชั้น pH ไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีจะจางลงจากแดงเข้มเป็นแดงส้ม ทั้งนี้เนื่องจากสีแดงในดอกชบาคือสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารที่ไม่ทนความร้อน แสงสว่าง

Mae Fah Luang University

ข้อเสนอแนะ

1.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในดอกชบามีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากในดอกชบามีเกสรที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูงและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก แต่งานศึกษาวิจัยเกสรดอกชบาโดยเฉพาะยังมีอยู่จำกัดจึงเป็นจุดที่น่าสนใจศึกษาต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าในสารสกัดใบชบาด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ น่าจะมีสารสำคัญกลุ่มอื่นที่ให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งอาจเป็นสารกลุ่ม steroids และ tannins สูง (Punasiya et al., 2014)

2.การนำสารสกัดใบและดอกชบามาใช้ร่วมกันในตำรับแฮร์โทนิคจะสามารถปกป้องเส้นผมแก่ก่อนวัยจากอนุมูลอิสระและป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมจากฮอร์โมนในร่างกาย สร้างผมใหม่ที่แข็งแรงกว่าเดิมป้อง เนื่องจากในสารสกัดดอกมีสารกลุ่มกรดฟีนอลิก เช่น gallic acid ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ในขณะที่สารสกัดใบมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น quercetin, kaemferol, myricetin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งฮอร์โมน 5 α –reductase และลดอาการผมร่วงได้ (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2553)

รายการอ้างอิง

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. (2553). กลไกลรักษาอาการผมร่วงของสารเคมี พฤกษเคมี และสารสกัดธรรมชาติโดยการออกฤทธิ์ต่อฮอโมน. รายงานผลการวิจัย .คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ปิติ จันทร์วรโชติ. (2555). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับผิวหนังและเส้นผม. กรุงเทพฯ: นานะภงค์.

อรัญญา จุติวิบูลย์สุข. (2552). สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ Natural Antioxidants. เครื่องสำอางเพื่อความงามและสุขภาพ. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ (น.55-57). กรุงเทพฯ: กรุงเทพเวชสาร.

Abd El-Moneim, M.R.A., & Hazem, M. M. H. (2016). Free radical scavenging activity of three different flowers-Hibiscus rosa-sinensis. *Asian Pac J Trop Biomed 2016*, 6(9), 771–777.

Ali M., Alam P., Singh V., Jameel M., & Sultana S. (2017). Phytochemical investigations of the leaves and flowers of *Hibiscus rosa-sinensis L*. Indian Drugs, 54 (10), 30-37.

Ayyakkannu, P., Packirisamy, M., Saravanan, S., Ramalingam, S., & Nallappan,S. (2016). Quantification of Total Phenolic Content, HPLC Analysis of Flavonoids and Assessment of Antioxidant and Anti-haemolytic Activities of *Hibiscus rosa-sinensis L*. Flowers in vitro. *Int J Pharma Res Health Sci*, 4 (5), 1342-1350.

Mae Fah Luang University

Punasiya, R., Verma, R., & Pillai, S. (2014). *In vitro* hair growth promoting activity of various leaves extract of *Hibiscus syriacus L.* on albino rats. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 5(5), 3565-3569.

Mae Fah Luang University