

## ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกตะวัน

### Antioxidant Capacity of *Croton Thorelii* Gagnep Extract

เธียรรินรดี วิสุทธิแพทย์

อีเมล: thienrinradee.w@gmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง  
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

อำภา จิมไธสง

อีเมล: ampa@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกตะวัน (*Croton thorelii* Gagnep) ซึ่งเป็นพืชพันธุ์ใหม่ที่ปลูกในจังหวัดตราด โดยเริ่มจากการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลาย 2 ระบบ คือ เอทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลมี % Yield เท่ากับร้อยละ 12.2 ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำมีค่าร้อยละ 17.65 วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalten พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ  $585.41 \pm 0.47$ ,  $564.52 \pm 0.20$  และ  $533.14 \pm 0.25$  mg GAE/g Crude Extract ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำ ( $176.99 \pm 0.02$  mg GAE/g Crude Extract) ประมาณ 3 เท่า เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยวิธี Aluminium Chloride พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ  $28.51 \pm 0.07$ ,  $21.39 \pm 0.35$  และ  $20.61 \pm 0.43$  mg QAE/g Crude Extract ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำ ( $6.12 \pm 0.03$  mg QAE/g Crude Extract) ประมาณ 3-5 เท่า เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $125 \pm 0.11$ ,  $175 \pm 0.21$  และ  $185 \pm 0.81$   $\mu$ g/ml ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $190 \pm 0.11$   $\mu$ g/ml แต่มีประสิทธิผลต่ำกว่ากรดแอสคอร์บิก ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $13.27 \pm 0.01$   $\mu$ g/ml) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Reducing Power พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ  $36.77 \pm 0.01$ ,  $34.7 \pm 0.01$  และ  $23.21 \pm 0.01$   $\mu$ g AAE/mg Extract ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำ ( $21.34 \pm 0.02$   $\mu$ g AAE/mg Extract)

ประมาณ 1.5 เท่า จากนั้นพัฒนาตำรับอิมัลชัน O/W ผสมสารสกัดหยาบ 3% พบว่า ครีมเบสผสมสารสกัดทั้ง 2 ระบบมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ลดลงประมาณ 20 % หลังจากการทดสอบ Heating - Cooling Cycle จำนวน 6 รอบ ผลจากงานวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบเปลือกตะวันเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ จึงมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

**คำสำคัญ:** เปลือกตะวัน/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ความคงตัว

### **Abstract**

The main objective of this work was to determine the antioxidant capacity of Plautawan which is a new specie planted in Trat province, Thailand. Plautawan leaf and twig were extracted by ethanol and water. Ethanol crude extract has 12.2 % yield which is lower than 17.65 % of water crude extract. The total phenolic compound determined by Folin-Ciocalten Phenol Test showed that ethanol crude extract of 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> were  $585.41 \pm 0.47$ ,  $564.52 \pm 0.20$  and  $533.14 \pm 0.25$  mg GAE/g crude extract, respectively which were 3 times higher than that of water crude extract ( $176.99 \pm 0.02$  mg GAE/g Crude Extract). Meanwhile, flavonoid content determined by Aluminium Chloride Colorimetric Assay showed that ethanol crude extract of 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> were  $28.51 \pm 0.07$ ,  $21.39 \pm 0.35$  and  $20.61 \pm 0.43$  mg QAE/g crude extract respectively which were 3-5 times higher than water crude extract ( $6.12 \pm 0.03$  mg QAE/g crude extract). The 50% inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) value of ethanol crude extract of 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> by DPPH were  $125 \pm 0.11$ ,  $175 \pm 0.21$  and  $185 \pm 0.81$  µg/ml which were 1.5 times lower than IC<sub>50</sub> of water crude extract ( $190 \pm 0.11$  µg/ml). However, Plautawan crude extracts have lower antioxidant capacity when compared to IC<sub>50</sub> of ascorbic acid ( $13.27 \pm 0.01$  µg/ml). Also, reducing power of ethanol extract of 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> were  $36.77 \pm 0.01$ ,  $34.7 \pm 0.01$  และ  $23.21 \pm 0.01$  µg Ascorbic Acid Equ/mg extract accordingly which were higher than aqua extract ( $21.34 \pm 0.02$  µg Ascorbic Acid Equ/mg extract). Plautawan crude extract was applied in O/W emulsion at 3% concentration. After heating - cooling cycle test, it was found that % DPPH inhibition of the product decreased about 20%. In conclusion, Plautawan crude extract was source of natural antioxidants with relatively low antioxidant capacity comparing to standard ascorbic acid.

**Keywords:** Plautawan/antioxidant capacity/stability

## บทนำ

ธุรกิจเครื่องสำอางเป็นอีกสาขาธุรกิจที่กำลังเติบโตและขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ผู้ผลิตแต่ละรายพยายามสร้างนวัตกรรมใหม่เพื่อพัฒนาและสร้างจุดเด่นให้ผลิตภัณฑ์ รวมถึงการใช้วัตถุดิบที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น ผู้วิจัยเป็นผู้ปลูกสมุนไพรเปล้าตะวัน (*Croton thorelii* Gagnep) ซึ่งเป็นพืชพันธุ์ใหม่ที่ใช้ประโยชน์ในการบำบัดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร แต่ยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ทางด้านเครื่องสำอาง จากงานวิจัยเบื้องต้นพบว่า ใบของเปล้าตะวันมีสารประกอบกลุ่ม Plauental, Alkaloid, Flavonoids, Triterpenoids และ Plant Sterols (วนิดา มงคล, สุปิยะ อีเต และสุภัก บุญเพียรผล, 2550) และสารกลุ่ม Alkaloids, Flavonoids และ Triterpenoids นี้เป็นสารพฤษเคมีที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมเพิ่มภูมิคุ้มกันร่างกาย ควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน และลดความเสียหายที่เกิดขึ้นกับ DNA ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยลดการก่อเกิดเซลล์มะเร็งได้ และอีกกลุ่มสารที่พบคือ Plant Sterols และผลการวิเคราะห์ผงเปล้าตะวัน ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี พบปริมาณสารเปลานโทล ( $C_{20}H_{34}O_2$ )  $2.21 \pm 0.17$  g/kg (อมร เพชรสม, 2548) ผู้วิจัยจึงสนใจนำสมุนไพรเปล้าตะวันมาเตรียมในรูปแบบสารสกัดหยาบ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอางและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรของไทย

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เตรียมสารสกัดเปล้าตะวัน
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปล้าตะวัน
3. ทดสอบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดเปล้าตะวันในครีมมาตรฐาน

## ขอบเขตของการวิจัย

1. เตรียมสารสกัดจากเปล้าตะวันแห้งจากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำ และเอทานอล
2. วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเปล้าตะวัน
3. ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 วิธี คือ DPPH และ Reducing Power
4. การทดสอบความคงตัวและประสิทธิภาพของครีมเบสผสมสารสกัดเปล้าตะวัน

## วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดเปล้าตะวัน โดยนำเปล้าตะวันมาบดเป็นผงละเอียด และนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ระบบ โดยเตรียมสัดส่วนน้ำหนักของผงพืชแห้งต่อปริมาณตัวทำละลาย 1:3 (w/v) สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอลที่อุณหภูมิห้อง กวนด้วย Magnetic Stirrer เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เก็บ

สารละลายที่ได้แล้วเติมสารละลายใหม่โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง และสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงแล้วเก็บสารละลายที่ได้ทั้ง 2 ระบบมากรองผ่านกระดาษกรอง และนำไปประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จดบันทึกลักษณะทางกายภาพและชั่งน้ำหนัก สารสกัดที่ได้เพื่อคำนวณหาปริมาณเนื้อสารที่สกัดได้ (% yield) จากนั้นวัดค่า pH และประเมิน ลักษณะทางกายภาพด้านสี กลิ่น ค่าการดูดกลืนแสง และความสามารถในการละลายใน Propylene Glycol และ Glycerin

2. การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 12.5-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ละลายสารสกัดด้วยเมทานอล นำสารสกัดแต่ละชนิดมา 0.5 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชม. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร คำนวณหาสารประกอบ ฟีนอลิกในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลต่อกรัมสารสกัด (mg of Gallic Acid Equivalent / g Extract)

3. การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum Chloride โดยใช้เคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้น 12.5-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ละลายสารสกัดด้วยเมทานอล นำสารสกัดแต่ละชนิดมา 0.5 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วเติมเอทานอลลงไป 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% Aluminium Chloride 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปเติม 1 M Potassium Acetate 0.1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานเคอร์ซีตินในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด (mg of Quercetin Equivalent / g Extract)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH โดยการชั่ง Ascorbic Acid มา 0.1g และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยสารละลายเอทานอลจะได้ Ascorbic Acid ที่มีความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.56, 3.12, 6.25 และ 25  $\mu\text{g/ml}$  โดยปีเปิดสารละลาย Ascorbic Acid จากขวดที่มีความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  มาปริมาตร 15.6  $\mu\text{l}$ , 31.2  $\mu\text{l}$ , 62.5  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{l}$  ตามลำดับ เตรียม DPPH ที่ความเข้มข้น 60  $\mu\text{g/ml}$  โดยชั่งสาร DPPH มา 0.006 g ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยสารละลายเอทานอลผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิดด้วยพาราฟิน และหุ้มด้วยกระดาษฟรอนด์เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้โดนแสง นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25°C และเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความ

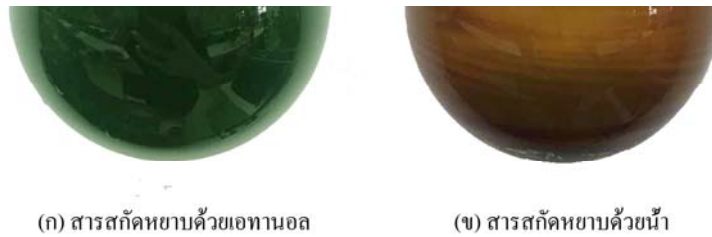
เข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000  $\mu\text{g/ml}$  เติมสารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 60  $\mu\text{g/ml}$  มา 1,000  $\mu\text{l}$  เติมในสารสกัดและ Ascorbic Acid ทุกหลอด ทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืดและที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 517 nm วิธีการเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เอทานอล 95% แทนตัวอย่างในการทำ Blank และ Control (วิลาวัลย์ บุญยสุภา, 2554)

5. การทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Reducing Power โดยชั่งสาร Dibasic Sodium Phosphate 37.50 มิลลิกรัมของ 0.2 โมลาร์ ผสมกับ Monobasic Sodium Phosphate 62.5 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิกรัม วัดค่า pH ได้ 7.4 แล้วเตรียมสารมาตรฐาน Ascorbic Acid ที่ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 90  $\mu\text{l/ml}$  ตามลำดับ โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500  $\mu\text{l/ml}$  นำสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆมาเติม Phosphate Buffer 2.5 มิลลิกรัม และ Potassium Ferricyanide 2.5 มิลลิกรัม แล้วนำไปต้มใน Water Bath อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 20 นาที และนำสารที่เตรียมมา cooling แล้วเติม 10% Trichloro Acetic Acid 2.5 มิลลิกรัมแล้วนำไป Centrifuge ที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดสารส่วนบนของหลอด Centrifuge 2.5 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นปริมาณ 2.5 มิลลิกรัมและ Ferric Chloride Solution 0.5 มิลลิกรัม แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น โดยผลแสดงค่าเป็น  $\mu\text{g Ascorbic Acid Equ/mg extract}$  (Jayanthi & Lalitha, 2011)

6. การทดสอบความคงตัวและประสิทธิภาพของครีมเบสผสมสารสกัด โดยเตรียมเบสครีมมาตรฐานและผสมสารสกัดหยาบเข้าตำรับในครีมที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 ตำรับอย่างละ 50 กรัม ทดสอบความคงตัวของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH หลังผลิตเสร็จทันที และนำครีมเบสผสมสารสกัดหยาบทั้ง 2 ระบบมาทดสอบ โดยผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง คือ สภาวะ Heating - Cooling Cycle (อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 วันสลับกับอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 วัน) นับเป็น 1 รอบ โดยทำทั้งหมดจำนวน 6 รอบ (สิริทิพย์ โชติรัตน์, 2559) และทดสอบความคงตัวของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH อีกครั้ง

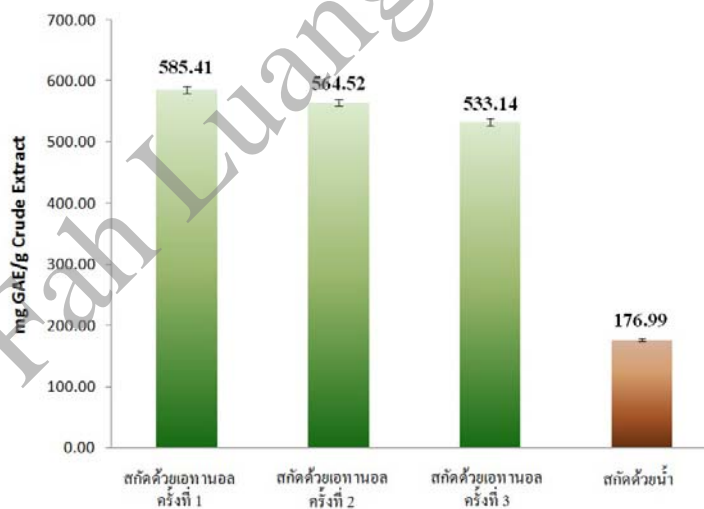
### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

นำผงเปลือกมะม่วงมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ระบบ โดยเตรียมสัดส่วนน้ำหนักของผงพืชแห้งต่อปริมาณตัวทำละลาย 1:3 (w/v) ได้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลสี่เขียวเข้ม และสารสกัดหยาบด้วยน้ำสีน้ำตาลเข้มดังภาพที่ 1



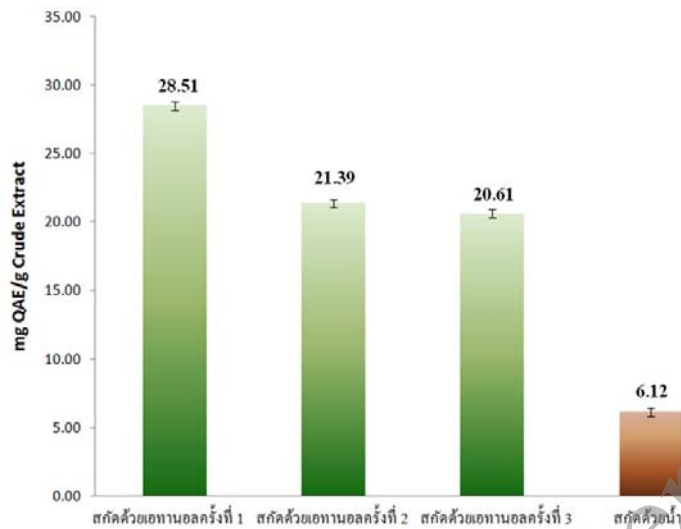
ภาพที่ 1 สารสกัดหยาบเปลือกตะวัน

โดยมี % Yield ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลรวมได้ร้อยละ 12.2 ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดด้วยน้ำที่มีค่าร้อยละ 17.65 และวัดค่า pH ได้  $6.69 \pm 0.01$  และ  $6.17 \pm 0.02$  ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu Phenol Test (ดัดแปลงวิธีมาจาก Amin et al., 2006) พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลสกัดครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณสารฟีนอลิกรวม คือ  $585.41 \pm 0.47$ ,  $564.52 \pm 0.20$  และ  $533.14 \pm 0.25$  mg GAE/g Crude Extract ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำประมาณ 3 เท่าโดยมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ  $176.99 \pm 0.02$  mg GAE/g Crude Extract ถือว่า การสกัดด้วยเอทานอลทั้ง 3 ครั้งคุ้มค่าต่อเวลาและต้นทุนที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดตามภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเปลือกตะวัน

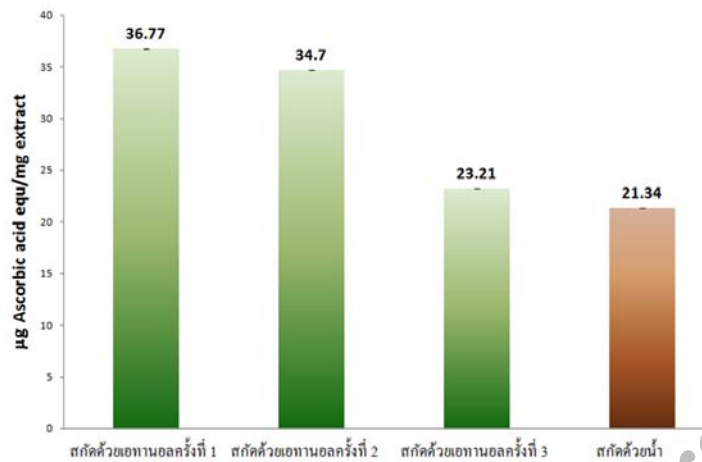
เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบเปลือกตะวัน โดยวิธี Aluminium Chloride (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak et al., 2008) พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวม คือ  $28.51 \pm 0.07$ ,  $21.39 \pm 0.35$  และ  $20.61 \pm 0.43$  mg QAE/g Crude Extract ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำประมาณ 3-5 เท่าโดยมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ  $6.12 \pm 0.03$  mg QAE/g Crude Extract ตามภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกตะวัน

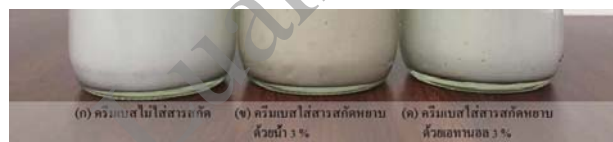
นำสารสกัดหยาบทั้ง 2 ระบบมาทดสอบหาประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity (วิลาวลัย บุษย์ศุภา, 2554) พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $125 \pm 0.11$ ,  $175 \pm 0.21$  และ  $185 \pm 0.81$   $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $190 \pm 0.11$   $\mu\text{g/ml}$  ประมาณ 1.5 เท่า แสดงว่า สารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณสูงในสารสกัดเอทานอล คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH แต่สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิก ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $13.27 \pm 0.01$   $\mu\text{g/ml}$ )

เมื่อทดสอบความสามารถที่เปลี่ยน  $Fe^{3+}$  เป็น  $Fe^{2+}$  (Reducing effect) โดยวิธี Reducing Power ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดสามารถแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สารมาตรฐาน Ascorbic Acid ในการเปรียบเทียบผล จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ  $36.77 \pm 0.01$ ,  $34.7 \pm 0.01$  และ  $23.21 \pm 0.01$   $\mu\text{g Ascorbic Acid Equ/mg extract}$  ตามลำดับแสดงตามภาพที่ 4 มีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำมีค่า  $21.34 \pm 0.02$   $\mu\text{g Ascorbic Acid Equ/mg extract}$  ประมาณ 1.5 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีฤทธิ์ Reducing Power มากกว่าสารสกัดหยาบเปลือกตะวัน



ภาพที่ 4 กราฟความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบเปลือกตะวัน

เมื่อประยุกต์ใช้ในตำรับครีมเบส Oil-in-Water ผสมสารสกัด 3% พบว่า ครีมเบสที่ผสมสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลและน้ำมีค่า pH เพิ่มขึ้นจากค่า  $5.51 \pm 0.31$  ของครีมเบสมาตรฐานเป็น  $5.74 \pm 0.19$  และ  $5.95 \pm 0.22$  ตามลำดับ และค่าความหนืดลดลงจาก 4,455 cps เป็นค่า 4,385 cps และ 4,275 cps ตามลำดับ แต่ไม่พบการแยกชั้นในทุกสูตรตำรับตามภาพที่ 5



ก่อนสถานะ Heating - Cooling Cycle



หลังสถานะ Heating - Cooling Cycle

ภาพที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของครีมผสม 3 % สารสกัดหยาบ

ตามทฤษฎีความเข้มข้น 3% ของสารสกัดหยาบจะให้ประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 100% ผู้วิจัยนำตำรับครีมเบสทุกสูตรที่ผลิตเสร็จทันทีและหลังสถานะ Heating - Cooling Cycle มาหาประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระเป็นวิธีอ้างอิงมาจาก Braca, A., Sortino, C., and Politi M., (2002) พบว่า ครีมเบสผสมสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลหลังสถานะเร่งมีประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระลดลงครีมเบสที่ผลิตเสร็จทันทีจาก 84% เป็น 66% ในขณะที่ครีมเบสผสมสารสกัดหยาบด้วยน้ำหลังสถานะเร่งมีประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระลดลงครีมเบสที่ผลิตเสร็จทันทีจาก 82% เป็น 62% สรุปได้ว่า ครีมเบสทั้ง 2 สูตรมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระระดับปาน



กลาง เนื่องจากค่าต้านอนุมูลอิสระของครีมที่ผลิตเสร็จมีค่าน้อยกว่าทฤษฎี 16% และการยับยั้งอนุมูลอิสระหลังสภาวะเร่งมีค่าลดลงเกือบ 40% ทั้งนี้อาจเนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมตำรับครีมเพื่อนำไปวัดประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกมาได้ทั้งหมด

### สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลมี % Yield น้อยกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำประมาณ 30% แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลมีค่าดังกล่าวมากกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำถึง 3 เท่า แสดงว่า การสกัดด้วยเอทานอลทั้ง 3 ครั้งคุ้มค่าต่อเวลาและต้นทุนที่ใช้ในการเตรียมสารสกัด นอกจากนี้เมื่อทดสอบประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 วิธี คือ การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และการทดสอบ Reducing Power พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำ 1.5 เท่า จึงสรุปผลการวิจัยว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลเหมาะสมเป็นสารสกัดที่ผู้วิจัยเลือกมาใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติร่วมกับสารสกัดจากสมุนไพรอื่นๆ เช่น ใบบัวบก ที่สามารถช่วยเสริมฤทธิ์ทางด้านเครื่องสำอางได้ในอนาคต

### ข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาการสกัดเบื้องต้นของสมุนไพรเปล้าตะวันออกที่นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยังมีตัวทำละลายอีกหลายชนิดที่น่าทำการศึกษาเพิ่มเติม รวมทั้งการศึกษาฤทธิ์ทางด้านเครื่องสำอางในด้านอื่นๆ อาทิ เช่น ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Propionibacterium acnes* เป็นต้น เพื่อเป็นการค้นคว้าวิจัยเชิงลึกถึงคุณสมบัติและประสิทธิภาพของพืชเปล้าตะวันออกพันธุ์ใหม่ชนิดนี้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดลำดับต่อไป

### รายการอ้างอิง

- วนิดา มงคล, สุปิณะ อีเตและสุภัก บุญเกียรติผล. (2550). องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านจุลชีพจากเปล้าตะวันออก. การศึกษาอิสระเกสรศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยรังสิต, กรุงเทพฯ.
- วิลาวลัย บุญย์สุภา. (2554). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากดอกอัญชัน. งานวิจัยปริญญาบัณฑิตมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม, มหาสารคาม.

สิริทิพย์ โชติรัตน์. (2559). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดต้นอ่อนทานตะวันและการประยุกต์ใช้ในตำรับอิมัลชัน*. การค้นคว้าอิสระวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

อมร เพชรสม. (2548). *การวิเคราะห์สารเปลาโนทอลในผงเปลือกตะวันด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี*. คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Amin, I., Norazaidah, Y., and Hainida, K. I. E., (2006). *Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species*. Food Chemistry, 94(1), 47-52.

Braca, A., Sortino, C., and Politi M., (2002). *Antioxidant activity of flavonoids from Licania licaniaeflora*. J. Ethnopharmacol, 79(3), 379-381.

Jayanthi, P., & Lalitha, P. (2011). *Reducing power of the solvent extracts of Eichhorniacrassipes* (Mart.) Solms. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(3), 126-128.

Prommuak, C., D-Eknamkul, W. and Shotipruk, A. (2008). *Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extract*. Separation and purification technology, 62(2), 444-448.