Published Online: 2 Dec 2020

การเปรียบเทียบวิธีสกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบหอมแขก

Comparison of Antioxidant Extraction Methods from *Murraya koenigii* Leaves

สรัลนุช นันท์ชัยพฤกษ์

อีเมล: 6151701290@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง

อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบหอมแขกที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่างๆ (การเขย่า ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และใช้เครื่องซอห์กเลต) โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอทานอล น้ำ และเอทานอลผสมน้ำ) ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีอลูมิเนียมคลอไรด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก พบว่า การสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 50 โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงให้ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 237.19±7.83 มก. สมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม และ 140.05±0.64 มก. สมมูลเคอร์ซิทินต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ด้วยวิธีการเขย่าที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ 129.96±2.41 และ 255.76±3.11 มก. สมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ และพบว่าปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของเพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.854, 0.920 และ 0.665, 0.827 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ใบหอมแขก, วิธีการสกัด, สารประกอบฟีนอลิก, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Published Online: 2 Dec 2020

Abstract

This study was goaled to evaluate and compare total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant capacity of *Murraya koenigii* leaves extracted by different extraction methods (shaking, ultrasonic and soxhlet methods) and different solvents (95% v/v ethanol, 50% v/v ethanol and DI water). TPC and TFC was determined by Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric assay, respectively. Antioxidant activities were determined by DPPH radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The results showed that *Murraya koenigii* leaves extracted by ultrasonic method with 50% ethanol significantly had the highest TPC (237.19±7.83 mg GAE/g extract) and TFC (140.05±0.64 mg QE/g extract) (p<0.05). For antioxidant capacity, ultrasonic extraction method with 95% ethanol significantly gave the highest antioxidant activities of 129.96±2.41 mg TEAC/g extract as assayed by DPPH, while 50% ethanol provided the highest FRAP value (255.76±3.11 mg TEAC/g extract) in the presence of shaking method (p<0.05). Pearson correlation revealed that TPC and TFC was significantly relative with DPPH and FRAP with r values of 0.854, 0.920 and 0.665, 0.827, respectively.

Keywords: *Murraya koenigii* leaves, Extraction method, Phenolic, Antioxidant activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

ปัจจุบันความนิยมและมูลค่าของตลาดโลกในการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและออแกนิค (Organic) มีเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผู้คนตระหนักถึงอันตรายของสารเคมีในผลิตภัณฑ์ non-organic และมั่นใจว่าผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและออแกนิคมีความปลอดภัยมากกว่า (in-cosmetics, 2018) ดังนั้นการใช้สมุนไพรเพื่อความสวยงามและสุขภาพที่ดีจึงเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

หอมแขก หรือที่รู้จักกันในชื่อ ต้นกระหรี่ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Murraya koenigii* เป็นที่รู้จักในนามของสมุนไพรทางการแพทย์ตามตำราอายุรเวท ซึ่งนิยมใช้ในการประกอบอาหาร โดยพบแพร่หลายในอินเดีย ศรีลังกาและประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ทางภาคตะวันออกของประเทศไทย (Norman, 2002) จากการศึกษาของ Chibueze and Emenike (2017) พบว่า สารสกัดจากใบหอมแขก มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านการอักเสบ ฤทธิ์เร่งกระบวนการสมานแผล รักษาโรคอัลไซเมอร์ ป้องกันโรคเบาหวาน เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ แต่ในประเทศไทยยังมีการศึกษาที่นำใบหอมแขกมาใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางอยู่ไม่มากนัก

จากงานวิจัยของ Ghasemzadeh, Jaafar, Rahmat and Devarajan (2014) พบว่าใบหอมแขกที่เพาะปลูกในประเทศมาเลเซียมีสารประกอบทางเคมี คือ สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ catechin, epicatechin, rutin, naringin, myricetin และ quercetin รวมไปถึงสารประกอบฟีนอลิกกลุ่ม phenolic acids ได้แก่ gallic acid, cinnamic acid, ferulic acid และ vanillic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีปริมาณที่แตกต่างขึ้นอยู่กับสถานที่เพาะปลูก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Sasidharan and Menon (2011) พบว่า ใบหอมแขกที่สกัดด้วยการเขย่า ด้วยเอทานอลผสมน้ำอัตราส่วน 1:1 เป็นสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิก โดยแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPHและTotal reducing power เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยการเขย่าและการใช้เครื่องซอกห์เลตด้วยตัวทำละลายอื่นๆซึ่งแสดงถึงความสำคัญของสภาวะในการสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช โดยวิธีการสกัดแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ชนิดของตัวทำละลาย ต้องเหมาะสมกับการสกัดสารที่ต้องการ และสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันต่อปริมาณสารประกอบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหอมแขก เพื่อนำไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป อีกทั้งยังช่วยพัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์จากใบหอมแขก

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อเตรียมสกัดสารจากใบหอมแขกด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหอมแขกที่เตรียมด้วยวิธีและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ขอบเขตของการศึกษา

1. เตรียมตัวอย่างใบหอมแขกและทำการเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการและตัวทำละลายต่างๆ
2. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาความสัมพันธ์ระหว่างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เตรียมได้แต่ละสภาวะ
3. ประเมินและสรุปผล

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างใบหอมแขก

นำใบหอมแขกที่ได้มาแยกเฉพาะส่วนใบ นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วนำมาอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 วัน จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำใบหอมแขกอบแห้งมาบดให้อยู่ในรูปผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Blender)

2. การสกัดสารจากใบหอมแขก

นำผงแห้งของใบหอมแขกมาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำปราศจากไอออน เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 โดยใช้อัตราส่วนตัวอย่างพืชต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1:50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) (Sasidharan & Menon, 2011) จากนั้นนำมาสกัดสารด้วยวิธีการสกัด 3 วิธี ดังนี้

1) การสกัดสารแบบเขย่า (Shaking extraction) สกัดโดยการเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่อง orbital shaker ด้วยความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา เวลา 1 ชั่วโมง

2) การสกัดสารด้วยเครื่องซอห์กเลต (Soxhlet extraction) สกัดโดยใช้เครื่อง soxhlet extractor ที่อุณหภูมิ ประมาณ 70 - 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3) การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic-assisted extraction) สกัดโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath ด้วยความถี่ 50/60 เฮิรตซ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

นำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดแต่ละวิธีมากรองผ่านกระดาษกรองด้วยวิธีการกรองแบบสุญญากาศ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน จะได้สารสกัดหยาบ (crude) บันทึกลักษณะทางกายภาพ และน้ำหนักของสารสกัดหยาบ

3. การวิเคราะห์สารสกัด

1) การวิเคราะห์ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบหอมแขก (สริตา สังข์ทอง, ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง และภาณุพงษ์ ใจวุฒิ, 2556)

ก. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน

ข. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี Aluminum chloride โดย วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 415 นาโนเมตร ใช้สารละลายเคอร์ซิทินเป็นสารมาตรฐาน

2) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหอมแขก (สริตา สังข์ทอง และคณะ, 2556)

ก. วิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน

ข. วิธีทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน

3) การหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r)

ผลวิจัยและอภิปรายผล

1. การเตรียมสารสกัดจากใบหอมแขก

สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 ด้วยวิธีการสกัดต่างๆ มีลักษณะเป็นสารเหนียว สีเขียวเข้ม ขณะที่สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยน้ำ ด้วยวิธีการสกัดต่างๆ มีลักษณะเป็นสารเหนียว สีน้ำตาล การสกัดด้วยวิธีการเขย่าและใช้เครื่องซอกห์เลตด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 และน้ำ ได้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แต่ในการสกัดด้วยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้ได้สารสกัดหยาบในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดและตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณสารสกัดหยาบ

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	ผลผลิต (ร้อยละ)
การเขย่า	95% เอทานอล	14.33 ± 1.53^{bE}
	50% เอทานอล	24.67 ± 2.08^{aC}
	น้ำ	27.67 ± 2.08^{aBC}
ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	95% เอทานอล	8.00 ± 1.00^{cF}
	50% เอทานอล	32.67 ± 1.53^{aA}
	น้ำ	25.00 ± 2.65^{bC}
ใช้เครื่องซอกห์เลต	95% เอทานอล	21.28 ± 1.29^{bD}
	50% เอทานอล	28.89 ± 1.11^{aB}
	น้ำ	32.11 ± 2.67^{aA}

หมายเหตุ 1. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์เล็กแตกต่างกันในแนวสดมภ์ของแต่ละวิธีการสกัด มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

2. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันในแนวสดมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหอมแขก

1) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบหอมแขก

สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและด้วยการแช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เท่ากับ 237.19±7.83 และ 229.41±3.93 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการแช่ด้วยน้ำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุด เท่ากับ 111.47±6.08 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดในแต่ละวิธี พบว่า การสกัดด้วยวิธีใช้เครื่องซอกห์เลตด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 และความเข้มข้นร้อยละ 50 ได้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่ในการสกัดด้วยวิธีการแช่และใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้ได้สารสกัดหยาบในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังตารางที่ 2

2) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากใบหอมแขก

สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เท่ากับ 140.05±0.64 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการแช่ด้วยน้ำปราศจากไอออน มีปริมาณฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด เท่ากับ 32.83±0.14 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซิทินต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์จากใบหอมแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดในแต่ละวิธี พบว่า การสกัดด้วยวิธีการแช่ วิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและวิธีใช้เครื่องซอกห์เลตด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้ได้สารสกัดหยาบในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดและตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ มีงานวิจัยก่อนหน้า รายงานว่า สารสกัดจากผลเมี่ยงหลวง (*Gordonia axillaris* Fruits) ที่สกัดโดยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากกว่าการสกัดด้วยวิธีการแช่และการสกัดด้วยวิธีการใช้เครื่องซอกห์เลต (Li et al., 2019)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากใบหอมแขก

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มก. สมมูลกรดแกลลิก) ต่อสารสกัด 1 กรัม)	ฟลาโวนอยด์ (มก. สมมูลเคอร์ซิทิน ต่อสารสกัด 1 กรัม)
การเขย่า	95% เอทานอล	167.90±3.66^{bC}	40.70±2.94^{bF}
	50% เอทานอล	229.41±3.93^{aA}	121.35±0.98^{aB}
	น้ำ	111.47±6.08^{cE}	32.83±0.14^{cG}
ใช้คลื่นเสียง	95% เอทานอล	189.59±10.88^{bB}	62.02±2.84^{bE}
ความถี่สูง	50% เอทานอล	237.19±7.83^{aA}	140.05±0.64^{aA}
	น้ำ	134.75±10.31^{cD}	34.70±0.26^{cG}
ใช้เครื่อง	95% เอทานอล	202.55±11.16^{aB}	87.26±2.54^{aC}
ซอกห์เลต	50%เอทานอล	199.48±9.17^{aB}	67.76±0.64^{bD}
	น้ำ	145.59±1.75^{bD}	38.25±0.24^{cF}

หมายเหตุ 1. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์เล็กแตกต่างกันในแนวสดมภ์ของแต่ละวิธีการสกัด มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

2. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันในแนวสดมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

3) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหอมแขก

ก. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหอมแขกโดยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity)

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 มีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เท่ากับ 56.26±1.04 ที่ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 129.96±2.41 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการเขย่าด้วยน้ำปราศจากไอออนมีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เท่ากับ 20.97±0.63 ที่ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 24.22±0.73 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากใบหอมแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดในแต่ละวิธี พบว่า สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยการเขย่าด้วยเอ

ทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และเครื่องซอกห์เลต ด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังตารางที่ 3

ข. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหอมแขกโดยวิธีทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay)

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการเขย่าด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้ม ข้นร้อยละ 50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เท่ากับ 255.76±3.11 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยการเขย่าด้วยน้ำปราศจากไอออน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เท่ากับ 57.93±0.71 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัดหยาบ 1 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากใบหอมแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิด ในแต่ละวิธี พบว่า สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยวิธีการเขย่า และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และสารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยเครื่องซอกห์เลต ด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sepahpour et al. (2018) ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบหอมแขกด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP โดยทำการสกัดพืชตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ พบว่า สารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าและสารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดและตัวทำละลายมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบหอมแขก

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดจากใบหอมแขก

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	การยับยั้งอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (มก. สมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP (มก. สมมูลโทรลอกซ์ต่อสารสกัด 1 กรัม)
การเขย่า	95% เอทานอล	41.50±0.84	95.87 ± 1.95^{bD}	160.93 ± 3.99^{bE}
	50% เอทานอล	48.56±0.21	112.18 ± 0.49^{aB}	255.76 ± 3.11^{aA}
	น้ำ	20.97±0.63*	24.22 ± 0.73^{cG}	57.93 ± 0.71^{cH}
ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	95% เอทานอล	56.26±1.04	129.96 ± 2.41^{aA}	204.11 ± 2.91^{bC}
	50% เอทานอล	48.60±0.52	112.27 ± 1.20^{bB}	217.53 ± 3.23^{aB}
	น้ำ	22.01±0.99*	25.42 ± 1.15^{cG}	63.47 ± 1.46^{cG}
ใช้เครื่องซอห์กเลต	95%เอทานอล	45.98±0.56	106.22 ± 1.30^{aC}	169.51 ± 2.99^{aD}
	50% เอทานอล	39.11±0.54	90.36 ± 1.25^{bE}	156.17 ± 2.44^{bE}
	น้ำ	53.17±0.09*	61.42 ± 0.11^{cF}	86.74 ± 3.45^{cF}

หมายเหตุ 1. *ใช้สารสกัดความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์เล็กแตกต่างกันในแนวสดมภ์ของแต่ละวิธีการสกัด มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

3. ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันในแนวสดมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

3. การหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลมีความสัมพันธ์กับฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) มีค่าสัมประสิทธิ์ของเพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.904 ,0.854 และ 0.920 ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงมากกับฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP มีระดับสูงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลางและในระดับสูงกับฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) มีค่าสัมประสิทธิ์ของเพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.665 และ 0.827 ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าของ Ghasemzadeh et al. (2014) ที่พบว่าในสารสกัดใบหอมแขก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงมากกับวิธี FRAP มีค่าสัมประสิทธิ์ของเพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.925

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสารสกัดใบหอมแขกที่สกัดด้วยวิธีและตัวทำละลายที่ต่างกัน พบว่า ตัวทำละลายและวิธีการสกัดมีผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิต สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบหอมแขกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยการสกัดด้วยเครื่องซอกห์เลตด้วยน้ำและสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 มีร้อยละผลผลิตมากที่สุด การสกัดด้วยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด ขณะที่สารสกัดจากใบหอมแขกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ด้วยวิธีการแช่ที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

อีกทั้งยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงมากกับสารฟลาโวนอยด์ (r=0.925) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วย วิธี FRAP (r=0.920) และมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (r=0.854) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งมีความสัมพันธ์มากกว่าสารฟลาโวนอยด์ที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลางและระดับสูงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (r=0.665) และวิธี FRAP (r= 0.827) ที่แสดงให้เห็นว่าใบหอมแขกมีสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มอื่นเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารฟลาโวนอยด์ซึ่งจัดอยู่ในสารประกอบฟีนอลิกเช่นกัน

ดังนั้นการสกัดใบหอมแขกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ50 จึงเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดทั้งปริมาณและคุณภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบหอมแขกที่เป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาพบว่าในใบหอมแขก สารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ จึงมีความน่าสนใจสำหรับการศึกษาต่อไปว่าสารกลุ่มใดในสารประกอบฟีนอลิกส่งผลกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยอาจทำการวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของใบหอมแขกด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

2. จากการศึกษาพบว่าสารสกัดใบหอมแขกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงมีความน่าสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้ในตำรับเครื่องสำอาง

รายการอ้างอิง

สริตา สังข์ทอง, ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง และภาณุพงษ์ ใจวุฒิ. (2556). การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเมล็ดหมาก (*Areca catechu* L.) ด้วยวิธีการสกัดของแข็งด้วยของเหลว โดยไมโครเวฟ. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 18*(2), 195-202.

Chibueze, I. J., & Emenike, I. (2017). *Murraya koenigii*-a boon in different pathological conditions. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, *1*(2), 61–68. doi: 10.22270/ujpr.v1i2.RW5

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., Rahmat, A., & Devarajan, T. (2014). Evaluation of bioactive compounds, pharmaceutical quality, and anticancer activity of curry leaf (*Murraya koenigii* L.). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2014*. doi: 10.1155/2014/873803

in-cosmetics. (2018). *Trends in natural beauty*. Retrieved November 12, 2019, from https://news.in-cosmetics.com/2018/06/19/trends-in-natural-beauty/

Li, Y., Cao, S.-Y., Lin, S.-J., Zhang, J.-R., . . . Li, H.-B. (2019). Polyphenolic profile and antioxidant capacity of extracts from *Gordonia axillaris* Fruits. *Antioxidants*, *8*(6). doi: 10.3390/antiox8060150

Norman, J. (2002). *Herbs & spices: The cook's reference*. New York: DK Publishing.

Sasidharan, I., & Menon, A. N. (2011). Effects of temperature and solvent on antioxidant properties of curry leaf (*Murraya koenigii* L.). *Journal of Food Science and Technology*, *48*(3), 366–370. doi: 10.1007/s13197-010-0134-x

Sepahpour, S., Selamat, J., Abdul M., M. Y., Khatib, A., & Abdull R., A. F. (2018). Comparative analysis of chemical composition, antioxidant activity and quantitative characterization

of some phenolic compounds in selected herbs and spices in different solvent extraction systems. *Molecules*, *23*(2). doi: 10.3390/molecules23020402