Published Online: 24 JUL 2023

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก

Antioxidant Activities of *Tradescantia pallida* Leaves Extracted by Deep Eutectic Solvents

พณาวรรณ์ ประมูลวงศ์
อีเมล: 6451701274@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สริตา สังข์ทอง
อีเมล: sarita.san@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

หัวสีใจม่วง (*Tradescantia pallida*) เป็นหนึ่งในพืชที่มีสีสันโดดเด่น เจริญเติบโตได้ง่าย และราคาไม่แพง อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่หลาย เช่น การฟอกอากาศ ใช้ในทางการแพทย์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ใช้งานได้ง่าย ไม่เป็นพิษ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยเทคนิคการสกัดของแข็ง-ของเหลวโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์สารประกอบออกฤทธิ์ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานินรวม ด้วยวิธี pH differential ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ด้วยวิธี Aluminum Chloride Colorimetric และปริมาณฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocaltue และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ FRAP จากผลการศึกษา พบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก ได้แก่ ตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่เป็นสารผสมกันระหว่างกรดแอซีติก และ ซอร์บิทอล ที่อัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ FRAP เท่ากับ 6.94 $\pm$ 0.02 และ 8.22 $\pm$ 0.31 มิลลิกรัมโทรลอกซ์สมมูลต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 15.21 $\pm$ 0.93 มิลลิกรัมต่อลิตร, 18.10 $\pm$ 0.28 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมตัวอย่าง และ 15.91 $\pm$ 0.80 มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ดังนั้นการสกัดใบหัวใจสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติกสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดเพื่อประยุกต์ใช้เครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: ใบหัวใจสีม่วง, ตัวทำละลายดีปยูเทคติก, แอนโทไซยานิน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Purple heart (*Tradescantia pallida*) is one of the outstandingly colorful, easy to grow, and inexpensive plants. It also has many properties, such as air purification, medical use and antioxidant activity. Thus, the aim of this research was to study the optimum conditions for the extraction of purple heart leaves by deep eutectic solvents. It is an easy-to-use, non-toxic, and environmentally friendly solvent. The solid-liquid extraction technique was performed by using an orbital shaker, 200 rpm for 1 hour at room temperature. Then, total anthocyanin content, total flavonoid content and total phenolic content of purple extract were determined by pH differential, aluminum chloride colorimetric and Folin-Ciocaltue methods, respectively. Furthermore, antioxidant activity was analyzed by a ferric ion reducing antioxidant power assay and an ABTS radical cation decolorization assay. The results showed that the optimal conditions for the extraction of purple heart leaves using deep eutectic solvent was acetic acid and sorbitol in the ratio of 1:2 by volume. The antioxidant activity by ABTS and FRAP methods was 6.94 ± 0.02 and 8.22 ± 0.31 mg TE/g sample, respectively. While the total anthocyanin content, total flavonoid content, and total phenolic content were 15.21 ± 0.93 mg/L, 18.10 ± 0.28 mg QE/g sample, and 15.91 ± 0.80 mg GAE/g sample, respectively. Thus, this research shows that the extraction of purple heart leaves using deep eutectic solvents can enhance extraction efficiency for further cosmetic applications.

Keywords: Purple Heart, Deep Eutectic Solvent, Anthocyanin, Antioxidant Activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

หัวใจสีม่วง หรือชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt เป็นไม้ล้มลุกยืนต้นในวงศ์ *Commelinaceae* มีต้นกำเนิดอยู่ที่ทวีปอเมริกา (Menegazzo et al., 2020) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือ ลำต้นมีลักษณะอวบกลม เป็นใบเลี้ยงเดี่ยว สีม่วงและมีปลายใบแหลม ใบถูกปกคลุมด้วยขนนุ่มละเอียดทั้งใบ ดอกมีสีชมพูม่วงอ่อน โดยหัวใจสีม่วงนิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับและใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม (Li, 2006) รวมทั้งยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ฤทธิ์ต้านจุลชีพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Tan & Kwan, 2020) อีกทั้งเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่ดีมากสำหรับสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมและมลพิษทางอากาศ (Menegazzo et al., 2020; Cabral et al., 2022; Jabli, 2018)

จากงานวิจัยพบว่า ใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วย 100% เมทานอล ให้สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์แกรมบวกและแกรมลบ (Tan et al., 2014) นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่า ใบหัวใจสีม่วงเป็น Tetra-acylated แอนโทไซยานิน ซึ่งสารประกอบที่พบมากสุดในใบหัวใจสีม่วง คือ Cyanidin-tetra(fer)-pent-trihex โดยแอนโทไซยานินจากใบหัวใจสีม่วงนั้นมีความเสถียรทางความร้อนเป็นพิเศษ อีกทั้งให้สีสันที่สดใสตั้งแต่สีม่วงไปจนถึงสีเขียวที่ค่ากรด-ด่าง 1 ถึง 10 (Steingass et al., 2023)

วิธีที่นิยมใช้สกัดพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็คือ วิธีการสกัดของแข็ง-ของเหลว (Solid-Liquid Extraction; SLE) (Alara et al., 2021) ซึ่งเป็นวิธีคลาสสิก มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน แม้ว่าตัว ทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดจะมีความสามารถในการละลายและการสกัดพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีเยี่ยม แต่ก็มีข้อเสียหลายอย่างเช่นกัน ได้แก่ การสะสมในชั้นบรรยากาศ ความเป็นพิษสูง รวมทั้งไม่ย่อยสลายทางชีวภาพ (Ruesgas-Ramón et al., 2017) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้ตัวทำละลายดีปยูเทคติก ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ราคาไม่แพง และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Xia et al., 2021; Mahmood et al., 2019; Oktaviyanti et al., 2020)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการศึกษาผลของปริมาณสารประกอบออกฤทธิ์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก ทั้งนี้เพื่อพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางไปต่อ รวมทั้งเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่พืชชนิดนี้

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างใบหัวใจสีม่วง

เก็บตัวอย่างใบหัวใจสีม่วงที่มีสีใกล้เคียงกันและมีอายุตั้งแต่ 45 วันขึ้นไป นำมาทำความสะอาดและตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่และปั่นให้เป็นผง เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้งาน

2. การสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกเพื่อศึกษาชนิดของตัวรับพันธะไฮโดรเจน

ตัวทำละลายดีปยูเทคติกเตรียมจากการผสมสารประกอบสองชนิด ได้แก่ ตัวรับพันธะไฮโดรเจน และตัวให้พันธะไฮโดรเจน อัตราส่วน 1:2 ที่ชนิดของตัวรับพันธะไฮโดรเจนแตกต่างกัน ได้แก่ กรดแอซีติก กรดซิตริก กรดแลคติค และกรดมาลิก ขณะที่ตัวให้พันธะไฮโดรเจนชนิดเดียวกัน

Published Online: 24 JUL 2023

ได้แก่ ซอร์บิทอล ในโหลแก้วที่มีฝาปิด รวมทั้งใช้แท่งแม่เหล็กเพื่อผสมสารประกอบและให้ความร้อน จนกระทั่งสารประกอบกลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่าตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่เตรียมได้นั้นไม่แยกชั้นหรือตกผลึก จากนั้นเติมน้ำกลั่น 30% และวัดค่ากรด-ด่าง ก่อนนำตัวทำละลายดีปยูเทคติกมาใช้งาน

นำใบหัวใจสีม่วงที่อบแห้งและบดเรียบร้อยแล้วจากข้อ 1 หนัก 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวทำละลายดีปยูเทคติก ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ปิดปากขวดให้แน่น แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารในรูปแบบเป็นวงกลม (Orbital shaker) ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และกรองด้วยกระดาษกรองแล้วเก็บส่วนของสารสกัด ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 rpm เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในการทดสอบปริมาณสารประกอบออกฤทธิ์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงต่อไป โดยแต่ละการสกัดจะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3. การทดสอบสารประกอบออกฤทธิ์ของสารสกัดใบหัวใจสีม่วง

1) วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินรวมด้วยวิธี pH differential (ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Lee et al., 2005 และ อรุษา เชาวนลิขิต, 2554)

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 M ที่ค่ากรด-ด่าง 1.0 และเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต ความเข้มข้น 0.4 M ที่ค่ากรด-ด่าง 4.5 เริ่มทดสอบโดยการเติมสารสกัดใบหัวใจสีม่วงลงในหลุม 96-well plate จำนวน 2 หลุม จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์แต่ละชนิดในแต่ละหลุมผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 400-750 นาโนเมตร และคำนวณค่าปริมาณแอนโทไซยานินรวมดังสมการ

$$\text{Monomeric anthocyanin (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\mathbf{A \times MW \times DF \times 10^3}}{\boldsymbol{\varepsilon} \times \mathbf{1}}$$

โดยที่ $A = (A\lambda_{\text{vis max}} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A\lambda_{\text{vis max}} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$;

MW (มวลโมเลกุล) = 449.2 กรัมต่อโมล cyanidin-3-glucoside;

DF คือ Dilution Factor; $\boldsymbol{\varepsilon}$ (Molar absorptivity) = 26,900 L $\times$ mol^{-1} $\times$ cm^{-1}

2) วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหัวใจสีม่วงด้วยวิธี Folin-Ciocaltue (ดัดแปลจากงานวิจัยของ Tan et al., 2014)

เริ่มจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นเริ่มทดสอบโดยการเติมสารสกัดใจหัวใจสีม่วงผสมกับ 10% Folin-Ciocalteu reagent ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติม

สารละลาย 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Microplate Reader ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยจะแสดงหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง

3) วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหัวใจสีม่วงด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric (ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Jabli, 2018)

เริ่มจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานเควอซิตินที่มีความเข้มข้นค่าง ๆ จากนั้นเริ่มทดสอบโดยการเติมสารสกัดใบหัวใจสีม่วงและสาร $NaNO_2$ (5%, w/v) ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสาร $AlCl_3$ (10%) ลงไปผสม ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที และสุดท้ายเติมสาร NaOH (10%) ผสมให้เข้ากัน ตั้งที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงกับกราฟมาตรฐานเควอซิติน โดยจะแสดงหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อกรัมของตัวอย่าง

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยวิธี ABTS และ FRAP (ดัดแปลงจาก สุภาวดีดาวดีและคณะ, 2559)

1) วิธี ABTS เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ และสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ สารละลาย potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมล์ แล้วผสมสารสองชนิดเข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้งาน จากนั้นเริ่มทดสอบโดยการเติมสารสกัดใบหัวใจสีม่วงและเติมสารละลาย ABTS reagent ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ และคำนวณหา %Inhibition ดังสมการ

$$\%\text{Inhibition} = 100 \times (A_{ABTS} - A_{Extract})/(A_{ABTS})$$

2) วิธี FRAP เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ และสารสกัดใบหัวใจสีม่วงความเข้มข้นต่าง ๆ และเตรียม FRAP reagentโดย เตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และละลายด้วยสารละลาย HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ จากนั้นเตรียมสารละลาย $FeCl_3$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ค่ากรด-ด่าง เท่ากับ 3.6 แล้วเริ่มทดสอบโดยการเติมสารสกัดใบหัวใจสีม่วงและสารละลาย FRAP reagent ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ ที่ความยาวคลื่น

593 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์

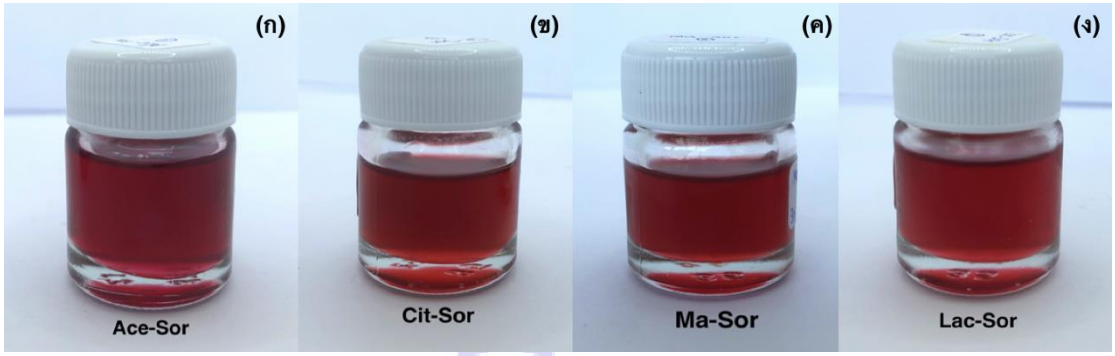
5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินรวม, ฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกรวม อีกทั้งผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) โดยการวิเคราะห์ทางสถิติจะทำการวิเคราะห์ผ่าน one-way ANOVA โดยใช้ซอฟต์แวร์ SPSS เวอร์ชัน 26 ถือว่าความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

ผลวิจัย

จากการเตรียมตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่มีชนิดของตัวรับพันธะไฮโดรเจนแตกต่างกัน ได้แก่ กรดแอซีติก กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดแลคติค ผสมกับตัวให้พันธะไฮโดรเจนที่กำหนดไว้ ได้แก่ ซอร์บิทอล เพื่อใช้ในการสกัดใบหัวใจสีม่วง พบว่า ตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดต่าง ๆ ที่อัตราส่วนโมลและปริมาณน้ำเหมือนกันให้ค่ากรด-ด่างอยู่ในช่วงไม่เกิน 2.00 ในขณะที่สีของตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ma-Sor มีสีเข้มที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor, Cit-Sor และ Lac-Sor นอกจากนี้พบว่า ความหนืดของตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่มีตัวรับพันธะไฮโดรเจนต่างชนิดกันให้ความหนืดจากมากไปน้อย ดังนี้ Cit-Sor, Ma-Sor, Ace-Sor และ Lac-Sor ตามลำดับ ซึ่งให้ผลในทางเดียวกันกับ Zannou and Koca (2022) ที่รายงานว่า ความหนืดของ Lac-Sor, Ace-Sor และ Ma-Sor เท่ากับ 347.67 $\pm$ 0.58, 466.67 $\pm$ 0.58 และ 742.00 $\pm$ 1.00 mPa ตามลำดับ มีรายงานว่าการลดความหนืดช่วยช่วยเพิ่มกระบวนการเกิดโพรงอากาศและช่วยให้เกิดพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงขึ้นระหว่างตัวทำละลายดีปยูเทคติกและตัวถูกละลายอีกทั้งยังช่วยเพิ่มผลผลิตและความสามารถให้การสกัด (Zannou & Koca, 2020)

ในการศึกษาชนิดของตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่ตัวรับพันธะไฮโดรเจนต่างชนิดกันต่อตัวให้พันธะไฮโดรเจนชนิดเดียวกัน สำหรับใช้ในการสกัดใบหัวใจสีม่วง โดยวิธีการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารในรูปแบบเป็นวงกลมที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 1 ให้สีของสารสกัดใบหัวหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor คือ สีแดงอมม่วง อีกทั้งค่ากรด-ด่าง ของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor, Cit-Sor, Ma-Sor และ Lac-Sor มีค่าเท่ากับ 2.71, 1.04, 1.40 และ 1.90 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของตัวรับพันธะไฮโดรเจน คือ โครงสร้างที่มีหมู่คาร์บอกซิลมาก จะให้ความเป็นกรดมากเช่นกัน



ภาพที่ 1 สารสกัดใบหัวใจม่วงที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่มีตัวรับพันธะไฮโดรเจนต่างชนิดกัน ได้แก่ (ก) Ace-Sor (ข) Cit-Sor (ค) Ma-Sor และ (ง) Lac-Sor

สำหรับผลการทดสอบสารประกอบออกฤทธิ์ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานินรวม, ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณฟีนอลิกรวม และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า ในการทดสอบสารสกัดใบหัวใจม่วงด้วยวิธี pH differential สารสกัดใบหัวใจม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Lac-Sor ให้ปริมาณแอนโทไซยานินรวมมากสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เท่ากับ 17.95 $\pm$ 0.72 มิลลิกรัม/ลิตร ขณะที่สารสกัดใบหัวใจม่วงที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ma-Sor ให้ค่าปริมาณแอนโทไซยานินรวมต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เท่ากับ 10.90 $\pm$ 0.91 มิลลิกรัม/ลิตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ma-Sor เนื่องจากตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ma-Sor และ Cit-Sor มีความหนืดสูงจะไปขัดขวางอัตราการเปลี่ยนถ่ายมวล ทำให้ประสิทธิภาพการสกัดแอนโทไซยานินลดลง (Zannou & Koca, 2022) สำหรับผลการทดสอบสารสกัดใบหัวใจม่วงด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric พบว่า สารสกัดใบหัวใจม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor, Cit-Sor และ Lac-Sor ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับ Zannou และ Koca (2022) ที่ได้ทำการสกัดแบล็กเบอร์รีด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ma-Sor, Lac-Sor และ Ace-Sor ในขณะที่การทดสอบสารสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยวิธี Folin-Ciocaltue พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor, Cit-Sor, Ma-Sor และ Lac-Sor มีค่าเท่ากับ 15.91 $\pm$ 0.80, 15.99 $\pm$ 1.15, 14.00 $\pm$ 0.35 และ 14.52 $\pm$ 0.05 มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งการสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Cit-Sor และ Ace-Sor มีปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Published Online: 24 JUL 2023

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบปริมาณแอนโทไซยานินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี ABTS และ FRAP ของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกต่างชนิดกัน

ตัวทำละลาย	สารประกอบออกฤทธิ์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ				
	ปริมาณแอนโทไซยานินรวม (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมเควอซิตินสมมูลต่อกรัมตัวอย่าง)	ปริมาณฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมตัวอย่าง)	ABTS (มิลลิกรัมโทรลอกซ์สมมูล ต่อกรัมตัวอย่าง)	FRAP (มิลลิกรัมโทรลอกซ์สมมูล ต่อกรัมตัวอย่าง)
Ace-Sor	15.21 ± 0.93^{b}	18.10 ± 0.28^{b}	15.91 ± 0.80^{a}	6.94 ± 0.02^{a}	8.22 ± 0.31^{a}
Cit-Sor	12.11 ± 0.96^{c}	17.50 ± 0.51^{b}	15.99 ± 1.15^{a}	5.50 ± 0.21^{bc}	0.35 ± 0.02^{c}
Ma-Sor	10.90 ± 0.91^{c}	20.27 ± 0.69^{a}	14.00 ± 0.35^{b}	5.22 ± 0.23^{c}	2.68 ± 0.14^{b}
Lac-Sor	17.95 ± 0.72^{a}	17.98 ± 0.57^{b}	14.52 ± 0.05^{b}	5.66 ± 0.06^{b}	8.16 ± 0.09^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean$\pm$SD) เมื่อ n = 3
ค่าเฉลี่ยที่มีตัวยกอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่มีตัวรับพันธะไฮโดรเจนต่างชนิดกัน ($p<0.05$)

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยวิธี ABTS ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor, Cit-Sor, Ma-Sor และ Lac-Sor มีเท่ากับ 6.94 ± 0.02, 5.50 ± 0.21, 5.22 ± 0.23 และ 5.66 ± 0.06 มิลลิกรัม โทรลอกซ์สมมูล ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับวิธี ABTS โดยมีค่าเท่ากับ 8.22 ± 0.31 มิลลิกรัมโทรลอกซ์สมมูลต่อกรัมตัวอย่าง ดังนั้นชนิดของตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่เหมาะสมต่อการสกัดใบหัวใจสีม่วง ได้แก่ ตัวทำละลาย Ace-Sor เนื่องจากเมื่อเปรียบผลการทดสอบสารประกอบออกฤทธิ์ด้วยวิธี pH differential, วิธี Aluminum chloride colorimetric และวิธี Folin-Ciocaltue อีกทั้งทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ FRAP

กับตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดอื่น พบว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor ให้ประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุด

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาชนิดของตัวทำละลายดีปยูเทคติกที่ตัวรับพันธะไฮโดรเจนต่างชนิดกัน และตัวให้พันธะไฮโดรเจนชนิดเดียวกันเพื่อใช้ในการสกัดใบหัวใจสีม่วง พบว่า ตัวทำละลายดีปยูเทคติก Ace-Sor อัตราส่วน 1:2 ให้ปริมาณแอนโทไซยานิน, ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยวิธี ABTS และ FRAP ดีที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดอื่น ๆ

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาและค้นคว้างานวิจัยพบว่า ยังไม่มีการสกัดใบหัวใจสีม่วงด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกมาก่อน จึงมีความน่าสนใจสำหรับการศึกษาปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยตัวทำละลายดีปยูเทคติกชนิดต่าง ๆ ในการสกัดสารองค์ประกอบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) จากสารสกัดใบหัวใจสีม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เพื่อให้การนำเทคนิคการสกัดแบบดีปยูเทคติกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมสามารถนำไปใช้ได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

รายการอ้างอิง

สุภาวดี ดาวดี, บัณฑรวรรณ ธุระพระ, จันทนา บุญยะรัตน์ และ เยาวเรศ ชูลิขิต. (2559). การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน, 11*, 80-91.

อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 3*(6). 26-36.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science, 4*, 200-214.

Cabral, F. V., Fernandes, C. C., Dias, A. L. B., Ribeiro, A. B., Squarisi, I. S., Tavares, D. C., . . . Miranda, M. L. D. (2022). Hexane extract from *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt (*Commelinaceae*): Its volatile constituents and in vitro antifungal and cytotoxic activities. *Brazilian Archives of Biology and Technology, 65*, e22210621. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210621

Jabli, M. (2018). Extraction of eco-friendly natural dyes from *Tradescantia pallida Purpurea* and *Cynomorium coccineum* growing naturally in Tunisia. *Trends Textile Eng Fashion Technol. 1*(1), https://doi.10.31031/TTEFT.2018.01.000502

Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International, 88*(5), 1269–1278.

Li, T. S. C. (2006). Taiwanese native medicinal plants: Phytopharmacology and therapeutic values. *J. Nat. Prod, 69*(9), 1377-1378. https://doi.org/10.1021/np068235x

Mahmood, W. M. A. W., Lorwirachsutee, A., Theodoropoulos, C., & Gonzalez-Miquel, M. (2019). Polyol-based deep eutectic solvents for extraction of natural polyphenolic antioxidants from *Chlorella vulgaris*. *ACS Sustainable Chem. Eng., 7*, 5018-5026.

Menegazzo, R. F., Bortolucci, W. C., de Oliveira, H. L. M., Menegazzo, A. W., Gonçalves, J. E., Fernandez, C. M. M., . . . Lopes, A. D. (2022). Chemical composition of *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* boom (*Commelinaceae*) essential oil. *Natural Product Research, 36*(1), 396-400. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1765341

Oktaviyanti, N. D., Kartini, K., Hadiyat, M. A., Rachmawati, E., Wijaya, A. C., Hayun, H., . . . Mun'im, A. (2020). A green extraction design for enhancing flavonoid compounds from *Ixora javanica* flowers using a deep eutectic solvent. *Royal Society Open Science, 7*(10), Article 201116. https://doi.org/10.1098/rsos.201116

Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M. C., & Durand, E. (2017). Application of deep eutectic solvents (DES) for phenolic compounds extraction: Overview, challenges, and opportunities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(18), 3591-3601. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01054

Tan, J. B. L., Yap, W. J., Tan, S. Y., Lim, Y. Y., & Lee, S. M. (2014). Antioxidant content, antioxidant activity, and antibacterial activity of five plants from the *Commelinaceae* family. *Antioxidants (Basel, Switzerland), 3*(4), 758-769. https://doi.org/10.3390/antiox3040758

Xia, G.-H., Li, X.-H., & Jiang, Y.-H. (2021). Deep eutectic solvents as green media for flavonoids extraction from the rhizomes of *Polygonatum odoratum. Alexandria Engineering Journal, 60,* 1991–2000. https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.12.008