Published Online: 10 OCT 2023

การเตรียมสารสกัดใบต้นสาละลังกาเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

Preparation of *Couroupita guianensis* Leaves Extract for Cosmetic Usage

ณัฐรดี วัชรปรีชานนท์

อีเมล: 6251701261@lamduan.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัควดี ไชยกุล

อีเมล: puxvadee@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ต้นสาละลังกา เป็นต้นไม้ที่มีสรรพคุณทางการแพทย์ มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการแพทย์พื้นบ้าน แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยต้นสาละลังกาเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดจากใบต้นสาละลังกา ทดสอบปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยดีพีพีเอช ตลอดจนการศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพ ความคงตัวของสารสกัดภายใต้สภาวะเร่ง และลักษณะการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบต้นสาละลังกา การเตรียมด้วยวิธีแช่สกัดใบด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 เป็นเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง ได้สารสกัดใบ 3 และ 24 ชั่วโมง มีค่าร้อยละการสกัดเท่ากับ 3.23 ± 0.28 และ 5.58 ± 0.84 ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบสาละลังกาแช่สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 37.01 ± 3.06 และ 37.17 ± 5.93 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ส่วนปริมาณฟลาโลนอยด์รวมของสารสกัดใบสาละลังกาแช่สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 130.28 ± 1.89 และ 141.81 ± 3.60 มิลลิกรัมสมมูลเควอซิทินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชร้อยละ 50 ของสารสกัดใบสาละลังกาแช่สกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 44.44 ± 3.57 และ 35.00 ± 2.41 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดใบ 24 ชั่วโมง มีปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดใบ 3 ชั่วโมง อย่างมีนัยทางสถิติ โดยค่า *p*-value ของปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 0.008 และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 0.019 จึงคัดเลือกสารสกัดใบ 24 ชั่วโมง มาศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพ ความคงตัว และลักษณะการดูดกลืนแสง โดยลักษณะของสารสกัดใบ 24 ชั่วโมง เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสีเขียวเข้ม หนืด และกลิ่นคล้ายยาง มีค่าความเป็นกรด-ด่างในสถานะสารละลายความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 5.61 ± 0.15 สารสกัดสามารถละลายได้ดีในเอทานอล มีความคง

ตัวดีในการทดสอบภายใต้สภาวะเร่งด้วยการเก็บที่อุณหภูมิร้อน (45 องศาเซลเซียส) สลับเย็น (4 องศาเซลเซียส) จำนวน 6 รอบ ลักษณะการดูดกลืนแสงของสารสกัดความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงข้อมูลการดูดกลืนแสงของสารสกัด ผลการวิจัยนี้อาจนำไปประยุกต์ใช้เตรียมสารสกัดใบต้นสาละลังกาเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: สาละลังกา, ฟีนอลิกรวม, ฟลาโวนอยด์รวม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Couroupita guianensis is a tree with a variety of medical properties and is used in traditional medicine. However, there is no any report on cosmetic utilization of this plant. The objectives of this study are to prepare leaves extracts of *C. guianensis*, evaluate the contents of phenolics and flavonoids as well as the antioxidant activity by DPPH assay. Additionally, the physicochemical properties, the stability under the accelerated condition, and the fingerprint of extract were evaluated. The leaves extracts of *C. guianensis* were prepared by maceration with 95% ethanol for 3 and 24 hours. The percentages yield of the obtained leaves extract of *C. guianensis* macerated for 3 hours (CGL-3h) and for 24 hours (CGL-24h) were 3.23 ± 0.28% and 5.58 ± 0.84%, respectively. Total phenolic contents of CGL-3h and CGL-24h extracts were 37.01 ± 3.06 and 37.17 ± 5.93 mg GAE/g extract, respectively. Total flavonoid content of CGL-3h and CGL-24h extracts were 130.28 ± 1.89 and 141.81 ± 3.60 mg QE/g extract, respectively. The concentrations of CGL-3h and CGL-24h extracts that scavenged the half maximal of DPPH radicals were 44.44 ± 3.57 and 35.00 ± 2.41 μg/ml, respectively. The comparison of CGL-3h and CGL-24h extracts showed that total flavonoid content and antioxidant activity of CGL-24h extract were significantly higher than CGL-3h extract, in which *p*-value of total flavonoid content was 0.008 and that of antioxidant activity was 0.019. Thus CGL-24h extract was selected for study of physicochemical properties, stability, and fingerprint. The CGL-24h extract was a dark green semi-solid, viscous compound and rubber-like smell. The pH of 1 mg/ml CGL-24h extract was 5.61 ± 0.15. The extract was freely soluble in ethanol and showed the good stability under the accelerated condition by keeping at 45°C and 4°C for 6cycles. The fingerprint of 0.1 mg/ml extract demonstrated the absorption pattern of constituents in extract. This

study may be applied for preparation of *C. guianensis* leaves extracts for cosmetic utilization

Keywords: *Couroupita guianensis*, Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Antioxidant Activities

บทนำ ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมจากสารธรรมชาติในปัจจุบัน มีแนวโน้มทางการตลาดเพิ่มขึ้น เนื่องจากได้รับความนิยมจากผู้บริโภคกลุ่มรักสุขภาพ โดยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง เป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมมาก ซึ่งสารธรรมชาติที่ได้จากพืช (Phytochemicals) เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ นิยมนำมาใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทั้งอาหาร ยา และเครื่องสำอาง (Xu, 2019)

ต้นสาละลังกา มีการปลูกในประเทศไทยหลายสถานที่ มีสรรพคุณทางยาและนำมาใช้ประโยชน์เป็นตำรับยาพื้นบ้านหลายประเทศ ใบต้นสาละลังกา มีสรรพคุณรักษาในตำรับยาพื้นบ้าน ได้แก่ บำรุงเส้นผม รักษาโรคผิวหนัง รักษาอาการปวดฟัน ฆ่าเชื้อ ต้านแบคทีเรียและรา ต้านการแข็งตัวของเลือด ขยายหลอดเลือด รักษาโรคบิด รักษาอาการงูกัด รักษาข้ออักเสบ รักษาโรคหอบหืด รักษาภาวะความดันโลหิตสูง รักษาเนื้องอก บรรเทาอาการปวด ลดการอักเสบ รักษาโรคไขข้ออักเสบรูมาตอยด์ และรักษาโรคมาลาเรีย (Sheba & Anuradha, 2020) องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบต้นสาละลังกา ได้แก่ β-amyrin palmitate, hydroxycinnamic acids, caffeic acid, rosmarinic acid, kaempferol-3-*o*-neohesperidoside, 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone, 7-hydroxy-5-methoxy-6, 8-dimethylflavanone, *p*-hydroxybenzoic acid (Sheba & Anuradha, 2020) แต่ในปัจจุบัน ยังไม่พบรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำต้นสาละลังกามาใช้ประโยชน์ในประเทศไทย โดยเฉพาะประโยชน์ทางเครื่องสำอาง ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารในการลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับภาวะต่างๆ ของผิวหนัง เช่น การเกิดริ้วรอย กระบวนการอักเสบ และภาวะชรา เป็นต้น การศึกษาโดย จำเนียร ชมภู และคณะ (2563) ระบุว่า อนุมูลอิสระเป็นตัวกระตุ้นภาวะชราของผิวหนัง โดยอนุมูลอิสระทำให้เกิดการสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เป็นองค์ประกอบของผิวหนัง เช่น คอลลาเจน อีลาสติน เป็นต้น ทำให้ผิวเกิดการหย่อนคล้อยและมีริ้วรอย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเตรียมสารสกัดใบจากต้นสาละลังกา

2. เพื่อหาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบต้นสาละลังกา

3. เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสารสกัดสำหรับการใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

ขอบเขตการวิจัย

เตรียมสารสกัดใบจากต้นสาละลังกาด้วยการแช่สกัด หาปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging รวมถึงการศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพ และความคงตัวของสารสกัดภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-Cooling cycle จำนวน 6 รอบ

การทบทวนวรรณกรรม

ต้นสาละลังกา หรือต้นลูกปืนใหญ่ (*Couroupita guianensis*) เป็นพืชวงศ์ Lecythidaceae มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาใต้ โดยเฉพาะเขตลุ่มน้ำอเมซอน ได้แก่ ประเทศเปรู โคลัมเบีย บราซิล และประเทศใกล้เคียง ต้นสาละลังกาเป็นไม้ยืนต้นที่เจริญเติบโตรวดเร็ว ลักษณะผลเหมือนลูกปืนใหญ่ ภายในผลมีเมล็ดจำนวนมาก ดอกมีขนาดใหญ่และกลิ่นหอม ต้นสาละลังกามีสรรพคุณทางยาและนำมาใช้ประโยชน์ในตำรับยาพื้นบ้านหลายประเทศ โดยมีสรรพคุณทางยา คือ ฤทธิ์ห้ามเลือด ฤทธิ์ต้านหิด ฤทธิ์ต้านโรคบิด ฤทธิ์ต้านแมงป่อง ฤทธิ์ลดความดัน ฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ฤทธิ์ต้านอักเสบ และฤทธิ์รักษาโรคผิวหนัง เป็นต้น (Sheba & Anuradha, 2020) รายงานวิจัยระบุสารสกัดใบต้นสาละลังกาเตรียมด้วยตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอล อัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ และฤทธิ์ดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลต โดยเป็นผลจากสารกลุ่มฟีนอลิกที่พบในสารสกัด เมื่อวิเคราะห์ชนิดของสารกลุ่มฟีนอลิก พบว่า เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ 2’,4’-dihydroxy-6’-methoxy-3’,5’-dimethylchalcone และ 7-hydroxy-5-methoxy-6,8-dimethylflavanone ส่วนสารกลุ่มฟีนอลิก คือ *p*-hydroxybenzoic acid ซึ่งสารสกัดใบต้นสาละลังกาอาจนำมาใช้ปกป้องผิวได้ (Martínez et al., 2012)

รายงานวิจัยโดย Pandurangan et al. (2018) สกัดสารจากส่วนใบ ดอก และผลของต้นสาละลังกาด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทิลอะซิเตท และคลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 ด้วยวิธีการแช่สกัด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทดสอบกลุ่มของสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โปรตีน อัลคาลอยด์ ธีโอโบรมีน ไกลโคไซด์ ไฟโตสเตอรอล ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์ ส่วนฤทธิ์

ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดดอก ใบ และผลด้วยเอทิลอะซิเตท และคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ร้อยละ 50 - 67.85 ซึ่งสารสกัดคลอโรฟอร์มจากผลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* และ *Bacillus subtitis* สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่น ๆ

อนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวภายในอะตอมหรือโมเลกุล ไม่คงตัว และสามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้การทำงานของสารชีวโมเลกุลในร่างกายผิดปกติ ก่อให้เกิดกระบวนการเสื่อมสภาพของสารต่าง ๆ ในเซลล์ และโรคต่าง ๆ สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่กำจัด และลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย จึงช่วยลดกระบวนการเสื่อมสภาพของเซลล์และโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้

วิธีดำเนินการวิธีวิจัย

1. เตรียมสารสกัด

เก็บใบต้นสาละลังกาที่โตเต็มที่ จากจังหวัดกรุงเทพมหานคร ทำความสะอาดด้วยน้ำ ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ และอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (℃) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนใบแห้ง ปั่นลดขนาดพืชจนได้ผงพืชละเอียด เติมตัวทำละลาย คือ 95% เอทานอล ในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1 ต่อ 10 และนำไปวางบนเครื่องเขย่าสาร ตั้งความเร็วในการเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37℃ เป็นเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง (h) ระเหยตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ 37℃ ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ คำนวณค่าร้อยละของผลผลิต (% yield) และเก็บสารสกัดในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20℃ ทำการสกัดตัวอย่างพืชทั้งหมด จำนวน 3 ซ้ำ

2. วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม

วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ดัดแปลงจาก Ismail et al. (2004) โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิกในน้ำ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารมาตรฐาน และเตรียมสารละลายสารสกัดในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดและนำเสนอในค่า มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g)

วิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม โดยใช้วิธีดัดแปลงจาก Zhishen et al. (1999) โดยเตรียมสารละลายเควอซิตินในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารมาตรฐานและเตรียมสารละลายสารสกัดในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดและนำเสนอในค่า มิลลิกรัมสมมูลเควอซิทินต่อกรัมสารสกัด (mg QE/g)

3. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ดัดแปลงวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจาก Do et al. (2014) โดยใช้สารละลายวิตามินซีในน้ำ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารควบคุมเชิงบวก เตรียมสารละลายสารสกัดในเอทานอล ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและนำเสนอข้อมูลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (Half maximal inhibitory concentration; IC_{50})

4. คัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์สูงสุด

คัดเลือกสารสกัดใบต้นสาละลังกาที่มีฤทธิ์สูงสุด เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสารสกัด โดยเกณฑ์ในการพิจารณา คือ มีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกรวมและกลุ่มฟลาโวนอยด์รวมสูง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสูง โดยมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด

5. ศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพของสารสกัด

ศึกษาลักษณะภายนอก ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดในเอทานอล ความเข้มข้น 1 mg/ml โดยทำการวัดค่า pH ด้วย pH meter และประเมินความสามารถในการละลายในตัวทำละลายของสารสกัด โดยตัวทำละลาย 4 ชนิดที่ศึกษา คือ เอทานอล (Absolute ethanol) น้ำ กลีเซอรีน และโพรพิลีนไกลคอล ประเมินการละลายของสารสกัดตามเกณฑ์ของ United States Pharmacopoeia (2011)

6. ศึกษาความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่ง

ประเมินลักษณะทางเคมีกายภาพของสารสกัด ได้แก่ ลักษณะภายนอก สี กลิ่น ค่า pH และปริมาณฟีนอลิกรวม ณ ค่าเริ่มต้น นำสารสกัดทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating-Cooling cycle จำนวน 6 รอบ ประเมินลักษณะทางเคมีกายภาพของสารสกัดหลังการทดสอบความคงตัว เปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น

7. ศึกษา Fingerprint ของสารสกัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

เตรียมสารละลายสารสกัดในเอทานอล ความเข้มข้น 1 mg/ml และเจือจางด้วยเอทานอลให้สารละลายมีความเข้มข้น 0.1 mg/ml นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer เพื่อบันทึกค่า Fingerprint ของสารสกัด

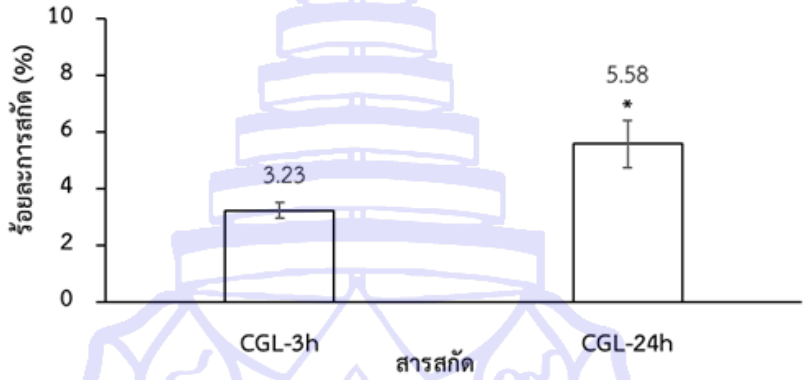
8. ข้อมูลและสถิติ

ผลการทดลองนำเสนอในรูป ค่าเฉลี่ย (mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ Independent *t*-test และ Paired *t*-test โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p-value<0.05)

ผลการวิจัย

1. ค่าร้อยละของสารสกัด

ภาพที่ 1 แสดงค่าร้อยละของสารสกัด โดย CGL-3h หมายถึงสารละลายสารสกัดใบสาละลังกาที่แช่สกัด 3 ชั่วโมง และ CGL-24h หมายถึงสารละลายสารสกัดใบสาละลังกาที่แช่สกัด 24 ชั่วโมง โดยค่าร้อยละของสารสกัดระบุถึงระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารสกัดที่เตรียมได้ ซึ่งระยะเวลาสกัดที่นานกว่า มีปริมาณสารสกัดที่สูงกว่า ผลการสกัดสอดคล้องกับรายงานการศึกษาการสกัดใบสาละลังกาด้วยวิธีที่ใกล้เคียงกัน (Elumalai et al., 2013)



ภาพที่ 1 ค่าร้อยละการสกัดของสารสกัดต้นสาละลังกา CGL-3h และ CGL-24h โดย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

2. ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม

ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด โดยปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด CGL-3h และ CGL-24h มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย p-value เท่ากับ 0.969 ซึ่งระยะเวลาการสกัดที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบสาละลังกาในการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้ความแตกต่างของปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลจากวิธีการสกัดสารจากพืช ระยะเวลาในการสกัด แหล่งเพาะปลูกพืช และอายุของพืชในการเตรียมสารสกัด (Kannamba & Kalpana, 2021)

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบสาละลังกา

สารสกัดใบสาละลังกา	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g)
CGL-3h	37.01 ± 3.06
CGL-24h	37.17 ± 5.93

หมายเหตุ สารสกัดทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p-value เท่ากับ 0.969

ผลการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด โดยปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัด CGL-24h มีค่าสูงกว่าสารสกัด CGL-3h อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งผลการศึกษาแสดงถึง ระยะเวลาการสกัดที่นานกว่าสามารถสกัดสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ออกจากพืชได้มากขึ้น ทั้งนี้ ความแตกต่างของปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดอาจเป็นผลจากสภาวะในการสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ วิธีสกัด ตัวทำละลายในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ความแตกต่างของพืชในการเตรียมสารสกัด และวิธีในการทดสอบปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Kannamba & Kalpana, 2021)

ตารางที่ 2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดใบสาละลังกา

สารสกัดใบสาละลังกา	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/g)
CGL-3h	130.28 ± 1.89
CGL-24h	141.81 ± 3.60*

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ทดสอบเปรียบเทียบกับวิตามินซี และแสดงผลการทดสอบในรูปความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ ร้อยละ 50 (IC_{50}) ดังตารางที่ 3 โดยค่า IC_{50} ต่ำ แสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง (Olugbami et al., 2014) ในการศึกษานี้ วิตามินซี เป็นสารควบคุมเชิงบวกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัด CGL-3h และ CGL-24h อย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) ขณะที่สารสกัด CGL-24h มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัด CGL-3h อย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทดสอบด้วย DPPH radical scavenging assay

สารทดสอบ	ความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (µg/ml)
วิตามินซี	6.65 ± 0.15^{a}
CGL-3h	44.44 ± 3.57^{c}
CGL-24h	35.01 ± 2.41^{b}

หมายเหตุ a, b, c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05)

4. คัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์สูงสุด

ผลการทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ของสารสกัด CGL-3h และ CGL-24h พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมใน

สารสกัดทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ CGL-24h มีค่าสูงกว่า CGL-3h อย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) ดังนั้น จึงเลือกสารสกัด CGL-24h เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพ ความคงตัว และ Fingerprint ของสารสกัดสำหรับการใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

5. ศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพของสารสกัด

สารสกัด CGL-24h มีลักษณะภายนอกเป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสีเขียวเข้ม มีความหนืด มีกลิ่นเฉพาะตัวคล้ายกลิ่นยาง เมื่อเตรียมสารละลายในเอทานอล ความเข้มข้น 1 mg/ml สารสกัดมีความเป็นกรด โดยมีค่า pH เท่ากับ 5.61 ± 0.15 เมื่อทดสอบความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผลการละลาย พบว่า สารสกัดละลายได้ดีมากในเอทานอล แสดงว่า สารสกัดใบสาละลังกามีสภาพความมีขั้วใกล้เคียงกับเอทานอลมากที่สุด ตามทฤษฎีการละลายที่ระบุ “ตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกัน” (Behera et al., 2010) ตัวทำละลายที่ละลายได้ดีรองลงมาตามลำดับ คือ น้ำ และโพรพิลีนไกลคอล ซึ่งมีสภาพความมีขั้วมากกว่าเอทานอล การละลายของสารสกัดใบสาละลังกาในกลีเซอรีน พบว่า ไม่สามารถละลายได้

6. การศึกษาความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่ง

ผลการศึกษาความคงตัวของสารสกัด ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วย Heating-Cooling cycle จำนวน 6 รอบ แสดงในตารางที่ 4 โดยลักษณะภายนอกของสารสกัดหลังการทดสอบความคงตัว มีความหนืดลดลง กลิ่นของสารสกัด ค่า pH และปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่า p-value เท่ากับ 0.982 แสดงถึง ความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่ง

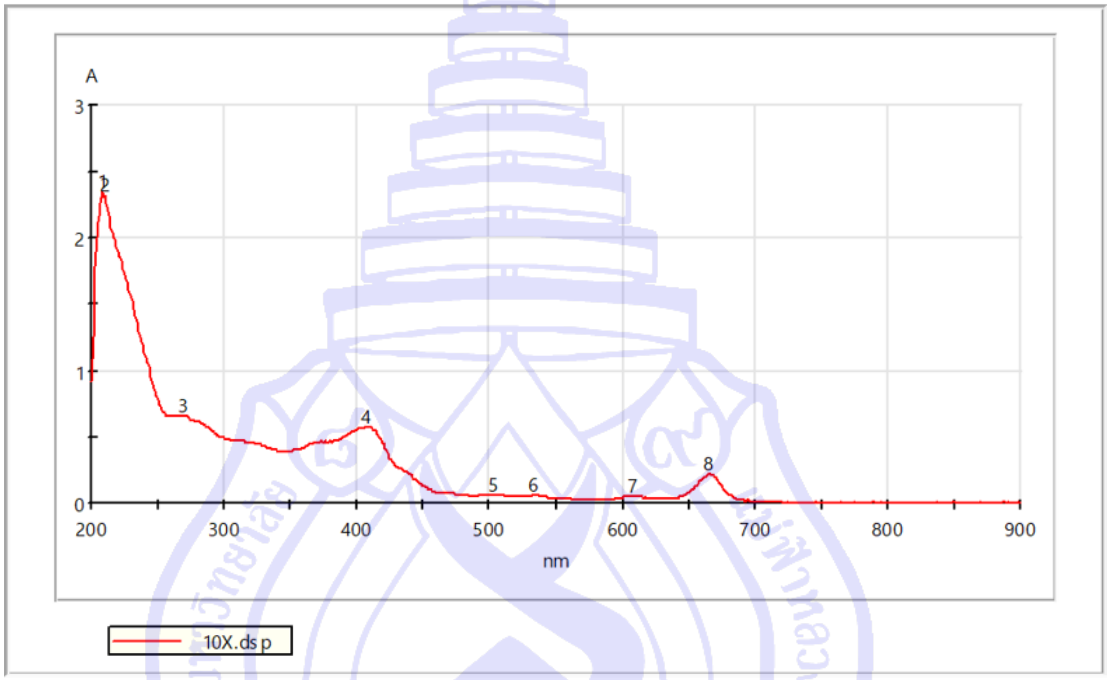
ตารางที่ 4 การทดสอบความคงตัวของสารสกัด CGL-24h ภายใต้สภาวะเร่ง

	ลักษณะภายนอก	สี	กลิ่น	ค่า pH[1]	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g)
ค่าเริ่มต้น	สารกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีความเหนียว	เขียวเข้ม	กลิ่นเฉพาะตัว คล้ายกลิ่นยาง	5.61 ± 0.15	37.51 ± 2.27
หลังผ่านสภาวะเร่ง	สารกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีความเหนียวลดลง เนื้อสารแห้งขึ้น	เขียวเข้ม	กลิ่นเฉพาะตัว คล้ายกลิ่นยาง	5.65 ± 0.12	37.51 ± 4.31

หมายเหตุ [1]ค่า pH ของสารสกัดประเมินในสภาวะสารละลายในเอทานอล ความเข้มข้น 1 mg/ml

7. การศึกษา Fingerprint ของสารสกัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสารสกัด CGL-24h ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.1 mg/ml ประเมินด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แสดงในตารางที่ 5 โดยรายงานวิจัยก่อนหน้าระบุกลุ่มสารสำคัญที่พบในสารสกัดใบด้วยเอทานอลและเมทานอล ได้แก่ สารกลุ่มฟีนอลิก สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Kannamba & Kalpana, 2021; Martínez et al., 2012; Somani et al., 2012)



ภาพที่ 2 Fingerprint ของสารละลายสารสกัด CGL-24h ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ ศึกษาเพียงสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาในอนาคตควรศึกษาชนิดของสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัด ตลอดจนศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ป้องกันแสงแดด เพื่อการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์

รายการอ้างอิง

จำเนียร ชมภู, ธนพงศ์ ไกรพุฒ, สุนิสา อุยะตุง และทศพล พรพรหม. (2563). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงาน ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของผิวหนังของดอกวัชพืชในวงศ์ Asteraceae บางชนิด. *วารสารเกษตร, 36*, 301-312.

Behera, A., Sahoo, S., & Patil, S. (2010). Enhancement of solubility: A pharmaceutical overview. *Der Pharmacia Lettre, 2*, 310-318.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S.,. . . . Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis, 22*(3), 296-302.

Elumalai, A., Bargavi, K., Krishna, S., & Eswaraiah, M. C. (2013). Evaluation of anti-oxidant and hepatoprotective activity of *Couroupita guianensis* leaves. *Journal of Cell and Tissue Research, 13*(2), 3745-3748.

Kannamba, B., & Kalpana, S. (2021). Influence of extraction method and solvent on flavonoids and total phenolic content of *Couroupita guianensis* leaves extract. *Dogo Rangsang Research Journal, 8*(14), 179-186. https://doi.org/10.36893.DRSR.2021.V08I14.179-186

Ismail, A., Marjan, Z. M., & Foong, C. W. (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry, 87*(4), 581-586. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.010

Martínez, A., Conde, E., Moure, A., Domínguez, H., & Estévez, R. J. (2012). Protective effect against oxygen reactive species and skin fibroblast stimulation of *Couroupita guianensis* leaf extracts. *Natural Product Research, 26*(4), 314-322.

Olugbami, J. O., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2014). *In vitro* evaluation of the antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of *Anogeissus leiocarpus. Journal of Medicine and Medical Sciences, 43*(Suppl. 1), 101-109.

Pandurangan, P., Sahadeven, M., Sunkar, S., & Dhana, S. K. N. M. (2018). Comparative analysis of biochemical compounds of leaf, flower and fruit of *Couroupita guianensis* and synthesis of silver nanoparticles. *Pharmacognosy Journal, 10*, 315-323.

Sheba, L. A., & Anuradha, V. (2020). An updated review on *Couroupita guianensis* Aubl: A sacred plant of India with myriad medicinal properties. *Journal of Herbmed Pharmacology, 9*, 1-11.

Somani, G., Chaudhari, R., Sancheti, J., & Sathaye, S. (2012). Inhibition of carbohydrate hydrolysing enzymes by methanolic extract of *Couroupita guianensis* leaves. *International Journal of Pharma Bio Sciences, 3*(4), 511-520.

United States Pharmacopeial Convention. (2011). *The United States Pharmacopeia 2011: USP 35; The National Formulary: NF 30.* United States Pharmacopeial Convention.

Xu, C. (2019). Trends in phytochemical research. *Journal of Food Biochemistry, 43*(6), e12913.

Zhishen J., Mengcheng T., & Jianning, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry, 64*(4), 555-559.