Published Online: 26 NOV 2024

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความคงตัวของสารสกัดใบกะเพรา

Comparison of Free Radical Scavenging Activities and Stability of *Ocimum tenuiflorum* Leaves Extracts

กนกวรรณ ฉัตรเงิน

อีเมล: 6351701251@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร.นภัตสร ดิษฐาวุฒิกุล

อีเมล: naphatsorn.kum@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

กะเพรา เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ปรุงอาหารมายาวนานในประเทศไทย ปัจจุบันมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบกะเพรามากขึ้น โดยพบว่าใบกะเพรามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนอื่นๆ และ มีกลิ่นหอม จึงสามารถนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ตามแนวคิด นิวโรบิวตี้ ซึ่งก็คือแนวคิดที่ว่าผิวหนังมีความสามารถในการผลิตสารเคมีแห่งความสุขที่สามารถสื่อสาร กับศูนย์ความสุขในสมองได้ โดยในประเทศไทยมีกะเพราหลากหลายสายพันธุ์ย่อยแม้จะเป็นพืชชนิดเดียวกัน การศึกษานี้จึงทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดกะเพราแดงและกะเพราขาว เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพ และศึกษาความคงตัวเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดกะเพราแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดกะเพราขาวด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (IC_{50} มีค่าเท่ากับ 170.72 ± 1.60 µg/ml และ 185.30 ± 2.41 µg/ml ตามลำดับ) และเอบีทีเอส (IC_{50} มีค่าเท่ากับ 3.37 ± 0.11 µg/ml และ 4.49 ± 0.10 µg/ml ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่สารสกัดกะเพราขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดกะเพราแดงด้วยวิธีดีพีพีเอช (IC_{50} มีค่าเท่ากับ 106.50 ± 1.88 µg/ml และ 132.14 ± 1.73 µg/ml ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่าสารสกัดกะเพราทั้งสอง มีปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างกัน ในขณะที่สารสกัดกะเพราแดงนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลทดสอบความคงตัวของสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิด โดยเก็บสารสกัดในอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิห้องในที่มืด ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส และในตู้อบ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน และเก็บที่อุณหภูมิสูงสลับต่ำ 6 รอบ พบว่าหลังจากการทดสอบความคงตัวสารสกัดกะเพราทั้งสอง มีปริมาณฟีนอลิกรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้พบว่าสารสกัดกะเพราแดงมีความคงตัวในสภาวะเย็น (4 องศาเซลเซียส) สภาวะร้อน (45 องศาเซลเซียส) และสภาวะร้อนสลับเย็นมากกว่ากะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่กะเพราขาวมีความคงตัวในการเก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืดมากกว่ากะเพราแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุปการศึกษาได้ว่าสารสกัดกะเพราแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดกะเพราขาว มีประสิทธิภาพในการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ตามแนวคิดนิวโรบิวตี้ได้ และควรมีการพัฒนาตำรับต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: กะเพรา, กะเพราขาว, กะเพราแดง, ต้านอนุมูลอิสระ, นิวโรบิวตี้, ความคงตัว

Abstract

Holy basil (*Ocimum tenuiflorum*), a culinary herb extensively used in Thailand, has been increasingly studied for its bioactive properties. Recent research shows that holy basil leaves have higher antioxidant activity compared to other parts. It also presented with unique pleasant odor. This research is grounded in the concept of Neurobeauty, which suggests that the skin can produce happiness-inducing chemicals that communicate with the brain's pleasure centers. In Thailand, there are various subspecies of holy basil. This study aims to compare the antioxidant activity, total phenolic content, and total flavonoid content of extracts from red and white holy basil. Evaluating their efficacy and stability for the potential development of cosmetic products.

Our findings indicated that red holy basil extract showed significantly higher antioxidant activity ($p < 0.05$) than white holy basil extract using hydrogen peroxide scavenging (IC_{50} values are 170.72 ± 1.60 µg/ml and 185.30 ± 2.41 µg/ml, respectively) and ABTS methods (IC_{50} values are 3.37 ± 0.11 µg/ml and 4.49 ± 0.10 µg/ml, respectively). Conversely, white holy basil extract showed higher antioxidant activity ($p < 0.05$) using the DPPH method (IC_{50} values are 106.50 ± 1.88 µg/ml and 132.14 ± 1.73 µg/ml, respectively). Both extracts had similar total phenolic content, but red holy

basil extract had significantly higher total flavonoid content ($p < 0.05$) than white holy basil extract.

Stability tests were conducted by storing the extracts for one month at room temperature, room temperature in the dark, in a refrigerator at 4°C, in an oven at 45°C, as well as through six cycles of alternating high and low temperatures. The results showed a significant decrease in total phenolic content ($p < 0.05$) for both extracts after the stability tests. Notably, red holy basil extract maintained higher stability ($p < 0.05$) under cold (4°C), hot (45°C), and alternating hot-cold conditions compared to the white holy basil. In contrast, the white holy basil extract showed greater stability ($p < 0.05$) when stored at room temperature in the dark compared to the red holy basil extract.

In conclusion, red holy basil extract has higher antioxidant activity and is promising for developing Neurobeauty products. Further research and formulation are needed.

Keywords: Holy Basil, *Ocimum tenuiflorum*, *Ocimum sanctum*, Antioxidant, Neurobeauty, Stability

บทนำ/หลักการและเหตุผล

Neurobeauty หรือ neurocosmetics คือ แนวคิดที่กำลังได้รับความสนใจและมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์มากขึ้นในปัจจุบัน (Elodie, 2021) โดยมีพื้นฐานมาจากความเข้าใจว่าผิวหนัง และระบบประสาทมีความเชื่อมโยงกัน เนื่องจากผิวหนังมีความสามารถในการผลิตสารเคมีแห่งความสุขที่สามารถสื่อสารกับศูนย์ความสุขในสมองได้ จึงถูกนำมาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ไม่เพียงแต่แก้ไขปัญหาของผิว แต่ยังส่งเสริมความเป็นอยู่ที่ดีทางอารมณ์ด้วย ซึ่งสะท้อนถึงการเปลี่ยนแปลงไปสู่การดูแลผิวแบบครอบคลุมที่พิจารณาทั้งสุขภาพกายและจิตใจ (Carst & Walker, 2024) โดยในการศึกษาเกี่ยวกับความงามทางประสาท พบว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดมีคุณสมบัติในการช่วยบรรเทาความตื่นเต้นและทำให้จิตใจสงบ ผ่านการควบคุมและกระตุ้นการสร้าง เบต้าเอนดอร์ฟิน ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้รู้สึกดีและผ่อนคลายได้ (Chen, 2023)

กะเพรา มีชื่อสามัญว่า holy basil หรือ sacred basil มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ocimum tenuiflorum* L. (ชื่อพ้อง *Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชในวงศ์ Lamiaceae เป็นไม้ล้มลุก ขนาดเล็ก ปลูกได้ทั่วไปในเขตร้อน โดยในประเทศไทยมีการปลูก 2 พันธุ์คือ กะเพราขาว (Lakshmi tulsi)

และกะเพราแดง (Krishna tulsi) ซึ่งนำมาทั้งปรุงอาหาร และนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านตามตำรา การแพทย์อายุรเวท (สุธาทิพ, 2551) มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกะเพราพบว่าใบของกะเพรามีสาร eugenol, ursolic acid, linalool และ rosmarinic acid ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ (Chaiyana et al., 2019) โดย eugenol เป็นสารสำคัญที่พบในกะเพรา มีคุณสมบัติช่วยลดการอักเสบในผิวหนัง ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ฆ่าเชื้อรา (Ulanowska & Olas, 2021) ลดอาการปวด เพิ่มการดูดซึมสารต่างๆ ผ่านชั้นผิว และสามารถช่วยปกป้องเซลล์สมองส่วนกลางทำให้ลดการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคซึมเศร้า และ โรคลมชัก (Nisar et al., 2021) รวมถึงพบว่าใบของกะเพรามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* (Viyoch et al., 2006) ที่ก่อให้เกิดสิวได้อีกด้วย

ปัจจุบันเริ่มมีผลิตภัณฑ์ที่มีสารออกฤทธิ์ตามแนวคิด neurobeauty หรือ neurocosmetics โดยมีส่วนผสมของสารสกัดจากกะเพรา มีข้อกล่าวอ้างสรรพคุณว่าช่วยให้ผิวกระจ่างใส และปลอบประโลมการแพ้ระคายเคือง ซึ่งเป็นการชะลอวัยแบบองค์รวมที่ช่วยปกป้องผิว และจิตใจจากการสัมผัสความเครียดจากสิ่งแวดล้อม แต่เนื่องจากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณ ฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของกะเพราแดง และกะเพราขาวยังมีอยู่น้อย ผู้วิจัยจึง มีแนวคิดที่จะทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกะเพรา 2 สายพันธุ์ย่อยในประเทศไทย เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพ และศึกษาความคงตัว เพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อทดสอบและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกะเพราแดงและกะเพราขาว
2. เพื่อทดสอบความคงตัวในสภาวะต่างๆ ของสารสกัดกะเพราที่เตรียมได้

ขอบเขตของการศึกษา

1. สกัดสารสำคัญจากกะเพราแดงและกะเพราขาวด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกะเพราที่เตรียมได้
3. ทดสอบความคงตัวของสารสกัดกะเพราที่เตรียมได้

การทบทวนวรรณกรรม

Baliga และคณะ (Baliga et al., 2013) รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของกะเพรานั้นมีความซับซ้อนมาก และปริมาณขององค์ประกอบหลายอย่างขึ้นอยู่กับสภาพการปลูก การเก็บเกี่ยว การแปรรูป และการเก็บรักษา ใบของกะเพรามีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.7 ซึ่งประกอบด้วย eugenol ร้อยละประมาณ 71 และ methyl eugenol ร้อยละ 20 นอกจากนี้น้ำมันของกะเพรายัง

พบ carvacrol และ sesquiterpine hydrocarbon caryophyllene อีกด้วย ในใบสดและลำต้นของกะเพราประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก เช่น cirsilineol, circimaritin, isothymusin, apigenin และ rosmeric acid รวมถึงกรด ursolic acid, apigenin, luteolin, pigenin-7-O-glucuronide, luteolin-7-O glucuronide และ molludistin นอกจากนี้ยังมี sesquiterpenes และ monoterpenes จำนวนหนึ่ง ได้แก่ bornyl acetate, α-elemene, neral, myrtenal, α- and β-pinenes, camphene, campesterol, stigmasterol และ β–sitosterol ซึ่งล้วนเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และให้ผลทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย

จากการศึกษาส่วนต่างๆ ของกะเพรา (*O. tenuiflorum* L.) ได้แก่ใบอ่อน ใบแก่ ช่อดอก ดอก ลำต้น และราก มีสาร eugenol และ eugenol methyl ether ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) ในส่วนของใบมากที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ของพืช และยังมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ *Ocimum* อื่นๆ อีก 4 สายพันธุ์ คือ *O. gratissimum* L., *O. americanum* L., *O. kilimandscharicum* Baker ex Gürke และ *O. basilicum* L. (Anand et al., 2016)

จากการศึกษาสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ในใบของ *Ocimum* species 5 สายพันธุ์ พบว่าในใบของกะเพรา (*O. tenuiflorum* subgenus *Gymnocimum*) มี luteolin 7-O-glucuronide และ luteolin 5-O-glucoside อยู่ร้อยละ 0-5 ของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เหมือนกับสายพันธุ์อื่นๆ แต่มี luteolin 7-O-glucuronide และ apigenin 7-O-glucuronide อยู่มากกว่าร้อยละ 30 ของปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งเป็นสารที่ไม่พบในสายพันธุ์อื่นๆ ของวงศ์กะเพรา และกะเพราที่เพาะปลูก กลางแดดจะมีปริมาณสารสำคัญมากกว่ากะเพราที่ปลูกในเรือนกระจก (Grayer et al., 2002)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเพื่อวิเคราะห์สารสำคัญของใบกะเพราขาว และกะเพราแดง โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) แล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) พบว่าองค์ประกอบหลักของ น้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว และกะเพราแดงคือ methyl eugenol พบร้อยละ 54.29 และ 51.21 ตามลำดับ รองลงมาคือสาร caryophyllene (Sodachan et al., 2015) คาดการณ์ว่าสารหอมเหล่านี้จะมีผลต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง และให้ประโยชน์ในเชิงนิวโรบิวตี้ได้

การศึกษาของ Chaiyana และคณะ ในปี 2019 เป็นการทดสอบศักยภาพของสารสกัดกะเพราในการต่อต้านริ้วรอย โดยศึกษา biochemical markers ที่เกี่ยวข้องกับ skin aging ที่ตัวทำละลายต่างกัน พบว่าสารสกัดเอทานอลนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดด้วยค่า trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ที่ 270.1 ± 15.1 μM/mg ค่า equivalent

concentration (EC_1) จากการทดสอบ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ที่ 459.3 ± 91.4 μM/mg และการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ร้อยละ 34.0 ± 0.7 นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งการแสดงออกของ NF-κB อย่างมีนัยสำคัญ (79.3 ± 9.6%) รวมถึงยังยับยั้งการหลั่ง IL-6 ร้อยละ 54.7 ± 3.1 MMP-1 ร้อยละ 77.7 ± 9.0 และ hyaluronidase ร้อยละ 79.3 ± 9.6 โดยพบว่ามีองค์ประกอบหลักคือ rosmarinic acid ร้อยละ 19.3 ซึ่งถือเป็นสารหลักที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านริ้วรอยของผิวหนังในการศึกษานี้

การศึกษาของ Wangcharoen และคณะ ในปี 2007 ทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (ferric reducing antioxidant power), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และ ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) ของพืชที่ใช้ในการทำอาหารไทยในตลาดเชียงใหม่ คือ พริกขี้หนูเขียว พริกขี้หนูแดง พริกชี้ฟ้าเขียว พริกชี้ฟ้าแดง กระเทียม กะเพราแดง กะเพราขาว และฟักทอง โดยใช้ส่วนที่กินได้มาทำการบดและใช้ตัวทำละลาย 95% ethanol ในการสกัด ด้วยอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายคือ 1 ต่อ 5 ส่วน โดยการสกัดใช้วิธีปั่นเหวี่ยงด้วย vortex mixer เป็นเวลา 60 วินาที พบว่าสารสกัดกะเพราแดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสารสกัดกะเพราแดงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ ABTS มากกว่ากะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH สารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาวไม่มีความแตกต่างกัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. Hydrogen peroxide scavenging activity เป็นวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่มีอยู่ในสารสกัดจากพืชด้วยโดยวัดการลดลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในระบบทดสอบที่มี H_2O_2 และ scavenger โดยวัดการกำจัด H_2O_2 ได้ด้วยการวัด UV ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร โดยมักใช้สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ ascorbic acid (ภาพที่ 2.3), gallic acid และ tannic acid แต่ข้อเสียของวิธีนี้ คือ อาจเกิดการรบกวนจากสารทุติยภูมิที่มีอยู่ในพืชที่สามารถดูดซับ UV ในช่วงคลื่นความยาวเดียวกัน (Fernando & Soysa, 2015)

2. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นวิธีที่วิเคราะห์ความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการเข้าจับและยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) แล้ววัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ซึ่ง DPPH• เป็นสารที่มีสีม่วงเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันจะเกิดเป็น DPPH-H ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง และค่าการดูดกลืนแสงนั้นจะขึ้นกับปริมาณของ DPPH• ที่เหลืออยู่หลังทำปฏิกิริยา (Blois, 1958)

3. ABTS (2,2’-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) เป็นวิธีที่ใช้สารที่เป็นตัวกำเนิดอนุมูลอิสระมักจะใช้สารสารประกอบกลุ่มเอโซ เช่น 2,2’-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ทำปฏิกิริยากับ potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระประจุบวก $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งเป็นสารที่มีสีเขียวน้ำเงินและสามารถทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระได้สารประกอบไม่มีสี ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Re et al., 1999)

4. การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ใช้การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method เป็นการหาปริมาณ phenolic hydroxyl groups ในสารสกัดโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาของฟีนอลที่เติมเบสเพื่อทำให้แตกตัวและเกิดปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ได้ง่ายขึ้น ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณจากค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (Blainski et al., 2013)

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content) นิยมใช้วิธีที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสารประกอบที่มีสี (colorimetric method) ระหว่างสารตัวอย่างกับ reagent ซึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ aluminium chloride ($AlCl_3$) ที่จะทำปฏิกิริยากับ C-4 keto groups และ C-3 หรือ C-5 hydroxyl group ของสารกลุ่ม flavones และ flavonols และยังสามารถเกิดปฏิกิริยากับ orthodihydroxyl groups ใน A-ring หรือ B-ring ของสารกลุ่ม flavonoids ได้ ซึ่งสามารถวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดได้ (Ahmed, 2018)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมพืชและการสกัด

นำกะเพราที่เพาะปลูกในตำบลนครเดิฐ อำเภอศรีนคร จังหวัดสุโขทัย และเก็บเกี่ยวในเดือนสิงหาคม พ.ศ.2565 ส่งตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ที่สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรเพื่อระบุชื่อวิทยาศาสตร์ และชื่อสามัญของกะเพรา จากนั้นนำใบกะเพราทั้ง 2 สายพันธุ์มาล้างให้สะอาด และอบแห้งในตู้อบ 50°C (Memmet รุ่น UF110, Germany) ประมาณ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ได้ผงละเอียดน้ำหนัก 50 กรัม และทำการสกัดวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วย 95 % ethanol ปริมาตร 250 ml โดยเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนกรองด้วยกระดาษกรอง และนำกากมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่กรองแล้วไปทำการระเหย solvent ออกด้วยเครื่อง rotary

evaporator (EYELA รุ่น A1000S) ที่ 50°C เก็บสารสกัดด้วยขวดแก้วสีชา ปิดสนิทที่อุณภูมิ 4°C เพื่อทดสอบฤทธิ์ต่อไป

2. การทดสอบคุณสมบัติการละลายของสารสกัดกะเพรา

นำสารสกัด 0.1 mg (ชั่งด้วย METTLER รุ่น ML 104T, Switzerland) ละลายในตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ 95% ethanol, DI water, propylene glycol, laureth-7 และ mineral oil ด้วยวิธีของ Savjani และคณะ (2012) ทดสอบการละลายที่อุณหภูมิห้อง โดยเติมตัวทำละลายทีละ 100 µL (0.1 ml) ลงไปในสารสกัด และใช้เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) ในการช่วยผสมละลาย โดยนับปริมาณของตัวทำละลายจนถึงจุดที่สารสกัดละลายจนหมด จากนั้นรายงานผลค่าการละลายตามหน่วยของ USP (United States Pharmacopeia) และ BP (British Pharmacopoeia) จำแนกความสามารถในการละลายโดยไม่คำนึงถึงชนิดตัวทำละลายที่ใช้ พิจารณาเพียงปริมาณที่ใช้และกำหนดหลักเกณฑ์ตามตารางที่ 2.1 (Savjani et al., 2012)

ตารางที่ 1 การพิจารณาการละลายตามเกณฑ์ USP และ BP

นิยามการละลาย	ส่วนของตัวทำละลายที่ต้องการในสารละลาย
Very soluble	น้อยกว่า 1
Freely soluble	ตั้งแต่ 1 ถึง 10
Soluble	ตั้งแต่ 10 ถึง 30
Sparingly soluble	ตั้งแต่ 30 ถึง 100
Slightly soluble	ตั้งแต่ 100 ถึง 1,000
Very slightly soluble	ตั้งแต่ 1,000 ถึง 10,000
Practically insoluble	10,000 ขึ้นไป

ที่มา Savjani et al. (2012)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี ได้แก่ hydrogen peroxide scavenging activity (Kumar & Chaiyasut, 2017), DPPH assay (Kumar & Chaiyasut, 2017) และ ABTS assay (Xiao et al., 2019) โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน รายงานผลการทดสอบในรูปแบบความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50})

3.1 วิธี hydrogen peroxide scavenging activity เริ่มจากเตรียมสารสกัดกะเพราที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 1 ml ผสมกับสารละลาย H_2O_2 (43 mM) 1 ml แล้วนำไปวัดค่า

การดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร โดยมี control เป็น DI water 1 ml ผสมกับ H_2O_2 (43 mM) 1 ml และ blank เป็น DI water 1 ml ผสมกับสารมาตรฐาน ascorbic acid หรือสารสกัดปริมาตร 1 ml ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่า scavenging of hydrogen peroxide โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน

$$\% \text{ of scavenged } H_2O_2 = [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$$

กำหนดให้ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.2 DPPH assay เริ่มจากนำสาร DPPH ปริมาตร 1 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง ตามด้วยสารมาตรฐาน หรือสารสกัดปริมาตร 1 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้องในที่มืด และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยกำหนดให้ตัวควบคุม (control) ของสารมาตรฐานและสารสกัด คือ DPPH ผสมกับ 95% ethanol และ blank คือ 95% ethanol นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition of DPPH} = [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$$

กำหนดให้ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.3 ABTS assay เริ่มจากเจือจางสารละลาย ABTS ด้วย methanol ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วย UV-Vis spectrophotometer ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.70 ± 0.2 จากนั้นผสมสารละลาย ABTS ปริมาตร 2.4 ml กับสารมาตรฐาน ascorbic acid หรือสารสกัดกะเพราความเข้มข้นที่เหมาะสม ปริมาตร 600 µL ให้เข้ากันในหลอดทดลอง บ่ม 4 นาที ในที่มืด จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ตัวควบคุม (control) ของสารมาตรฐานและสารสกัด คือ ABTS และ blank คือ methanol นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาค่า % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition of ABTS} = [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$$

กำหนดให้ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

4. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม aluminum chloride colorimetric method

การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ดัดแปลงจากวิธีของ Kumar & Chaiyasut (2017) โดยมี quercetin เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดลองโดยนำสารมาตรฐานหรือสารสกัดกะเพรา 300 µL ใส่ลงไปในหลอดทดลอง จากนั้นเติม 15% w/w sodium nitrite ($NaNO_2$) 450 µL ทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม 15% w/w aluminum chloride solution ทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม 8% w/w sodium hydroxide solution ปริมาตร 2.1 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณสาร ฟลาโวนอยด์ใน สารสกัด รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ quercetin ต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalent/g of extract)

5. การหาปริมาณฟีนอลิกรวม Folin-Ciocalteu colorimetric method

ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method โดยมี gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ตามวิธีของ Obeng และคณะ (2020) ทำการทดลองโดยเริ่มจากการนำสารมาตรฐานหรือสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ในหลอดทดลอง 1 ml เติม DI water 5 ml ตามด้วย 10% Folin-Ciocalteu reagent 500 µl ลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม 20% Na_2CO_3 1.5 ml ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้เท่ากับ 10 ml ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง 96-well microplate reader โดยกำหนดให้ตัวควบคุมของสารมาตรฐานคือ 10% Folin-Ciocalteu reagent ผสมกับน้ำกลั่น และ 20% Na_2CO_3 แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัด (mg of gallic acid equivalent/g of extract)

6. การทดสอบความคงตัวของสารสกัดกะเพราที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ตัวชี้วัดคือปริมาณฟีนอลิกรวม

1) ทำการวัดปริมาณฟีนอกลิกรวมหลังเก็บเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาวะต่างๆ ของสารสกัดเปรียบเทียบกับปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการสกัด โดยมีกำหนดสภาวะคือ ในตู้เย็น 4 °C, ในตู้อบ 45 °C, อุณหภูมิห้องในที่มืด และในอุณหภูมิห้อง

2) ประเมินความคงตัวของสารสกัดที่สภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบโดยนำสารสกัดเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตั้งอุณหภูมิที่ 45 °C นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบ ให้ตั้งอุณหภูมิเป็น 4 °C นาน 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ 6 รอบ และทำการวัดปริมาณฟีนอลิกหลังครบ 6 รอบเปรียบเทียบกับปริมาณ ฟีนอลิกรวมหลังการสกัด (ยามีละ ดอแม และลัดดาวัลย์ ชูทอง, 2564)

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} (median inhibitory concentration หน่วย µg/mL) การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ quercetin ต่อกรัมของสารสกัด (mg of QE/g of extract) และการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมของสารสกัด (mg of GAE/g of extract) โดยอยู่ในรูป mean ± SD โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel เวอร์ชัน 2013 และการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยโปรแกรม IBM SPSS statistics เวอร์ชัน 21 โดยใช้สถิติ Independent t-Test, one-way ANOVA (analysis of variance) และ Tukey's Honest Significant Different (HSD) test

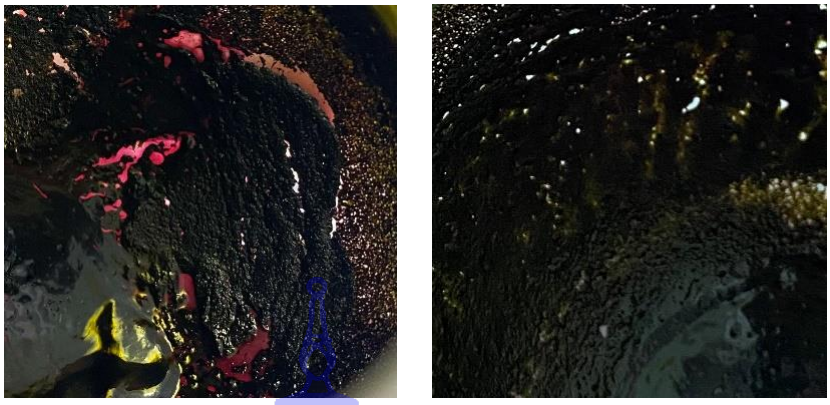
กำหนดค่า $p < 0.05$ หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลวิจัย

1. การสกัดและคุณสมบัติของสารสกัด

จากการสกัดกะเพราแดงและกะเพราขาวอย่างละ 50 g ด้วยวิธีการแช่หมัก (maceration extraction) โดยใช้ 95% ethanol ด้วยอัตราส่วนพืชและตัวทำละลายคือ 1:5 พบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบกะเพราะที่ชั่งได้คือกะเพราแดง 4.64 ± 0.67 กรัม และกะเพราขาว 4.90 ± 0.30 กรัม คิดเป็น %yield ของสารสกัดกะเพราแดงและกะเพราขาว เท่ากับร้อยละ 9.27 ± 1.35 และ 9.80 ± 0.61 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าสารสกัดกะเพราแดง และกะเพราขาวมีค่า %yield ไม่แตกต่างกัน

สารสกัดกะเพราแดงหลังการสกัดมีความข้นหนืด สีเขียวเข้มและมีส่วนเหลือบสีแดงชัดเจน สารสกัดกะเพราขาวหลังการสกัดมีความข้นหนืด สีเขียวเข้ม (ภาพที่ 1) เมื่อเก็บสารสกัดกะเพราทั้ง 2 ชนิดในตู้เย็น 4 °C เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสารสกัดทั้งสองมีลักษณะเช่นเดิมเมื่อเทียบกับหลังการสกัด และเมื่อเก็บสารสกัดในตู้อบ 45 °C อุณหภูมิห้องในที่มืด และในอุณภูมิห้อง พบว่าสารสกัดทั้งสองแห้งแข็งขึ้น มีสีเข้มขึ้น



ภาพที่ 1 สารสกัดกะเพราแดง (ซ้าย) และ สารสกัดกะเพราขาว (ขวา)

การทดสอบการละลายได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตารางแสดงความสามารถในการละลายของสารสกัดกะเพราในตัวทำละลายต่างๆ

สารละลายที่ใช้	**ปริมาตรที่ใช้ละลายกะเพราแดง 0.1 mg**	**ปริมาตรที่ใช้ละลายกะเพราขาว 0.1 mg**	**Solubility**
95% Ethanol	50 µl	50 µl	Very soluble
DI water	5000 µl	5000 µl	Practically insoluble
Propylene glycol	3500 µl	5000 µl	Sparingly soluble
Laureth-7	300 µl	300 µl	Freely soluble
Mineral oil	200 µl	200 µl	Freely soluble

จากตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาวสามารถละลายได้ดีมากใน 95% ethanol ละลายได้ดีใน mineral oil และ laureth-7 ละลายได้บ้างใน propylene glycol และแทบไม่ละลายในน้ำเลย โดยในการศึกษาของ Baliga และคณะ (2013) พบว่าในใบของกะเพรามีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.7 ซึ่งประกอบด้วย eugenol ร้อยละประมาณ 71 และ methyl eugenol ร้อยละ 20 เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Anand และคณะ (2016) ที่พบว่ามีสาร eugenol และ eugenol methyl ether ในส่วนของใบมากที่สุด และการศึกษาของ Sodachan และคณะ (2015) พบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว และกะเพราแดงคือ methyl eugenol ซึ่งมีคุณสมบัติแทบไม่ละลายในน้ำที่เป็นตัวละลายที่มีขั้วสูง

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกะเพรา

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี รายงานผลการทดสอบในรูปแบบความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC_{50}) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิดในการทดสอบ Hydrogen peroxide scavenger, DPP และ ABTS

สารสกัด	IC_{50} (µg/ml)		
	H_2O_2 Scavenger	DPPH	ABTS
กะเพราแดง	170.72 ± 1.60*	132.14 ± 1.73	3.37 ± 0.11*
กะเพราขาว	185.30 ± 2.41	106.50 ± 1.88*	4.49 ± 0.10

หมายเหตุ * แสดงถึง สารสกัดนั้นมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Hydrogen peroxide scavenging พบว่าสารสกัดกะเพราแดง และสารสกัดกะเพราขาวมีค่า IC_{50} เท่ากับ 170.72 ± 1.60 µg/ml และ 185.30 ± 2.41 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ IC_{50} ของสารมาตรฐาน ascorbic acid มีค่าเท่ากับ 74.50 ± 5.49 µg/ml จึงสรุปว่าสารสกัดกะเพราแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Hydrogen peroxide scavenging มากกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 3

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดกะเพราแดง และสารสกัดกะเพราขาวมีค่า IC_{50} เท่ากับ 132.14 ± 1.73 µg/ml และ 106.50 ± 1.88 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ IC_{50} ของสารมาตรฐาน ascorbic acid มีค่าเท่ากับ 8.54 ± 0.29 µg/ml จึงสรุปว่าสารสกัดกะเพราขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากกว่าสารสกัดกะเพราแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 3

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดกะเพราแดง และสารสกัดกะเพราขาวมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.37 ± 0.11 µg/ml และ 4.49 ± 0.10 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ IC_{50} ของสารมาตรฐาน ascorbic acid มีค่าเท่ากับ 0.63 ± 0.01 µg/ ml จึงสรุปว่าสารสกัดกะเพราแดง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มากกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 3

ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดกะเพราแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยกลไกให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดกะเพราขาว และสารสกัดกะเพราขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยกลไกให้ไฮโดรเจนอะตอมมากกว่าสารสกัดกะเพราแดง

3. ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาวโดยมี quercetin เป็นสารมาตรฐาน (mg QE/g extract) แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดกะเพราสองชนิด

สารสกัด	Total flavonoid content (mg QE/g extract)
กะเพราแดง	266.72 ± 6.35*
กะเพราขาว	231.27 ± 4.68

หมายเหตุ * แสดงถึง ปริมาณ total flavonoid content สูงกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่า สารสกัดกะเพราแดงมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากกว่ากะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเพราะกะเพราแดงมีรงควัตุสีแดงที่ส่วนมากเป็นสารฟลาโวนอยด์อยู่ด้วย

4. ปริมาณฟีนอกลิกรวม

จากผลการทดสอบปริมาณฟีนอกลิกรวมของสารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาว เมื่อใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการสกัดของกะเพราทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกัน และปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการเก็บในสภาวะต่างๆ และสภาวะเร่ง รายงานดังตารางที่ 5 โดยผลทดสอบความคงตัวหลังการเก็บในสภาวะต่างๆ คือในตู้เย็น 4 °C ในตู้อบ 45 °C อุณหภูมิห้องในที่มืด และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน และในสภาวะเร่ง พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมลดลงเมื่อเปรียบกับปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้าของ Wangcharoen and Morasuk (2007) ที่ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชปรุงอาหารไทยหลายชนิด พบว่า สารสกัดกะเพราแดงมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดกะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อาจเนื่องจากการศึกษาก่อนหน้าใช้วิธีการสกัดแบบปั่นผสม 60 วินาที และใช้ส่วนของพืชที่กินได้ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างกับการศึกษานี้ที่ใช้วิธีการสกัดด้วยวิธีแช่หมักและใช้เฉพาะส่วนใบของกะเพรา

ผู้วิจัยได้เลือกสารประกอบฟีนอลิกมาเป็นตัวแทนในการประเมินความคงตัวของสารสกัดที่เตรียมได้ จากผลการทดสอบความคงตัวระหว่างสารสกัดกะเพราแดง และกะเพราขาวที่สภาวะต่างๆ และสภาวะเร่งโดยใช้ตัวชี้วัดคือปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic contents) พบว่าสารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาวมีปริมาณฟีนอลิกรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไม่แตกต่างกัน ในทุกสภาวะหลังการเก็บ 1 เดือน และหลังการเก็บในสภาวะเร่ง 6 รอบ เมื่อเทียบกับปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการสกัด ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณฟีนอลิกรวมในสภาวะต่างๆ และสภาวะเร่งของสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิดเปรียบเทียบจากสารมาตรฐาน

สภาวะการเก็บรักษา	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	
	กะเพราแดง	กะเพราขาว
หลังการสกัดทันที	115.12 ± 3.22	115.55 ± 6.70
ในตู้เย็น 4 ºC 30 วัน	83.30 ± 0.68*	53.63 ± 2.11*
ในตู้อบ 45 ºC 30 วัน	79.98 ± 3.66*	61.83 ± 1.01*
อุณหภูมิห้องในที่มืด 30 วัน	62.02 ± 2.64*	75.68 ± 2.37*
อุณหภูมิห้อง 30 วัน	58.32 ± 1.01*	59.10 ± 1.22*
สภาวะเร่ง 6 รอบ	74.12 ± 0.59*	71.00 ± 1.47*

หมายเหตุ * แสดงถึง ปริมาณของ total phenolic content ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับหลังการสกัดทันที

จากการเปรียบเทียบความคงตัวของสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิด พบว่าสารสกัดกะเพราแดงมีความคงตัวในการเก็บในตู้เย็น 4 ˚C ในตู้อบ 45 ˚C และในสภาวะเร่งมากกว่ากะเพราขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่กะเพราขาวมีความคงตัวในการเก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืดมากกว่ากะเพราแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิดในสภาวะการเก็บในอุณหภูมิห้องไม่มีความแตกต่างกัน

ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าอุณหภูมิและแสงมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดกะเพราทั้งสองชนิด และเนื่องจากสารสกัดกะเพราถือเป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี และมีกลิ่นในการช่วยเรื่องความผ่อนคลาย สามารถนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ตามแนวคิด neurobeauty หรือ neurocosmetics เพื่อเพิ่มมูลค่าสมุนไพรไทย จึงอาจต้องมีการศึกษาและพัฒนาการเก็บสารสกัดกะเพราในรูปแบบอื่นๆ เช่น นาโนอีมัลชัน เพื่อความคงตัว และง่ายต่อการพัฒนาตำรับในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษานี้ใช้สารมาตรฐานวิตามินซีเพียงสารเดียวในการเปรียบเทียบกับสารทดสอบ ควรมีสารมาตรฐานอื่นเพิ่มเติม เช่น trolox เพื่อยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
2. ควรมีการทดลองสกัดสารด้วยตัวทำละลายอื่นๆ เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดของสารสำคัญในสารสกัดกะเพราแดงและสารสกัดกะเพราขาว

4. ควรมีการศึกษาความคงตัวของสารสกัดกะเพราในสภาวะต่างๆ และระยะเวลาต่างๆ เพิ่มเติม

5. ควรมีการศึกษาการเก็บสาระสำคัญในรูปแบบต่างๆ เพื่อความคงตัวมากขึ้น เช่น นาโนอีมัลชัน

6. ควรมีการพัฒนาตำรับจากสารสกัดกะเพรา เช่น ตำรับน้ำมันนวด เป็นต้น

รายการอ้างอิง

สุธาทิพ ภมรประวัติ. (2551). *กะเพรา ราชินีสมุนไพร.* นิตยสารหมอชาวบ้าน. https://www.doctor.or.th/article/detail/5799

ยามีละ ดอแม และลัดดาวัลย์ ชูทอง. (2564). การพัฒนาเจลจากสารสกัดลูกประคบสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารศิลปการจัดการ, 5*(3), 862-876.

Ahmed, F. (2018). Antioxidant activity of Ricinus Communis. *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 5(4). https://doi.org/10.19080/omcij.2018.05.555667

Anand, A., Jayaramaiah, R. H., Beedkar, S. D., Singh, P. A., Joshi, R. S., Mulani, F. A., . . . Giri, A. P. (2016). Comparative functional characterization of eugenol synthase from four different Ocimum species: Implications on eugenol accumulation. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics, 1864*(11), 1539–1547. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.08.004

Baliga, M. S., Jimmy, R., Thilakchand, K. R., Sunitha, V., Bhat, N. R., Saldanha, E., . . . Palatty, P. L. (2013). Ocimum Sanctum L (Holy Basil or Tulsi) and its phytochemicals in the prevention and treatment of cancer. *Nutrition and Cancer, 65*(SUPPL.1), 26–35. https://doi.org/10.1080/01635581.2013.785010

Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from limonium brasiliense L. *Molecules, 18*(6), 6852–6865. https://doi.org/10.3390/molecules18066852

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature, 181*, 1199–1200.

Carst & Walker. (2024). Skin wellness and neuro cosmetics: The connection between beauty and emotions. https://carst.com/skin-wellness-and-neuro-cosmetics-the-connection-between-beauty-and-emotions/

Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Punyoyai, C., Neimkhum, W., Lee, K. H., Lin, W. C., . . . Mueller, M. (2019). Ocimum sanctum Linn. as a natural source of skin anti-ageing compounds. *Industrial Crops and Products, 127*, 217–224.

Chen, L. (2023, May). *Discover emotional beauty: a new era in skincare and wellness*. https://www.ausmetics.com/emotional-beauty/

Elodie. (2021). *Neurocosmetics: Those products that speak to our brain.* https://www.alcimed.com/en/insights/neurocosmetics-those-products-that-speak-to-our-brain/

Fernando, C. D., & Soysa, P. (2015). Optimized enzymatic colorimetric assay for determination of hydrogen peroxide (H2O2) scavenging activity of plant extracts. *MethodsX, 2*, 283–291. https://doi.org/10.1016/j.mex.2015.05.001

Grayer, R. J., Kite, G. C., Veitch, N. C., Eckert, M. R., Marin, P. D., Senanayake, P., . . . Paton, A. J. (2002). Leaf flavonoid glycosides as chemosystematic characters in Ocimum. *In Biochemical Systematics and Ecology, (30).* www.elsevier.com/locate/biochemsyseco

Kumar, N., & Chaiyasut, C. (2017). Health promotion potential of vegetables cultivated in Northern Thailand: A preliminary screening of tannin and flavonoid contents, 5α-reductase inhibition, astringent activity, and antioxidant activities. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 22*(4), 573–579. https://doi.org/10.1177/2156587216686689

Nisar, M. F., Khadim, M., Rafiq, M., Chen, J., Yang, Y., & Wan, C. C. (2021). Pharmacological properties and health benefits of eugenol: A comprehensive review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, (2021).* 1-14. https://doi.org/10.1155/2021/2497354

Obeng, E., Kpodo, F. M., Tettey, C. O., Essuman, E. K., & Adzinyo, O. A. (2020). Antioxidant, total phenols and proximate constituents of four tropical leafy vegetables. *Scientific African*, *7*. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00227

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Original contribution antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine, 6*, 1231-1237.

Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. (2012). Drug solubility: Importance and enhancement techniques. *ISRN Pharmaceutics, 2012*, 1–10. https://doi.org/10.5402/2012/195727

Sodachan, J., Sungthong, B., & Rattanakiat, S. (2015). Abstract chemical profiling and antimicrobial activities against oral pathogens of Ocimum spp. essential oils. *IJPS, 11*, 304-310.

Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(7). https://doi.org/10.3390/ijms22073671

Viyoch, J., Pisutthananà, N., Faikreua, A., Nupangta, K., Wangtorpol, K., & Ngokkuen, J. (2006). Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against Propionibacterium acnes. *International Journal of Cosmetic Science, 28*, 125–133.

Wangcharoen, W., & Morasuk, W. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants. *Maejo International Journal of Science and Technology, 1*(2), 100-106.

Xiao, X., Ren, W., Zhang, N., Bing, T., Liu, X., Zhao, Z., . . . Shangguan, D. (2019). Comparative study of the chemical constituents and bioactivities of the extracts from fruits, leaves and root barks of Lycium barbarum. *Molecules, 24*(8). https://doi.org/10.3390/molecules24081585