Published Online: 28 OCT 2024

การพัฒนากระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางเครื่องสำอางจากใบคนทีสอ โดยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และตัวทำละลายทางเลือก

Extraction Process Development of Cosmetic Active Ingredient from *Vitex trifolia* Linn. by Using Ultrasonic-Assisted Method and Alternative Solvents

พรรณทิพา เพชรศรีเงิน
อีเมล: 6351701268@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทวัชร เขตอุดมคีรี
อีเมล: nuntawat.kha@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

คนทีสอ (*Vitex trifolia* Linn.) เป็นพืชวงศ์เวอร์บีน่าซิอี (Verbenaceae) สรรพคุณเป็นตำรายาไทย ใบจะมีรสร้อน แก้ไข้และลดปวดตามร่างกาย มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่โดดเด่น และปัจจุบันการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางมากยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดใบคนทีสอด้วยวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)) และเปรียบเทียบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และการเขย่า (Conventional Shaking Extraction) จากผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง คือ การสกัดโดยใช้โพลีออลเป็นตัวทำละลาย เมื่อทำการเปรียบเทียบการสกัดสารแบบเขย่าและคลื่นเสียงความถี่สูง พบว่า วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05 และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์ในการยับยั้งเท่ากับร้อยละ 40.49±0.99 และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ ร้อยละ 56.85±3.01 ซึ่งมากกว่าการสกัดแบบเขย่าอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น การสกัดสารจากใบคนทีสอด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในปัจจัยที่เหมาะสม สามารถนำมาใช้สกัด

สารสำคัญของใบคนทีสอที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และสามารถนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอาง รวมถึงอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้

คำสำคัญ: คนทีสอ, การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง, สารต้านอนุมูลอิสระ, การยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนส, สารประกอบฟีนอลิก

Abstract

Vitex trifolia Linn., a plant belonging to the Verbenaceae family, is recognized in traditional Thai medicine for its medicinal properties. The leaves, characterized by their pungent taste, are traditionally used to reduce fever and relieve body aches. The plant contains bioactive compounds and antioxidant activities. Additionally, there is an increasing trend in using natural extracts in the cosmetics industry. The objectives of this research were to study the factors of extraction using ultrasound-assisted extraction on total phenolic content. The results showed that the optimal conditions for UAE are using of polyol as a solvent. This research was compared to the conventional shaking extraction and UAE on antioxidant activities by 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging and tyrosinase-inhibitory activity. When comparing the shaking extraction method and the UAE extraction method, it was found that the UAE extraction method yielded a significantly higher amount of phenolic compounds than conventional shaking extraction method (p value < 0.05). Additionally, the study of bioactivity through antioxidant activity testing using the DPPH method showed an inhibition activity of 59.65±2.43%, and the tyrosinase inhibition activity was 56.85±3.01%, which was significantly higher than the shaking extraction method. Therefore, extracting compounds from *Vitex trifolia* Linn. using the optimal UAE conditions can effectively yield bioactive compounds. These can be applied in cosmetics and other industries.

Keywords: *Vitex trifolia* Linn., Ultrasonic-assisted Extraction, Antioxidant Activity, Tyrosinase-inhibitory Activity, Phenolic Compounds

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

ปัญหาผิวพรรณที่พบได้บ่อยในปัจจุบัน คือ รอยด่างดำและผิวที่ขาดความกระจ่างใส มักเกิดจากการสร้างเม็ดสีผิวที่ผิดปกติ ซึ่งมีสาเหตุหลายประการ เช่น พันธุกรรม ฮอร์โมน ความเครียด และแสงแดด สิ่งเหล่านี้นำไปสู่การเกิดฝ้า ผิวหมองคล้ำโดยการกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ และรบกวนการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นกระบวนการสร้างเม็ดสี ดังนั้นการกำจัดอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดเม็ดสี ในอดีตมีการใช้สารเคมี เช่น ไฮโดรควิโนน เพื่อทำให้ผิวขาว แต่เนื่องจากผลข้างเคียงที่รุนแรง การใช้สารดังกล่าวในเครื่องสำอางจึงถูกห้าม (Fabian et al., 2023) ปัจจุบันผู้บริโภคหันมาใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมจากสมุนไพรและสารสกัดจากธรรมชาติแทน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิกจากพืชจะช่วยยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันและการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำให้การสร้างเม็ดสี เมลานินลดลง ส่งผลให้ผิวกระจ่างใสขึ้น การศึกษาสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการช่วยดูแลผิวพรรณ และส่งเสริมสุขภาพผิวให้ดีขึ้น (Wanichwecharungruang et al., 2020)

คนทีสอ (*Vitex trifolia* Linn.) เป็นไม้พุ่มเขตร้อน ที่ในอดีตเคยนำมาถูกใช้สำหรับแก้อาการปวดตามร่างกาย ขับลม แก้คลื่นไส้อาเจียน (Rageau, 1973; de Kok, 2007) มีงานวิจัยเกี่ยวกับสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของสารสกัดจากใบคนทีสอ เช่น กลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ (Li et al., 2005) เทอร์พีนอยด์ (Tiwari et al., 2012) และอัลคาลอยด์ (Luo et al., 2017) ซึ่งมักถูกนำมาใช้ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (Hai-Nang et al., 2020) นอกจากนั้นจากรายงานการศึกษาในใบคนทีสอผ่านตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอทานอล และ น้ำ ยังพบสาร คาร์โบไฮเดรต ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ โปรตีน อะมิโนแอซิด แทนนิน ไฟโตสเตอรอล และซาโปนิน (Thenmozhi et al., 2011)

การสกัดสารจากพืชทำได้หลายวิธี ทั้งแบบดั้งเดิม (Conventional extraction method) และแบบสมัยใหม่ (Non-conventional extraction methods) เนื่องจากการสกัดแบบดั้งเดิมมีความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility) ค่อนข้างต่ำ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน รวมถึงต้องใช้ตัวอย่างพืชสมุนไพร และตัวทำละลายในปริมาณมาก วิธีการสกัดสารแบบสมัยใหม่ เช่น การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง จะมีการคำนึงถึงพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยมีการนำเทคโนโลยีคลื่นเสียงความถี่สูงเข้ามาช่วยในกระบวนการสกัด ลดการใช้ตัวทำละลาย เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด และลดระยะเวลาในการสกัดด้วย (Zhang et al., 2018) นอกจากนี้กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มักจะต้องมีการแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัด เนื่องจากกังวลเรื่องความปลอดภัยจากสารตกค้างของตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งต้องใช้พลังงานและเวลานานขึ้น เพื่อลดปัญหานี้สามารถพิจารณาใช้ตัวทำละลายทางเลือก เช่น สารประเภทโพลีออล เนื่องจากสารเหล่านี้สามารถนำมาใช้ใน

สูตรเครื่องสำอางและได้รับการรับรองว่าปลอดภัยโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) (Myo et al., 2022)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการใช้ใบคนทีสอซึ่งเป็นพืชจากภายในประเทศนำมาสกัดเพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเครื่องสำอาง เพิ่มมูลค่าทางการตลาดของพืช โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนส เพื่อเป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ (Objective)

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารฟีนอลิกจากใบคนทีสอด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดใบทีสอโดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน
3. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดใบคนทีสอ
4. เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดใบคนทีสอ

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. เตรียมตัวอย่างใบคนทีสอ

นำใบคนทีสอจากหมู่บ้านห้วยส้านใหม่ ตำบลแม่สลองใน อำเภอแม่ฟ้าหลวง จากจังหวัดเชียงราย นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วนำมาอบแห้งในตู้อบแห้งแบบถาด (Tray dryer) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำใบคนทีสออบแห้งมาบดให้อยู่ในรูปแบบผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Blender) (Saklani et al., 2017; Kanlayavattanakul et al., 2018) แล้วเก็บตัวอย่างพืชในโถแก้วปิดสนิท

2. ศึกษาวิธีการสกัดสารจากใบคนทีสอด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

นำผงแห้งของใบคนทีสอมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล บิวทิลีนไกลคอล โพรพิลีนไกลคอล และกลีเซอรีน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 ใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำลาย 1:20 (g/ml) สกัดสารด้วยวิธีการสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง กำลังไฟฟ้าระดับ 6 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อไป (Saewan et al., 2020)

3. ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

นำสารสกัดมาสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (ดัดแปลงวิธี Hemwimol et al., 2005) โดยกำหนดให้มี 4 ปัจจัย ได้แก่

3.1 ศึกษาความเข้มข้นของตัวทำละลาย โดยกำหนดความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80 โดยใช้ระยะเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 1:20 กำลังไฟฟ้าระดับ 6

3.2 ศึกษาอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย โดยกำหนด อัตราส่วน 1:10 1:20 และ 1:50 (g/ml) ระยะเวลา 30 นาที กำลังไฟฟ้าระดับ 6 ที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 50

3.3 ศึกษาระยะเวลาการสกัดของตัวทำละลาย โดยกำหนด ระยะเวลาที่ 15 30 และ 60 นาที ที่กำลังไฟฟ้าระดับ 6 ความเข้มข้นตัวทำละลายร้อยละ 50 และอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย 1:50

3.4 ศึกษากำลังไฟฟ้าของเครื่องอัลตราโซนิคบาธ (Ultrasonic bath CREST รุ่น 690DAE ความถี่ 50/60 Hrz) โดยกำหนดที่ระดับ 3, 6 และ 9 ความเข้มข้นตัวทำละลายร้อยละ 50 อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย 1:50 (g/ml) โดยใช้เวลาสกัด 60 นาที

เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดโดยใช้ปัจจัยที่แตกต่างกันออกไป แล้วนำข้อมูลปัจจัยที่เหมาะสมไปใช้ในการวิเคราะห์สารและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

4. เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

4.1 วิธีการสกัดสารแบบเขย่า (Conventional shaking extraction) โดยการเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่าสารในรูปแบบเป็นวงกลม (orbital shaking) โดยใช้ตัวทำละลายที่ดีสุดจากการทดลองนี้ ในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายเหมือนกันกับวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Saifullah et al., 2020)

4.2 วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic bath CREST รุ่น 690DAE) โดยพิจารณาเลือก ตัวทำละลาย ความเข้มข้นของตัวทำละลาย อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย ระยะเวลา และกำลังไฟฟ้าของเครื่องที่ผ่านการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแล้วได้ปริมาณมากที่สุด

5. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้

5.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total phenolic content: TPC) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยเติมสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐานกรดแกลลิก ผสมกับ Folin–Ciocalteu's reagent จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ผสมให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัด รายงานผลในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกล

ลิกต่อ100 กรัมของสารสกัด (Gallic acid equivalent, mg GAE/100g extract) (ดัดแปลงจากวิธี Myo et al., 2021)

5.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) โดยนำสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐานโทรลอกซ์ ผสมกับสารละลาย DPPH บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการต้านอนุมูลอิสระในรูป ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) (Myo et al., 2021)

5.3 วิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase-inhibitory activity) ด้วยวิธี Dopachrome method โดยนำสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐานกรดโคจิก ผสมกับเอนไซม์ ไทโรซิเนส เขย่าให้สารละลายผสมกันดี แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 3 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-Dopa เขย่าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ 8 นาที แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (% tyrosinase inhibition) (ดัดแปลงจากวิธี Kiattisin et al., 2016)

6. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ

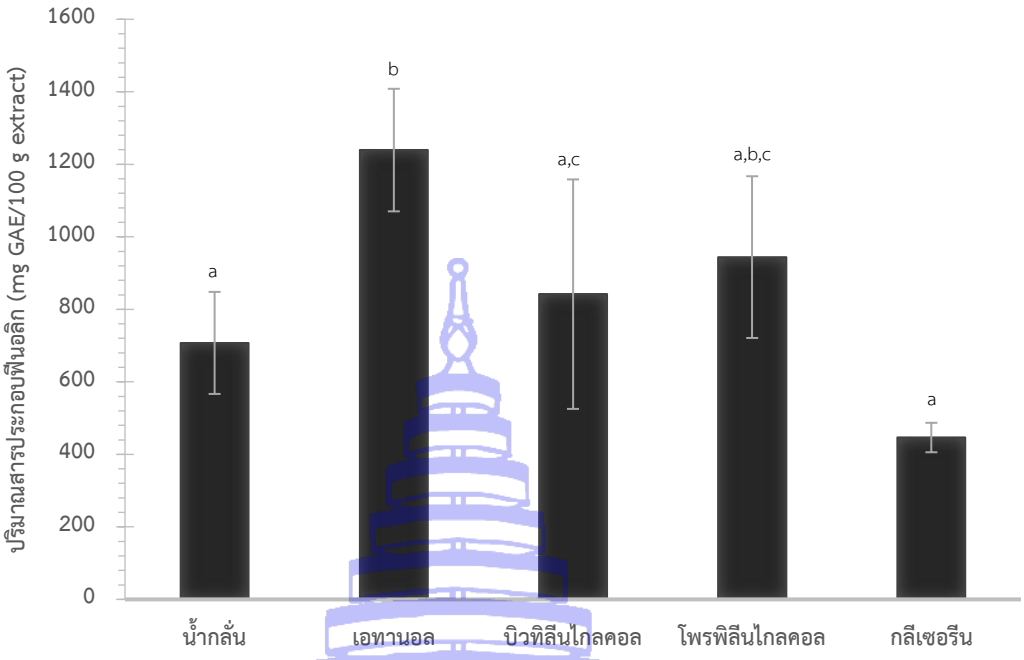
แสดงผลการทดลองด้วยค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยโปรแกรมสถิติพื้นฐาน SPSS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล one-way analysis of variance (ANOVA) และ Scheffe post-hoc test LSD เพื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม และใช้สถิติ independent T-Test เพื่อทดสอบความแตกต่างของตัวอย่างแต่ละคู่

ผลวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. ผลการศึกษาตัวทำละลายและปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบคนทีสอด้วยวิธี UAE

1.1 ผลของประเภทของตัวทำละลาย

จากการนำใบคนทีสอมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอล บิวทิลีนไกลคอล โพรพิลีนไกลคอล และกลีเซอรีน พบว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ดังแสดงในภาพที่ 1



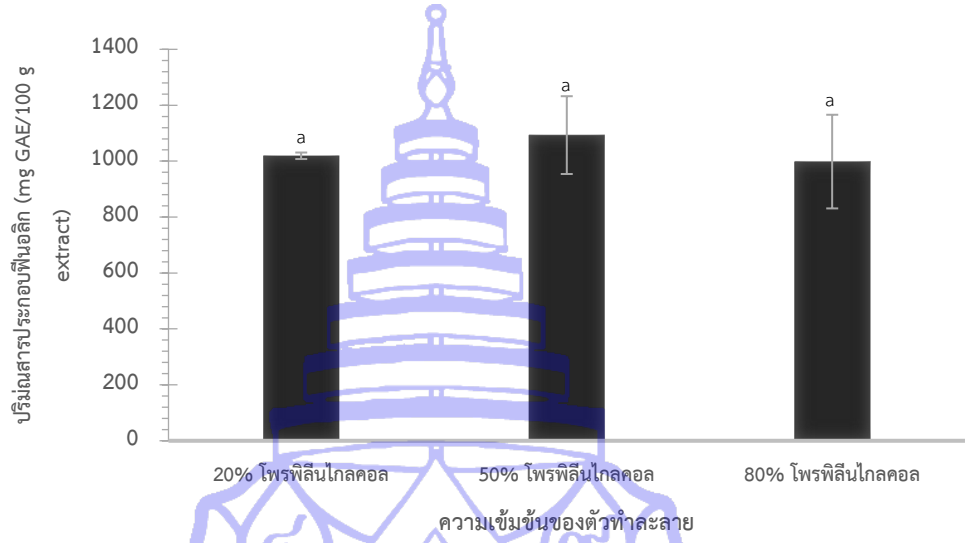
หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

ภาพที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด

จากการวิเคราะห์ทางสถิตินั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย โพรพิลีนไกลคอล และ เอทานอล ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value ≥ 0.05) เนื่องจากความมีขั้วของตัวทำละลายจะมีอิทธิพลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้แตกต่างกัน ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า และแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่า (González-M et al., 2010) นอกจากเหตุผลด้านคุณสมบัติในการละลายแล้วในการสกัดสารเพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอางจำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยด้วยโพรพิลีนไกลคอล มีการรับรองว่ามีความปลอดภัยสามารถใช้ได้ทั้งในเครื่องสำอางและอาหาร และยังสามารถเป็นสารให้ความชุ่มชื้นกับผิวได้ (Fiume et al., 2012) ส่วนเอทานอลยังมีความเป็นพิษมากกว่า และมีความระคายเคืองต่อผิวหนัง อีกทั้งเมื่อนำมาใช้อุตสาหกรรมเครื่องสำอางนั้น ในขั้นตอนกระบวนการผลิตสารที่ใช้เอทานอล เป็นตัวทำละลายจะต้องเพิ่มขั้นตอนในการกำจัดตัวทำละลายเอทานอล ออกจากสารผลิตภัณฑ์ เช่น การเพิ่มวิธีการระเหยแห้ง (Evaporation) เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกตัวทำละลาย โพรพิลีนไกลคอลไปใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 ผลของความเข้มข้นของตัวทำละลาย

จากการศึกษาความเข้มข้นของตัวทำลายโพรพิลีนไกลคอล โดยได้กำหนดเข้มข้นของตัวทำละลายที่ร้อยละ 20 50 และ 80 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value ≥ 0.05) ดังแสดงในภาพที่ 2



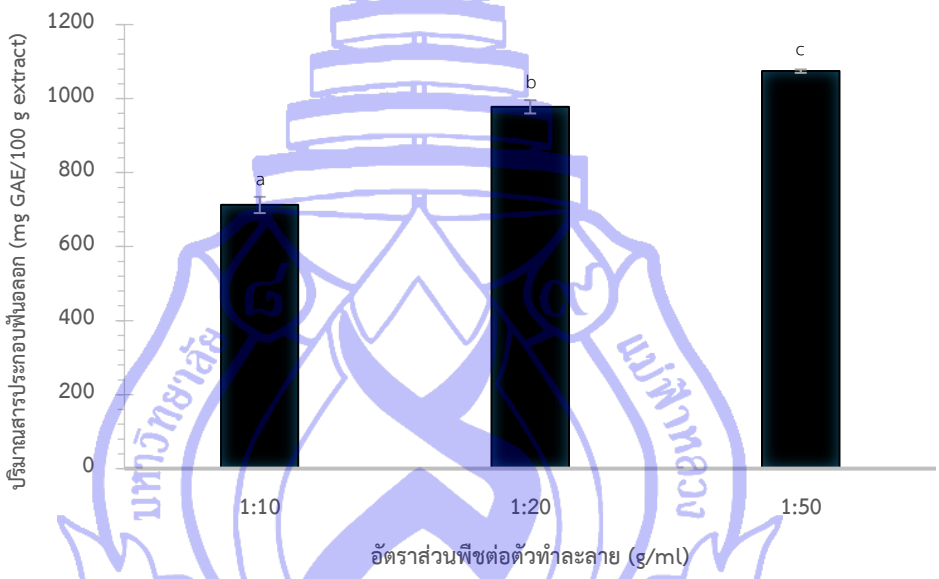
หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกตามความเข้นข้นของตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอล

เมื่อพิจารณาเรื่องของความหนืดของตัวทำละลายซึ่งมีผลต่อการสกัด กล่าวคือ เมื่อความหนืดมากขึ้นทำให้การเคลื่อนที่ของสารเข้าหากันช้าลง และตัวทำละลายแทรกซึมเข้าสู่พืชได้ยากกว่า ทำให้ประสิทธิภาพของการสกัดน้อยลง เมื่อคำนวณผลต่างเป็นเปอร์เซ็นต์ (percentage difference) เปรียบเทียบระหว่างร้อยละ 20 กับ ร้อยละ 50 นั้น ค่าสารประกอบฟีนอลิกของ ร้อยละ 50 โพรพิลีนไกลคอล ได้ปริมาณฟีนอลิกมากกว่าอยู่ 7.26% โดยมีความสอดคล้องกันกับรายงานของ Fonseca da Conceição et al. (2023) ศึกษาผลไม้พื้นเมืองชื่อว่า Umbu ของประเทศบราซิล ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้คลื่นความถี่ด้วยตัวทำละลายคือ โพรพิลีนไกลคอลที่ระดับความเข้มข้นของโพรพิลีนไกลคอลตั้งแต่ระดับร้อยละ 15 ถึง 85 พบว่าที่ระดับร้อยละ 50 ของโพรพิลีนไกลคอลมีความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้สูงที่สุดที่ 3242 mg GAE/100 g extract ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการคัดเลือกที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 ของตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอล

1.3 ผลของอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอล โดยกำหนดอัตราส่วน 1:10, 1:20 และ 1:50 (g/ml) พบว่า อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอลที่ 1: 50 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายทำให้ความสามารถในการสกัดประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับหลักการถ่ายโอนมวล (Mass Transfer) โดยความแตกต่างกันของความเข้มข้นระหว่างพืชและตัวทำละลายมีผลต่ออัตราการแพร่ของสาร นั้นคือ ตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่าจะสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์พืชได้ดีกว่า (Predescu et al., 2016)



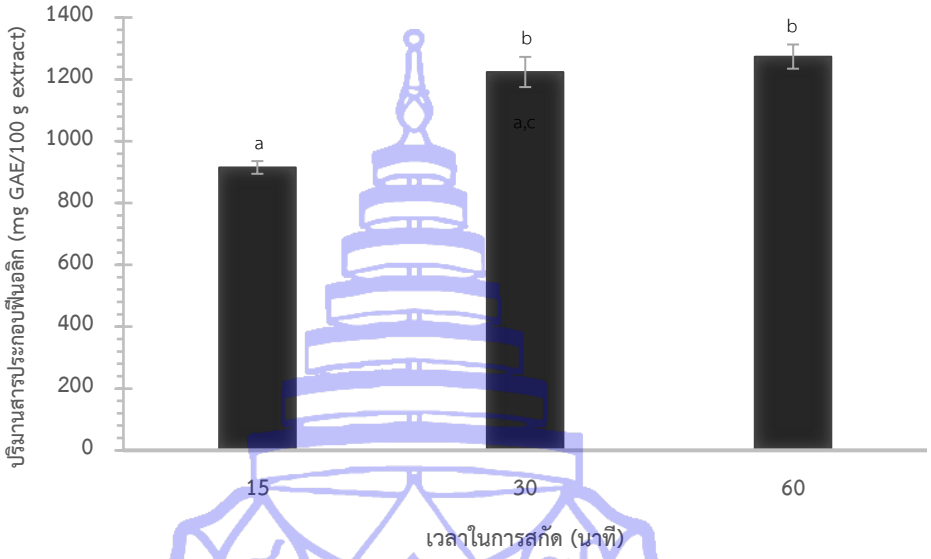
หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และสัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

ภาพที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย

1.4 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด

จากการศึกษาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดโดยกำหนดระยะเวลาที่ 15, 30 และ 60 นาทีพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ที่ 30 และ 60 นาที มีความแตกต่าง กับที่ 15 นาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hemwimol et al. (2005) ที่ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง โดยสกัดสารแอนทราควิโนน (anthraquinones) จากรากของ *Morinda citrifolia.* ผลการศึกษาระยะเวลา 15,

30, 45, 60, 75 และ 90 นาที พบว่า ระยะเวลาของการสกัดที่เพิ่มมากขึ้นด้วย คลื่นเสียงความถี่สูงทำให้ได้สารแอนทราควิโนนที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการทำให้เกิดโพรงอากาศบนพื้นผิวของพืช ทำให้เพิ่มความเข้มข้นและเวลาของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตัวทำละลายและเนื้อเยื่อพืชได้นานมากขึ้น



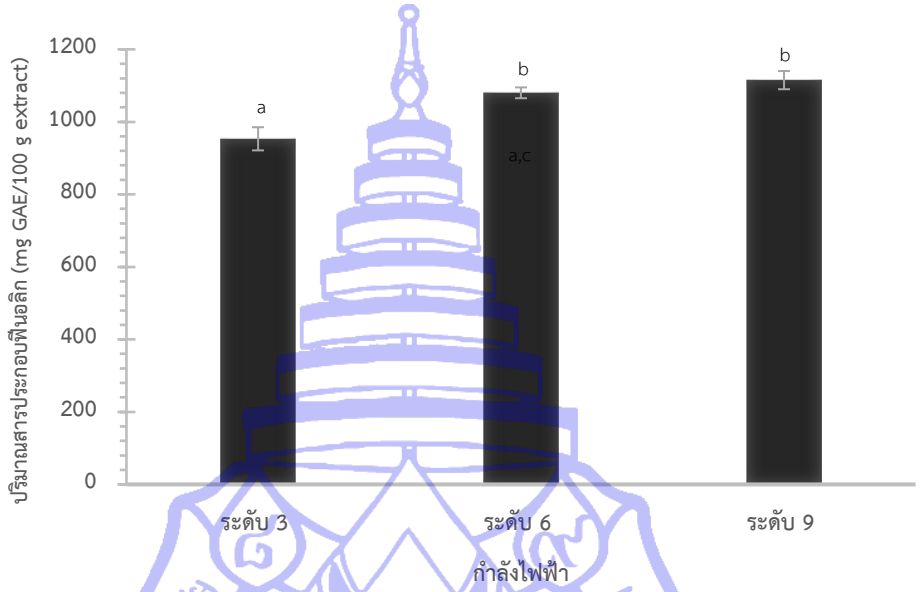
หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และสัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) ภายในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดสอบ

ภาพที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและระยะเวลาการสกัดสาร

1.5 ผลของกำลังไฟฟ้าต่อการสกัดสาร

จากการศึกษาผลของกำลังไฟฟ้าโดยกำหนดที่ระดับ 3, 6 และ 9 พบว่า กำลังไฟฟ้าของการสกัดด้วยวิธี UAE มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก คือ สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ที่กำลังไฟฟ้าระดับ 6 และ ระดับ 9 มากกว่าที่กำลังไฟฟ้าระดับ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) ซึ่งสอดคล้องงานวิจัยของ Hemwimol et al. (2005) ที่ศึกษาปัจจัยที่มีผลในการสกัดสารแอนทราควิโนนจากรากของ *Morinda citrifolia* ด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ผลการศึกษาพบว่ากำลังไฟฟ้า (Watts) ที่เพิ่มขึ้นทำให้แรงดันไฟฟ้า (amplitude) เพิ่มขึ้นและจะได้สารสกัดออกฤทธิ์ชีวภาพได้ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการเกิดฟองอากาศในโพรงอากาศ (Cavitation) ในตัวทำละลายด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound wave) ทำให้เกิดอุณหภูมิและแรงกระแทกทำลายเซลล์เนื้อเยื่อพืชส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดีขึ้น แต่ก็มีข้อมูลจากการศึกษาก่อนหน้าที่ขัดแย้งว่า การเพิ่มกำลังไฟฟ้าของคลื่นเสียงความถี่สูงที่มากเกินไป จะส่งผลให้

เกิดโพรงอากาศที่รุนแรงขึ้น ทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นมาก และส่งผลต่อความเสถียรของโครงสร้างสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดหรืออาจถูกทำลายได้ (González-Silva, 2022) จากข้อมูลของงานวิจัยก่อนหน้าร่วมกับผลการทดลองจากภาพที่ 5 ที่แสดงให้เห็นว่า ที่กำลังไฟระดับที่ 9 ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด จึงเลือกกำลังไฟฟ้าระดับ 9 เพื่อศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไป



หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และสัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

ภาพที่ 5 การศึกษากำลังไฟฟ้าของคลื่นเสียงความถี่สูงที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

2. เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

จากการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเปรียบเทียบกันระหว่างการสกัดสารด้วยวิธีการสกัดสารแบบเขย่า (Conventional shaking extraction) และวิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ดังตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value <0.05) กล่าวคือ วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงจะให้ค่าปริมาณฟีนอลิกที่มากกว่า เป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของ Han et al. (2018) ที่ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกจากเปลือกวอลนัทด้วยด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับการสกัดแบบเขย่า พบว่า การสกัดด้วยด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มากกว่าถึง 2 เท่า นอกจากนั้นจากรายงานของ Hemwimol et al. (2005) ศึกษาสารสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinones) จากรากของต้นยอ ทำการเปรียบเทียบทั้งวิธีแบบดั้งเดิม และการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง พบว่า เมื่อสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศา

เซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง จะได้ประสิทธิภาพการสกัดได้สูงถึงร้อยละ 65 เมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิมที่ต้องใช้ระยะเวลาถึง 3 วัน

ตารางที่ 1 การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพจากการสกัดด้วยด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ระดับ 9 และ การสกัดแบบเขย่า

วิธีการสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/100 g extract)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
		% DPPH inhibition	% Tyrosinase inhibition
คลื่นเสียงความถี่สูง ระดับ 9	1,115.05±25.05[b]	59.65±2.43[b]	56.85±3.01[b]
การสกัดแบบเขย่า	769.40±17.66[a]	40.49±0.99[c]	39.81±1.59[c]

หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และสัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05)

3. ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบคนทีสอด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงและการสกัดแบบเขย่า

3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay

จากตารางที่ 1 พบว่า วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงจะให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าการสกัดแบบเขย่า และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.05) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Myo et al. (2022) ที่ศึกษาเปรียบเทียบการสกัดเยื่อกาแฟระหว่างวิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และ การสกัดแบบดั้งเดิม โดยใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำลาย พบว่า การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า และการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้มากกว่าการสกัดสารด้วยการสกัดแบบดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05)

3.2 วิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase-inhibitory Activity)

ผลการทดลองระหว่างการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และการสกัดแบบเขย่า ซึ่งทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง จะให้ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่าการสกัดแบบเขย่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 1 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Yan et al. (2022) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพของสมุนไพรจีน *Oroxylum indicum* (L.) Kurz (Bignoniaceae) ด้วยวิธีการสกัดสารที่แตกต่างกันพบว่า การสกัดสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ให้สารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด (IC50: 16.57 ± 0.53 mg·mL−1) ซึ่งมากกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุปผลและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เมื่อทำการศึกษาปัจจัยชนิดของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของตัวทำละลาย อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และกำลังไฟ ที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบคนทีสอด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง คือ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอล ที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายร้อยละ 50 อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย 1:50 (g/ml) ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และใช้กำลังไฟฟ้าที่ระดับ 9 โดยให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดถึง 1,115.05±25.05 mg GAE/100 g extract

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบคนทีสอด้วยวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง มีมากกว่าการสกัดแบบเขย่า โดยมีร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบ DPPH Scavenging Assay 59.64±2.43 และมีร้อยละการยับยั้งของเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 56.85±3.01

ในการศึกษานี้พบว่าวิธีการสกัดสารสำคัญด้วยตัวทำละลายที่ดีในสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ทำให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบคนทีสอได้ดีกว่า และมีประสิทธิภาพสูง ช่วยประหยัดเวลาและลดค่าใช้จ่ายอื่น ๆ เมื่อเทียบกับวิธีการสกัดสารแบบเขย่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบคนทีสอ และการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง จึงมีประโยชน์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางได้

สำหรับในการศึกษาเพิ่มเติมควรศึกษาเพิ่มเติมในด้านประสิทธิภาพของการนำไปใช้ในตำรับเครื่องสำอาง รวมถึงทดสอบค่าความคงตัวในตำรับ การระคายเคืองต่อผิว เพื่อเพิ่มมาตรฐานของสารสกัดในการนำไปใช้

รายการอ้างอิง

de Kok, R. P. (2007). The genus *Vitex* L. (Lamiaceae) in new guinea and the south pacific islands. *Kew Bulletin, 62*(4), 587–603.

Fabian, I. M., Sinnathamby, E. S., Flanagan, C. J., Lindberg, A., Tynes, B., Kelkar, R. A., . . . Kaye, A. D. (2023). Topical hydroquinone for hyperpigmentation: A narrative review. *Cureus.* https://doi.org/10.7759/cureus.48840

Fiume, M. M., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D., . . . Andersen, F. A. (2012). Safety assessment of propylene glycol, tripropylene glycol, and PPGs as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology, 31*(5), 245S-260S. https://doi.org/10.1177/1091581812461381

Fonseca da Conceição, E., Novo, A. A., Kunigami, C. N., Jung, E. P., & de Oliveira Ribeiro, L. (2023). Microwave-assisted solid–liquid extraction using propylene glycol as a solvent in the recovery of bioactive compounds from umbu seeds. *Biol. Life Sci. Forum, 26*(1), Article 77. https://doi.org/10.3390/Foods2023-15152.

González-M, R., Gloria, L., & Mónica, G. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Journal of Food Chemistry, 119*, 1030–1039.

González-Silva, N., Nolasco-González, Y., Aguilar-Hernández, G., Sáyago-Ayerdi, S. G., Villagrán, Z., Acosta, J. L., . . . Anaya-Esparza, L. M. (2022). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Psidium cattleianum* leaves: Optimization using the response surface methodology. *Molecules, 27*(11), Article 3557. https://doi.org/10.3390/molecules27113557

Hai-nang, W., Neo, Y., & Singh, D. (2020). Effects of *Vitex trifolia* L. leaf extracts and phytoconstituents on cytokine production in human U937 macrophages. *Journal of BMC Complementary Medicine and Therapies, 20*(91).

Han, H., Wang, S., Rakita, M., Wang, Y., Han, Q., & Xu, Q. (2018). Effect of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds on the characteristics of walnut shells. *Food and Nutrition Sciences, 9*(8), 970-982. https://doi.org/ 10.4236/fns.2018.98076

Hemwimol, S., Pavasant, P., & Shotipruk, A. (2005). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry, 13*, 543–548.

Kanlayavattanakul, M., Lourith, N., & Chaikulab, P. (2018). Biological activity and phytochemical profiles of Dendrobium: A new source for specialty cosmetic materials. *Industrial Crops and Products, 120*, 61–70.

Kiattisin, K., Nantarat, N., & Leelapornpisid, P. (2016). Evaluation of antioxidant and anti-tyrosinase activities as well as stability of green and roasted coffee bean extracts from *Coffea arabica* and *Coffea canephora* grown in Thailand. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 8*(10), 182-192. https://doi.org/10.5897/JPP2016.0413

Li, W. X., Cui, C. B., Cai, B., Wang, H. Y., & Yao, X. S. (2005). Flavonoids from *Vitex trifolia* L. inhibit cell cycle progression at G2/M phase and induce apoptosis in mammalian cancer cells. *Journal of Asian Natural Products Research, 7*(4), 615–626.

Luo, P., Xia, W., Morris-Natschke, S. L., Lee, K.-H., Zhao, Y., Gu, Q., . . . Xu, J. (2017). Vitepyrroloids A–D, 2-cyanopyrrole-containing labdane diterpenoid alkaloids from the leaves of *Vitex trifolia*. *Journal of Natural Products, 80*(5), 1679-1683.

Myo, H., Nantarat, N., & Khat-Udomkiri, N. (2021). Changes in bioactive compounds of coffee pulp through fermentation-based biotransformation using *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 and its antioxidant activities. *Fermentation, 7*(4), Article 292. https://doi.org/10.3390/fermentation7040292

Myo, H., Nantarat, N., & Khat-Udomkiri, N. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee pulp using propylene glycol as a solvent and their antioxidant activities. *Ultrasonics Sonochemistry, 89*.

Predescu, N. C., Papuc, C., Nicorescu, V., Gajaila, I., Goran, G. V., Petcu, C. D., . . . Stefan, G. (2016). The influence of solid-to-solvent ratio and extraction method on total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant properties of some ethanolic plant extracts. *University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest*.

Rageau, J., (1973). *Les plantes médicinales de la Nouvelle-Calédonie*. Travaux et docu- ments de l'ORSTOM, ORSTOM edition no. 23. Nouvelle-Calédonie, Noumea, pp. 104–105.

Saewan, N., Jimtaisong, A., & Vichit, W. (2020). Optimization of phenolic extraction from coffee by-product using response surface methodology and their antioxidant activities. *Food and Applied Bioscience Journal*, *8*(2), 14-26.

Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A., & Vuong, Q. (2020). Comparison of conventional extraction technique with ultrasound-assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon-scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. *Heliyon, 6*(3), Article e03666. https://doi.org/ 10.1016/j.heliyon.2020.e03666

Saklani, S., Mishra, A., Chandra, H., Atanassova, M., Stankovic, M., Sati, B., Shariati, . . . Suleria, H. (2017). Comparative evaluation of polyphenol contents and antioxidant activities between ethanol extracts of *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* L. leaves by different methods. *Medicinal Plants and Natural Product Research, 6*.

Thenmozhi, R., Sundaram, S. S., Kumar, J. P., & Bihari, C. G. (2011). Pharmacognostical and phytochemical investigation on leaves of *Vitex trifolia* Linn. *Journal of Pharmacy Research*, *4*(4), 1259-1262.

Tiwari, N., Luqman, S., Masood, N., & Gupta, M. M. (2012). Validated high-performance thin-layer chromatographic method for simultaneous quantification of major iridoids in *Vitex trifolia* and their antioxidant studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 61*, 207–214.

Wanichwecharungruang, S., Chandrachai, A., Asawanonda, P., & Harnvanich, E. (2020). Market potential evaluation for local herbal extracts used in skincare through the new product development process. *PSAKU International Journal of Interdisciplinary Research, 9*(2), 1-15.

Yan, K., Cheng, X., Bian, G., Gao, Y., & Li, D. (2022). The influence of different extraction techniques on the chemical profile and biological properties of *Oroxylum indicum*: Multifunctional aspects for potential pharmaceutical applications. *BioMed Research International,* Article 8975320. https://doi.org/ 10.1155/2022/8975320

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine, 13*.