

สารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ฝาดสมานของสารสกัดใบชะคราม
เพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผม
Phenolic Composition, Antioxidant and Astringent Activities of *Suaeda maritima*
Leave Extract for Application in Hair Loss Treatment Product.

ปานัสน์ แสงทองอร่าม

อีเมล: 6451701271@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

อาจารย์ ดร.ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ

อีเมล: tawanun.sri@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ชะคราม (*Suaeda maritima*) เป็นพืชล้มลุกตามป่าชายเลนและชายฝั่งของประเทศไทย นิยมบริโภคเป็นผักพื้นบ้านและใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผม เนื่องจากเชื่อว่าสารสกัดจากใบช่วยลดการหลุดร่วงของเส้นผม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบชะคราม เพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ป้องกันผมร่วง โดยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ด้วยเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 80 °C ศึกษาปัจจัย 2 ประการ ได้แก่ อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย (1:20, 1:10 และ 1:5 g/mL) และระยะเวลาสกัด (2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง) ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วน 1:5 ระยะเวลา 8 ชั่วโมง ให้ค่าผลลัพธ์ทางชีวภาพดีที่สุด โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) 51.56 ± 0.24 mg GAE/g แทนนิน 48.73 ± 0.96 mg TAE/g ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH, IC_{50}) 53.76 ± 0.11 μ g/mL และฤทธิ์ฝาดสมาน (% การยับยั้ง) 51.50 ± 0.75 ในขณะที่สารฟลาโวนอยด์รวม (TFC) สูงสุดที่ 2 ชั่วโมง (161.56 ± 7.43 mg QE/g) แล้วลดลงเมื่อสกัดนานขึ้น การวิเคราะห์สหสัมพันธ์เพียร์สันชี้ว่าแทนนินและสารฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลการวิจัยสรุปได้ว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:5 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ป้องกันผมร่วง

คำสำคัญ: ใบชะคราม, ฟีนอลิก, แทนนิน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ฝาดสมาน

Abstract

Suaeda maritima is a herbaceous plant found along the mangrove forests and coasts of Thailand. It is commonly consumed as a local vegetable and used in hair-care products, as its leaf extract is believed to reduce hair loss. This study aimed to determine the optimal conditions for extracting bioactive compounds from *S. maritima* leaves for use as an active ingredient in anti-hair-loss products. Extraction was carried out by the Soxhlet method using 95% ethanol at 80 °C, examining two factors: the plant-to-solvent ratio (1:20, 1:10 and 1:5 g/mL) and the extraction time (2, 4, 6 and 8 hours). The results showed that a 1:5 ratio for 8 hours yielded the best bioactivity, with a total phenolic content (TPC) of 51.56 ± 0.24 mg GAE/g, tannins of 48.73 ± 0.96 mg TAE/g, antioxidant activity (DPPH, IC_{50}) of 53.76 ± 0.11 μ g/mL, and astringent activity of $51.50 \pm 0.75\%$ inhibition. In contrast, the total flavonoid content (TFC) was highest at 2 hours (161.56 ± 7.43 mg QE/g) and decreased with longer extraction times. Pearson correlation analysis indicated that tannins and phenolics play a key role in the bioactivity. In conclusion, extraction with 95% ethanol at a 1:5 ratio for 8 hours is the most suitable condition, offering potential for further development as an active ingredient in anti-hair-loss products.

Keywords: *Suaeda maritima*, phenolics, tannins, antioxidant activity, astringent activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

ภาวะผมร่วง (Hair loss หรือ Alopecia) คือการสูญเสียเส้นผมในปริมาณมากกว่าปกติเป็นปัญหาที่พบได้บ่อย โดยในประเทศไทยพบผู้ชายมีปัญหาผมบางราว 17.5 ล้านคน สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากภาวะ Androgenetic alopecia (AGA) ซึ่งเอนไซม์ 5α -Reductase เปลี่ยนฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนให้เป็นไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน (DHT) เมื่อ DHT จับกับตัวรับแอนโดรเจนในรากผมจะทำให้รากผมฝ่อลีบ วงจรชีวิตของเส้นผมสั้นลงจนนำไปสู่ภาวะผมบางและผมร่วง ประกอบกับอนุมูลอิสระที่สะสมบริเวณหนังศีรษะกระตุ้นให้เกิดการอักเสบในเซลล์รากผม ส่งผลให้รากผมทำงานผิดปกติ รวมถึงกระตุ้นให้มีการผลิตและหลั่งไขมันจากต่อมไขมันมากขึ้น ซึ่งอาจทำให้การไหลเวียนเลือดบริเวณรากผมลดลง ส่งผลให้รากผมอ่อนแอและนำไปสู่ภาวะผมร่วงได้ในที่สุด

จากรายงานของ Mordor Intelligence (2024) พบว่า ตลาดผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมทั่วโลกมีแนวโน้มที่จะเติบโตอย่างมั่นคง โดยปัจจุบันผู้บริโภคตื่นตัวในการป้องกันผมร่วงและนิยมผลิตภัณฑ์

จากธรรมชาติมากขึ้น จึงมีการศึกษาสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นการไหลเวียนเลือด และ ลดการอักเสบบริเวณรากผม โดยเฉพาะฤทธิ์ฝาดสมาน (Astringent activity) จากกลุ่มสารฟีนอลิก เช่น แทนนิน ซึ่งสามารถจับกับโปรตีนบนผิวหนังหรือเยื่อๆ ทำให้เกิดการหดตัวของขน และลดการหลั่งของของเหลว เช่น น้ำมันจากต่อมไขมัน (Sebaceous gland) ได้ผิวหนัง ทำให้หนังศีรษะมีความสมดุล ซึ่งลดความเสี่ยงของการอุดตัน และการอักเสบที่เป็นสาเหตุหนึ่งของการหลุดร่วงของเส้นผม ยกตัวอย่างเช่นสารสกัดใบแปะก๊วยส่งเสริมการงอกของเส้นผม (Kobayashi et al., 1993; Lourith, 2013) และโพลีฟีนอลกับแทนนินจากชาเขียวและน้ำมันสะเดาที่มีฤทธิ์ฝาดสมานและต้านอนุมูลอิสระ (Biswas et al., 2024)

ชะคราม (*Suaeda maritima*) อยู่ในวงศ์บานไม่รู้โรย (Amaranthaceae) พบบริเวณป่าชายเลนของไทย โดยมีสารพฤกษเคมีหลากหลาย เช่นสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ชาโปนิน แครโทีนอยด์ เป็นต้น โดยกลุ่มฟีนอลิกที่พบ ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) และกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ เควอซิทิน (quercetin) และรูทีน (rutin) (Patra et al., 2011) ชะครามถูกใช้มาเป็นสารสกัดที่ใส่ในแชมพูพื้นบ้านเพราะเชื่อว่าเป็นส่วนผสมที่ช่วยดูแลรากผมและลดการหลุดร่วงของเส้นผมก่อนวัย ทั้งนี้ Beulah et al. (2021) ตรวจพบสาร 3',7-dimethoxy-3-hydroxyflavone และชาโปนินในใบชะครามด้วยเทคนิค LC-MS พร้อมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH IC₅₀ 123.48 µg/mL) ขณะที่ Kaoduangdee และ Inthasombat (2012) รายงานว่าใบอ่อนสีเขียวสดมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงถึง 328.62 mg GAE/g และ Wattana et al. (2021) พบว่าสารสกัดใบแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งไทโรซิเนสได้ดีกว่าใบสด ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฝาดสมานของสารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนินเหล่านี้สัมพันธ์กับการลดการอักเสบและควบคุมความมันของหนังศีรษะ อันเป็นปัจจัยหนึ่งของการหลุดร่วงของเส้นผม อย่างไรก็ตาม จากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์พบว่าปัจจุบัน มีการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมและการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แต่ยังไม่มีการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารตัวอย่างและตัวทำละลายรวมถึงการศึกษาระยะเวลาการสกัด และฤทธิ์ฝาดสมาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ฝาดสมานของสารสำคัญจากใบชะคราม

โดยงานวิจัยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้ (1) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญจากใบชะคราม (2) เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และสารแทนนิน ของสารสกัดใบชะคราม และ (3) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ฝาดสมานของสารสกัดใบชะคราม

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมตัวอย่างจากชะคราม

นำใบชะครามจากร้านชะครามบ้านแต่น อำเภอมะนัง จังหวัดสมุทรสงคราม มาทำความสะอาด อบแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อนที่ 60 °C จนน้ำหนักคงที่ แล้วบดเป็นผงละเอียด

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบชะคราม

2.1 การสกัดที่อัตราส่วนแตกต่างกัน

ดัดแปลงจาก Beulah และคณะ (2021) โดยทำการสกัดผงใบชะครามด้วยเอทานอล 95% ด้วยวิธี Soxhlet extraction เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 °C โดยศึกษาอัตราส่วน ใบชะคราม:เอทานอล ดังนี้ 1:5, 1:10 และ 1:20 w/v ทำซ้ำ 3 ครั้ง กรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 จากนั้นระเหยเอทานอลด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบที่อุณหภูมิ 4 °C คำนวณ %Yield (dry basis) ตามสมการ (1)

$$\%Yield = [\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)} / \text{น้ำหนักชะครามแห้ง (g)}] \times 100 \quad \dots(1)$$

2.2 การสกัดที่ระยะเวลาแตกต่างกัน

ใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 2.1 สกัดด้วยวิธีเดิมที่อุณหภูมิ 80 °C โดยศึกษาเวลา 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง แล้วกรองและระเหยตัวทำละลายเช่นเดียวกับข้อ 2.1

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ของสารสกัดใบชะคราม

3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Buachoon & Khukhid, 2019) โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน (0.01–0.07 mg/mL) ผสมตัวอย่างกับ Folin-Ciocalteu 200 μ L และ Na₂CO₃ 7% w/v 2,000 μ L ปั่นในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 760 nm รายงานเป็น mg GAE/g ตามสมการ (2)

$$\text{mg GAE/g} = (A_{760} \times DF \times V) / (m \times v \times W) \times 100 \quad \dots(2)$$

3.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC)

วิเคราะห์ด้วยวิธี aluminium trichloride colorimetric (Kumar et al., 2008) โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน (10–50 μ g/mL) ผสมตัวอย่างกับ NaNO₂ 5% w/v 150 μ L, AlCl₃ 10% w/v 150 μ L และ NaOH 1 M 1,000 μ L ปรับปริมาตรเป็น 5,000 μ L ด้วยน้ำกลั่น (DI) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 510 nm รายงานผลเป็น mg QE/g (สมการเดียวกับ (2)) ตามสมการ (3)

$$\text{mg QE/g} = (A_{510} \times DF \times V) / (m \times v \times W) \times 100 \quad \dots(3)$$

3.3 ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu (Kumar & Chaiyasut, 2017) โดยใช้ tannic acid เป็นสารมาตรฐาน (0.01–0.07 mg/mL) ผสมตัวอย่างกับ Folin–Ciocalteu 0.2 N 1,000 μ L และ Na_2CO_3 7.5% w/v 800 μ L บ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 725 nm รายงานผลเป็น mg TAE/g ตามสมการ (4)

$$\text{mg TAE/g} = (A_{725} \times \text{DF} \times V) / (m \times v \times W) \times 100 \quad \dots(4)$$

กำหนดให้ A = ค่าดูดกลืนแสง, DF = dilution factor, V = ปริมาตรรวม (mL), m = ความเข้มข้นมาตรฐาน, v = ปริมาตรตัวอย่าง (mL), W = น้ำหนักแห้ง (g)

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay)

ทดสอบตาม Kumar & Chaiyasut (2017) ผสมตัวอย่าง 1,000 μ L กับ DPPH 0.2 mM 1,000 μ L บ่มในที่มืด 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 nm โดยทำการเปรียบเทียบกับ ascorbic acid (1–6 μ g/mL) คำนวณ %Radical scavenging (สมการ 5) และค่า IC_{50} จากสมการเส้นตรง

$$\% \text{Radical scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad \dots(5)$$

กำหนดให้ A_{control} , A_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ก่อนและหลังเติมสารทดสอบ

Y = %Scavenging (แทน Y = 50 เพื่อหา IC_{50})

3.5 การทดสอบฤทธิ์ฝาดสมาน (Astringent activity)

ดัดแปลงจากวิธีของ Kumar และ Chaiyasut (2017) โดยผสม bovine hemoglobin 1 mg/mL 1,000 μ L กับตัวอย่าง 1 mg/mL 1,000 μ L จากนั้นปั่นเหวี่ยง 1,000 $\times$ g ที่อุณหภูมิ 25 $^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงของส่วนใสที่ 407 nm โดยใช้ tannic acid 1 mg/mL เป็นกลุ่มควบคุมบวก และน้ำกลั่น (DI) เป็นกลุ่มควบคุมลบ คำนวณ %Astringent activity ตามสมการ (6)

$$\% \text{Astringent activity} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad \dots(6)$$

กำหนดให้ A_{control} , A_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงที่ 407 nm ของสารละลาย bovine hemoglobin ก่อนและหลังผสมกับสารทดสอบ ตามลำดับ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. การหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบชะคราม

1.1 อัตราส่วนที่เหมาะสม

การศึกษาการสกัดสารสำคัญจากใบชะครามด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลาย โดยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ชุดเพื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างใบชะคราม (g)

ต่อปริมาตรตัวทำละลาย (mL) 3 ระดับ ได้แก่ 1:20, 1:10 และ 1:5 ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ผลของอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายต่อร้อยละผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพ (เวลาสกัด 6 ชั่วโมง)

อัตราส่วน (g:mL)	ร้อยละผลผลิต (% Yield)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	แทนนิน (mg TAE/g)	IC ₅₀ of DPPH (μg/mL)	ฤทธิ์ฝาดสมาน (%)
1:5	6.71±0.92 ^c	42.07±0.31 ^a	143.39±4.78 ^a	35.32±0.54 ^a	65.95±1.19 ^a	45.11±0.13 ^a
1:10	11.28±0.86 ^b	39.18±1.34 ^b	133.34±5.88 ^b	32.25±2.82 ^b	69.76±0.21 ^b	40.70±1.74 ^b
1:20	14.04±0.81 ^a	37.57±0.24 ^c	119.03±6.14 ^c	25.47±0.50 ^c	80.74±0.13 ^c	38.95±0.23 ^c

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีนัยสำคัญทางสถิติ Duncan test of ANOVA ($p<0.05$)

พบว่าร้อยละผลผลิต (%Yield) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาตรตัวทำละลายเพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วน 1:20 ให้ผลผลิตสูงสุด (14.04±0.81%) ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยหลัก การแพร่ (diffusion) กล่าวคือ เมื่อมีตัวทำละลายในปริมาณมาก ความเข้มข้นของสารภายนอกเซลล์จะลดต่ำลง ส่งผลให้เกิดความต่างศักย์ของความเข้มข้นที่ช่วยดึงสารออกจากเนื้อเยื่อได้มากขึ้น และลดการอึดตัวของระบบ (Handa et al., 2008) ในขณะที่ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพกลับมีค่าสูงสุดที่อัตราส่วน 1:5 ในทุกตัวชี้วัด ได้แก่ TPC 42.07 mg GAE/g, TFC 143.39 mg QE/g และแทนนิน 35.32 mg TAE/g, ค่า IC₅₀ ต่ำสุดที่ 65.95 μg/mL ซึ่งบ่งชี้ถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และฤทธิ์ฝาดสมาน 45.11% โดยทุกค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

แนวโน้มที่สวนทางกันนี้อธิบายได้ว่า ค่าที่รายงาน (mg/g สารสกัดแห้ง) สะท้อนสัดส่วนของสารฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ มิใช่ปริมาณรวม เนื่องจากสารสกัดถูกระเหยจนแห้งและวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นเท่ากัน ดังนั้น แม้อัตราส่วน 1:20 จะให้ผลผลิตรวมสูงสุดตามหลักการแพร่ที่ตัวทำละลายปริมาณมากช่วยลดการอึดตัว แต่ก็อาจดึงองค์ประกอบชีวสูงอื่นที่ไม่ใช่ฟีนอลิกออกมารวมมากขึ้น ทำให้สัดส่วนฟีนอลิกต่อกรัมลดลง ขณะที่อัตราส่วน 1:5 ให้สารสกัดที่มีสัดส่วนฟีนอลิกและแทนนินต่อกรัมสูงกว่า อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้วัดเป็นค่ารวม (TPC, TFC และแทนนิน) โดยยังไม่ได้จำแนกสารรายชนิดด้วย HPLC หรือ LC-MS การตีความนี้จึงควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติม

ทั้งนี้ ค่า TPC และ TFC ที่ได้ยังสูงกว่างานวิจัยอื่น อาทิ Patra และคณะ (2011) ซึ่งรายงานค่า TPC เพียง 19.04 mg GAE/g (สกัดด้วยการหมักแช่ที่อุณหภูมิห้อง) และ Thongkao และคณะ (2022) ที่สกัดจากรากชะครามและได้ค่า TPC 37.39 mg GAE/g และ TFC 67.41 mg QE/g ความแตกต่างดังกล่าวเป็นผลจากวิธีสกัดที่ให้ความร้อนสม่ำเสมอและมีการหมุนเวียนตัวทำละลายอย่างต่อเนื่อง จึงช่วยเพิ่มการแพร่ของสารออกฤทธิ์ออกจากโครงสร้างเซลล์พืชได้ดีกว่าการหมัก

สำหรับสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ Beulah และคณะ (2021) สามารถตรวจพบสาร 3',7-dimethoxy-3-hydroxyflavone ในใบชะครามด้วยเทคนิค Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) แต่ยังไม่ได้รายงานในเชิงปริมาณขณะที่งานวิจัย ก่อนหน้าส่วนใหญ่รายงานสารประกอบกลุ่มแทนนินเพียงเชิงคุณภาพเท่านั้น ดังนั้น ข้อมูลเชิงปริมาณของฟลาโวนอยด์และแทนนินในงานวิจัยนี้จึงช่วยเติมเต็มองค์ความรู้ที่ยังขาดแคลนของใบชะคราม

ในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ค่า IC_{50} ที่ดีที่สุดของสารสกัดใบชะครามในงานวิจัยนี้ เท่ากับ 65.95 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งสอดคล้องกับ Beulah และคณะ (2021) ที่ใช้วิธีสกัดเช่นเดียวกัน และรายงาน ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระประมาณ 71.6% ที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$

จากการวิเคราะห์ผลปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมดผู้วิจัยจึงเลือกอัตราส่วน 1:5 เป็นสภาวะหลักสำหรับการศึกษาผลของระยะเวลาในขั้นตอนต่อไป

1.2 ระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม

ผู้วิจัยคงอัตราส่วนการสกัดไว้ที่ 1:5 และเปรียบเทียบระยะเวลาในการสกัดที่ 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1.2 พบว่าปริมาณสารส่วนใหญ่และฤทธิ์ทางชีวภาพมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยการสกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมงให้ค่าสูงสุดในเกือบทุกตัวชี้วัด ได้แก่ TPC สูงสุด (51.56 mg GAE/g), แทนนินสูงสุด (48.73 mg TAE/g), ค่า IC_{50} ดีที่สุด 53.76 $\mu\text{g/mL}$ และฤทธิ์ฟาดสมานสูงสุด (51.50%) โดยทุกค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แนวโน้มดังกล่าวบ่งชี้ว่า ระยะเวลาสัมผัสที่นานขึ้น ช่วยให้สารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนิน ซึ่งมีความเสถียรต่อความร้อนถูกสกัดออกจากเซลล์ได้ดียิ่งขึ้นจนเข้าใกล้จุดสมดุล

การทดลองหาระยะเวลานี้เป็นการสกัดคนละรอบและใช้ใบชะครามคนละชุดกับการทดลองหาอัตราส่วน ค่าผลการทดลองที่สภาวะซ้ำกัน (1:5, 6 ชม.) จึงต่างกันเล็กน้อยจากความแปรผันของวัตถุดิบ จึงควรพิจารณาที่แนวโน้มภายในแต่ละการทดลอง ซึ่งทั้งสองการทดลองให้แนวโน้มสอดคล้องกัน

อย่างไรก็ตาม ปริมาณฟลาโวนอยด์ (TFC) แสดงแนวโน้มในทิศทางตรงกันข้าม โดยมีค่าสูงสุดที่ ระยะเวลา 2 ชั่วโมง (161.56 mg QE/g) และลดลงเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น เนื่องจากฟลาโวนอยด์บางชนิดมีความไวต่อความร้อน เมื่อได้รับความร้อนอย่างต่อเนื่องจึงเกิดการสลายตัว

(thermal degradation) และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jin และคณะ (2017) ดังนั้น การเลือกสภาวะที่เหมาะสมจึงจำเป็นต้องพิจารณาความสมดุลระหว่างการสกัดสารที่เสถียรต่อความร้อน (ฟีนอลิกและแทนนิน) กับการรักษาสารที่ไวต่อความร้อน (ฟลาโวนอยด์) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาภาพรวมของฤทธิ์ทางชีวภาพแล้ว การสกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมงให้ผลดีที่สุด

ตารางที่ 1.2 ผลของระยะเวลาการสกัดต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพ (อัตราส่วนคั่งที่ 1:5)

เวลาสกัด (ชั่วโมง)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	แทนนิน (mg TAE/g)	IC ₅₀ of DPPH (μg/mL)	ฤทธิ์ฝาดสมาน (%)
2	47.02±1.41 ^c	161.56±7.43 ^a	33.34±0.95 ^d	75.87±0.25 ^d	39.03±0.72 ^d
4	48.02±0.30 ^b	146.51±3.83 ^b	41.08±1.10 ^c	66.97±0.17 ^c	42.99±0.27 ^c
6	48.50±1.20 ^b	142.57±4.70 ^c	46.76±2.30 ^b	60.99±0.12 ^b	45.98±0.48 ^b
8	51.56±0.24 ^a	141.88±3.50 ^c	48.73±0.96 ^a	53.76±0.11 ^a	51.50±0.75 ^a

หมายเหตุ Mean±S.D. (n=3) อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีนัยสำคัญทางสถิติ Duncan test of ANOVA (p<0.05)

2. ความสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ฝาดสมานของสารสกัดชะคราม

ผู้วิจัยได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลักซ์เคมี (TPC, TFC และแทนนิน) กับฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ในรูปค่า IC₅₀) และฤทธิ์ฝาดสมาน โดยใช้สถิติสหสัมพันธ์ แบบเพียร์สัน (Pearson correlation) ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 2

พบว่า TPC มีความสัมพันธ์ทางลบกับค่า IC₅₀ (r = -0.843) และมีความสัมพันธ์ทางบวกกับฤทธิ์ฝาดสมาน (r = 0.903) กล่าวคือ เมื่อปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ฝาดสมานจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ในส่วนของแทนนินพบความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันแต่อยู่ในระดับที่สูงกว่า โดยมีความสัมพันธ์ทางลบกับค่า IC₅₀ (r = -0.958) และทางบวกกับฤทธิ์ฝาดสมาน (r = 0.908) เนื่องจากโครงสร้างของ แทนนินประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) หลายตำแหน่งซึ่งสามารถ บริจาคไฮโดรเจนเพื่อกำจัด อนุมูลอิสระและตกตะกอนโปรตีนได้ดี

ในทางกลับกัน ฟลาโวนอยด์ (TFC) แสดงความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม โดยมีความสัมพันธ์ทางบวกกับค่า IC₅₀ (r = 0.809) และทางลบกับฤทธิ์ฝาดสมาน (r = -0.734) อันเป็นผล

สืบเนื่องมา จากปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ลดลงเมื่อระยะเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (ดังผลการทดลองในข้อ 1.2) จึงมีความสอดคล้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าสารชนิดอื่น ดังนั้นสารกลุ่มฟีนอลิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแทนนิน นับเป็นองค์ประกอบสำคัญที่กำหนดคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัด ใบชะคราม

ตารางที่ 2 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ระหว่างกลุ่มสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์ทางชีวภาพของ สารสกัดชะคราม

ตัวแปรพฤกษเคมี (Parameter 1)	ตัวแปรฤทธิ์ทางชีวภาพ (Parameter 2)	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)	ค่านัยสำคัญ (p-value)
TPC	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC ₅₀)	-0.843**	< 0.001
	ฤทธิ์ฝาดสมาน (Astringent activity)	0.903**	< 0.001
TFC	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC ₅₀)	0.809**	0.001
	ฤทธิ์ฝาดสมาน (Astringent activity)	-0.734**	0.007
แทนนิน (Tannin)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC ₅₀)	-0.958**	< 0.001
	ฤทธิ์ฝาดสมาน (Astringent activity)	0.908**	< 0.001

หมายเหตุ แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient; R)* แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **p<0.01

โดยสรุปแล้ว สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบชะคราม คือ การใช้เอทานอลความเข้มข้น 95% ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกซ์เลตที่อุณหภูมิ 80 °C ที่อัตราส่วน 1:5 เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนินที่เข้มข้นที่สุด พร้อมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ฝาดสมานในระดับสูงสุด ในเชิงการประยุกต์ใช้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะช่วยลดความเสียหายจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่ทำลายเซลล์รากผม และกระตุ้นการอักเสบ ในขณะที่ฤทธิ์ฝาดสมาน (51.50%) ซึ่งเกิดจากความสามารถของสารกลุ่มแทนนินและฟลาโวนอยด์ในการตกตะกอนโปรตีน จะช่วยหดรัดเนื้อเยื่อ กระชับรูขุมขนบริเวณ หนังศีรษะลดการระคายเคือง และควบคุมการหลั่งซีบัม (sebum) ส่วนเกิน ทั้งนี้ แม้ยังไม่มีงานวิจัยใดรายงานค่าฤทธิ์ฝาดสมานจากชะครามโดยตรง แต่กลไกดังกล่าวสอดคล้องกับแนวทางการพัฒนาสารละลายฝาดสมานจากชาเขียวและน้ำมันสะเดาของ Biswas และคณะ (2024) ที่อาศัยการตกตะกอนโปรตีน

และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มฟีนอล ด้วยเหตุนี้สารสกัดใบชะครามที่ได้จากสภาวะดังกล่าวจึงมีศักยภาพสูงในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมต่อไป

สรุปผล (Conclusion)

การศึกษานี้สรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบชะครามด้วยวิธีการสกัดแบบซอกซ์ฮเลต โดยใช้เอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 80 °C คือ การใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 1:5 (g/mL) ร่วมกับระยะเวลาสกัด 8 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและแทนนิน พร้อมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ฝาดสมานในระดับสูงสุด ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สันบ่งชี้ว่าสารกลุ่มฟีนอลิกโดยเฉพาะแทนนินเป็นองค์ประกอบหลักที่กำหนดฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ในขณะที่ฟลาโวนอยด์มีความไวต่อความร้อนและมีปริมาณลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาสกัดนานขึ้น ด้วยศักยภาพดังกล่าว สารสกัดใบชะครามที่ได้จากสภาวะนี้จึงเหมาะสมต่อการนำไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมต่อไป

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังมีข้อจำกัดบางประการ กล่าวคือ เป็นการศึกษาปัจจัยการสกัดเพียงสองปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัด โดยยังไม่ได้ใช้การออกแบบการทดลองเชิงสถิติ เช่น Response Surface Methodology (RSM) เพื่อยืนยันสภาวะที่เหมาะสมที่สุดอย่างแม่นยำ อีกทั้งยังไม่ได้จำแนกชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์รายองค์ประกอบด้วยเทคนิคขั้นสูง เช่น HPLC หรือ LC-MS และยังไม่ได้ประเมินฤทธิ์ในระดับเซลล์ ความปลอดภัยตลอดจนการยับยั้งเอนไซม์ 5 α -Reductase ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับกลไกการเกิดภาวะผมร่วง ดังนั้น การศึกษาในอนาคตจึงควรครอบคลุมการวิเคราะห์เชิงลึกดังกล่าว รวมถึงการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ต้นแบบ เพื่อรองรับการนำไปประยุกต์ใช้เชิงพาณิชย์

รายการอ้างอิง

- Beulah, G., Divya, D., & Sampath Kumar, N. S. (2021). Purification and characterization of bioactive compounds extracted from *Suaeda maritima* leaf and its impact on pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Catla catla* fingerlings. *AMB Express*, 11, Article 135.
- Biswas, S., Bala, N. N., Sarkar, S. U., & Dutta, M. (2024). Formulation of colloidal astringent solution using green tea and neem oil. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 18(2), 289–302. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2024.18.2.0280>
- Buachoon, N., & Khukhid, S. (2019). Total phenolic content and antioxidant activity in crude extracts of Nam Dok Mai mango, Sa Kaeo province [in Thai]. *Journal of Research and Development Valaya Alongkorn under the Royal Patronage (Science and Technology)*, 14(1), 121–132.

- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (Eds.). (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. International Centre for Science and High Technology (ICS-UNIDO).
- Jin, C., Wu, X., & Xu, X. (2017). Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids from *Sedum aizoon* L. using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1011–1020.
- Kaoduangdee, N., & Inthasombat, N. (2012). The study of antioxidant properties and products processing from *Suaeda maritima*. *Advanced Science Journal*, 12(2), 107–120.
- Kobayashi, N., Suzuki, R., Koide, C., Suzuki, T., & Masuda, H. (1993). Effect of leaves of *Ginkgo biloba* on hair regrowth in C3H strain mice. *Yakugaku Zasshi*, 113(10), 718–724.
- Kumar, N., & Chaiyasut, C. (2017). Health promotion potential of vegetables cultivated in northern Thailand: A preliminary screening of tannin and flavonoid contents, 5 α -reductase inhibition, astringent activity, and antioxidant activities. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4), 573–579.
- Kumar, S., Kumar, D., & Prakash, O. (2008). Evaluation of antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of *Hibiscus tiliaceus* flowers. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(4), 2863–2871.
- Lourith, N., & Kanlayavattanukul, M. (2013). Hair loss and herbs for treatment. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 12(3), 210–222.
- Mordor Intelligence. (2024). *Hair care market: Trends, analysis, segmentation & share*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/hair-care-market-industry>
- Patra, J. K., Dhal, N. K., & Thatoi, H. N. (2011). In vitro bioactivity and phytochemical screening of *Suaeda maritima* (Dumort): A mangrove associate from Bhitarkanika, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(9), 727–734.
- Thongkao, P., Sukthong, S., & Chittrakorn, S. (2022). Bioactive compounds and antioxidant activity of ethanolic extract from roots of *Suaeda maritima*. *Thai Journal of Pharmacy Practice*, 14(2), 123–134.
- Wattana, W., Poungraya, K., & Sudta, P. (2021). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of the extracts from fresh and dried leaves of *Suaeda maritima* L. *Srinagarind Medical Journal*, 37(1), 72–75.