ปัจจัยของตัวทำละลายต่อการสกัดสารเคอร์ซิตินจากใบมะรุม

Effect of Solvent on Quercetin Extraction from *Moringa oleifera* Leaves

สุรีวัลย์ ดวงจิตต์[1*] ไพจิตร ศรีธนานุวัฒน์[2] ฑิภาดา สามสีทอง[3] วรนันท์ รังสิมาวงศ์[1] กุสุมา จิตแสง[1]
สุรีวัลย์ บำรุงไทย[2] อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ[1] และ วริษฎา ศิลาอ่อน[4]
Sureewan Duangjit,[1*] Phaijit Sritananuwat,[2] Tipada Samseethong,[3] Worranan Rangsimawong[1], Kusuma Jitsaeng[1],
Sureewan Bamrungthai,[2] Utsana Puapermpoonsiri[1] and Warisada Sila-on[4]

[1]กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[2]กลุ่มวิชาชีวเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี [3]กลุ่มวิชาเภสัชกรรมคลินิก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[4]หมวดวิชาเภสัชกรรมอุตสาหการ วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต
[1]Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University,
[2]Division of Biopharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, [3]Division of Pharmacy Practice,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, [4]Collage of Pharmacy, Rangsit University
[*]E-mail : sureewan.d@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

มะรุมเป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Moringaceae มะรุมเป็นแหล่งของสารอาหาร เช่น ส่วนใบอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีหลายชนิดรวมถึงโปรตีน กรดอะมิโนจำเป็น วิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด เช่น วิตามินเอ บี ซี อี เหล็ก สังกะสี แคลเซียม โพแทสเซียม และเคอร์ซิติน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมะรุมมาจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิก ข้อจำกัดทั่วไปเกี่ยวกับการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในกระบวนการสกัดคือ การเพิ่มมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงาน และเป็นสาเหตุของตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้าง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีสกัดและคัดเลือกตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดเคอร์ซิตินจากใบมะรุม ที่สามารถนำไปตั้งตำรับเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่าง ๆ ได้โดยตรง เนื่องจากตัวทำละลายที่เลือกใช้เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรม โดยใช้วิธีคลื่นเสียงความถี่สูงในการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุม และเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้เอทานอล ชั่งผงใบมะรุม 1 กรัมอย่างแม่นยำ เติมตัวทำละลายสีเขียว 10 มิลลิลิตร สกัดสารผสมด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง 80 เฮิร์ต เป็นเวลา 60 นาที ผลการศึกษาพบว่า (1) ตัวทำละลายร่วม ได้แก่ กลีเซอรีน โพรพิวลีนไกลคอล และ พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 (2) สารลดแรงตึงผิว ได้แก่ พอลิซอร์เบต โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต และ (3) สารก่อเจล ได้แก่ โพล็อกซาเมอร์ 407 สามารถใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้ ในกรณีของระบบตัวทำละลายร่วมในการสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุม พบว่า ความเข้มข้นของเคอร์ซิตินในกลีเซอรีนมากกว่าโพรพิวลีนไกลคอล และพอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ระบบสารลดแรงตึงผิวที่ด้อยที่สุดและดีที่สุดสำหรับการสกัดเคอร์ซิตินจากใบมะรุมคือ โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต ตามลำดับ ผงเคอร์ซิติน 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะรุมจากตัวทำละลายหลายชนิดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดมะรุมในเอทานอล โซเดียมโคโคอิวไกลซิเนตเป็นตัวทำละลายที่สกัดเคอร์ซิตินได้ปริมาณสูงที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 85.92 การศึกษานี้เสนอแนะว่าระบบสารลดแรงตึงผิว เช่น พอลิซอร์เบต โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต เป็นตัวทำละลายทางเลือกที่ดีกว่าตัวทำละลายสากล เช่น เอทานอล และเมทานอล

คำสำคัญ : มะรุม เคอร์ซิติน สารสกัด ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารลดแรงตึงผิว

Abstract

Moringa oleifera (MO) is an herbal medicine belonging to the moringaceae family. MO is a rich source of beneficial nutrients; for example, its leaves are rich of several phytochemicals, including proteins, essential amino acids, and many kinds of vitamins and minerals, such as vitamin A, B, C, E, iron, zinc, calcium, potassium and quercetin. Its antioxidant activity is due to the presence of flavonoids and phenols. The general limitations involved the use of organic solvents in the extraction process which increase environmental pollution, were harmful to the operator's health, and were the cause of organic solvent residues. The objective of this study was to develop and find a solvent for the extraction efficiency of quercetin from the powder of *Moringa oleifera* leaves. The extraction can be directly applied to the pharmaceutical formulations due to the selected solvents was the excipients. Ultrasounds were used to improve extraction efficiency and avoid the ethanol used. One gram of MO leave powder was accurately weighed, 10 ml of green solvents were added, and the mixture was subsequently sonicated under 80 Hz for 60 min. The results indicated that (1) co-solvent e.g., glycerin, propylene glycol and polyethylene glycol 400, (2) surfactants e.g., cocamide diethanolamine, cocamidopropyl betaine and sodium cocoylglycinate and (3) gelling agent e.g., poloxamer 407 can be used as a solvent for extracting quercetin from the powder of MO leaves. In the case of co-solvent systems for extraction of quercetin from MO leave powder, the quercetin concentration in glycerin was the significantly ($p < 0.05$) higher than that of propylene glycol and polyethylene glycol, respectively. Whereas, the weakest and most effective surfactant systems for extracting quercetin from MO leaves were cocamide diethanolamine and sodium cocoylglycinate, respectively. Quercetin at 200 µg/mL was used as a control for antioxidant activity. The antioxidant activity of MO extract from several solvents was not significantly different from that of ethanol MO extract. Quercetin extract was the highest yield by sodium cocoylglycinate and the inhibition was 85.92%. The finding suggested that surfactant systems e.g., polysorbate, cocamidopropyl betaine and sodium cocoylglycinate were the alternative solvents rather than the universal organic solvent as ethanol and methanol.

Keywords : *Moringa oleifera*, Quercetin, Extraction, Green solvent, Antioxidant, Surfactant

บทนำ

มะรุม ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Moringa oleifera* เป็น30พืชในวงศ์ Moringaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณเทือกเขาหิมาลัยประเทศอินเดีย แต่สามารถพบได้ทั่วไปในภูมิภาคเขตร้อน แอฟริกา และเอเชีย ในประเทศไทยพบจังหวัดที่มีการปลูกมะรุมมาก ได้แก่ นครปฐม อุบลราชธานี อ่างทอง ราชบุรี สตูล ปทุมธานี และนครราชสีมา (Boonsanit, 2013) เนื่องจากมะรุมเป็นพืชที่สามารถรับประทานได้ จึงมีการศึกษาปริมาณสารอาหารในใบมะรุมพบโปรตีนปริมาณสูงร้อยละ 23.2-29 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบสาร แทนนิน สเตอรอล เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอนทราควิโนน อัลคาลอยด์ และวิตามิน ได้แก่ แคโรทีนอยด์ เบต้าแคโรทีนที่เป็นโปรวิตามินเอ วิตามินบี วิตามินซี วิตามินดี และวิตามินอี ส่วนแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม โพแทสเซียม สังกะสี เหล็ก แมกนีเซียม ทองแดง (Shousha et al., 2019) มีการใช้ใบมะรุมเป็นอาหารสำหรับสัตว์ เช่น ไก่ แพะ (เพิ่มผลผลิตของน้ำนมแพะ) ในส่วนของการบริโภคในมนุษย์ ใช้บริโภคเป็นผักหรือสมุนไพรในประเทศอินเดีย ปากีสถาน แอฟริกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Anwar et al., 2007) สารสกัดใบมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ขับปัสสาวะ ลดความดันโลหิต ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด ลดไข้ ต้านการเกิด

มะเร็ง (Meireles et al., 2020) ผลการทดสอบด้านความเป็นพิษ พบอาการข้างเคียงจากการรับประทานมะรุมได้น้อย สารสกัดมะรุมขนาด 14 กรัม/วัน ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติหรือพิษในทุกช่วงวัย เมื่อเพิ่มขนาดเป็น 20 กรัม/วัน พบอาการคลื่นไส้อาเจียนร้อยละ 20 ของผู้ทดสอบ (Barichella et al., 2019) และพบอาการไม่พึงประสงค์เมื่อใช้ร่วมกับการใช้ยาแผนปัจจุบัน เช่น ระดับน้ำตาลลดลงอย่างมากเมื่อใช้มะรุมร่วมกับยาลดระดับน้ำตาล มะรุมกระตุ้นการทำงานของต่อมไทรอยด์อาจทำให้การรักษาด้วยยาในผู้ป่วยไทรอยด์ไม่มีประสิทธิภาพ หรือมะรุมไปยับยั้งการเปลี่ยนแปลงยาในตับทำให้พบพิษจากยาได้ สารสกัดมะรุม 20 กรัม/กิโลกรัม ซึ่งเป็นขนาดที่สูงกว่าความเป็นจริงเทียบเท่ากับการรับประทานมะรุม 3 กรัม/กิโลกรัม พบการเกิดพิษในเซลล์เม็ดเลือดหนู (Asare et al., 2012)

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นเทคนิคที่ใช้บ่อยที่สุดในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากพืช การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบมะรุมโดยทั่วไปทำได้โดยใช้ตัวทำละลาย เช่น อะซิโตไนไตรล์ เมทานอล เอทานอล น้ำร้อน และสารละลายบัฟเฟอร์ (Jung, 2014) อย่างไรก็ตาม การศึกษาส่วนใหญ่เน้นการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (เช่น คลอโรฟอร์ม แฮกเซน อะซิโตไนไตรล์ เมทานอล เอทานอล) เนื่องจากประสิทธิภาพของการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำธรรมดาและสารละลายบัฟเฟอร์ สารสกัดบัฟเฟอร์ของใบมะรุมมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารสกัดตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับเซลล์มะเร็งตับ (Khalafalla et al., 2011) อย่างไรก็ตาม การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบมะรุมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีข้อจำกัดด้านความปลอดภัยในการใช้ทางยาหรือเครื่องสำอาง ปัญหาตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างในสารสกัด ทำให้ตำรับมีตัวทำละลายอินทรีย์ปนเปื้อนโดยไม่ตั้งใจ ที่อาจส่งผลถึงคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เมื่อออกสู่ท้องตลาด การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบมะรุมด้วยเอทานอลร้อยละ 72 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (300 กำลังวัตต์) พบสารไอโซเคอร์ซิตินและเคอร์ซิตินอะเซตทิลไกลโคไซด์ 2.293±0.005 และ 2.456 ± 0.004 มิลลิกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ (Gao et al., 2022) ขณะที่การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบมะรุมด้วยอะซิโตไนไตรล์ร้อยละ 60 พบเคอร์ซิติน 13.3 มิลลิกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) (Fitri et al., 2015) น้ำเป็นตัวทำละลายที่สะอาด มีความปลอดภัย และมีต้นทุนน้อย เป็นทางเลือกตัวทำละลายที่น่าสนใจ แต่การสกัดด้วยน้ำทำให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ไม่ชอบละลายน้ำในปริมาณน้อย ในปัจจุบันมีการพัฒนากรรมวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบมะรุมด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญให้ได้ปริมาณเพิ่มขึ้น เช่น การสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Extraction หรือ MAE) (Castro-López et al., 2021; Chen et al., 2017; Rodríguez-Pérez et al., 2016) การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic-Assisted Extraction หรือ UAE) (Lin et al., 2021; Tang et al., 2021) การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Supercritical Fluid Extraction หรือ SFE) (Belo et al., 2019; Chen et al., 2022; Zhao and Zhang, 2013) การสกัดด้วยความดันน้ำร้อน (Pressurized Hot Water Extraction หรือ PHWE) โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองด้วยอุณหภูมิ 50-200 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 5-60 นาที พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคืออุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที การสกัดที่อุณหภูมิมากกว่า 125 องศาเซลเซียส อาจทำให้วิตามินซีหรือเคอร์ซิตินสลายตัวได้ (Nuapia et al., 2020)

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีสกัดและคัดเลือกตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดเคอร์ซิตินจากใบมะรุม ที่สามารถนำไปตั้งตำรับเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่าง ๆ ได้โดยตรง เนื่องจากตัวทำละลายที่เลือกใช้เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรม โดยใช้วิธีคลื่นเสียงความถี่สูงในการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุม และเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้เอทานอล

วิธีการวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผงใบมะรุมด้วยวิธีมาตรฐาน ชั่งผงใบมะรุม 1 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เตรียม 3 ชุด (n = 3) เขย่าให้เข้ากัน (ตัวควบคุม) หมักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงขนาด 80 เฮิร์ต เป็นเวลา 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว

3,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จะได้สารสกัดจากผงใบมะรุม หาปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผงใบมะรุมด้วยตัวทำละลายสีเขียว (Green solvents) ชั่งผงใบมะรุม 1 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 25 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ได้แก่ กลีเซอรีน (Glycerin) โพรพิวลีนไกลคอล (Propylene glycol หรือ PG) พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 (Polyethylene glycol 400 หรือ PEG 400) พอลิซอร์เบต 20 (Polysorbate 20 หรือ PS 20) พอลิซอร์เบต 60 (Polysorbate 60 หรือ PS 60) พอลิซอร์เบต 80 (Polysorbate 80 หรือ PS 80) โพล็อกซาเมอร์ 407 (Poloxamer 407 หรือ P407) โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน (Cocamide diethanolamine หรือ CDEA) โคคามิโดโพรพิวบีเทน (Cocamidopropyl betaine หรือ CAPB) และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต (Sodium Cocoylglycinate หรือ SCG) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงขนาด 80 เฮิร์ต เป็นเวลา 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จะได้สารสกัดจากผงใบมะรุม หาปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี HPLC

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดผงใบมะรุม ได้แก่ ศึกษาลักษณะภายนอก สี ความเป็นกรดด่างของสารสกัดที่ได้

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเคอร์ซิติน เตรียมสารมาตรฐานเคอร์ซิติน (Sigma-Aldrich, MO, USA) 1 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมอะซิโตไนไตรล์เพื่อทำละลายและปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร เตรียมกราฟมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้น 10-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์ซิตินที่สกัดได้จากผงใบมะรุมด้วยเครื่อง HPLC ใช้สารมาตรฐานเคอร์ซิตินเป็นสารเปรียบเทียบปริมาณเคอร์ซิตินที่สกัดได้ คำนวณปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้ต่อผงใบมะรุม 1 กรัม โดยสภาวะที่ใช้วิเคราะห์สารเคอร์ซิตินมีดังนี้ คอลัมน์ C18 ขนาดอนุภาคภายในคอลัมน์ 5 มิลลิเมตร กว้าง 4.6 x 250 มิลลิเมตร ตัวทำละลายที่ใช้คือ Acetonitrile และ Acetic acid ร้อยละ 2 (pH 2.6) ในสัดส่วน 25 ต่อ 75 ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ปริมาณที่ฉีด 20 ไมโครลิตร ความยาวคลื่นที่ใช้ 370 นาโนเมตร (Ang et al., 2014)

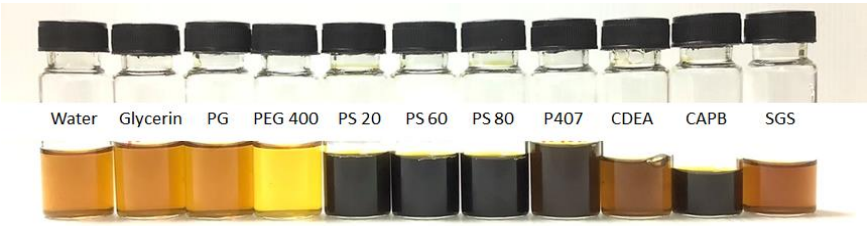
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงใบมะรุม เตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้นร้อยละ 0.004 ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร เก็บให้พ้นแสง เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซิติน ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล เจือจางสารละลายมาตรฐานตั้งต้นด้วยเมทานอลในช่วงความเข้มข้น 10-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่พ้นแสง ทำปฏิกิริยาระหว่างสารทดสอบ 40 ไมโครลิตร และ DPPH 160 มิลลิลิตร ใน 96-well plate เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Plate shaker เป็นเวลา 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) ที่ความยาวคลื่น 517 nm เจือจางสารสกัดผงใบมะรุม 10 เท่าก่อนการทดสอบ 5 ซ้ำ จากนั้นนำมาสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานเคอร์ซิติน โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระหว่างค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%Inhibition) กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานเคอร์ซิติน ด้วยวิธี DPPH assay

$$\%\text{inhibition} = [\,(Abs_{control} - Abs_{sample})/Abs_{control}] \times 100$$

โดย $Abs_{control}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม และ Abs_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

ผลการวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผงใบมะรุมด้วยวิธีมาตรฐาน (เอทานอลร้อยละ 80) และตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่าลักษณะภายนอกของสารสกัดที่ได้มีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม และสีเขียวเข้ม ขึ้นกับชนิดของตัวทำละลาย แสดงในภาพที่ 1 งานวิจัยนี้เลือกตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในทางเภสัชกรรม แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มตัวทำละลายร่วม ได้แก่ กลีเซอรีน โพรพิวลีไกลคอล และพอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 (2) กลุ่มสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ พอลิซอร์เบต โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต และ (3) กลุ่มสารก่อเจล ได้แก่ โพล็อกซาเมอร์ 407 พบว่า ทุกชนิดสามารถใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้เมื่อใช้ร่วมกับวิธีคลื่นเสียงความถี่สูง ในกลุ่มตัวทำละลายร่วม พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 สกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้น้อยที่สุด และกลีเซอรีนสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้มากที่สุด กลุ่มสารลดแรงตึงผิว โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีนสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้น้อยที่สุด และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนตสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้มากที่สุด



ภาพที่ 1 ลักษณะสารสกัดจากผงใบมะรุมในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลายที่เลือกใช้เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมีหน้าที่แตกต่างกันในสูตรตำรับ เช่น กลีเซอรีน โพรพิวลีนไกลคอล และ พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายร่วม (Co-solvent) ในการเพิ่มการละลายของตัวยา พอลิซอร์เบต โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต ทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิว และช่วยเพิ่มการละลายของตัวยาได้ โพล็อกซาเมอร์ 407 เป็นพอลิเมอร์ทำหน้าที่เป็นสารก่อเจลได้ที่ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.35 (Ahmad et al., 2020) จะเกิดเป็นพอลิเมอลิกไมเซลล์ช่วยเพิ่มการละลายของตัวยาได้ (Fraile, et al., 2014) ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผงใบมะรุม เนื่องจากภายหลังกรรมวิธีการสกัดสามารถนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ในการตั้งตำรับได้โดยตรง ไม่ต้องมีกระบวนการระเหยตัวทำละลายออก ตัวทำละลายทุกชนิดที่เลือกใช้มีความปลอดภัย สามารถใช้เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมของเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่าง ๆ ได้ทั้งทางยาและเครื่องสำอาง

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูอิสระของสารสกัดจากผงใบมะรุมในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	สีสารสกัดที่ได้	ความเป็นกรดด่าง	เคอร์ซิติน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH
เอทานอล (ตัวควบคุม)	สีเขียวเข้ม	5.28±0.01	113.18±2.59	84.20±0.07
น้ำ	สีเหลืองเข้ม	4.13±0.01	52.45±2.02	84.92±2.22
กลีเซอรีน	สีเหลืองเข้ม	4.13±0.01	52.17±2.65	86.46±0.12
โพรพิวลีนไกลคอล	สีเหลืองเข้ม	4.13±0.00	42.60±1.26	86.25±0.16
พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400	สีเหลือง	3.21±0.01[a]	35.62±0.26	86.40±0.75
พอลิซอร์เบต 20	สีเขียวเข้ม	4.13±0.01	64.23±3.19	84.23±0.21
พอลิซอร์เบต 60	สีเขียวเข้ม	4.13±0.01	66.05±0.87	83.11±0.47
พอลิซอร์เบต 80	สีเขียวเข้ม	4.13±0.00	62.38±3.44	83.51±0.35

ตัวทำละลาย	สีสารสกัดที่ได้	ความเป็นกรดด่าง	เคอร์ซิติน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH
โพล็อกซาเมอร์ 407	สีน้ำตาลเข้ม	4.14±0.01	61.71±2.24	86.40±0.12
โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน	สีน้ำตาลอ่อน	4.76±0.01 [a]	32.20±2.21	85.70±0.14
โคคามิโดโพรพิวบีเทน	สีน้ำตาลเข้ม	4.14±0.03	59.03±4.01	84.28±0.30
โซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต	สีน้ำตาลอ่อน	4.13±0.01	94.54±1.11	85.92±0.25
เคอร์ซิติน 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	-	-	-	88.00±0.08

[a] แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ

คุณลักษณะของสารสกัดจากผงใบมะรุมในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1 ความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากใบมะรุมในเอทานอลที่เป็นตัวควบคุม (Control) มีค่า 5.28±0.01 มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารสกัดจากใบมะรุมในตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ในขณะที่ความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากใบมะรุมในกลุ่มตัวทำละลายร่วม (ได้แก่ กลีเซอรีน พอลิเอทิลลีนไกลคอล 400) และสารลดแรงตึงผิวทุกชนิด ยกเว้น โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีนมีค่าไม่แตกต่างจากสารสกัดในน้ำ และมีค่า pH อยู่ในช่วง 4.13-4.21 ซึ่งเป็นช่วงความเป็นกรดด่างที่สารเคอร์ซิตินมีความคงตัวดี (pH < 6) (Wang and Zhao, 2015) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายทุกชนิดมีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม ไม่มีผลให้สารเคอร์ซิตินสลายตัวในระหว่างกระบวนการสกัด

น้ำและกลีเซอรีนเป็นตัวทำละลายที่สกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่มตัวทำละลายร่วม พบว่ากลีเซอรีน โพรพิวลีไกลคอล และพอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 สกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลีเซอรีนสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้มากกว่าโพรพิวลีไกลคอล และพอลิเอทิลลีนไกลคอล 400 ตามลำดับ โพรพิวลีไกลคอลและโคคาไมด์ไดเอทาโนลามีนสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่มสารลดแรงตึงผิวพบว่ากลุ่มพอลิซอร์เบต 20, 60 และ 80 สกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้ไม่แตกต่างกัน โคคามิโดโพรพิวบีเทน พอลิซอร์เบต 80 และโพล็อกซาเมอร์สกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้ไม่แตกต่างกัน โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีนสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้น้อยที่สุด ในขณะที่โซเดียมโคโคอิวไกลซิเนตสกัดเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมได้มากที่สุด และสกัดเคอร์ซิตินได้ใกล้เคียงกับการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

กลีเซอรีนนอกจากจะทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายร่วมในสูตรตำรับต่าง ๆ ยังสามารถใช้เป็นสารช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น (Humectant) สารเพิ่มความนุ่มลื่น (Emollient) ในตำรับยาทาผิวหนังได้ โดยร้อยละความเข้มข้นที่ใช้มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30 โพรพิวลีไกลคอล สามารถใช้เป็นสารช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 ในตำรับยาทาผิวหนังใช้ได้ที่ร้อยละ 5-80 โพล็อกซาเมอร์ 407 ทำหน้าที่เป็นสารก่อเจลที่ความเข้มข้นร้อยละ 15-50 และสามารถใช้เป็นสารก่ออิมัลชัน (Emulsifier) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3-2.5 สารช่วยทำให้เปียก (Wetting agent) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01-5 สารช่วยเพิ่มความคงตัว (Stabilizing agent) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-5 สารในกลุ่มพอลิซอร์เบต นอกจากทำหน้าที่เป็นสารสดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-15 ยังทำหน้าที่เป็นสารช่วยเพิ่มการละลาย (Solubilizing agent) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1-15 เช่นกัน และสารช่วยทำให้เปียกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-3 ส่วนโคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต เป็นตัวแทนของสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุ (The Cosmetic Ingredient Review, 1986) มีทั้งสองประจุ (Burnett et al., 2012) และประจุลบ (Burnett et al., 2017) ตามลำดับ เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมที่นิยมใช้ในทางเครื่องสำอางสำหรับเป็นสารทำความสะอาด สารชำระล้าง การเพิ่มฟองในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เช่น แชมพู

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกาย ตัวทำละลายทุกชนิดที่กลุ่มผู้วิจัยเลือกมาใช้ในการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมทั้งทางยาและเครื่องสำอางได้โดยตรง โดยไม่ต้องระเหยตัวทำละลายออก มีความคงตัวดี (Stable) ไม่ระเหยง่าย (Non-volatile) เข้ากันได้กับสารในตำรับ (Compatible) ไม่เป็นพิษ (Non-toxic) เมื่อใช้ในปริมาณที่กำหนด และมีความปลอดภัย (Safety) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น ดังนั้น การใช้สารช่วยทางเภสัชกรรมที่ทำหน้าในตำรับมาใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดผงใบมะรุม จึงอาจใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ตัวทำละลายทางเลือก เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์กลุ่มเอทานอลหรือเมทานอล

ค่าการละลายของเคอร์ซิตินในน้ำเท่ากับ 10.28 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาสเซลเซียส (Gao et al., 2011) จากปริมาณเคอร์ซิตินที่สกัดได้ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่ามีค่าสูงกว่าค่าการละลายในน้ำในทุกตัวทำละลาย ค่าชีวประสิทธิผลทางการรับประทานมีการรายงานว่าหลังจากประประทานมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 17 และ 1 ในหนูและคนตามลำดับ (Gugler et al., 1975; Khaled et al, 2003; Sermkaew and Plyduang, 2020) และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าพบว่า สภาวะที่ใช้ในกระบวนการสกัดในการศึกษานี้ (อุณหภูมิ 90องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง 80 เฮิร์ต) สามารถสกัดเคอร์ซิตินได้มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 72 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (300 กำลังวัตต์) ที่พบสารไอโซเคอร์ซิตินและเคอร์ซิตินอะเซตทิลไกลโคไซด์ 2.293±0.005 และ 2.456±0.004 มิลลิกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ (Gao et al., 2022) และมากกว่าการสกัดอะซิโตไนไตรล์ร้อยละ 60 ที่พบสารเคอร์ซิติน 13.3 มิลลิกรัม/กรัม (น้ำหนักแห้ง) (Fitri et al., 2015) ดังนั้น สภาวะที่ใช้ในกระบวนการสกัดในการศึกษานี้ จึงเป็นวิธีการสกัดสารเคอร์ซิตินจากผงใบมะรุมทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอร์ซิติน 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 88.00±0.08 พบว่าสารสกัดใบมะรุมในตัวทำละลายทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐานเคอร์ซิติน แสดงว่าตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดผงใบมะรุมสามารถสกัดสารเคอร์ซิตินที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะรุมอาจเกิดจากสารพฤกษเคมีหลายชนิดรวมกันนอกจากเคอร์ซิติน จึงมีผลให้ร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ขึ้นอยู่อยู่กับปริมาณเคอร์ซิตินที่สกัดได้ และตัวทำละลายทั้ง 10 ชนิดไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การประยุกต์ใช้สารสกัดมะรุมสำหรับผลิตภัณฑ์ทาผิวหนัง เช่น ครีมกันแดดเนื้อโลชันและเจลที่มีสารสกัดมะรุมในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 3-5 พบว่า ช่วยให้ผิวหนังเรียบเนียนได้ (Sugihartini et al., 2018) ครีมบำรุงผิวที่มีสารสกัดเมล็ดมะรุมในน้ำมันความเข้มข้นร้อยละ 25 พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเพิ่มความชุมชื้นให้กับผิวได้ ลดอาการอักเสบและไม่เปลี่ยนแปลงสีผิวหรือเกิดการระคายเคือง (Athikomkulchai et al., 2021) ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกายที่มีสารสกัดใบมะรุมความเข้มข้นร้อยละ 5 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและกระตุ้นการทำงานของเซลล์ผิวหนังได้เมื่อทดสอบในหลอดทดลอง (Nizioł-Łukaszewska et al., 2020) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในเซลล์ไฟโบบลาสต์ (Fibroblast) พบว่าสารสกัดมะรุมในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1 กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเคลื่อนที่ปิดบาดแผลได้ (Rodríguez-García et al., 2021)

นอกจากนี้ สารสกัดใบและฝักมะรุมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *E .coli*, *S .typhi*, *S .typhimurium*, *S .dysentri*, *S .flexneri* และ *S .aureus* โดยวิธี inhibition zone และพบว่าพื้นที่ปลูกที่ต่างกันทำให้ฤทธิ์แตกต่างกันด้วย (Chelliah et al., 2017) การสกัดมะรุมด้วยตัวทำละลายชนิดต่างกันพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราปรสิต และไวรัสแตกต่างกัน เช่น สารสกัดใบมะรุมในเอทานอล พบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Enterobacter* spp, *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *E.coli* สารสกัดใบมะรุมในคลอโรฟอร์ม พบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *S. typhi* หรือฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดมะรุมในน้ำหรือเอทานอลในเชื้อราและยีสต์ พบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. tropicalis* แต่ไม่มีผลต่อ *C. albicans* (Raubilu et al., 2020) ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยก่อนหน้าในปี 2016 พบว่าสารสกัดมะรุมในน้ำหรือเอทานอลมีฤทธิ์ต่อ *C. albicans* ได้และพบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* และ *C. neoformans* ได้

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดมะรุมในน้ำหรือเอทานอลในเชื้อไวรัสเริม (Herpes simplex virus) ชนิดที่ 1 และ 2 พบว่าสารสกัดชั้นน้ำที่ได้จากใบมะรุม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 สามารถยับยั้งเชื้อเริมทั้งชนิดที่ 1 และ ชนิดที่ 2 ได้ร้อยละ 43.2 และ 21.4 ตามลำดับ (Nasr-Eldin et al., 2017) จากข้อมูลดังกล่าวมีการศึกษาเพื่อนำสารสกัดมะรุมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น มีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลชีพของผงแห้งจากใบมะรุม โดยเฉพาะเชื้อทางเดินอาหารที่มักเกิดการปนเปื้อนทางมือสู่ปากได้ง่าย มาใช้เป็นน้ำล้างมือเปรียบเทียบกับการล้างมือด้วยสบู่ปกติ พบว่าการล้างมือด้วยผงมะรุมทั้งรูปแบบผงแห้งและผงเปียกโดยใช้ปริมาณ 4 กรัม มีฤทธิ์กำจัดเชื้อ *E. coli* ได้เทียบเท่าสบู่ปกติ (Torondel et al., 2014) อย่างไรก็ตาม ในปี 2018 นักวิทยาศาสตร์ได้ทดสอบสมมุติฐานนี้อีกครั้ง พบว่าการใช้ผงมะรุมแห้ง 4 กรัม และน้ำมะรุมพบว่ายับยั้งเชื้อได้ไม่เท่าการใช้สบู่ปกติ และพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อในสารสกัดมะรุมที่มาจากแหล่งธรรมชาติ ในปัจจุบัน ยังมีข้อมูลไม่เพียงพอเกี่ยวกับการใช้สารสกัดมะรุมร่วมกับสารทำความสะอาดชนิดอื่นเพื่อเสริมฤทธิ์ และยังไม่มีข้อมูลเพียงพอในการนำมาใช้มะรุมเป็นสมุนไพรเดี่ยวในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด แต่การผสมสารสกัดใบมะรุมร่วมกับสารยับยั้งจุลชีพอื่นในผลิตภัณฑ์สามารถเพิ่มฤทธิ์ได้ เช่น สารสกัดมะรุมในเมทานอลยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าตำรับที่ไม่ใส่สารสกัดมะรุม และพบว่าหากใส่สารสกัดมะรุมที่ความเข้มข้นร้อยละ 35 สามารถยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 66.04 (Clark et al., 2018) เห็นได้ว่าสารสกัดมะรุมเป็นพืชผักพื้นบ้านที่สามารถรับประทานได้มีความเป็นพิษต่ำ และด้วยปริมารณสารสำคัญอื่น ๆ ที่อยู่ในมะรุมสามารถพบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้หลากหลาย การที่มะรุมการมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลชีพที่เด่นชัดในหลอดทดลอง จึงอาจเป็นสมุนไพรที่เหมาะในการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับชะล้าง หรือทำความสะอาดร่วมกับสารทำความสะอาดชนิดอื่น เพื่อลดการใช้สารเคมีทั้งในด้านปริมาณและระยะเวลาในการใช้ ลดความเสี่ยงการการเกิดผลข้างเคียง หรืออาจใช้เพื่อ เพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดได้

การศึกษานี้เสนอแนะว่าระบบสารลดแรงตึงผิว เช่น พอลิซอร์เบต โคคามิโอโพรพิวบีเทน และโซเดียมโคโคอิวไกลซิเนต เป็นตัวทำละลายทางเลือกที่ดีกว่าตัวทำละลายสากล เช่น เอทานอลและเมทานอล ที่ช่วยลดข้อจำกัดในการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ มีความปลอดภัย เนื่องจากเป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมที่มีการใช้งานอย่างแพร่หลายทั้งในผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอาง การสกัดผงใบมะรุมโดยใช้โซเดียมโคโคอิวไกลซิเนตเป็นตัวทำละลายที่สกัดเคอร์ซิตินได้ปริมาณสูงที่สุด คือ 95.54 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 85.92

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษาวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สป.อว.) ผ่านทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ 2564 รหัสโครงการ RGNS 64-237 และได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนด้านสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, N., Ahmad, R., Ahmad, F. J., Ahmad, W., Alam, M. A., Amir, M. and Ali, A. (2020). Poloxamer-chitosan-based Naringenin nanoformulation used in brain targeting for the treatment of cerebral ischemia. *Saudi journal of biological sciences,* (271), 500-517. doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.008

Ang, L. F., Yam, M. F., Fung, Y. T. T., Kiang, P. K. and Darwin, Y. (2014). HPLC method for simultaneous quantitative detection of quercetin and curcuminoids in traditional chinese medicines. *Journal of pharmacopuncture,* (174), 36-49. doi:https://doi.org/10.3831/KPI.2014.17.035

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research,* (211), 17-25. doi:https://doi.org/10.1002/ptr.2023

Asare, G. A., Gyan, B., Bugyei, K., Adjei, S., Mahama, R., Addo, P., ... Nyarko, A. (2012). Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. *Journal of Ethnopharmacology,* (1391) , 265-272. doi:https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.009

Athikomkulchai, S., Tunit, P., Tadtong, S., Jantrawut, P., Sommano, S. R. and Chittasupho, C. (2021). *Moringa oleifera* seed oil formulation physical stability and chemical constituents for enhancing skin hydration and antioxidant activity .*Cosmetics,* (8), 2. doi:https://doi.org/10.3390/cosmetics8010002

Barichella, M., Pezzoli, G., Faierman, S. A., Raspini, B., Rimoldi, M., Cassani, E., ... Cereda, E. (2019). Nutritional characterisation of Zambian *Moringa oleifera*: Acceptability and safety of short-term daily supplementation in a group of malnourished girls. *International Journal of Food Sciences and Nutrition,* (701), 107-115. doi:https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1475550

Belo, Y. N., Al-Hamimi, S., Chimuka, L. and Turner, C. (2019). Ultrahigh-pressure supercritical fluid extraction and chromatography of *Moringa oleifera* and Moringa peregrina seed lipids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* (41116), 3685-3693. doi:https://doi.org/10.1007/s00216-019-01850-x

Boonsanit, D. (2013). *Effects of supplemental Moringa oleifera Lam in the diets on milk production and antioxidant in early lactation of dairy goat*. Retrieved from Thailand Science Research and Innovation: https://digital.library.tu.ac.th/tu_dc/frontend/Info/item/dc:69504

Burnett, C. L., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D., ... Andersen, F. A. (2012). Final report of the Cosmetic Ingredient Review Expert Panel on the safety assessment of cocamidopropyl betaine (CAPB). *International Journal of Toxicology,* (314_Suppl), 77s-111s. doi: https://doi.org/10. 1177/1091581812447202

Burnett, C. L., Heldreth, B., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., ... Andersen, F. A. (2017). Safety assessment of amino acid alkyl amides as ased in cosmetics. *International Journal of Toxicology,* (361_Suppl), 17s-56s. doi: https://doi.org/10.1177/1091581816686048

Castro-López, C., Espinoza-González, C., Ramos-González, R., Boone-Villa, V. D., Aguilar-González, M. A., Martínez-Ávila, G. C. G., ... Ventura-Sobrevilla, J. M. (2021). Spray-drying encapsulation of microwave-assisted extracted polyphenols from *Moringa oleifera*: Influence of tragacanth, locust bean, and carboxymethyl-cellulose formulations. *Food Research International,* (144) , 110291. doi:https://doi.org /10.1016/j.foodres.2021.110291

Chelliah, R., Ramakrishnan, S. and Antony, U. (2017). Nutritional quality of *Moringa oleifera* for its bioactivity and antibacterial properties. *International Food Research Journal,* (242), 825-833. doi:http://www.ifrj.upm. edu.my/24%20(02)%202017/(50).pdf

Chen, C., Zhang, B., Huang, Q., Fu, X. and Liu, R. H. (2017). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity. *Industrial Crops and Products*, (100), 1-11. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.042

Chen, X., Li, Z., Smith, S. A., Chen, M., Liu, H., Zhang, J., ... Wu, X. (2022). Optimization of Supercritical CO 2 Extraction of *Moringa oleifera* seed oil using response surface methodological approach and its antioxidant activity. *Frontiers in Nutrition, 8*. doi:https://doi.org/10.3389/fnut.2021.829146

Clark, J. N., Jimenez, M., Raso, E., Antwi, L., Ofosu-Appiah, L. H., Opare, D. and Torondel, B. (2018). Evaluation of key antimicrobial properties of *Moringa oleifera* in relation to its use as a hand-washing product. *Water,* (109), doi:https://doi.org/10.3390/w10091154

Fitri, A., Toharmat, T., Astuti, D. and Tamura, H. (2015). The Potential use of secondary metabolites in *Moringa oleifera* as an antioxidant source. *Media Peternakan, 38*, 169-175. doi:https://doi.org/10.5398/ medpet. 2015.38.3.169

Fraile, M., Buratto, R., Gómez, B., Martín, Á. and Cocero, M. (2014). Enhanced delivery of quercetin by encapsulation in poloxamers by supercritical antisolvent process. *Industrial & Engineering Chemistry Research, 53*, 4318–4327. doi:https://doi.org/10.1021/ie5001136

Gao, L., Liu, G., Wang, X., Liu, F., Xu, Y. and Ma, J. (2011). Preparation of a chemically stable quercetin formulation using nanosuspension technology. *International Journal of Pharmaceutics,* (4041-2), 231-237. doi:https://doi.org/10.1016/ j.ijpharm.2010.11.009

Gao, Q., Wei, Z., Liu, Y., Wang, F., Zhang, S., Serrano, C., ... Sun, B. (2022). Characterization, large-scale HSCCC separation and neuroprotective effects of polyphenols from *Moringa oleifera* leaves. *Molecules (Basel, Switzerland),* (273), doi:https://doi.org/10.3390/molecules27030678

Gugler, R., Leschik, M. and Dengler, H. J. (1975) .Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. *European Journal of Clinical Pharmacology,* (92-3), 229-234. doi:https://doi.org/10.1007/ bf14022 006

Jung, I. L. (2014). Soluble extract from *Moringa oleifera* leaves with a new anticancer activity. *PLoS One,* (94), e95492-e95492. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095492

Khalafalla, M., Abdellatef, E., Daffalla, H., Nassrallah, A., aboul-Enein, A., Lightfoot, D., ... El-Shemy, H. (2011). Active principle from *Moringa oleifera* lam leaves effective against two leukemias and a hepatocarcinoma. *African Journal of Biotechnology, 9*, 8467-8471. doi:https://www.ajol.info/index.php/ ajb/article/view/130889

Khaled, K. A., El-Sayed, Y. M. and Al-Hadiya, B. M. (2003). Disposition of the flavonoid quercetin in rats after single intravenous and oral doses. *Drug Development and Industrial Pharmacy,* (294), 397-403. doi: https://doi.org/10. 1081/ddc-120018375

Lin, X., Wu, L., Wang, X., Yao, L. and Wang, L. (2021). Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of India *Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 20*, 100284. doi:https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100284

Meireles, D., Gomes, J., Lopes, L., Hinzmann, M. and Machado, J. (2020). A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of *Moringa oleifera*: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine. *Advances in Traditional Medicine*, 1-21. doi:https://doi.org/10.1007/s13596-020-00468-0

Nasr-Eldin, M. A., Abdelhamid, A. and Baraka, D. (2017). Antibiofilm and antiviral potential of leaf extracts from *Moringa oleifera* and rosemary (Rosmarinus officinalis Lam.). *Egyptian Journal of Microbiology,* (521), 129-139. doi:https://doi.org/10.21608/ejm.2017.1439.1027

Nizioł-Łukaszewska, Z., Furman-Toczek, D., Bujak, T., Wasilewski, T. and Hordyjewicz-Baran, Z. (2020). *Moringa oleifera* L. extracts as bioactive ingredients that increase safety of body wash cosmetics. *Dermatology Research and Practice,* 2020, 8197902. doi:https://doi.org/10.1155/2020/8197902

Nuapia, Y., Al-Hamimi, S., Matshediso, P. G., Cukrowska, E., Tutu, H., Turner, C. and Chimuka, L. (2020). Selective pressurized hot water extraction of nutritious macro-nutrients vs. micro-nutrients in *Moringa oleifera* leaves-a chemometric approach. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* (41211), 2495-2503. doi:https://doi.org/10.1007/s00216-020-02472-4

Raubilu, I., Usman, I. and A, A. (2020). Antimicrobial activity of *Moringa oleifera*: A short review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 12*, 128-132. doi:https://doi.org/10.4314/bajopas.v12i1.21S

Rodríguez-García, T., Camacho-Díaz, B., Jiménez–Aparicio, A., Santaolalla-Tapia, J., Evangelista Lozano, S. and Arenas Ocampo, M. (2021). Cell proliferation and migration in human skin fibroblasts induced by *Moringa oleifera*. *Revista Brasileira de Farmacognosia, 31*. doi:https://doi.org/10.1007/s43450-021-00160-7

Rodríguez-Pérez, C., Gilbert-López, B., Mendiola, J. A., Quirantes-Piné, R., Segura-Carretero, A. and Ibáñez, E. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves by multiresponse surface methodology. *Electrophoresis,* (3713), 1938-1946. doi:https://doi.org/10.1002/elps.201600071

Sermkaew, N. and Plyduang, T. (2020). Self-microemulsifying drug delivery systems of *Moringa oleifera* extract for enhanced dissolution of kaempferol and quercetin. *Acta Pharmaceutica,* (701), 77-88. doi:https:// doi.org/ 10.2478/acph-2020-0012

Shousha, W. G., Aboulthana, W. M., Salama, A. H., Saleh, M. H. and Essawy, E. A. (2019). Evaluation of the biological activity of *Moringa oleifera* leaves extract after incorporating silver nanoparticles, in vitro study. *Bulletin of the National Research Centre,* (431), 212. doi:https://doi.org/10.1186/s42269-019-0221-8

Sugihartini, N., Fajri, M. A. and Rahmawati, D. R. (2018). *Formulation of Moringa oleifera leaf extract in lotion and gel as sunscreen.* Paper presented at the The 1st Muhammadiyah International Conference on Health and Pharmaceutical Development (MICH-PhD2018).

Tang, S. Q., Du, Q. H. and Fu, Z. (2021). Ultrasonic treatment on physicochemical properties of water-soluble protein from *Moringa oleifera* seed. *Ultrasonics Sonochemistry, 71*, 105357. doi:https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105357

The Cosmetic Ingredient Review. (1986). Final report on the safety assessment of cocamide DEA, lauramide DEA, linoleamide DEA, and oleamide DEA. *Journal of the American College of Toxicology,* 5, 415–454. https://www.cir-safety.org/sites/default/files/118_draft_dea_suppl1.pdf

Torondel, B., Opare, D., Brandberg, B., Cobb, E. and Cairncross, S. (2014). Efficacy of *Moringa oleifera* leaf powder as a hand- washing product: A crossover controlled study among healthy volunteers. *BMC Complementary and Alternative Medicine, 14*, 57. doi: https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-57

Wang, J. and Zhao, X.-H. (2015). Degradation kinetics of fisetin and quercetin in solutions affected by medium pH, temperature and coexisted proteins. *Journal of the Serbian Chemical Society, 81*, 92-92. doi:https://doi.org/10.2298/JSC150706092W

Zhao, S. and Zhang, D. (2013). Supercritical fluid extraction and characterisation of *Moringa oleifera* leaves oil. *Separation and Purification Technology,* 118, 497-502. doi:https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.07.046

.