

การพัฒนาวิธีสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง Development of Extraction Method of Quercetin from Moringa Leaves Powder using Surfactant by Response Surface Methodology

สุรีวัลย์ ดวงจิตต์^{1*} นิติรัตน์ ประจันบาล² ภัทรพร สุทธิพงษ์² ไพจิตร ศรีธนาวัฒน์³ วรรณัท รังสิมาวงศ์¹
ทิภาดา สามสีทอง⁴ กุสุมา จิตแสง¹ และ สุรีวัลย์ บำรุงไทย³

Sureewan Duangjit^{1*}, Nitirat Prajunban², Pattaraporn Suttipong², Phaijit Sriananuwat³, Worranan Rangsimawong¹,
Tipada Samseethong⁴, Kusuma Jitsaeng¹ and Sureewan Bamrungthai²

¹กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

² นักศึกษาคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

³กลุ่มวิชาชีวเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

⁴กลุ่มวิชาเภสัชกรรมคลินิก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

¹Division of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University,

²Pharmacy student, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University,

³Division of Biopharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University

⁴Division of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University

*E-mail: sureewan.d@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

มะรุม (*Moringa oleifera*) เป็นพืชในวงศ์ MORINGACEAE อุดมไปด้วยสารอาหารหลายชนิด พบสารฟลาโวนอยด์ใน ส่วนใบ ฝัก ราก ดอก และเมล็ด ใบมะรุมมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด เคอร์ซีติน (Quercetin) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในใบมะรุม มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านไบโอฟิล์ม และฤทธิ์ต้านจุลชีพ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงมะรุมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวหลายชนิด ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวประจุลบ สารลดแรงตึงผิวประจุบวก สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ และสารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีทั้ง สองประจุ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุม ตัวแปรต้น ได้แก่ ระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อน (X_1) และอุณหภูมิสกัด (X_2) ดำเนินการตามแบบจำลองการสกัด 10 สภาวะและหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ตัวแปรตอบสนอง (Y_n) ได้แก่ ขนาดอนุภาค ประจุ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการวิจัยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์ซีตินที่จากผงใบมะรุมคือ $X_1 = 60$ นาที และ $X_2 = 40$ องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาพื้นผิวตอบสนองของตัวแปรตอบสนอง ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการแสดงความเป็นไปได้ของสภาวะการสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง พื้นผิวตอบสนองทำให้ความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตัวแปรต้นและตัวแปรตอบสนอง ควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาเภสัชภัณฑ์จากสารสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุม

คำสำคัญ: การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ช่วย โพลีซอร์เบต โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน โคคามิโดโพรพิลเบทาอีน

Abstract

Moringa oleifera (MO) is a plant of the MORINGACEAE. MO is rich in many nutrients. Phytochemicals are found in the leaves, pods, roots, flowers, and seeds. MO leaves contain the most bioactive compounds. Quercetin (QR) is an antioxidant found in MO leaves which reduces inflammation, anti-biofilm activity and antimicrobial activity. The objective of this study was to develop a method for the extraction of quercetin from moringa leaves powder using surfactants by surface response methodology (RSM). Several surfactants including anionic surfactants, cationic surfactants, nonionic surfactants, and zwitterionic surfactants were varied and compared the extraction efficiency of quercetin from moringa leaf powder. The heating time (X_1) and extraction temperature (X_2) were chosen as causal factors. Ten models extraction conditions were conducted and optimized. The response variables (Y_n) were vesicle size, zeta potential, pH, quercetin content in the extract, and antioxidant activity. Results indicated that the optimal condition for extraction of quercetin from moringa leaves powder was $X_1 = 60$ min and $X_2 = 40$ degrees Celsius. Considering the response surfaces of the response variables, we were successful in showing the feasibility of the extraction condition of quercetin from moringa leaves powder using RSM. A response surface was applied to gain an understanding of the relationships between causal factors and response variables. Further study is required to develop a pharmaceutical product from the quercetin extract from moringa leaves powder

Keywords: Ultrasound Assisted Extraction, Polysorbate, Sodium Cocoylglycinate, Cocamide Diethanolamine, Cocamidopropyl Betaine

บทนำ

มะรุม (*Moringa oleifera*) เป็นพืชในวงศ์ MORINGACEAE เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่อุดมไปด้วยสารอาหารหลายชนิด พบสารพฤกษเคมีในส่วนใบ ฝัก ราก ดอก และเมล็ด (Gopalakrishnan et al., 2016) มีรายงานว่าใบมะรุม (ทั้งแบบสด และแห้ง) ในอัตราส่วนกรัมต่อกรัม มีวิตามินซีมากกว่าส้ม 7 เท่า วิตามินเอมากกว่าแครอท 10 เท่า แคลเซียมมากกว่านม 17 เท่า โปรตีนมากกว่าโยเกิร์ต 9 เท่า โพแทสเซียมมากกว่ากล้วย 15 เท่า และธาตุเหล็กมากกว่าผักโขม 25 เท่า (Rockwood et al., 2013) มะรุมถูกนำไปใช้สำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะทุพโภชนาการในประเทศเซเนกัลและเบนิน ในเด็กที่ไม่ได้รับนมแม่ และมีอาการแสดงของภาวะขาดสารอาหาร นอกจากนี้ มะรุมยังเป็นแหล่งของไฟโตสเตอรอล (Phytosterols) เช่น stigmasterol, sitosterol และ kampesterol ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมน ผงใบมะรุม 6 ซ่อนมีธาตุเหล็กและแคลเซียมเพียงพอต่อความต้องการในแต่ละวันของผู้หญิงตั้งครรภ์ ใบมะรุมมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด

ตัวอย่างฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจ คือ เคอร์ซีติน (Quercetin) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในใบมะรุม นอกจากนี้ เคอร์ซีตินยังมีฤทธิ์ลดการอักเสบ ฤทธิ์ต้านไบโอฟิล์ม และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* และ *Enterococci spp.* (Zubair, 2020) มีรายงานว่าพบเคอร์ซีติน 1 มิลลิกรัมต่อกรัมของผงใบมะรุม (Vergara-Jimenez et al., 2017) มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ จัดอยู่ใน Biopharmaceutical Classification System (BCS) II คือสามารถดูดซึมได้ดี (High permeability) แต่มีค่าการละลายต่ำ (Low solubility) มีค่าการละลายน้ำเท่ากับ 4.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Bhagawan et al., 2017) พบว่า การใช้พอล็อกซาเมอร์ 407 (Poloxamer 407) ในรูปแบบไมเซลล์ช่วยเพิ่มค่าการละลายของเคอร์ซีตินได้ (Casanova et al., 2021)

ไมเซลล์ที่ดียังสามารถนำไปพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์ได้โดยตรง และเป็นตัวพาหยา (Drug carrier) ที่เตรียมง่าย ต้นทุนการผลิตไม่สูง แต่มีประสิทธิภาพที่ดี นิยมใช้เพื่อการนำส่งยาหลายชนิด โดยเฉพาะตัวยาที่ละลายน้ำได้น้อย

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือเพื่อพัฒนาวิธีสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงมะรุุมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง โดยผู้วิจัยสนใจพัฒนาวิธีสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงมะรุุมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดต่าง ๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (Anionic) ประจุบวก (Cationic) ไม่มีประจุ (Nonionic) และมีทั้งสองประจุ (Zwitterionic) เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุุมโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง เพื่อลดจำนวนตัวอย่างและลดระยะเวลาในการสกัด ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุุม และสารสกัดไมเซลล์ที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์หรือพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์สำหรับทำความสะอาดร่างกาย เช่น แชมพูทำความสะอาดเส้นผม ผลิตภัณฑ์อาบน้ำได้

วิธีการวิจัย

การสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุุมด้วยตัวสารละลายไมเซลล์ชนิดต่าง ๆ เตรียมสารละลายไมเซลล์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ดังแสดงในตารางที่ 1 ดังนี้ สารละลายไมเซลล์ชนิดประจุลบ ได้แก่ โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต (Sodium cocoylglycinate หรือ SCG), โซเดียมเฮกซะเดซิลซัลเฟต (Sodium hexadecyl sulfate หรือ NaHS), โซเดียมคลอเรต (Sodium cholate หรือ NaC) สารละลายไมเซลล์ชนิดประจุบวก ได้แก่ บิวทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (Butylpyridinium Chloride หรือ BPC), โดเดซิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (Dodecylpyridinium Chloride หรือ DPC), และ โดเดซิลไตรแอมโมเนียมโบรไมด์ (Dodecyl Tri-Ammonium Bromide หรือ DTAB) สารละลายไมเซลล์ชนิดไม่มีประจุ ได้แก่ พอลิซอร์เบต 20 (Polysorbate 20 หรือ T20), พอลิซอร์เบต 60 (Polysorbate 60 หรือ T60), พอลิซอร์เบต 80 (Polysorbate 80 หรือ T80), โคคาไมด์ไดเอทานอลามีน (Cocamide Diethanolamine หรือ Cocamide DEA) สารละลายไมเซลล์ชนิดมีทั้งสองประจุ ได้แก่ โคคามิโดโพรพิลเบเทน (Cocamidopropyl Betaine หรือ CAPB) ตัวทำละลายควบคุม (Control) ได้แก่ น้ำ และเอทานอลร้อยละ 80

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการศึกษานี้

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว	น้ำหนักเลข	สูตรเคมี	CMC (mM)	CMC (ร้อยละ)	pH สารละลาย	pH ที่วัดได้จริง
ประจุลบ						
โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต	279.351	$C_{14}H_{26}NNaO_3$	0.2100	7.51×10^{-6}	7.5 - 10.0	8.75±0.03
โซเดียมเฮกซะเดซิลซัลเฟต	344.490	$C_{16}H_{33}NaO_4S$	8.0000	2.32×10^{-4}	-	NA
โซเดียมคลอเรต	430.600	$C_{24}H_{39}NaO_5$	14.0000	3.25×10^{-4}	7.0-9.5	8.15±0.23
ประจุบวก						
บิวทิลไพริดีเนียมคลอไรด์	171.670	$C_9H_{14}ClN$	0.3000	1.75×10^{-6}	-	3.10±0.06
โดเดซิลไพริดีเนียมคลอไรด์	283.880	$C_{17}H_{30}ClN$	0.0010	3.52×10^{-8}	4.3 - 4.6	4.25±0.13
โดเดซิลไตรแอมโมเนียมโบรไมด์	308.340	$C_{15}H_{34}BrN$	14.7000	4.76×10^{-4}	-	3.89±0.17
ไม่มีประจุ						
พอลิซอร์เบต 20	1,226.000	$C_{58}H_{114}O_{26}$	0.0490	4.00×10^{-7}	5 - 7	1.11±0.04
พอลิซอร์เบต 60	1,131.90	$C_{64}H_{126}O_{26}$	0.0167	1.48×10^{-7}	5.5 - 7.7	1.30±0.01
พอลิซอร์เบต 80	1,310.00	$C_{64}H_{124}O_{26}$	0.0150	1.14×10^{-7}	5.5 - 7.5	1.61±0.02
โคคาไมด์ไดเอทานอลามีน	530.870	$CH_3(CH_2)_nC(=O)N(CH_2CH_2OH)_2$	-	1.40	9.5-10.5	9.89±0.13
มีทั้งสองประจุ						
โคคามิโดโพรพิลเบเทน	342.520	$C_{19}H_{38}N_2O_3$	0.9000	2.63×10^{-5}	5 - 6	4.22±0.05

CMC = critical micelle concentration, NA = วัดค่าไม่ได้

ซังผงใบมะรุม 1 กรัม ลงในหลอดทดลองแก้วขนาด 25 มิลลิลิตร เติมตัวสารละลายไมเซลล์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดสารสำคัญจากผงใบมะรุมโดยใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงขนาด 80 เอิร์ต (Branson CPX5800H-E, Branson Ultrasonics Co.Ltd, CT, USA) ที่เวลาต่าง ๆ (60, 120 และ 180 นาที) เปลี่ยนระบบน้ำทุก 60 นาที เพื่อควบคุมอุณหภูมิ ในกระบวนการสกัด (30±2 องศาเซลเซียส) แยกสารสกัดและผงใบมะรุมด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเคอร์ซีตินในสารสกัดด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อเลือกระบบตัวสารละลายไมเซลล์สกัดเคอร์ซีตินได้ในปริมาณ สูงที่สุด

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดผงใบมะรุม ได้แก่ ศึกษาลักษณะภายนอก สี ด้วยตาเปล่า บันทึกภาพถ่ายเพื่อเปรียบเทียบสีของสารสกัด ศึกษาความเป็นกรดต่างของสารสกัดโดยเครื่อง pH meter (HORIBA รุ่น pH-33, HORIBA Advanced Techno, Co., Ltd., Japan) ศึกษาขนาดและประจุของไมเซลล์ด้วยเครื่อง Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเคอร์ซีติน เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินความเข้มข้นตั้งต้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมกราฟมาตรฐานช่วงความเข้มข้น 1-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ สารเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมมีดังนี้ วัฏภาคนิ่ง (Stationary phase) ได้แก่ คอลัมน์ C18 (VetiSep™, GES C18 HPLC Column, Vertrical®, Thailand) ขนาดอนุภาคภายในคอลัมน์ 5 มิลลิเมตร กว้าง 4.6 x 250 มิลลิเมตร วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ได้แก่ ตัวทำละลายผสมระหว่าง acetonitrile และ acetic acid ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วน 40 ต่อ 60 ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ปริมาณที่ฉีด 20 ไมโครลิตร ความยาวคลื่นที่ใช้ 370 นาโนเมตร เครื่องมือที่ใช้ คือ HPLC (Thermo Scientific™ UltiMate 3000 UHPLC System, Waltham, MA USA) (Ang et al., 2014)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH assay) เตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ความเข้มข้นร้อยละ 0.004 และ 0.02 ตามลำดับ โดยใช้เมทานอล เป็นตัวทำละลาย สร้างกราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินช่วงความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH และ ตัวอย่างสารสกัดจากผงใบมะรุม ในถาดหลุม 96 ช่อง (96-well plate) ปริมาตร 180 และ 20 ไมโครลิตร ตามลำดับ เขย่า 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) ที่ความยาว คลื่น 517 นาโนเมตร หลีกเลียงแสงสว่างตลอดการทดสอบ คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g QE/g}$) โดยคำนวณจากสมการที่ 1

$$\% \text{inhibition} = [(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

โดย $\text{Abs}_{\text{control}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม และ $\text{Abs}_{\text{sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

การออกแบบสภาวะสำหรับสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมด้วยตัวทำละลายไมเซลล์ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง ด้วยวิธีพินผิวตอบสนอง สภาวะที่ใช้ในการสกัดแสดงในตารางที่ 3 ตัวทำละลายไมเซลล์ที่ใช้ในการศึกษานี้คือโซเดียมโคโคอิล ไกลซิเนต ความเข้มข้นร้อยละ 2 และน้ำ (ตัวควบคุม) ตัวแปรต้น (Causal factors; X_n) ที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ระยะเวลา ในการสกัดด้วยความร้อน (Heating time; X_1) และ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (Temperature; X_2) รหัส ตัวแปรในการสกัด ตัวแปรตอบสนอง (Response variables; Y_n) ได้แก่ ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร) ประจุ (มิลลิโวลต์) ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมของผงใบมะรุม) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละยับยั้ง) กำหนดให้สภาวะ

ที่เหมาะสมที่สุด คือ สภาวะที่สามารถสกัดปริมาณเคอร์ซีตินได้สูงที่สุด (Maximum) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Maximum) และมีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงปกติ (In range)

การทดสอบความถูกต้องและความแม่นยำของสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ชั่งผงใบมะรุม 1 กรัม เติมน้ำทำละลายโซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต (sodium cocoylglycinate หรือ SCG) ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดสารสำคัญจากผงใบมะรุมที่สภาวะ X1 = 60 นาที และ X2 = 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดผงใบมะรุม ได้แก่ ขนาด ประจุ ความเป็นกรดต่าง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญเคอร์ซีตินและเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทำนาย (Predicted value)

สถิติในการวิจัย ข้อมูลรายงานค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3-5) การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way Analysis Of Variance (ANOVA) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ LSD ค่านัยสำคัญทางสถิติน้อยกว่า 0.05 (p value < 0.05)

ผลการวิจัย

การสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมด้วยตัวสารละลายไมเซลล์ชนิดต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกระบบตัวทำละลายไมเซลล์ที่เหมาะสมที่สามารถสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุมได้ในปริมาณสูง โดยเปรียบเทียบสารลดแรงตึงผิวกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ ชนิดไม่มีประจุ และชนิดที่มีทั้งสองประจุ คุณสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงในตารางที่ 1 จากข้อมูลค่าจุดวิกฤตการเกิดไมเซลล์ (Critical Micelle Concentration; CMC) ผู้วิจัยเตรียมระบบไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวทุกชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ซึ่งมากกว่าค่าจุดวิกฤตการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด เพื่อให้มั่นใจว่าสารละลายไมเซลล์ที่ใช้ในการศึกษานี้เกิดระบบไมเซลล์ทุกกรณี (Siwa and Siwa, 2021) นอกจากนี้ค่าการละลายของตัวถูกละลาย (Solute) จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อตัวถูกละลายนั้นอยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นมากกว่าค่าจุดวิกฤตการเกิดไมเซลล์ (Hadjiivanova et al., 2011) ในการศึกษาท่อนำประสบความสำเร็จในการใช้ระบบไมเซลล์ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิกโดยใช้ Brij35 ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (Hosseinzadeh et al., 2013)

ตารางที่ 2 ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้จากผงใบมะรุมด้วยตัวสารละลายไมเซลล์ชนิดต่าง ๆ

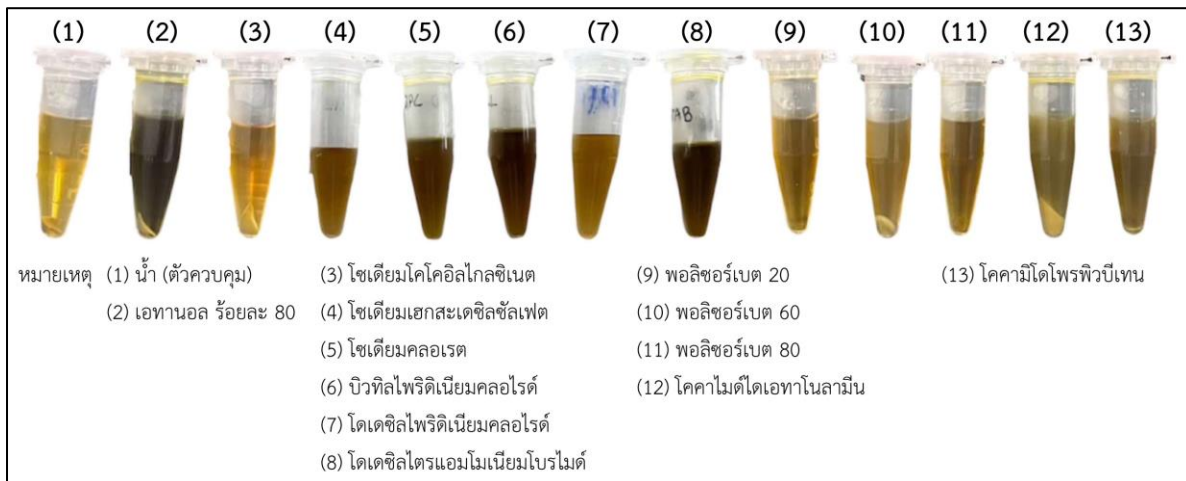
ตัวทำละลาย	สีสารสกัดที่ได้	เคอร์ซีตินที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมของใบมะรุม)		
		60 นาที	120 นาที	180 นาที
น้ำ (ตัวควบคุม)	สีเหลืองใส	24.04 \pm 2.97	22.99 \pm 8.04	29.95 \pm 6.37
เอทานอล ร้อยละ 80	สีเขียวเข้ม	16.54 \pm 0.67	18.58 \pm 2.33	20.16 \pm 3.76*
ประจุลบ				
โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต	สีน้ำตาลใส	28.91 \pm 4.44	39.95 \pm 2.34	91.51 \pm 5.80* **
โซเดียมเฮกซะเดซิลซัลเฟต	สีน้ำตาลอ่อน	NA	NA	4.41 \pm 0.46
โซเดียมคลอไรด์	สีน้ำตาลเข้ม	NA	NA	2.93 \pm 0.72
ประจุบวก				
บิวทิลไทรดีนิเอียมคลอไรด์	สีน้ำตาลเข้ม	NA	NA	4.06 \pm 0.35
โดเดซิลไทรดีนิเอียมคลอไรด์	สีน้ำตาลอ่อน	NA	NA	0.32 \pm 0.25
โดเดซิลไตรแอมโมเนียมโบรไมด์	สีน้ำตาลเข้ม	NA	NA	0.93 \pm 0.04
ไม่มีประจุ				
พอลิซอร์เบต 20	สีเหลืองเข้ม	28.48 \pm 2.75	30.89 \pm 2.82	67.43 \pm 9.23* **
พอลิซอร์เบต 60	สีเหลืองเข้ม	22.88 \pm 4.10	26.97 \pm 3.32	64.07 \pm 7.59* **
พอลิซอร์เบต 80	สีเหลืองเข้ม	24.53 \pm 3.30	28.29 \pm 0.92	72.43 \pm 12.21* **
โคคาไมด์ไดเอทาโนลามีน	สีเหลืองเข้ม	10.87 \pm 1.27	17.62 \pm 0.19	19.51 \pm 0.00
มีทั้งสองประจุ				
โคคามิโดโพรพิลปีเทน	สีเหลืองเข้ม	22.49 \pm 2.84	36.52 \pm 0.30	46.91 \pm 0.71* **

NA = วัดค่าไม่ได้

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

** ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้มากกว่าสารสกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเดียวกัน

ในการคัดเลือกระบบตัวทำละลายไมเซลล์ที่เหมาะสมที่สามารถสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้ม จากผลการทดลองในตารางที่ 2 (1) เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดในช่วง 60 ถึง 180 นาที พบว่า เวลาในการสกัดนานขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้มากขึ้น ดังนั้น ในการสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มด้วยตัวทำละลายไมเซลล์ ช่วงเวลาที่แนะนำสำหรับวิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงคือ 180 นาที ในการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า ระยะเวลาในการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญ เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิกเพิ่มขึ้น (Sanou et al., 2023) (2) ผลชนิดของสารลดแรงตึงผิวพบว่า สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ ชนิดไม่มีประจุ และชนิดที่มีทั้งสองประจุสามารถสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มได้ในปริมาณสูงกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก จากการศึกษานี้พบว่าระบบไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตสามารถสกัดเคอร์ซีตินได้ปริมาณสูงที่สุดที่เวลา 180 นาที สีสารสกัดที่ได้แสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สีของสารสกัดผงใบมะรุ้มในตัวทำละลายและสารลดแรงตึงผิวชนิดต่าง ๆ

แม้ว่าในการศึกษาก่อนหน้านี้แนะนำว่าพอลิซอร์เบต 80 หรือ Tween 80 เหมาะสำหรับใช้สกัดเคอร์ซีตินมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอนุพันธ์ของพอลิซอร์เบตอื่น ๆ คือ Tween 80 > Tween 20 > Tween 40 (Vigneshwari and Dash, 2023) แต่จากการศึกษาเพื่อคัดเลือกระบบตัวทำละลายไมเซลล์ที่เหมาะสมที่สามารถสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มได้ในปริมาณสูง ผู้วิจัยเลือกระบบไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตความเข้มข้นร้อยละ 2 สำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป เนื่องจากสามารถสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มได้ในปริมาณสูงที่สุด แม้ว่าระบบไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก แต่มีข้อมูลศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ว่าเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดกรดอะมิโน (Amino acid-based surfactant) ที่มีข้อมูลด้านความคงตัว (Good stability) มีความเป็นพิษต่ำ (Low toxicity) และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antimicrobial activity) (Pinheiro and Faustino, 2017)

การสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มด้วยตัวทำละลายไมเซลล์ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้ม และเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ระหว่างไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตและน้ำ (ตัวควบคุม) ตารางที่ 3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการสกัด 10 สภาวะ ตัวแปรต้นที่ต้องการศึกษาในการสกัด และตัวแปรตอบสนอง ได้แก่ ขนาดอนุภาค ประจุ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ้มด้วยโซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตเท่านั้น ค่าที่ได้จากการทดลองนี้ ถูกนำไปสร้างเป็นพื้นผิวตอบสนองเพื่อความเข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้น

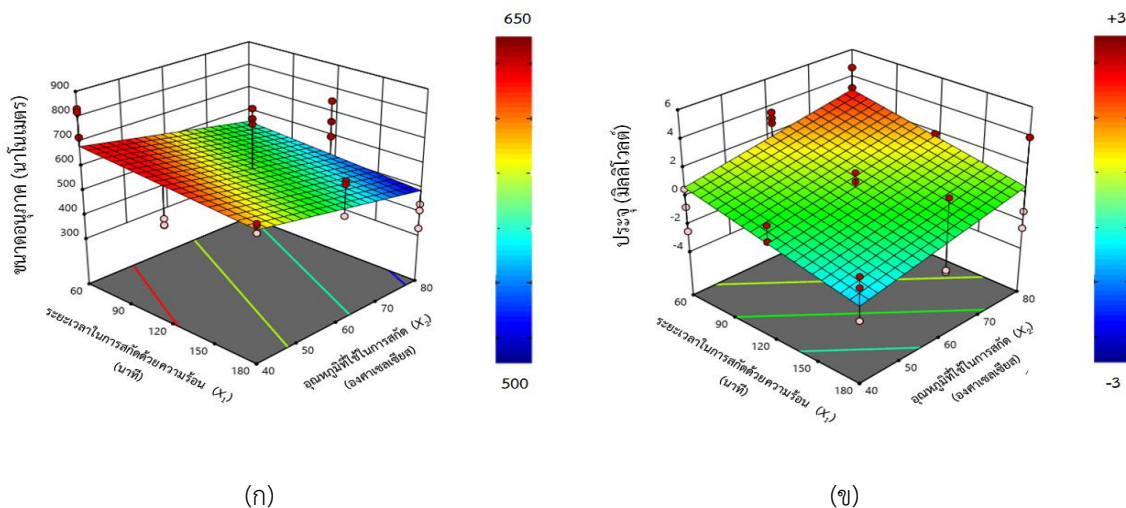
และตัวแปรตอบสนอง ส่วนน้ำเป็นตัวทำละลายทั่วไปจึงมีตัวแปรตอบสนอง 4 ตัวแปรเท่านั้นคือ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณ เคอร์ซีดินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองสามารถสร้างเป็นพื้นผิวตอบสนองได้เช่นกัน

จากภาพที่ 2 พื้นผิวตอบสนองของตัวแปรตอบสนองขนาดอนุภาคและประจุของไมเซลล์แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะในการสกัดและขนาดอนุภาค (ภาพที่ 2ก) และ สภาวะในการสกัดและประจุ (ภาพที่ 2ข) แถบสีแดงถึงน้ำเงิน ด้านข้างเป็นตัวแทนของจำนวนตัวเลขที่สัมพันธ์กับตัวแปรตอบสนองนั้น ๆ แถบสีแดงแสดงถึงค่ามาก แถบสีน้ำเงินแสดงค่าน้อย ดังนั้น พื้นผิวตอบสนองนี้แสดงถึงระบบไมเซลล์ที่ใช้ในการสกัดนี้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 500 ถึง 650 นาโนเมตร และมีประจุอยู่ในช่วง ± 3 มิลลิโวลต์ ข้อมูลที่เป็นประโยชน์จากพื้นผิวตอบสนองนี้คือ ระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อนเพิ่มมากขึ้น (X_1) และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น (X_2) มีผลให้อนุภาคของไมเซลล์มีขนาดลดลง ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดหรือกักเก็บเคอร์ซีดินในไมเซลล์ได้ โดยในการศึกษาก่อนหน้าอธิบายว่าไมเซลล์ที่มีอนุภาคขนาดใหญ่จะมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก (Śliwa and Śliwa, 2021) อาจเป็นไปได้ว่าบริเวณสีแดงของพื้นผิวตอบสนองขนาดอนุภาคเป็นแบบแผน (Pattern) เดียวกับพื้นผิวตอบสนองปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ รายละเอียดความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคของไมเซลล์และประสิทธิภาพในการสกัดเคอร์ซีดินจากผงใบมะรุมจะได้อธิบายโดยละเอียดในหัวข้อถัดไป ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับไมเซลล์ไฮเดียมโคโคอิลไกลซิเนต พบว่ามีขนาดอยู่ในช่วง 5 ถึง 15 นาโนเมตร (Pinheiro and Faustino, 2017) อย่างไรก็ตาม การกักเก็บสารสำคัญในระบบไมเซลล์อาจมีผลต่อขนาดอนุภาคและประจุของไมเซลล์ได้

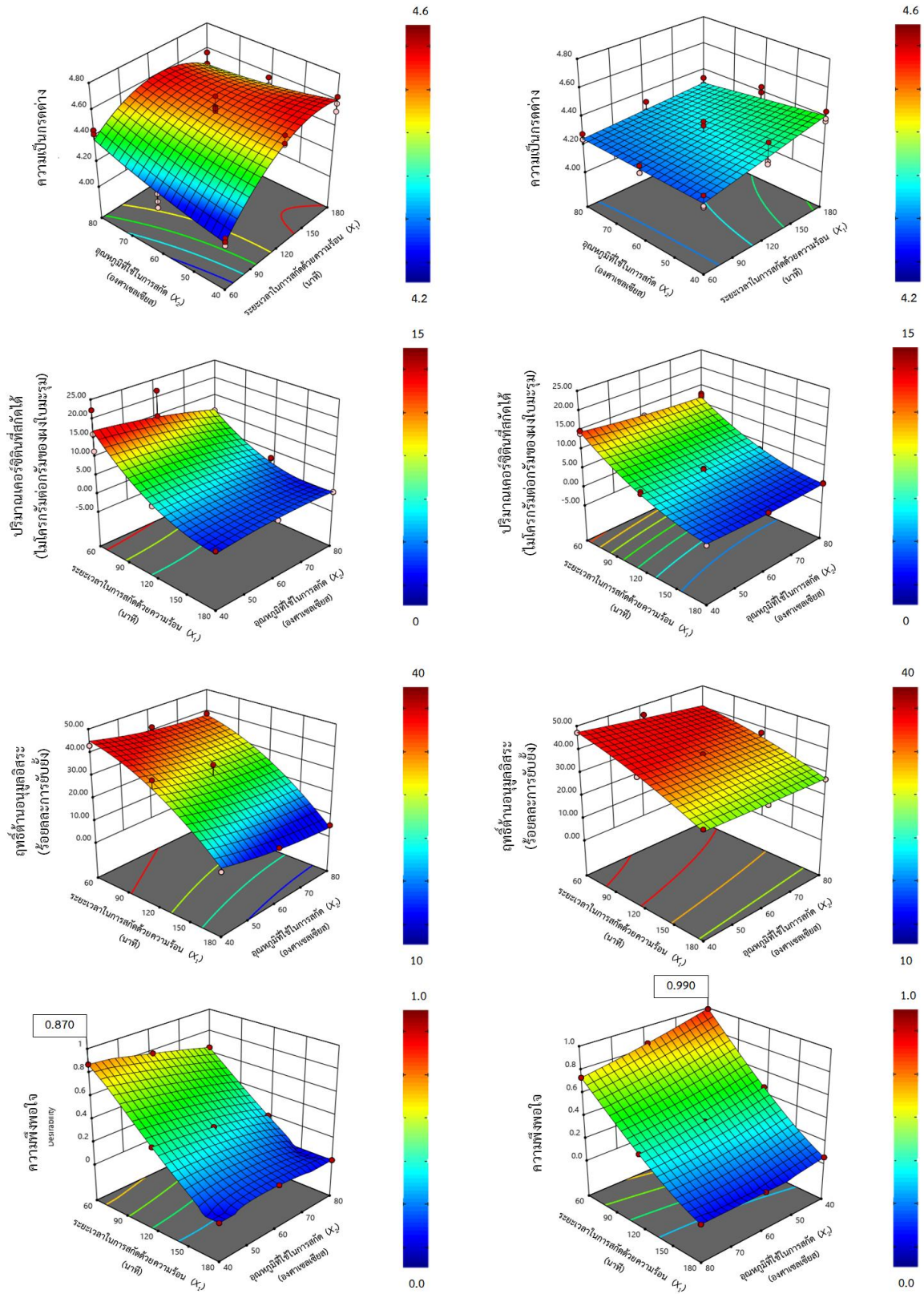
ตารางที่ 3 ตัวแปรต้นและตัวแปรตอบสนองในการสกัดเคอร์ซีดินจากผงใบมะรุมด้วยไฮเดียมโคโคอิลไกลซิเนต

สภาวะ	รหัส (code)		ตัวแปรต้นในการสกัด (causal factors)		ตัวแปรตอบสนอง (response variable)				
	X_1	X_2	ระยะเวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ประจุ (มิลลิโวลต์)	ความเป็นกรด	เคอร์ซีดิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละยับยั้ง)*
1	-1	-1	60	40	790.77±61.62	-0.88±1.54	4.12±0.03	16.66±5.37	29.81±1.11
2	-1	0	60	60	551.77±26.42	+3.19±0.39	4.15±0.06	16.07±5.27	30.45±3.13
3	-1	+1	60	80	475.83±13.71	+3.36±1.25	4.44±0.02	9.85±0.83	40.92±5.18
4	0	-1	120	40	507.53±14.89	-0.07±0.65	4.57±0.04	4.25±0.13	38.30±16.66
5	0	0	120	60	448.03±28.52	+0.28±0.29	4.61±0.05	3.46±0.30	36.27±14.64
6	0	+1	180	60	668.30±75.57	+1.65±0.30	4.52±0.02	3.05±0.09	42.68±11.33
7	+1	-1	180	40	632.97±19.22	-1.12±1.56	4.58±0.06	0.62±0.06	36.86±7.61
8	+1	0	180	60	615.70±76.19	-0.95±2.93	4.52±0.05	0.48±0.09	19.55±16.70
9	+1	+1	180	80	390.40±53.66	+0.07±3.42	4.50±0.06	0.44±0.05	21.69±10.98
10	0	0	60	60	794.80±31.37	+0.55±1.35	4.55±0.03	3.49±0.31	32.32±12.83

*ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอร์ซีดิน 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ร้อยละ 85.124 ± 0.32)



ภาพที่ 2 พื้นผิวตอบสนองของไมเซลล์ไฮเดียมโคโคอิลไกลซิเนต (ก) ขนาดอนุภาค และ (ข) ประจุของไมเซลล์



(ก)

(ข)

ภาพที่ 3 พื้นผิวตอบสนองของตัวแปรตอบสนองเปรียบเทียบระหว่าง (ก) ไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต และ (ข) น้ำ

พื้นผิวตอบสนองของตัวแปรตอบสนองอื่น ๆ เช่น ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความพึงพอใจ แสดงในภาพที่ 3 เปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตและน้ำ (ตัวควบคุม) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ (1) พื้นผิวตอบสนองของความเป็นกรดต่างพบว่า สารสกัดไมเซลล์มีรูปแบบ (Pattern) ของพื้นผิวตอบสนองแตกต่างจากสารสกัดน้ำ กล่าวคือสารสกัดไมเซลล์มีความเป็นกรดต่างสูงกว่าสารสกัดน้ำเล็กน้อย ดังจะเห็นได้จากแถบสีแดงของพื้นผิวตอบสนองของสารสกัดไมเซลล์มีมากกว่าสารสกัดน้ำ (2) พื้นผิวตอบสนองของปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้พบว่า สารสกัดไมเซลล์และสารสกัดน้ำมีรูปแบบของพื้นผิวตอบสนองสอดคล้องกัน

อย่างไรก็ตาม สารสกัดไมเซลล์มีแนวโน้มของปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้มากกว่าสารสกัดน้ำ (3) พื้นผิวตอบสนองของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดไมเซลล์และสารสกัดน้ำมีรูปแบบของพื้นผิวตอบสนองสอดคล้องกัน และสอดคล้องกับพื้นผิวตอบสนองของปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ และ (4) พื้นผิวตอบสนองของความพึงพอใจพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่สกัดเคอร์ซีดินได้ปริมาณสูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงของทั้งสารสกัดไมเซลล์และสารสกัดน้ำเป็นสภาวะเดียวกัน คือระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อน (X_1) 60 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (X_2) 40 องศาเซลเซียส โดยให้ค่าความพึงพอใจสำหรับสารสกัดไมเซลล์และสารสกัดน้ำเท่ากับ 0.87 และ 0.99 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาพื้นผิวตอบสนองทั้ง 4 ตัวแปรพร้อมกันพบว่า สภาวะ $X_1 = 60$ นาที และ $X_2 = 40$ องศาเซลเซียส สารสกัดไมเซลล์และสารสกัดน้ำที่สกัดเคอร์ซีดินได้ในปริมาณสูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า มีความเป็นกรดต่างต่ำกว่าสภาวะการสกัดอื่น ๆ แม้ว่าค่าการละลายของเคอร์ซีดินจะขึ้นอยู่กับความเป็นกรดต่าง (pH dependent) ค่าการละลายของเคอร์ซีดินเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้นจาก 4.0 เป็น 7.2 (Rich et al., 2017) อย่างไรก็ตาม อาจเป็นไปได้ว่าเคอร์ซีดินมีความคงตัวในสภาวะกรดมากกว่าด่าง แม้ว่าความสามารถในการละลายของเคอร์ซีดินจะเพิ่มสูงขึ้นในสภาวะต่าง (Budipratiwi et al., 2021)

ตารางที่ 4 แสดงข้อกำหนดของแบบจำลองนัยสำคัญ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (p value) ของตัวแปรตอบสนองทั้งหมดของสารสกัดไมเซลล์พบว่า โมเดล (Model) ตัวแปรตอบสนองของประจุ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ตัวแปรตอบสนองของความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) อยู่ในช่วง 0.8 ถึง 0.9 ซึ่งบ่งชี้ว่า ตัวแปรต้นระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อน (X_1) และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (X_2) มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อตัวแปรตอบสนองของความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4 ข้อกำหนดของแบบจำลองนัยสำคัญ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (p value) ของตัวแปรตอบสนอง

Polynomial term	ขนาดอนุภาค		ประจุ		ความเป็นกรดต่าง		ปริมาณเคอร์ซีดินที่สกัดได้		ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	Coefficient	p values	Coefficient	p values	Coefficient	p values	Coefficient	p values	Coefficient	p values
Model		0.0816		0.0006*		<0.0001*		<0.0001*		<0.0001*
Intercept	587.6100	-	0.6092	-	4.5505	-	3.9221	-	29.0057	-
X_1 : heating time	-29.8833	0.3433	-1.2789	0.0030*	0.1448	<0.0001*	-6.8397	<0.0001*	-16.4782	<0.0001*
X_2 : temperature	-66.1222	0.0417*	1.1910	0.0053	0.0328	0.0463*	-1.3642	0.0214*	-3.8839	<0.0001*
X_1X_2	-	-	-	-	-0.9833	<0.0001*	1.6569	0.0224*	-0.4874	0.6339
X_1^2	-	-	-	-	-0.1809	<0.0001*	3.9121	0.0002*	-5.3334	0.0005*
X_2^2	-	-	-	-	0.0240	0.3461	-0.7171	0.4278	1.4440	0.2834
R^2	0.1694	-	0.4230	-	0.8782	-	0.8844	-	0.9468	-
Adjusted R^2	0.1079	-	0.3802	-	0.8528	-	0.8603	-	0.9378	-
Predicted R^2	0.0174	-	0.2518	-	0.8105	-	0.8089	-	0.9296	-
Adequate precision	4.6292	-	9.3726	-	16.6409	-	16.1552	-	26.1563	-
Lack of fit	-	0.0104*	-	0.4637	-	0.0002*	-	0.3823	-	0.0609

* นัยสำคัญทางสถิติ

การทดสอบความถูกต้องและความแม่นยำของสภาวะที่เหมาะสมที่สุด จากการทดลองสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่ด้วยไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตภายใต้สภาวะที่ได้จากการทำนาย ($X_1 = 60$ นาที, $X_2 = 40$ องศาเซลเซียส) ด้วยการทดลองจริง (Experimental condition) พบว่า ค่าจริง (Actual value) ร้อยละอคติ (%bias) และช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 5 พบว่า ค่าจริงที่ได้จากการทดลองของความเป็นกรดต่าง ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่าอคติที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 10 และอยู่ในช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงให้เห็นว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการทำนายด้วยโปรแกรม Design Expert[®] มีความแม่นยำ (Accuracy) และน่าเชื่อถือได้ (Reliability)

ตารางที่ 5 ค่าทำนาย ค่าจริง ร้อยละอคติ และช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของสภาวะการสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่ด้วยโซเดียมโคโคอิลไกลซิเนต

ตัวแปรตอบสนอง (response variables)	ค่าทำนาย	ค่าจริง	ร้อยละอคติ	ช่วงเชื่อมั่นค่าล่าง	ช่วงเชื่อมั่นค่าบน
ขนาด (นาโนเมตร)	683.62	826.15±9.12	17.25	581.33	785.90
ประจุ (มิลลิโวลต์)	0.70	0.96±0.21	27.08	-0.60	2.00
ความเป็นกรด	4.11	4.12±0.01	0.24	4.04	4.19
ปริมาณเคอร์ซีตินที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัม)	16.98	16.66±5.37	-1.92	14.47	19.48
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละยับยั้ง)	44.99	45.63±7.21	1.40	41.29	48.70

*ร้อยละอคติ = [(ค่าจริง - ค่าทำนาย)/ค่าจริง] x 100

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผู้วิจัยและคณะประสบความสำเร็จในการพัฒนาวิธีสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่โดยสารละลายไมเซลล์โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง การออกแบบทดลอง 2 ปัจจัย 3 ระดับ ช่วยลดระยะเวลาในการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่ให้ได้สารสำคัญในปริมาณสูง จากการศึกษาพบว่า โซเดียมโคโคอิลไกลซิเนตเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดกรดอะมิโนที่มีประจุลบ สามารถเป็นตัวทำละลายในการสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่ได้ สภาวะที่เหมาะสมคือ ระยะเวลาในการสกัดด้วยความร้อน 60 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง 180 นาที ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้คือ สารสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถเป็นสำคัญในเภสัชภัณฑ์และเครื่องสำอางได้ และสภาวะในการสกัดนี้อาจเป็นประโยชน์ในการสกัดเคอร์ซีตินจากสมุนไพรไทยชนิดอื่นได้ ในการศึกษาต่อไปผู้วิจัยจะได้พัฒนาเภสัชภัณฑ์ด้วยสารสกัดเคอร์ซีตินจากผงใบมะรุ่ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษาวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สป.อว.) ผ่านทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ปีงบประมาณ 2564 รหัสโครงการ RGNS 64-237 และทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุทยานวิทยาศาสตร์ และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Ang, L. F., Yam, M. F., Fung, Y. 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*, 17(4), 36-49. Doi: 10.3831/KPI.2014.17.035.

- Budipratiwi, W., Solihatus, S., Siswandono. and Dwi, S. (2021). The effect of pH and cocystal quercetin-isonicotinamide on quercetin solubility and its thermodynamic. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(9), 4657-4661.
- Casanova, A. G., Prieto, M., Colino, Cl., Gutiérrez-Millán, C., Ruszkowska-Ciastek, B., de Paz, E., Martín, Á., Morales, A. I. and López-Hernández, F. J. (2021). A micellar formulation of quercetin prevents cisplatin nephrotoxicity. *International Journal of Molecular Science*, 22(2), 729.
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K. and Kumar, D. S. (2016). Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5(2), 49-56.
- Hadgiivanova, R., Diamant, H. and Andelman, D. (2011). Kinetics of surfactant micellization: a free energy approach. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(22), 7268-7280.
- Hosseinzadeh, R., Khorsandi, K. and Hemmaty, S. (2013). Study of the effect of surfactants on extraction and determination of polyphenolic compounds and antioxidant capacity of fruits extracts. *PLOS ONE*, 8(3), e57353.
- Pinheiro, L. and Faustino, C. (2017). Amino acid-based surfactants for biomedical applications. In Najjar, R. (ed.), *Application and Characterization of Surfactants*. IntechOpen.
- Rich, G. T., Buchweitz, M., Winterbone, M. S., Kroon, P. A. and Wilde, P. J. (2017). *Towards an understanding of the low bioavailability of quercetin: a study of its interaction with intestinal lipids*. *Nutrients*, 9(2), 1-15. <https://doi.org/10.3390/nu9020111>.
- Rockwood, J., Anderson, B. and Casamatta, D. (2013). Potential uses of moringa oleifera and an examination of antibiotic efficacy conferred by M. oleifera seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to underserved indigenous populations. *International Journal of Phytotherapy Research*, 3(2), 61-71.
- Sanou, A., Konaté, K., Kabakdé, K., Dakuyo, R., Bazié, D., Hemayoro, S. and Dicko, M. H. (2023). Modelling and optimisation of ultrasound-assisted extraction of roselle phenolic compounds using the surface response method. *Scientific Reports*, 13(1), 358.
- Bhagawan, W. S., Atmaja, R. R. D. and Atiqah, S. N. (2017). Optimization and quercetin release test of moringa leaf extract (moringa oleifera) in gel-microemulsion preparation. *Journal of Islamic Pharmacy*, 2(2), 34-42. <https://doi.org/10.18860/jip.v2i2.4508>.
- Śliwa, P. and Śliwa, K. (2021). Nanomicellar extraction of polyphenols-methodology and applications review. *International Journal of Molecular Science*, 22(21), 1-25.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M. and Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in moringa oleifera leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/antiox6040091>.
- Vigneshwari, R. and Dash, S. (2023). Comparative interaction of flavonoid quercetin with different tween surfactants. *ACS Food Science & Technology*, 3(5), 969-980
- Zubair, M. (2020). Antimicrobial and anti-biofilm activities of citrus sinensis and moringa oleifera against the pathogenic pseudomonas aeruginosa and staphylococcus aureus. *Cureus*, 12(12). Doi: 10.7759/cureus.12337.