

1st INSCIC
8th
Yala Rajabhat University
21-22 Feb 2023



PROCEEDING

รายงานสืบเนื่องจาก

การประชุมวิชาการระดับชาติ
ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ
การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1

The 8th National Conference on Science and Technology 2023 (NSCIC2023) and
The 1st International Conference on Science and Technology 2023 (INSCIC2023)

วันที่ 21-22 กุมภาพันธ์ 2566
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

รายงานสืบเนื่องจากงานประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ
งานประชุมวิชาการระดับนานาชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1
The 8th National Conference on Science and Technology 2023: NSCIC2023 and
the 1st International Conference on Science and Technology 2023: INSCIC2023

จัดพิมพ์โดย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
พิมพ์ครั้งที่ 1
ปีที่พิมพ์ 2566

เลขมาตรฐานสากลประจำหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ 978-616-8297-28-5
ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ
National Library of Thailand Cataloging in Publication data

ISBN (e-book) 978-616-8297-28-5

สงวนลิขสิทธิ์โดย

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
133 ถนนเทศบาล 3 ตำบลสะเตง อำเภอเมืองยะลา
จังหวัดยะลา 95000 โทรศัพท์ 073 299 699

จัดพิมพ์แบบ อิเล็กทรอนิกส์

**ผลของสารสกัดและระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชัน
ของสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงด้วยโซเดียมอัลจิเนต**

**Influence of Extracts and Solvent Systems on the Efficiency of Encapsulation of
Propolis Extract from Stingless Bees with Sodium alginate**

อิมรอน มีชัย^{1*} และสุไอนี ชะหมี¹

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

¹Program in Chemistry, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala 95000, Thailand

*Corresponding author, e-mail: imron.me@yru.ac.th

บทคัดย่อ

พรอพอลิสถูกค้นพบได้จากธรรมชาติซึ่งถูกสร้างโดยชันโรง สารสกัดจากพรอพอลิสโดยส่วนใหญ่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายแต่มีความสามารถละลายน้ำได้น้อย จึงอาจเป็นปัญหาหนึ่งที่จะนำมาใช้ประโยชน์ด้านอุตสาหกรรมอาหารและยา งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดและระบบของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชันของสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงด้วยโซเดียมอัลจิเนต ซึ่งการสกัดสารสกัดพรอพอลิสมีทั้งหมด 4 รูปแบบ (A, B, C และ D) โดยใช้เทคนิคคลื่นเสียงอัลตราโซนิค (ultrasonic sound) ในการสกัด ส่วนระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการเอนแคปซูลชันคือน้ำต่อเอทานอลที่อัตราส่วน 1:9 4:6 3:7 และ 4:6 สำหรับสารสกัดรูปแบบ A, B, C และ D ตามลำดับ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชันกับระบบตัวทำละลายเอทานอล ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ ที่ทำการเอนแคปซูลชันในแต่ละอัตราส่วนน้ำต่อเอทานอลมีประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชันได้ดีกว่าสารสกัดพรอพอลิสในระบบตัวทำละลายเอทานอล นอกจากนี้ สารสกัดรูปแบบ D ให้ค่าประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชันดีกว่าสารสกัดรูปแบบอื่น

คำสำคัญ : พรอพอลิส เอนแคปซูลชัน โซเดียมอัลจิเนต ชันโรง

Abstract

Propolis is found in nature as it was produced by stingless bees. Most propolis extracts are extracted with organic solvents, which have a wide range of biological activities but has slightly soluble in water. Therefore, it may be a problem to make use of in the food and pharmaceutical industry. The aim of this research was to study the influence of extracts and solvent systems on the efficacy of encapsulation of propolis extract from stingless bees with sodium alginate. There are four extraction types of propolis extract (A, B, C, and D) using an ultrasonic sound technique for extraction. The solvent system used for encapsulation was water to ethanol at ratios of 1:9, 4:6, 3:7, and 4:6 for A, B, C, and D extracts, respectively. There were compared the efficiency of encapsulation with the ethanol solvent system. The result displayed that all propolis extract encapsulated in each water/ethanol ratio had better encapsulation efficiency than the ethanol solvent system. Moreover, extract type D gave a better encapsulation efficiency than other extracts.

Keywords: Propolis, Encapsulated, Sodium alginate, Stingless bees

บทนำ

พรอพอลิสเป็นยางชันเหนียวที่มีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลเข้มขึ้นอยู่กับการเก็บเกี่ยวจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แตกต่างกันหรือพืชคนละชนิดกันของชันโรง โดยยางของเปลือกไม้ที่ชันโรงเก็บรวบรวมมา อาทิเช่น เรซินจากเปลือกไม้ กลิบอ่อนใบไม้ โดยเฉพาะยางที่เคลือบอยู่บริเวณตาใบ หรือยางที่ไหลออกมาจากส่วนต่าง ๆ ของพืช นำมาผสมกับเอนไซม์ในน้ำลายของผึ้งจนเกิดเก็บพรอพอลิส ชันโรงได้นำมาซ่อมแซมรังที่แตกร้าว อุดรอยรั่วของรัง ตลอดจนรักษาความสะอาดและฆ่าเชื้อป้องกันการระบาดของเชื้อโรคภายในรัง และยังป้องกันศัตรู (Phoonan and Noppakun, 2021; Athikomkulchai, 2008) องค์ประกอบ

ทางเคมีสำคัญอย่างหนึ่งของพอลิฟีนอลคือสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ ด้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านเชื้อรา และด้านไวรัส (Phoonan and Noppakun, 2021; Kumar and Pandy, 2013) และยังพบสารกลุ่มอื่น เช่น กรดฟีนอลิก ในอดีตพอลิฟีนอลถูกนำมาใช้เป็นยารักษาแผล รักษาการติดเชื้ต่างๆ ในปัจจุบันมีการนำพอลิฟีนอลมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เครื่องสำอาง สบู่และยาสีฟัน (Meechai et al., 2021; Meechai et al., 2022; Sawatthum, 2013) เนื่องจากพอลิฟีนอลมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย (Athikomkulchai, 2008) จึงเป็นแหล่งของสารสำคัญอย่างหนึ่งจากธรรมชาติที่น่าสนใจในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือยาสมุนไพร

ปัจจุบันการเตรียมสารให้อยู่ในรูปแคปซูลเป็นที่ยอมรับเพื่อใช้เป็นตัวนำส่งและกักเก็บสารที่ต้องการ (Keskin et al., 2019) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) ถูกนำมาใช้ในการเอนแคปซูลและการทำผงของสารสกัด และยังพบสารที่ได้จากธรรมชาติ (Aljohani et al., 2017) โซเดียมอัลจิเนต เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ โดยสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล มีสมบัติเป็นประจุลบ ประกอบด้วย 1,4-linked- β -D-mannuronic (M) และ α -L-guluronic acid (G) ที่ต่อกันแบบ Homopolymeric blocks และ Heteropolymeric blocks (MG-blocks) โดยหมู่ G-blocks สามารถจับกับประจุบวกของสารชนิดอื่น โดยการแทนที่ไฮโดรเจนในหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) แล้วเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายที่เรียกว่า Egg box model และอัตราส่วน M/G จะส่งผลต่อความหนืด ความสามารถในการทำให้เกิดเจลและความแข็งแรงของเจล (Kamprawet and Vatthanakul, 2018) ลักษณะทั่วไปของโซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) เป็นผงสีขาวถึงสีน้ำตาลเหลือง ไม่มีกลิ่นและรสชาติ สามารถสร้างความข้นและหนืดให้แก่ผลิตภัณฑ์แล้วยังสามารถละลายในน้ำร้อนหรือน้ำเย็นได้ดี และไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสียสภาพเมื่อถูกความร้อน (Aljohani et al., 2017) ในปี ค.ศ. 2019 Keskin et al. ได้ศึกษาการเตรียมเอนแคปซูลของสารสกัดพอลิฟีนอลโดยเตรียมในรูป Alginate beads ด้วยวิธี Ionic gelation ซึ่งสารสกัดพอลิฟีนอลที่ใช้ในการเตรียมถูกสกัดด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล และเตรียมเอนแคปซูลขึ้นในระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วน 70:30 พบว่าประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลขึ้นมากกว่าร้อยละ 99 โดยปริมาณสารละลายของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ใช้ระบบการเตรียมอยู่ที่ 2 มิลลิลิตร (Keskin et al., 2019)

อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการศึกษาประสิทธิภาพเพิ่มเติมจากงานวิจัยที่ผ่านมาถึงผลจากการใช้ตัวทำละลายอื่นที่อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลขึ้นสารสกัดพอลิฟีนอลเพิ่มขึ้น โดยการกำจัดสารกลุ่มที่เป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane) และใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% หรือ 70% ในการสกัดซ้ำแล้วไปเอนแคปซูลขึ้นและทำการเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ไม่ได้ทำการกำจัดสารกลุ่มที่ไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการเอนแคปซูลขึ้นอาจเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งอาจช่วยให้ประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลขึ้นสารสกัดได้ดีขึ้นเนื่องจากโซเดียมอัลจิเนตเป็นกลุ่มสารที่ละลายน้ำได้ดีส่วนสารสกัดพอลิฟีนอลประกอบด้วยกลุ่มสารที่ละลายน้ำได้บางส่วนหรือละลายได้น้อย ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้ทำวิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำสารสกัดพอลิฟีนอลจากชั้นโรงมาศึกษาผลของสารสกัดและระบบของตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลขึ้นของสารสกัดพอลิฟีนอล พร้อมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันและผลของระบบตัวทำละลายในการเตรียมเอนแคปซูลของสารสกัดพอลิฟีนอลต่อประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง และการสกัดตัวอย่าง

งานวิจัยครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างพอลิฟีนอลเมื่อเดือนมกราคม 2565 เก็บจากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มผึ้งชั้นโรงสายบุรี 69 ม.5 ต.ปะเสย ยวอ อ.สายบุรี จ.ปัตตานี โดยตัวอย่างที่เก็บจะถูกล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และนำมาสกัดด้วย 4 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบ A ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (99.8% absolute ethanol) รูปแบบ B ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ก่อน แล้วสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (99.8%

absolute ethanol) รูปแบบ C ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล (70% ethanol) และรูปแบบ D ทำการสกัดตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ก่อน แล้วสกัดต่อด้วยตัวทำละลาย 70% เอทานอล (70% ethanol) โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิค (ultrasonic sound) แล้วนำสารละลายสารสกัดที่ได้มารองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 4500 รอบ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปประเหยแห้งด้วยเครื่อง Water bath จะได้สารสกัดพรอพอลิสรูปแบบที่ A B C และ D นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาร้อยละผลที่ได้และเก็บไว้สำหรับทดสอบต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's โดยใช้เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ TECAN รุ่น INFINITE M NANO ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงและใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐาน ตามวิธี ของ Meechai et al. (2016) โดยเตรียมสารละลายสารสกัดพรอพอลิสด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดที่เจือจาง 12.5 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate เติมน้ำปราศจากไอออน 50 ไมโครลิตร และเติม 50% (v/v) Folin-ciocalteu 12.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เติม 7% (w/v) Na₂CO₃ 125 ไมโครลิตร เติมน้ำปราศจากไอออนเพิ่ม 100 ไมโครลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟเส้นโค้งของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) (ความสัมพันธ์เชิงเส้น $r^2 = 0.997$) ข้อมูลแสดงเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิก (GAE) ต่อสารสกัด 1 มิลลิลิตร (mg GAE/mL extract)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยใช้เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ TECAN รุ่น INFINITE M NANO ในการวัดค่าการดูดกลืนแสง และใช้วิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐาน ตามวิธี Meechai et al. (2016) โดยเตรียมสารละลายสารสกัดพรอพอลิสด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วลงใน 96-well plate ปริมาณ 100 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย DPPH-radical ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และรายงานผลในรูปแบบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin CE/mL extract)

การทดสอบความสามารถในการละลายของสารสกัดพรอพอลิส

ในการทดสอบความสามารถในการละลายเพื่อใช้เป็นระบบตัวทำละลายในการเอนแคปซูลชัน โดยนำกระดาษกรองไปบ่มที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บไว้ในเดซิเคเตอร์รอให้เย็นนำกระดาษไปชั่งจนน้ำหนักคงที่ แล้วนำสารสกัดพรอพอลิสที่ได้จากการสกัดทดสอบความสามารถในการในตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลตั้งแต่ 9:1 ถึง 1:9 แล้วนำตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรองที่ทำการชั่งเรียบร้อยแล้วและอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บไว้ในเดซิเคเตอร์รอให้เย็นนำกระดาษไปชั่งจนน้ำหนักคงที่ เลือกระบบตัวทำละลายที่สามารถละลายสารสกัดพรอพอลิสมากกว่าร้อยละ 50 ขึ้นไปใช้ในการเอนแคปซูลชัน สำหรับโซเดียมอัลจิเนตใช้ระบบตัวทำละลายตามวิธีของ Keskin et al. (2019)

การเตรียมเอนแคปซูลของสารสกัดพรอพอลิส

การเตรียมเอนแคปซูลชันของสารสกัดพรอพอลิสด้วยโซเดียมอัลจิเนตจะถูกเตรียมโดยวิธีการไอออนิกเจลชัน (Ionic gelation) ตามขั้นตอนของ Keskin et al. (2019) โดยเตรียมโซเดียมอัลจิเนต 1% (w/v) นำไปละลายในอัตราส่วนน้ำต่อเอทานอล 7:3 ตูมา 18 มิลลิลิตร แล้วเติมปริมาณ 2 มิลลิลิตร ของสารละลายสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในระบบตัวทำละลายที่ได้จากการทดสอบความสามารถในการละลาย พร้อมผสมให้กระจายตัวด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิค (ultrasonic sound) เป็นเวลา 10 นาที (โดยเตรียมสารละลายดังกล่าวที่ปราศจากการเติมสารสกัดพรอพอลิสควบคู่กัน) ค่อย ๆ หยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เมื่อปรากฏเม็ดบีดเกิดขึ้นให้กวนต่อไปอีก ประมาณ 15 นาที อย่างระมัดระวัง แล้วทำการกรอง โดยสารละลายที่กรองได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทำตัวอย่างเดิมอีกครั้งแต่ปราศจากการเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อเปรียบเทียบในการหาประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลชัน

การทดสอบความสามารถในเอนแคปซูลชัน

ปิเปตสารละลายที่กรองได้จากการทำเอนแคปซูลชัน 12.5 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate เติมน้ำปราศจากไอออน 50 ไมโครลิตร และเติม 50% (v/v) Folin-ciocalteu 12.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เติม 7% (w/v) Na₂CO₃ 125 ไมโครลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน เพิ่ม 100 ไมโครลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศา

เซลเซียส เวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร พร้อมคำนวณหาร้อยละประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน ดังสมการ

$$\% \text{Encapsulate Efficiency} = 100 - ((A_{\text{capsulate}} \times 100) / A_{\text{sample}})$$

เมื่อ $A_{\text{capsulate}}$ คือ ปริมาณฟีนอลิกของสารละลายที่กรองได้จากการทำงานเอนแคปซูเลชัน

A_{sample} คือ ปริมาณฟีนอลิกของสารละลายที่กรองได้โดยปราศจากการเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

การศึกษาทางสถิติ

ในแต่ละการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ และรายงานข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($P < 0.05$)

ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ทำการสกัดพอลิฟีนอลจากชั้นโรงสายพันธุ์ *Geniotrigono throcica* โดยทำการสกัด พอลิฟีนอลทั้งหมด 4 รูปแบบ ซึ่งได้ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด และได้ศึกษาผลของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันและระบบของตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมเอนแคปซูเลชันต่อประสิทธิภาพในการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดพอลิฟีนอล

ผลของสารสกัดพอลิฟีนอลต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิฟีนอลต่อตัวทำละลายทั้ง 4 รูปแบบ พบว่า สารสกัดพอลิฟีนอลที่สกัดด้วยรูปแบบ A และ B ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่สารสกัดพอลิฟีนอลที่สกัดด้วยรูปแบบ B มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับสารสกัด C และ D ส่วนสารสกัดพอลิฟีนอลที่สกัดด้วยรูปแบบ A, C และ D ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิฟีนอลทั้ง 4 รูปแบบ

รูปแบบสารสกัดพอลิฟีนอล	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)
A	582.76±39.77 ^{a, b, c}
B	641.03±40.23 ^a
C	557.47±24.15 ^{b, d}
D	572.47±26.77 ^{c, d}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน (a-d) แสดงถึงค่าที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัด ทั้ง 4 รูปแบบ พบว่าสารสกัดพอลิฟีนอลที่สกัดด้วยตัวทำละลาย B ให้สารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 25.21 ± 0.40 มิลลิกรัมของวิตามินซีเทียบเท่ากับสารสกัด 1 กรัม รองลงมาคือรูปแบบ A, D และ C ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซีของสารสกัดพอลิฟีนอลทั้ง 4 รูปแบบ

รูปแบบสารสกัดพอลิฟีนอล	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (mg Vitamin CE/g extract)
A	19.65± 0.56 ^a
B	25.21± 0.40 ^b
C	15.27± 0.45 ^c

D	18.56± 0.29 ^d
---	--------------------------

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน (a-d) แสดงถึงค่าที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของสารสกัดพรอพอลิสและระบบตัวทำละลายต่อการเอนแคปซูเลชัน

ผลการทดสอบการละลายของสารสกัดพรอพอลิสโดยละลายในตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วน 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยมีเกณฑ์ในการเลือกตัวทำละลายของสารสกัดพรอพอลิสที่จะนำไปเอนแคปซูเลทคือในอัตราส่วนจะต้องมีองค์ประกอบน้ำมากที่สุดและต้องละลายได้มากกว่า 50% เช่นเดียวกับโซเดียมอัลจิเนตต้องมีเอทานอลเป็นองค์ประกอบเพื่อที่จะสามารถละลายสารสกัดพรอพอลิสได้ (Keskin et al., 2019) ดังนั้นอัตราส่วนตัวทำละลายของโซเดียมอัลจิเนตคือ 3:7 และสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ คือ A, B, C และ D เท่ากับ 1:9 4:6 3:7 และ 4:6 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลทดสอบการละลายสารสกัดพรอพอลิสในตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอล

สารสกัดพรอพอลิส	น้ำ : เอทานอล	ร้อยละของการละลาย
A	1 : 9	80%
B	4 : 6	70%
C	3 : 7	60%
D	4 : 6	70%

ผลของการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ พบว่าสารสกัดพรอพอลิสรูปแบบ D ที่ใช้ระบบตัวทำละลายในเอทานอลในการเอนแคปซูเลท มีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลทได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ ทั้งในระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลและที่ในระบบตัวทำละลายเอทานอล ให้ค่าอยู่ที่ร้อยละ 41.51±1.09 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดพรอพอลิสรูปแบบ D ที่ใช้ในระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลมีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลทสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดพรอพอลิสรูปแบบอื่นในระบบตัวทำละลายเหมือนกัน ซึ่งให้ค่าอยู่ที่ 34.11±3.38 ดังแสดงตารางที่ 4 จากผลการเปรียบเทียบระบบตัวทำละลายของพรอพอลิสที่ใช้ในการเอนแคปซูเลท พบว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลทที่ค่อนข้างดีกว่าระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอล โดยเม็ดบีดที่เกิดขึ้นจากการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบมีลักษณะค่อนข้างกลมและออกสีเหลืองอ่อน ดังภาพที่ 1

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพในการเอนแคปซูเลชันของสารสกัดพรอพอลิส

รูปแบบสารสกัดพรอพอลิส	ร้อยละประสิทธิภาพในการเอนแคปซูเลชัน
A*	25.61±2.96 ^{a, b, c}
B*	22.72±1.27 ^{b, e}
C*	21.86±5.75 ^{c, e, f, g}
D*	34.11±3.38 ^{h, i, j}
A**	39.16 ± 0.13 ^h
B**	30.40 ± 0.17 ^{f, i, k}
C**	31.60±4.81 ^{d, g, j, k}
D**	41.51±1.09 ^l

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์ (a-h) แสดงถึงค่าที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; * ในระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอล; ** ในระบบตัวทำละลายเอทานอล



ภาพที่ 1 ลักษณะเม็ดปิดในการเอนแคปซูลของสารสกัดพรอพอลิส

อภิปรายผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ รูปแบบ A และ B ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง อาจเกี่ยวข้องกับความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากการสกัดสารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ A และ B ได้ใช้ตัวทำละลายเอทานอลในการสกัด ถึงแม้ในการสกัดรูปแบบ B จะเริ่มจากการใช้ตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ในการสกัดก่อนเพื่อจำกัดสารกลุ่มที่มีขี้ขี้ตามด้วยการใช้ตัวทำละลายเอทานอลสกัดอีกครั้ง สารประกอบฟีนอลิกจึงถูกสกัดออกมาในปริมาณที่สูงแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับรูปแบบ A ในทางเดียวกันการในรูปแบบ C และ D มีน้ำเป็นส่วนผสมในตัวทำละลายเข้าไปเกี่ยวข้องในการสกัด สารประกอบฟีนอลิกบางกลุ่มมีความสามารถละลายน้ำได้น้อยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกสกัดออกมาจึงได้น้อยกว่าการสกัดในรูปแบบ B

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ พบว่าสารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ B ให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซีสูงกว่าสารสกัดในรูปแบบอื่นอยู่ที่ 25.21 ± 0.40 มิลลิกรัม วิตามินซีเทียบเท่าต่อกรัมสารสกัดพรอพอลิส อาจเป็นผลเนื่องจากสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดในรูปแบบอื่น และจากการหาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Pearson Correlation) ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้ง 4 รูปแบบพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกและเข้าใกล้ 1.000 ($r=0.982$) ซึ่งหมายความว่าปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้น

ผลการเอนแคปซูลของสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 4 รูปแบบ พบว่าการใช้ระบบตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนผสมในระบบเป็นผลให้ประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลเล็กลงเมื่อเทียบกับสารสกัดรูปแบบเดียวกันที่ใช้เอทานอลเป็นระบบตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ D ที่ใช้ระบบตัวทำละลายน้ำต่อเอทานอลให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารสกัดรูปแบบ A, B และ C ที่ใช้เอทานอลเป็นระบบตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดพรอพอลิสรูปแบบ D ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลที่สูงเมื่อเทียบกับรูปแบบการสกัดอื่น ๆ ในรูปแบบระบบตัวทำละลายเดียวกัน ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการจำกัดสารกลุ่มเรซินและสารกลุ่มไม่มีขี้ขี้อื่น ๆ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) (Soiklom, 2021) และการใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร ของเอทานอล อาจช่วยในการสกัดสารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีเพิ่มขึ้น และอาจสัมพันธ์กับระบบตัวทำละลายและความสามารถในการละลายของไซเตียมอัลจินต์ที่ใช้ในการเตรียมเอนแคปซูล จึงมีผลให้ได้ค่าร้อยละประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลที่สูง (Keskin et al., 2019)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ถึงแม้ว่าสารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ D มีปริมาณฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า สารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ B แต่ให้ค่าประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลเลชันที่สูงกว่า นอกจากนี้สารสกัดในรูปแบบ D ยังใช้ ตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนผสมเพื่อใช้ในการสกัด และระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมเอนแคปซูลเลทที่มีอัตราของน้ำ ปริมาณที่สูงซึ่งอาจช่วยในการลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ และให้ค่าประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลเลชันที่สูงกว่าสารสกัดใน รูปแบบอื่น ดังนั้นการสกัดสารสกัดพรอพอลิสในรูปแบบ D และใช้ระบบการเตรียมเอนแคปซูลเลทของพรอพอลิสที่มีน้ำเป็น ส่วนผสมอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการเตรียมเอนแคปซูลเลทพรอพอลิสจากชั้นโรงที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์น้อยลง

อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังมีการใช้ตัวทำละลายเฮกเซนเพื่อกำจัดสารกลุ่มเรซินหรือสารประกอบขี้ด่าอาจต้องใช้วิธีอื่น ๆ เข้าช่วยในการกำจัดสารกลุ่มดังกล่าวเพื่อลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้ยังอาจต้องศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสม ของน้ำต่อเอทานอลที่ใช้ในระบบการเตรียมเอนแคปซูลเลทเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการเอนแคปซูลเลชันเพิ่มขึ้นและลดการใช้ตัว ทำละลายอินทรีย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่เอื้อเฟื้อสารเคมี วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่สำหรับการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Aljohani, W.J., Wenchao, L., Ullah, M.W., Zhang, X. and Yang, G. (2017). Application of Sodium Alginate Hydrogel. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(3), 19-31.
- Athikomkulchai, S. (2008). Propolis: A Gift from Nature. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 3(2), 286-295. (In Thai)
- Kamprawet, P., and Vatthanakul, S. (2018). Producing Passion Fruit Beads by Reverse Spherification Technique. *Thai Science and Technology Journal*, 26(8), 1381-1393. (In Thai)
- Keskin, M., Keskin, S. and Kolayli, S. (2019). Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property. *LWT - Food Science and Technology*, 108, 89-98).
- Kumar, S. and Pandey, A.K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 162750(2013), 1-16.
- Meechai, I., Yuerae, D. and Chelong, I. (2021). Phytochemical Analysis Screening, Antioxidant Activity and Preparation of Lotion Containing Propolis Extract from Stingless Bees. *RMUTSV Research Journal*, 13(2), 408-421. (In Thai)
- Meechai, I., Mahlae, R. and Chelong, I. (2020). Phytochemicals and Antiradical Activity of Stingless Bee Honey and Preparation of Liquid Soap Gel Containing Stingless Bee Honey. *PKRU SciTech Journal*, 4(2), 23-32. (In Thai)
- Meechai, I., Phupong, W., Chunglok, W. and Meepowpan, P. (2016). Antioxidant Properties and Phytochemical Contents of *Garcinia schomburgkiana* Pierre. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(6), 102-107.
- Phoonan, W. and Noppakun, K. (2021). Antifungal activity of stingless bee, *Tetragonula pagdeni* (Schwarz), propolis extracts against tangerine green mold rot. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49(3), 691-700. (In Thai)
- Sawatthum, A. (2013). *Amazing of Stingless bee*. (1st Ed.) Bangkok: Triple Group. (In Thai)

Soiklom S. (2020). Extraction of active compound from herb: Solvent Extraction [online]. Retrieved July 28, 2021, from: https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/solvent_extraction.pdf