

การศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction)

นครินทร์ มัททวิวงศ์, กมลลดา พิชญวิทยาเวช, วิฑูรย์ ยวงสะอาด, ชนากร คุณวงศ์*,

ณัชพล โชติชัยชรินทร์, ธิตีวรรณ อภิวัชรกุล, ประติมากร หว่างเชื้อ, ปรีชา หนูทิม

กองพัฒนายาแผนไทยและสมุนไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ

อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

*ผู้รับผิดชอบบทความ: khunwongchanapon@gmail.com

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: *Phyllanthus emblica* L. หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่า มะขามป้อม เป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในด้านศักยภาพทางการแพทย์โดยมีบทบาทสำคัญในตำรับยาแผนไทยและอายุเวทยาวนานหลายศตวรรษโดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้ในตำรับยาสำหรับรักษาโรคระบบทางเดินหายใจ เช่น บรรเทาอาการไอ ช่วยให้อ่อนชุ่มชื้น ลดเสมหะ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันโดยคุณสมบัติเหล่านี้เกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ แคมป์เฟอร์อล (kaempferol) กรดแกลลิก (gallic acid) แทนนิน (tannin) และวิตามินซี (ascorbic acid) ซึ่งจากการศึกษาทางเภสัชวิทยา พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านมะเร็ง ด้านเบาหวาน และด้านไวรัส อย่างไรก็ตามในการสกัดแบบดั้งเดิมนิยมใช้การต้ม การหมักด้วยน้ำ หรือการหมักด้วยแอลกอฮอล์ซึ่งมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ ใช้เวลาในการสกัดนานและใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจทำให้สารออกฤทธิ์ที่ไวต่อความร้อนหรือค่า pH เสื่อมสภาพได้ จากข้อจำกัดดังกล่าวจึงจำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีการสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถรักษาสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพได้

เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction: UAE) เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมอย่างมาก มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิมโดยเทคนิคนี้อาศัยคลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อกระตุ้นการเกิดโพรงอากาศ (cavitation) ซึ่งช่วยเพิ่มการถ่ายเทมวล การแตกตัวของผนังเซลล์ และการแทรกซึมของตัวทำละลาย สามารถลดเวลาในการสกัด เพิ่มปริมาณสารสกัด ลดปริมาณการใช้ตัวทำละลาย และใช้อุณหภูมิต่ำ จึงเหมาะสมอย่างยิ่งในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพร โดยเฉพาะเมื่อสารนั้นไวต่อความร้อนหรือการเกิดออกซิเดชัน ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดตัวทำละลายที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญจาก *P. emblica* ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกโดยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณกรดแกลลิก แทนนิน และวิตามินซี ซึ่งผลจากงานวิจัยนำไปใช้เพื่อปรับปรุงกระบวนการสกัดสำหรับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเครื่องสำอาง

วิธีการศึกษา: คัดเลือกวัตถุดิบมะขามป้อมสดจากจังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย ล้างให้สะอาด และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงเพื่อรักษาสารสำคัญที่ไวต่อความร้อน จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดและสกัด

ด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50, 70 และ 90 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่ 20 kHz เป็นเวลา 60 นาที ในอุณหภูมิห้อง แล้วทำให้สารสกัดแห้งด้วยเทคนิคการแช่เยือกแข็ง (freeze dry method) นำผงสารสกัดที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) เพื่อตรวจหากรดแกลลิกและวิตามินซี โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานภายใต้แสงขาวและแสง UV (366 nm) และวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิก ปริมาณแทนนิน ปริมาณวิตามินซี ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ผลการศึกษา: ผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) พบว่าสารสกัดมะขามป้อมที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีองค์ประกอบของสารสำคัญคือ กรดแกลลิก และ วิตามินซี โดยกรดแกลลิกปรากฏเป็นแถบสีน้ำตาลเทา ที่ค่า $R_f = 0.40$ ได้แสงขาว และเรืองสีน้ำเงินเข้มได้แสง UV ตรงกับสารมาตรฐานอย่างชัดเจน ส่วนวิตามินซีปรากฏเป็นแถบสีน้ำตาลอ่อนที่ $R_f = 0.16$ ได้แสงขาวและเป็นสีน้ำตาลเข้มภายใต้ UV ตรงกับสารมาตรฐานอย่างชัดเจน และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า การสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำกลั่น พบว่าให้ร้อยละ ผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด (%yield) คือ 26.81 ± 0.30 และมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด คือ 935.57 ± 0.96 mg/100 g ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดมะขามป้อมด้วยเอทานอลร้อยละ 90 มีปริมาณกรดแกลลิก แทนนิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือปริมาณกรดแกลลิกเท่ากับ 13.16 ± 0.01 g/100 g ปริมาณแทนนิน เท่ากับ 208.89 ± 0.26 mgTAE/g และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 122.60 ± 1.35 g eq ascorbic acid/100 g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อภิปรายผล: การสกัดมะขามป้อมโดยใช้ตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูง (high polarity) สามารถละลายสารที่มีขั้วสูง เช่น วิตามินซีได้ดีขณะที่เอทานอลร้อยละ 90 ซึ่งมีความเป็นขั้วต่ำกว่าน้ำกลั่นและมีคุณสมบัติที่สามารถละลายสารได้ในช่วงความขั้วที่กว้างกว่าจึงสามารถละลายแทนนิน กรดแกลลิก และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และ 70 ให้ผลการสกัดอยู่ในระดับกลาง ซึ่งเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเช่นกันในกรณีที่ต้องการได้สารสำคัญในสัดส่วนที่สมดุล

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ: เอทานอลร้อยละ 90 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการใช้สกัดมะขามป้อม เพื่อให้ได้สารสกัดมะขามป้อมที่มีปริมาณสารสำคัญที่สูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการสกัดมะขามป้อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แผนไทยในการผลิตยาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สุขภาพ อย่างไรก็ตาม การสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำก็ยังเป็นตัวเลือกที่ควรพิจารณา หากต้องการมุ่งเน้นในการใช้ประโยชน์จากวิตามินซีจากสารสกัด

คำสำคัญ: การสกัด, มะขามป้อม, อัลตราโซนิก, กรดแกลลิก, วิตามินซี

The Study of Optimal Solvent Conditions for the Extraction of *Phyllanthus Emblica* L. Using Ultrasonic-Assisted Extraction

Nakarin Mattaweewong, Kamollada Pitchayawittayawet, Witoon Youngsa-ad, Chanapon Khunwong*, Natchaphon Chotchaicharin, Thitiwat Aphiwatcharakun, Pratimakorn Wangchua, Preecha Nootim

Herb And Thai Traditional Medicine Development Division, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Tiwanon Road, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

* **Corresponding author:** khunwongchanapon@gmail.com

Abstract

Introduction and Objective: *Phyllanthus emblica* L., commonly known as Indian gooseberry or “Makham Pom” in Thailand, is a medicinal plant widely recognized for its therapeutic potential. This fruit has played a significant role in both Thai traditional medicine and Ayurvedic practices for centuries. Traditionally, it has been incorporated into remedies for various respiratory conditions, especially in formulations aimed at alleviating cough, soothing irritated throats, reducing phlegm production, and enhancing immune system function. The efficacy of *P. emblica* is attributed to its high content of bioactive constituents, including but not limited to kaempferol, gallic acid, tannins, and ascorbic acid (vitamin C). These compounds have demonstrated a wide range of pharmacological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antidiabetic, and antiviral properties. Despite its well-documented medicinal properties, the extraction techniques conventionally employed to isolate these compounds such as decoction, boiling, and maceration with water or ethanol present several drawbacks. These traditional approaches are time consuming and often involve high temperatures or prolonged exposure to solvents, potentially causing degradation or transformation of thermolabile and pH sensitive phytochemicals. Such limitations underscore the necessity for developing and implementing more efficient, selective, and sustainable extraction technologies that preserve the integrity and biological activity of the target compounds.

Ultrasonic-assisted extraction (UAE) has gained considerable attention in recent years as an effective and eco-friendly alternative to conventional extraction methods. This technique utilizes high-frequency ultrasonic waves to induce cavitation, thereby enhancing mass transfer, cell disruption, and solvent penetration. UAE not only shortens extraction time and improves yield but also reduces the need for harsh solvents and elevated temperatures. Consequently, this technique is highly suitable for the extraction of bioactive molecules from natural sources, particularly when targeting compounds that are sensitive to heat and oxidation. The present study aimed to evaluate the impact of different solvent systems on the efficiency of UAE in extracting key bioactive compounds from *P. emblica*. Specifically, the objective was to determine which solvent yields the highest levels of antioxidant activity and phytochemical content, particularly gallic acid, tannins, and vitamin C. The outcomes of this research are expected to contribute valuable insights into the optimization of extraction protocols for pharmaceutical, nutraceutical, and cosmeceutical applications.

Methods: Fresh fruits of *P. emblica* used in this study were sourced from cultivated orchards in Kanchanaburi Province, Thailand., thoroughly washed to remove impurities, and subsequently dried in a hot air oven at 50 °C for 72 hours. This drying temperature was chosen to effectively reduce the moisture content while preserving the structural integrity of heat-sensitive phytochemicals. The dried fruits were ground into fine powder using a mechanical grinder. The powdered material was then subjected to ultrasonic-assisted extraction using four different solvent systems: distilled water, 50% ethanol, 70% ethanol, and 90% ethanol. Each extraction was performed using an ultrasonic processor operating at a frequency of 20 kHz for 60 minutes at room temperature. Post-extraction, the liquid extracts were filtered, and the solvents were removed via freeze-drying (lyophilization), yielding powdered extracts for subsequent analysis. The qualitative identification of major phytochemicals, namely gallic acid and ascorbic acid, was conducted using High-Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC). Chromatograms were developed and visualized under white and UV (366 nm) light, and retention factor (Rf) values were compared against standard reference compounds. Quantitative assessment of gallic acid, total tannin content, and ascorbic acid was performed using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), following validated analytical protocols. Antioxidant capacity of the extracts was determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay.

Results: HPTLC analysis successfully confirmed the presence of gallic acid and ascorbic acid in all extracts, regardless of the solvent system used. Gallic acid was observed as a grayish-brown band with an Rf value of 0.40 under white light and exhibited a bright blue fluorescence under UV light, matching the standard. Ascorbic acid appeared as a light brown band at an Rf value of 0.16 under white light and a dark brown hue under UV light, consistent with the standard reference. Quantitative results revealed a significant variation in extraction yield and phytochemical content depending on the solvent employed. Distilled water yielded the highest extract mass, with a yield of $26.81 \pm 0.30\%$, and also contained the highest concentration of ascorbic acid, measured at 935.57 ± 0.96 mg/100g. These values were significantly greater ($p < 0.05$) than those observed in ethanol based extracts. Conversely, 90% ethanol was the most effective solvent for extracting gallic acid and tannins. This solvent yielded the highest concentrations of gallic acid 13.16 ± 0.01 g/100 g, total tannins 208.89 ± 0.26 mg TAE/g, and antioxidant activity 122.60 ± 1.35 g eq ascorbic acid/100 g, with statistical significance ($p < 0.05$).

Discussion: Ethanol 90% was the most suitable solvent for the ultrasonic-assisted extraction of *P. emblica* in this study, as it provided the highest content of gallic acid, tannin and antioxidant activity. However, the extraction with distilled water gave the highest extraction yield and vitamin C.

Conclusion and Recommendation: Ethanol 90% is the ideal solvent for ultrasonic-assisted extraction of *P. emblica* in this study because it exhibited the high amounts of active compounds and good antioxidant activity. This study can serve as a guideline for manufacturing the *P. emblica* extracted to application in Thai Traditional Medicine and health products. Nonetheless, the aqueous extraction of *P. emblica* remains a viable method if the emphasis is on harnessing vitamin C from the extract.

Key words: extraction, *Phyllanthus emblica* L., Ultrasonic-assisted extraction, gallic acid, vitamin C

บทนำและวัตถุประสงค์

มะขามป้อมชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllanthus emblica* Lin. ชื่อสามัญ Indian gooseberry (amla) เป็นสมุนไพรที่มีการใช้ในประเทศแถบเอเชียในการรักษาโรค มีการบันทึกไว้ในองค์ความรู้ ทางการแพทย์อายุรเวทและการแพทย์แผนไทยที่ใช้ในตำรายาแก้ไข้มาอย่างยาวนาน ได้ถูกพัฒนาเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ มะขามป้อมถูกใช้เป็นส่วนประกอบของตำรายาไทยเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะในตำราการแพทย์ไทยเดิม (แพทย์ศาสตร์สังเคราะห์ฉบับอนุรักษ์) เล่มที่ 1 พบว่ามีตำรายาที่มีมะขามป้อมเป็นเครื่องยา ถึง 164 ตำรับ โดยถูกบันทึกไว้ใน 11 คัมภีร์จากทั้งหมด 13 คัมภีร์ซึ่ง 2 คัมภีร์ที่ไม่มี

การใช้มะขามป้อม คือ คัมภีร์สมุฏฐานวินิจจัยและตักกเกศลา โดยส่วนที่ใช้คือ ผล ซึ่งไม่ได้ระบุว่าเป็นผลอ่อนหรือผลแก่ หากมีการใช้ส่วนอื่นที่ไม่ใช่ผล จะมีการระบุส่วนที่ใช้เช่น ราก เปลือก หรือเนื้อผลเพียงอย่างเดียว คัมภีร์ประถมจินดาเป็นคัมภีร์ที่พบตำรายาที่มีส่วนผสมมะขามป้อมมากที่สุด ซึ่งเป็นคัมภีร์ที่กล่าวถึงโรคเกี่ยวกับสตรีมารดา และเด็ก^[1] ปัจจุบันมะขามป้อม เป็นส่วนประกอบในยา 10 ตำรับในบัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566 เป็นยาในกลุ่มบรรเทาอาการไอ 6 ตำรับ ได้แก่ ยาแก้ไข้ผสมกานพลู ยาแก้ไข้ผสมมะขามป้อม ยาแก้ไข้ผสมมะนาวทอง ยาแก้ไข้พื้นบ้านอีสาน ยาตรีผลา และยาอำมฤควาที ยารักษากลุ่มอาการทาง

ระบบไหลเวียนโลหิต 1 ตำรับ คือ ยาหอมนวโกฐ ยาบรรเทาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ 1 ตำรับ คือ ยามหาจักรใหญ่ ยาแก้เถาตานท้องผูก 1 ตำรับ คือ ยาธรณีสันตะฆาต และยาปรับสมดุลธาตุ 1 ตำรับ คือ ยาตรีพิภัก^[2] นอกจากนี้มะขามป้อมยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

มะขามป้อมสด 100 g ประกอบด้วยไขมัน 0.28 g โปรตีน 2.03 g เส้นใยอาหาร 5.1 g คาร์โบไฮเดรต 7.58 g แคลเซียม 29.00 mg ฟอสฟอรัส 21.00 mg เหล็ก 0.50 mg วิตามินเอ 100 mg วิตามินบี 30.07 mg วิตามินซี 573.00 mg^[3] และปริมาณกรดгалิก 931.1 mg^[4] แหล่งวัตถุดิบสมุนไพรมะขามป้อมสดส่วนใหญ่เกิดขึ้นเองในเขตป่า รวมทั้งมีการนำเข้าวัตถุดิบและสารสกัดจากต่างประเทศโดยมะขามป้อมเป็นพืชสมุนไพรประจำฤดูกาลจะได้ผลผลิตช่วงเดือนกันยายน - ตุลาคม จึงจำเป็นต้องมีการแปรรูปเป็นผลแห้งหรือนำไปแช่แข็งเพื่อเก็บรักษาไว้ใช้ในช่วงนอกฤดูกาลและควบคุมภาพเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญที่เหมาะสมจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า สารสำคัญในมะขามป้อมที่โดดเด่น ได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ แคมพ์เฟอร์อล สารกลุ่มฟีนอลิก คือ กรดгалิกแทนนิน และวิตามินซี^[5] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[6] ฤทธิ์ต้านมะเร็ง^[7] เสริมภูมิคุ้มกัน^[8] ปกป้องเซลล์^[9] ต้านไวรัส^[10] ลดไขมันในเลือดสูง^[11] ชะลอความความแก่^[12] ด้านการตายของเซลล์^[13] ด้านการอักเสบ^[14] และด้านเบาหวาน^[15] ทั้งนี้คุณสมบัติดังกล่าวเหมาะสำหรับนำมาพัฒนาเป็นยาสมุนไพร ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และนำมาใช้ในรูปแบบเครื่องสำอาง อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังขาดข้อมูลการศึกษากระบวนการสกัดมะขามป้อมที่เหมาะสมให้มีสารสำคัญในปริมาณสูงเพื่อสามารถนำไปใช้ในตำรับยาสมุนไพร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และ

ผลิตภัณฑ์เวชสำอาง เนื่องจากปัจจุบันกระบวนการสกัดใช้เทคนิคการหมักแบบดั้งเดิมจะใช้เวลานานในการสกัด และวิธีผ่านความร้อนสูงอาจส่งผลทำลายสารสำคัญบางส่วนในมะขามป้อมได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการสกัดให้ได้สารสกัดมะขามป้อมที่มีปริมาณสารสำคัญสูงด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการเร่งสกัด โดยเปรียบเทียบตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ซึ่งผลการศึกษานำไปต่อยอดในการพัฒนาสารสกัดมะขามป้อมเชิงอุตสาหกรรมเพื่อใช้ในตำรับยาสมุนไพร และผลิตภัณฑ์สุขภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ สร้างความเชื่อมั่นในการใช้สมุนไพรไทยเพื่อรักษาโรคและสร้างเสริมสุขภาพของประชาชนในระดับปฏุมภูมิเพื่อตอบสนองต่อนโยบายประเทศอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ (Material)

1.1 ตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างผลมะขามป้อมสดได้จากจังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย เก็บในเดือนเมษายน นำตัวอย่างพรรณไม้มาตรวจสอบเพื่อระบุชื่อวิทยาศาสตร์ ณ สำนักงานวิจัยการแพทย์แผนไทย นำตัวอย่างมะขามป้อมสดมาล้างทำความสะอาด และนำมาอบด้วยเครื่องอบแห้งระบบปั๊มความร้อน (Heat pump dryer) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ผลมะขามป้อมสีน้ำตาลเข้ม (Figure 1) นำมาบดเป็นผงหยาบเพื่อนำไปพัฒนาการสกัดต่อไป

1.2 สารมาตรฐาน

กรดгалิก (gallic acid) ของ Sigma-Aldrich (USA), กรดแทนนิน (tannic acid) ของ

Sigma-Aldrich (USA) และวิตามินซี (L-Ascorbic acid) ของ Sigma-Aldrich (USA)

1.3 สารเคมีและตัวทำละลาย

ethanol 99.9% DB/TBA, water HPLC grade ของ Honeywell (USA), methanol HPLC grade ของ Honeywell (USA), formic acid (0.1%) HPLC Grade ของ Fisher chemical, glacial acetic acid ของ Honeywell (USA), toluene ของ Honeywell (USA), ethyl acetate ของ Honeywell (USA)

1.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

เครื่องบดป่น รุ่น ProBlend (Phillips), เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) รุ่น Acquity ARC (Water®, USA), HPLC คอลัมน์ C18 รุ่น Luna ขนาด 4.6 × 150 mm. ขนาด particle size 5 micron (Phenomenex), เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) รุ่น LD-0.5 (คินติค เอ็นจิเนียริง), เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น pH meter (Mettler Toledo®), เครื่องหาปริมาณความชื้น รุ่น HC103 (Mettler Toledo®)

เครื่องอัลตราโซนิก รุ่น YPS61-U011 กำลัง 3000W (Hanstyle) และ เครื่อง TLC sampler รุ่น Linomat 5 (CAMAG, Switzerland), เครื่อง Documentation system รุ่น Visualizer (CAMAG, Switzerland)

2. วิธีการสกัดมะขามป้อม

นำมะขามป้อมมาสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก ที่ความถี่ 20 kHz ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนระหว่างมะขามป้อมแห้งกับตัวทำละลาย 1:20 โดยแบ่งกลุ่มทดลองได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล ร้อยละ 50 70 และ 90 นำมากรองผ่านกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายด้วย เครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) แล้ว ทำแห้งสารสกัดด้วยเทคนิคการแช่เยือกแข็ง (freeze dry method) ที่อุณหภูมิ -40 °C ผงสารสกัดหยาบแห้งที่ได้จะเก็บไว้ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 °C นำสารสกัดมาวัดปริมาณความชื้น ค่า pH และน้ำหนักสารสกัดที่ได้และคำนวณหาร้อยละผลผลิตจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\%yield)} = \frac{\text{ปริมาณสารสกัดมะขามป้อมแห้งที่ได้(g)}}{\text{ปริมาณผงวัตถุดิบมะขามป้อมแห้ง(g)}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดมะขามป้อม

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิก

วิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) เตรียมตัวอย่างสารสกัดมะขามป้อมที่มีความเข้มข้น 0.1 g/mL ทำให้สารสกัดละลายด้วยเครื่องอัลตรา-

โซนิก (ultrasonic bath) เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นกรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 mm แล้ววิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิก โดยใช้คอลัมน์ Phenomenex C18 Luna ขนาด 4.6 × 150 mm ขนาดอนุภาคของวัสดุเคลือบที่เท่ากับ 5 μm วัสดุเคลือบที่ประกอบด้วย methanol:0.1% formic acid (5:95) ตรวจจับสัญญาณของสาร โดยวัดค่าการดูด

กลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm ด้วยเครื่องตรวจวัดสารชนิดโฟโตไดโอดอะเรย์ (photo diode array detector) อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 mL/min ฉีดสารตัวอย่างที่ปริมาตร 10 μ L

3.2 การตรวจสอบหาปริมาณแทนนินรวม

วิเคราะห์ปริมาณแทนนินรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งดัดแปลงจาก Shad และคณะ^[16] ผสมตัวอย่างสารสกัด 2 mL กับสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ร้อยละ 10 ปริมาตร 5 mL ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที เติมน้ำกลั่น 5 mL ร้อยละ 7.5 ปริมาตร 2 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณหาปริมาณแทนนินรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแทนนิกใช้หน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด (mg TAE/g)

3.3 การตรวจสอบหาปริมาณวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีโดยซังสารสกัดที่ 0.5 g แล้วนำมาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ 0.02 M $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{H}_3\text{PO}_4$ pH 3.0 ต่อเมทานอล ในอัตราส่วน 1:20 โดยปริมาตร และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ใช้สารละลายตัวอย่าง 4 mL เติมน้ำ 3% โบรมีน 0.23 mL เติมน้ำกลั่น 1 mL จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2,4-ไดไนโตรฟีนอลไฮดรอกซีน 1 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง 30 นาที พร้อมเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 mL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 521 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีเทียบกับกราฟมาตรฐานวิตามินซี ใช้หน่วยมิลลิกรัมวิตามินซีต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสารสกัด (mg /100g)^[17]

3.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

radical scavenging assay ของ Krongyut และคณะ^[18] เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 1 mg/mL และเตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 mg/mL ในเอทานอล นำสารสกัดจากที่เตรียมข้างต้นปริมาตร 200 μ L และเติมสารละลาย DPPH 1,800 μ L ใส่ลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 nm คำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกราฟสารมาตรฐานวิตามินซี ใช้หน่วยกรัมสมมูลวิตามินซีต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสารสกัด (g Ascorbic acid /100 g)

3.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

เตรียมสารมาตรฐานวิตามินซีและกรดแกลลิก ความเข้มข้น 100 μ g/mL และตัวอย่างสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้น 0.1 g/mL ของเมทานอล ฉีดสารมาตรฐานและสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตรอย่างละ 40 μ L ให้เป็นแถบยาว 8 mm ต่อชนิดของสาร บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบบางสมรรถนะสูงชนิด HPTLC plates silica gel 60 F254 สำหรับการวิเคราะห์วิตามินซีใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ toluene:ethyl acetate:methanol: glacial acetic acid อัตราส่วน 4:4:5:0.5 โดยปริมาตร^[19] และสำหรับการวิเคราะห์กรดแกลลิกใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ toluene:ethyl acetate:formic acid:methanol อัตราส่วน 3:3:0.8:0.2 โดยปริมาตร^[20] ตรวจสอบแผ่นที่แอลซีด้วยการพ่นด้วยน้ำยา anisaldehyde reagent หลังจากนั้นนำแผ่นที่แอลซีไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 15 นาที ถ่ายภาพภายใต้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 366 nm และแสงขาว

3.6 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน ได้แก่ One-way ANOVA (One-way analysis of variance) เมื่อพบว่าผลการตรวจสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics Version 29

ผลการศึกษา

1. การพัฒนาวิธีการสกัดมะขามป้อม

ผลการพัฒนาวิธีการสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอล

ร้อยละ 50 70 และ 90 ผลการสกัดพบว่า ผงสารสกัดมะขามป้อมที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกันมีสีที่แตกต่างกันคือ สีน้ำตาลอมเหลือง สีน้ำตาล สีน้ำตาลส้มอิฐ และสีน้ำตาลเข้มตามลำดับ การสกัดมะขามป้อมที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นมีร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุดคือ 26.81 ± 0.30 ในขณะที่การสกัดมะขามป้อมที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 90 ให้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดน้อยที่สุดคือ 19.68 ± 0.29 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้สารสกัดมะขามป้อมที่ใช้ตัวทำละลายต่างกันมีค่าร้อยละความชื้น และค่า pH ไม่แตกต่างกัน (Table 1)



Figure 1 Fresh *P. emblica* (amla) (A) and Dry *P. emblica* (amla) (B)

Table 1 Physical characteristics of *P. emblica* L. extract

Solvent	%yield	%moisture	pH	Physical Characteristics
Water	26.81 ± 0.30^a	4.53 ± 0.03^a	2.70 ± 0.06^a	Dark yellow
50% Ethanol	24.55 ± 0.55^b	4.50 ± 0.04^a	2.62 ± 0.07^a	Brown
70% Ethanol	22.93 ± 0.86^c	4.47 ± 0.14^a	2.63 ± 0.11^a	Reddish brown
90% Ethanol	19.68 ± 0.29^d	4.50 ± 0.07^a	2.71 ± 0.05^a	Blackish brown

Results are expressed as Means $\pm$ S.D. ($n = 3$). Mean within the same column followed by different superscript letters.

^{a, b, c, d} significant differences between groups as analysed by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple test.

2. ผลการศึกษาปริมาณสารสำคัญของสารสกัดมะขามป้อม

จากการศึกษาปริมาณสารสำคัญของสารสกัดมะขามป้อมที่สกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 ผลการศึกษา พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีปริมาณกรดแกลลิก

11.51 ± 0.01 12.33 ± 0.01 12.47 ± 0.03 และ 13.16 ± 0.01 g/100g ตามลำดับ มีปริมาณแทนนิน 114.83 ± 0.26 156.80 ± 0.26 179.74 ± 0.26 208.89 ± 0.26 mg TAE/g ตามลำดับ และมีปริมาณวิตามินซี 935.57 ± 0.96 879.67 ± 5.71 841.84 ± 0.96 และ 769.37 ± 0.96 mg/100 g ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 2)

Table 2 Phytochemistry of *P. emblica* L. extract

Solvent	Gallic acid (g/100g)	Tannin (mg TAE/g)	Vitamin C (mg/100g)	DPPH (g eq ascorbic acid/ 100g)
Water	11.51 ± 0.01^d	114.83 ± 0.26^d	935.57 ± 0.96^a	81.66 ± 0.90^d
50% Ethanol	12.33 ± 0.01^c	156.80 ± 0.26^c	879.67 ± 5.71^b	96.11 ± 1.06^c
70% Ethanol	12.47 ± 0.03^b	179.74 ± 0.26^b	841.84 ± 0.96^c	99.97 ± 1.10^b
90% Ethanol	13.16 ± 0.01^a	208.89 ± 0.26^a	769.37 ± 0.96^d	122.60 ± 1.35^a

Results are expressed as Means $\pm$ S.D. ($n = 3$). Mean within the same column followed by different superscript letters.

a, b, c, d significant differences between groups as analysed by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple test.

3. การตรวจสอบสารสำคัญในสารสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิค HPTLC

Figure 2 แสดงภาพแผ่นที่แอลซีของสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ผ่านการตรวจสอบภายใต้แสงขาว และแสงยูวี 366 nm ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดมะขามป้อมที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีสารกรดแกลลิกเป็นองค์ประกอบ โดยพบแถบสารที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.40 โดยแถบสารของกรดแกลลิกจะเห็นเป็นสีน้ำตาลเทาเมื่อตรวจสอบภายใต้แสงขาวและเรืองสีน้ำเงินเข้มเมื่อตรวจสอบภายใต้แสงยูวี 366 nm และจาก Figure 3 แสดงภาพแผ่นที่แอลซีเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีที่ตรวจสอบภายใต้แสงขาว และแสงยูวี 366 nm ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดมะขามป้อมที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีวิตามินซีเป็นองค์ประกอบ โดยพบแถบสารที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.16 เมื่อสังเกตภายใต้แสงขาวจะเห็นเป็นสีน้ำตาลอ่อน และภายใต้แสงยูวี 366 nm จะมีสีน้ำตาลเข้ม

ได้แสงขาวและเรืองสีน้ำเงินเข้มเมื่อตรวจสอบภายใต้แสงยูวี 366 nm และจาก Figure 3 แสดงภาพแผ่นที่แอลซีเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีที่ตรวจสอบภายใต้แสงขาว และแสงยูวี 366 nm ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดมะขามป้อมที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีวิตามินซีเป็นองค์ประกอบ โดยพบแถบสารที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.16 เมื่อสังเกตภายใต้แสงขาวจะเห็นเป็นสีน้ำตาลอ่อน และภายใต้แสงยูวี 366 nm จะมีสีน้ำตาลเข้ม

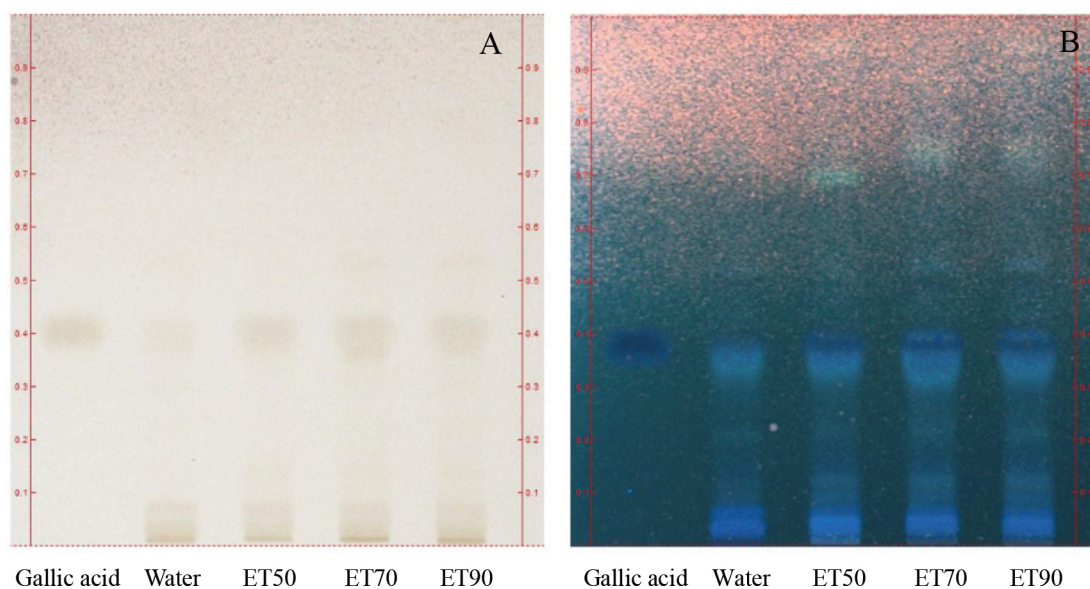


Figure 2 (A) TLC patterns of *Phyllanthus emblica* L. extract with water, 50% ethanol (ET50), 70% ethanol (ET70), and 90% ethanol (ET90), along with the standard marker (gallic acid), in System A, detected under white light after spraying and (B) under UV light at 366 nm after spraying.

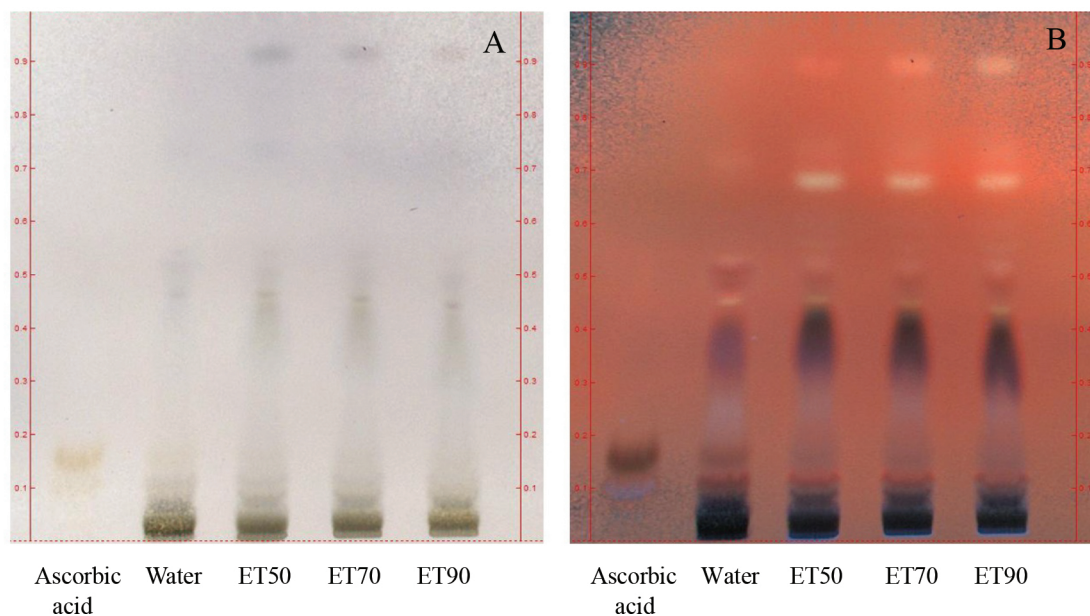


Figure 3 (A) TLC patterns of *Phyllanthus emblica* L. extract with water, 50% ethanol (ET50), 70% ethanol (ET70), and 90% ethanol (ET90), along with the standard marker (ascorbic acid), in System A, detected under white light after spraying and (B) under UV light at 366 nm after spraying.

4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม พบว่าการสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกด้วยน้ำกลั่น เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 81.66 ± 0.90 96.11 ± 1.06 99.97 ± 1.10 และ 122.60 ± 1.35 g eq ascorbic acid/100 g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 2)

อภิปรายผล

การศึกษาผลการพัฒนาการสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล ร้อยละ 50 70 และ 90 พบว่า ตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถสกัดสารสีจากมะขามป้อมได้แตกต่างกันคือ สีน้ำตาลอมเหลือง สีน้ำตาล สีน้ำตาลส้มอิฐ และ สีน้ำตาลเข้มตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาตัวทำละลายต่างกันจะมีความขึ้น และค่า pH ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การศึกษาปริมาณร้อยละของสารสกัด พบว่าการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นมีร้อยละของสารสกัดสูงที่สุดรองลงมาคือตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 70 และ 90 ตามลำดับ เนื่องจากลักษณะขั้วที่ต่างกันของตัวทำละลาย ทำให้มีความเฉพาะเจาะจงในการสกัดสารที่ต่างกัน^[21] จากงานวิจัยของ Nazaruddin และคณะ^[22] ศึกษาการสกัดผลมะขามป้อมด้วยเทคนิคการหมักโดยตัวทำละลาย เอทานอล เอทิล อะซีเตท และ n-hexane พบว่า เอทานอลมีปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงที่สุดรองลงมาคือ เอทิล อะซีเตท และ n-hexane ตามลำดับ และจากงานวิจัยของ Wang และคณะ^[23] ที่ศึกษาการสกัดผลมะขามป้อมโดยใช้

ตัวทำละลายต่างกัน พบว่าการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายให้ร้อยละสารสกัดมากกว่าตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และ 95 คือ 43.7 ± 2.7 , 33.0 ± 1.3 และ $27.0 \pm 1.1\%$ ตามลำดับ นอกจากนี้การสกัดโดยใช้เทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณร้อยละสารสกัดเพิ่มขึ้น เนื่องจากความความร้อนที่สูงขึ้นจะช่วยทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมผ่านเนื้อเยื่อพืชได้ดีทำให้สามารถดึงสารสำคัญออกมาได้ดีมากขึ้น^[24] ทั้งนี้ในการศึกษาปริมาณสารสำคัญ พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 90 มีปริมาณกรดแกลลิกและแทนนินสูงที่สุด ในขณะที่ตัวทำละลายน้ำกลั่นมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด เนื่องจากวิตามินซีจัดอยู่ในประเภทโมเลกุลที่มีขั้วสูง มีกลุ่มไฮดรอกซิลในโมเลกุลอยู่ 4 กลุ่ม ดังนั้นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงอย่างน้ำกลั่นจึงสามารถสกัดวิตามินซีออกมาได้ดีที่สุด^[25] ส่วนกรดแกลลิก และแทนนินจัดอยู่ในประเภทโมเลกุลที่มีขั้วต่ำกว่าน้ำ ดังนั้นการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วรองลงมาจากน้ำจึงเพิ่มความสามารถในการละลายดังกล่าวได้^[26]

อนุมูลอิสระที่เกิดจากความเครียดด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระหรือปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง เมื่อสมดุลระหว่างโมเลกุลโปรออกซิแดนซ์และสารต้านอนุมูลอิสระลดลง จะส่งผลให้มีอิเล็กตรอนที่ไม่จับคู่กันหลายตัว ทำให้ไม่เสถียรและมีปฏิกิริยากับสารอื่นสูงเกิดเป็นสารอนุมูลอิสระ ซึ่งในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในครั้งนี้นทดสอบคุณสมบัติในการเป็นตัวจับอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลร้อยละ 90 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ที่ 122.60

± 1.35 g eq ascorbic acid/100g ถึงแม้ว่าเอทานอลร้อยละ 90 จะเป็นตัวทำละลายที่สกัดวิตามินซีได้น้อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ (769.37 ± 0.96 mg/100 g) แต่เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วที่สามารถสกัดสารได้หลากหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนอกเหนือจากวิตามินซีออกมา เช่น กรดแกลลิก และแทนนิน^[27] ซึ่งพบในปริมาณมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้และการสกัดมะขามป้อมด้วยเอทานอลที่มีน้ำเป็นส่วนผสมอย่างเหมาะสมจะสามารถสกัดสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำเป็นตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว^[28] จากงานวิจัยของ Halim และคณะ^[29] พบว่าการสกัดมะขามป้อมด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 96 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 5.816 ± 2.81 mg OE/g extract ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 274.590 ± 13.61 mg GAE/g extract และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เท่ากับ 7.626 ± 0.41 μ g/mL ในงานวิจัยของ Li และคณะ^[30] ศึกษาการสกัดมะขามป้อมโดยเปรียบเทียบตัวทำละลาย น้ำ เอทานอลร้อยละ 50 70 และ 95 พบว่า สารสกัดเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 354.5 ± 2.5 mg GAE/g extract และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 4.19 ± 0.11 mg OE/g extract มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เท่ากับ 348.2 ± 6.6 μ g/mL ซึ่งสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดน้ำ เอทานอลร้อยละ 50 และ 70 และในงานวิจัยของ Addina และคณะ^[31] ทำการศึกษาสารสกัดมะขามป้อมโดยใช้ตัวทำละลาย n-hexane และเอทานอล พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เท่ากับ 729.66 ± 117.03 μ g/mL ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลาย n-hexane มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เท่ากับ $2,336.56 \pm 361.37$

μ g/mL จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการสกัดมะขามป้อมโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 90 เป็นตัวทำละลายการสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ โดยพิจารณาจากปริมาณกรดแกลลิก แทนนิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีสรรพคุณ ลดอาการไอ ลดอักเสบ คลายการเกร็งที่หลอดลม และขับเสมหะ^[32] อย่างไรก็ตาม การสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำเป็นสภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด ดังนั้นการนำสารสกัดมะขามป้อมไปใช้ในการพัฒนาและต่อยอดจึงควรพิจารณาสภาวะการสกัดที่ใช้ เพื่อให้ได้สารสำคัญที่เหมาะสมกับการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ข้อสรุป

จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า การสกัดมะขามป้อมด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 90 มีปริมาณกรดแกลลิก แทนนิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีสรรพคุณ ลดอาการไอ ลดอักเสบ คลายการเกร็งที่หลอดลม และขับเสมหะ ซึ่งสามารถนำองค์ความรู้ดังกล่าวไปพัฒนาต่อยอดไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แผนไทยในตำรับยาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สุขภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป อย่างไรก็ตามหากการนำสารสกัดมะขามป้อมไปใช้เป็นการมุ่งเน้นไปที่การใช้ประโยชน์จากวิตามินซี ควรพิจารณาการเลือกสภาวะการสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำ เนื่องจากเป็นสภาวะการสกัดที่สามารถสกัดวิตามินซีได้มากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกว.) โครงการพัฒนาสารสกัดผลมะขามป้อมสด

ให้มีสารสำคัญในปริมาณสูงสามารถนำไปใช้ในตำรับยาสมุนไพร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และผลิตภัณฑ์เวชสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปีงบประมาณ 2567

ขอขอบพระคุณกองพัฒนายาแผนไทยและสมุนไพร ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ สารเคมีและห้องปฏิบัติการวิจัย

References

1. Foundation for the Restoration and Promotion of Traditional Thai Medicine, Ayurvedic Thamrong School. Traditional Thai medical textbook (synthetic medicine, conservation edition), Volume 1. 1st ed. Bangkok: Suphawanchi Printing; 2007. (in Thai)
2. Herbal Products Division, Food and Drug Administration. National list of essential herbal medicines 2023. 1st ed. Pathum Thani: Minnie Group Co., Ltd.; 2023. p. 137. (in Thai)
3. KC Y, Rayamajhi S, Dungal A, Shiwakoti LD. Phytochemical, nutritional, antioxidant activity and sensorial characteristics of amala (*Phyllanthus emblica* L.) chutney. Asian Food Sci J. 2020;18(1):43-52.
4. Ruangchakpet A, Sajjaanantakul T. Effect of browning on total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity in Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* Linn.). Kasetsart J Nat Sci. 2007;41:331-7.
5. Saini R, Sharma N, Oladeji OS, Sourirajan A, Dev K, Zengin G, El-Shazly M, Kumar V. Traditional uses, bioactive composition, pharmacology, and toxicology of *Phyllanthus emblica* fruits: a comprehensive review. J Ethnopharmacol. 2022;282:114570. doi:10.1016/j.jep.2021.114570.
6. Sheoran S, Nidhi P, Kumar V, Singh G, Lal UR, Sourirajan A, Dev K. Altitudinal variation in gallic acid content in fruits of *Phyllanthus emblica* L. and its correlation with antioxidant and antimicrobial activity. Vegetos. 2019;32:387-96. doi:10.1007/s42535-019-00048-x.
7. Naik J, David M. Phytosynthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using the fruit extract of *Phyllanthus emblica* and its potential anti-diabetic and anticancer activity. Part Sci Technol. 2023;41(6):761-73. doi:10.1080/02726351.2022.2141668.
8. Jantan I, Haque MA, Ilankovan M, Arshad L. An insight into the modulatory effects and mechanisms of action of *Phyllanthus* species and their bioactive metabolites on the immune system. Front Pharmacol. 2019;10:878. doi:10.3389/fphar.2019.00878.
9. Zhang Y, Zhao L, Guo X, Li C, Li H, Lou H, Ren D. Chemical constituents from *Phyllanthus emblica* and the cytoprotective effects on H₂O₂-induced PC12 cell injuries. Arch Pharm Res. 2016;39:1202-11. doi:10.1007/s12272-014-0433-2.
10. Lv JJ, Yu S, Xin Y, Cheng RR, Zhu HT, Wang D, Yang CR, Xu M, Zhang YJ. Anti-viral and cytotoxic norbisabolane sesquiterpenoid glycosides from *Phyllanthus emblica* and their absolute configurations. Phytochemistry. 2015;117:123-34. doi:10.1016/j.phytochem.2015.06.001.
11. Quranayati Q, Iqhrammullah M, Saidi N, Nurliana N, Idroes R, Nasution R. Cytotoxicity and phytochemical profiles of *Phyllanthus emblica* stem barks with in silico drug-likeness: focusing on antidiabetic potentials. J Adv Pharm Technol Res. 2022;13(4):281-85. doi:10.4103/japtr.japtr_319_22.
12. Wu M, Cai J, Fang Z, Li S, Huang Z, Tang Z, Luo Q, Chen H. The composition and anti-aging activities of polyphenol extract from *Phyllanthus emblica* L. fruit. Nutrients. 2022;14(4):857. doi:10.3390/nu14040857.
13. Chekdaengphanao P, Jaiseri D, Sriraj P, Aukkanimart R, Prathumtet J, Udonsan P, Boonmars T. Anticancer activity of *Terminalia chebula*, *Terminalia bellirica*, and *Phyllanthus emblica* extracts on cholangiocarcinoma cell proliferation and induction of apoptosis. J Herb Med. 2022;35:100582. doi:10.1016/j.hermed.2022.100582.
14. Wang HM, Fu L, Cheng CC, Gao R, Lin MY, Su HL, Belinda NE, Nguyen TH, Lin WH, Lee PC, Hsieh LP. Inhibition of LPS-induced oxidative damages and potential anti-inflammatory effects of *Phyllanthus emblica* extract via down-regulating NF- κ B, COX-2, and iNOS in RAW 264.7 cells. Antioxidants. 2019;8(8):270. doi:10.3390/antiox8080270.
15. Naik J, David M. Phytosynthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using the fruit extract of *Phyllanthus emblica* and its potential anti-diabetic and anti-cancer activity. Particulate Science and Technology. 2023;41(6):761-73.
16. Shad MA, Nawaz H, Yaqoob M, Yousuf B. Phytochemical composition and antioxidant properties of rhizomes of *Nelumbo nucifera*. J Med Plants Res. 2012;6(6):972-80.

17. Kapur A, Hasković A, Čopra-Janičijević A, Klepo L, Topčagić A, Tahirović I, Sofić E. Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables. *Bull Chem Technol Bosnia Herzegovina*. 2012;38(4):39-42.
18. Krongyut O, Sutthanut K. Phenolic profile, antioxidant activity, and anti-obesogenic bioactivity of Mao Luang fruits (*Antidesma bunius* L.). *Molecules*. 2019;24(22):4109.
19. Kilaje SV, Shirsat MK. Simultaneous estimation of ascorbic acid and gallic acid in Triphala Ghrita formulation by HPTLC. *Nat Volat Essent Oils J*. 2021;3240-9.
20. Sawant L, Pandita N, Prabhakar B. Determination of gallic acid in *Phyllanthus emblica* Linn. dried fruit powder by HPTLC. *J Pharm Bioallied Sci*. 2010;2(2):105-8.
21. Chaithada P. Effects of extraction solvents and pH on the amount and stability of crude color extracted from plants. *Wichcha J Nakhon Si Thammarat Rajabhat Univ*. 2019;38(1):65-78. (in Thai)
22. Li PH, Wang CW, Lu WC, Song TY, Wang CC. Antioxidant, anti-inflammatory activities, and neuroprotective behaviors of *Phyllanthus emblica* L. fruit extracts. *Agriculture*. 2022; 12(5):588.
23. Nazaruddin N, Rosmaidar R, Siregar TN, Wahyuni S, Sutriana A. Phytocomponents analysis and antioxidant activity of Malacca fruit extract (*Phyllanthus emblica*) using three different solvents. *Biodiversitas*. 2024;25(5):1911-9.
24. Tan MC, Tan CP, Ho CW. Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International Food Research Journal*. 2013;20(6):3117.
25. Hassan S, Adam F, Bakar MA, Mudalip SA. Evaluation of solvents' effect on solubility, intermolecular interaction energies and habit of ascorbic acid crystals. *J Saudi Chem Soc*. 2019;23(2):239-48.
26. Kamarudin NA, Muhamad N, Salleh NNH, Tan SC. Impact of solvent selection on phytochemical content, recovery of tannin and antioxidant activity of *Quercus infectoria* galls. *Pharmacogn J*. 2021;13(5):1195-204.
27. Phowichit S, Ratanachamnong P, Matsathit U, Usawawongaraya W. Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of crude extracts from *Piper ribesoides* and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern Thailand. *Res J Rajamangala Univ Technol Thanyaburi*. 2019;18(1):25-39. (in Thai)
28. Pratamyam P, Lairungruang K, Thimkorn P, Obhasi S, Sangvichien S. Antioxidant activities and total phenolic contents of Plook Fai Thatu remedy. *J Tradit Thai Med Res*. 2023;9(1):13-28. (in Thai)
29. Halim B, Syahputra RA, Adenin I, Lubis HP, Mendrofa F, Lie S, Nugraha SE. Determination of phytochemical constituent, antioxidant activity, total phenol and total flavonoid of extract ethanol *Phyllanthus emblica* fruit. *Pharmacogn J*. 2022;14(1):63-7.
30. Li PH, Wang CW, Lu WC, Song TY, Wang CC. Antioxidant, anti-inflammatory activities, and neuroprotective behaviors of *Phyllanthus emblica* L. fruit extracts. *Agriculture*. 2022;12(5):588.
31. Addina S, Harahap ES. Analysis of antioxidant activity of Balakka barks and fruits (*Phyllanthus emblica*) from South Tapanuli. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2023;1241(1):012098. IOP Publishing.
32. Booncharoen P, Thepnorat P, Akarasereenont P. The Medicinal Uses of *Phyllanthus emblica* L. (Indian gooseberry): An Evidence-Based. *Siriraj Medical Bulletin*. 2022;15(3):146-54. (in Thai)