บทที่ 5
บทสรุป

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสกัดใบฝรั่งจากพันธุ์ฝรั่งสองสายพันธุ์คือสายพันธุ์พื้นเมือง และสายพันธุ์เวียดนาม โดยสารสกัดแห้งที่ได้นั้นได้มาจากการนำใบฝรั่งมาทำการหมักโดยใช้ 50% ethanol in DI-water แล้วระเหยตัวทำละลาย และทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Vacuum oven ซึ่งให้ลักษณะของสารสกัดที่เป็นผงแห้งสีน้ำตาลเข้ม แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้จะดูดความชื้นจากอากาศ ทำให้เกิดการเยิ้มเหลว ไม่เหมาะสมในการนำไปใช้ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาเพื่อเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปโดยการเติมสารดูดความชื้นในกระบวนการทำให้แห้ง ได้เป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่ง งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาหาวิธีการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ quercetin ในสารสกัด และผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งด้วยเทคนิคทาง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ความถูกต้อง แม่นยำค่อนข้างสูง ซึ่งจากผลการวิจัยพบว่าสารสกัดใบฝรั่งสายพันธุ์พื้นเมืองจะมีปริมาณของสารสำคัญ quercetin มากกว่าสายพันธุ์เวียดนาม และฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันก็ให้ผลการทดลองที่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นสารสกัดที่ได้จากใบฝรั่งสายพันธุ์พื้นเมืองจึงมีคุณภาพดีกว่าใบฝรั่งสายพันธุ์เวียดนาม ในการวิจัยนี้ได้มีการพัฒนากระบวนการวิเคราะห์ หาเงื่อนไขในการแยกหรือ HPLC chromatographic condition ซึ่งจากผลการพัฒนาวิธีการได้รูปแบบการแยก (chromatogram profile/fingerprint) ที่สามารถแยก peak ของสารสำคัญ quercetin ได้อย่างชัดเจน (ซึ่งในการพัฒนาดังกล่าวได้ดัดแปลงมาจากงานวิจัยการหาปริมาณ querceitn ในสารสกัดใบแปะก๊วย) งานวิจัยนี้ได้พัฒนา chromatographic condition ที่สามารถแยก peak ของสารสำคัญ quercetin จากการฉีดสารละลายของสารสกัดใบฝรั่งออกจากกันรวมถึงการพิสูจน์ว่า peak ที่เกิดขึ้นคือสารสำคัญ quercetin ซึ่งเป็น peak identification ด้วย โดยเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิง quercetin (reference standard) และรูปแบบการดูดกลืนคลื่นแสง (PDA) โดยใช้เครื่อง diode-array ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ quercetin ในสารสกัด และผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่ง โดยทั่วไปนั้น กระบวนการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ จำเป็นที่จะต้องใช้สารมาตรฐานอ้างอิงเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ สารมาตรฐาน quercetin ที่มีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 98% มีจำหน่ายในราคาที่ไม่สูงมากนัก ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการสกัดสารสำคัญ ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ซื้อสารมาตรฐานอ้างอิง quercetin มาทำการวิจัย ไม่ได้แยกสกัดสาร quercetin จากสารสกัดใบฝรั่ง ถึงแม้ว่า chromatographic condition ที่พัฒนาขึ้นสามารถให้ chromatogram ของสารสกัดใบฝรั่ง peak ของสาร quercetin ที่แยกออกจากกันอย่างชัดเจนจากสารอื่น หากสารสำคัญนี้เกิดการสลายตัว (degradation) ภายใต้สภาวะต่าง ๆ แล้วเกิดสารใหม่ขึ้น สารที่เกิดขึ้นอาจเกิด peak ขึ้นบน chromatogram โดย peak ใหม่ที่เกิดขึ้นบน chromatogram อาจรบกวน

peak เดิมที่มีอยู่ งานวิจัยนี้ได้พิสูจน์ให้เห็นว่า chromatographic condition ที่พัฒนาขึ้นนอกจากสามารถแยก peak ของสารสำคัญ quercetin ออกจาก peak ของสารที่เกิดจากการสลายตัว และสารดูดความชื้น (Aerosil®) ที่เติมเข้าไปในขณะทำผลิตภัณฑ์ของสารสกัดใบฝรั่ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้เป็น stability-indicating assay (SIA) ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่เป็น SIA สามารถนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างสารสกัดและผลิตภัณฑ์ได้ นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการ validate วิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมาว่ามีความถูกต้อง (accuracy) ความแม่นยำ (precision) และมีความจำเพาะเจาะจง (specificity) สูง สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ quercetin ในสารสกัดและผลิตภัณฑ์ได้ ในการพัฒนาพืชสมุนไพรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ไม่ว่าจะใช้ทางการแพทย์หรือทางเกษตรกรรม จะต้องมีการกำหนดคุณภาพ หรือมาตรฐานของวัตถุดิบ และ/หรือผลิตภัณฑ์ เพื่อควบคุมให้วัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพดีเหมาะสมต่อการนำไปใช้ และสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ได้จริง โดยไม่เกิดอันตรายจากการใช้วัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้มาตรฐาน หัวข้อหนึ่งของการควบคุมคุณภาพคือการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ก่อนการนำไปใช้จริง เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าผลิตภัณฑ์นั้นยังคงมีปริมาณสารสำคัญ และมีคุณสมบัติต่าง ๆ ตรงตามข้อกำหนด จึงจะนับได้ว่าเหมาะสมแก่การนำไปใช้ และใช้ได้นานตลอดช่วงอายุ

สำหรับการทดสอบความคงตัวในงานวิจัยนี้ทำในสภาวะเร่ง โดยนำผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งไปไว้ในอุณหภูมิ 45, 60 และ 70 °C ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลา 0, 7, 15, 30, 45, 60, 76, 90, 105 และ 120 วัน ตามลำดับ ถ้าผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งมีปริมาณของสารสำคัญลดลงไม่เกิน 10% จากเวลาเริ่มต้น แสดงว่ามีคุณภาพตามข้อกำหนด สามารถกำหนดอายุการใช้ชั่วคราว (tentative shelf life) ไว้ 2 ปีที่อุณหภูมิห้องได้ จากผลการวิจัย ได้มีการเปรียบเทียบความคงตัวของสารสำคัญ quercetin ทั้งในสารสกัดและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่ง พบว่ามีความคล้ายคลึงกันในรูปแบบการสลายตัว โดยมีค่าคงที่การสลายตัวในแต่ละอุณหภูมิที่ศึกษา และค่า energy of activation ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามจะพบ lag time ของการสลายตัวในผลิตภัณฑ์ของสารสกัด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเตรียมสารสกัดในรูปของผลิตภัณฑ์ในการวิจัยนี้ อาจช่วยยืดระยะเวลาก่อนเกิดการสลายตัวของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ได้ในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งอาจเกิดจากสารผสมที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ซึ่งจะช่วยลดการดูดซับความชื้นของสารสกัดไว้ได้ระดับหนึ่ง ทำให้ลดปริมาณความชื้นที่ถูกดูดซับโดยผลิตภัณฑ์ลงเมื่อเทียบกับสารสกัด อีกทั้งช่วยให้มีความคงตัวทางกายภาพดีขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์ต่อไป อาจเป็นวิธีการซึ่งเป็นไปได้ในการช่วยให้มี lag time ของการสลายตัวนานขึ้น โดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำ ๆ เช่น การผลิตในรูปของ granule ซึ่งอาจเติมสารอื่น ๆ ที่มีความเหมาะสม และสามารถป้องกันความชื้นได้ เป็นต้น ซึ่งอาจช่วยป้องกันการสลายตัวของผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น

เนื่องจากตัวอย่างที่ศึกษาเป็นสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยทั่วไปแล้วในสารสกัดจากธรรมชาติจะประกอบด้วยองค์ประกอบของสารหลายชนิด ไม่ใช่สารบริสุทธิ์ชนิดเดียว หรือ homogeneous system ดังนั้นจึงเป็นเรื่องยากในการที่กำหนดตัวแปรที่จะใช้ศึกษากลไกการสลายตัวที่แท้จริงของสารสำคัญในสารสกัดสมุนไพร อย่างไรก็ตามแม้ว่าในการทดลองนี้ได้ติดตามปริมาณของสารสำคัญ quercetin ซึ่งเป็นเพียงสารสำคัญ (marker) ตัวหนึ่งในสารสกัดเท่านั้น แต่พบว่ายังมีสารสำคัญอื่นอีกหลายตัวที่ยังคงมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น สารกลุ่ม polyphenolic compounds เป็นต้น ดังนั้นการดูผลจากการสลายตัวของสารสำคัญ quercetin เพียงอย่างเดียวอาจไม่ใช่ตัวกำหนดอายุที่แท้จริงของสารสกัด ควรต้องมีการติดตามฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันหรือฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดควบคู่ไปพร้อมกันด้วย ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการศึกษาในฤทธิ์ดังกล่าวด้วยทั้งในสารสกัด และผลิตภัณฑ์ของสารสกัดใบฝรั่ง ซึ่งการหาฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันทำโดยใช้วิธี DPPH-scavenging Assay ซึ่งให้ผลการวิจัยตามที่ได้อธิบายในบทที่แล้ว นอกจากนี้ สารสกัด และผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งนั้นยังไม่มีการประกาศข้อกำหนดในเรื่องของคุณภาพ และมาตรฐานโดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เป็นวัตถุดิบ ดังนั้นเพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมสมุนไพรที่อยู่ในรูปของสารสกัด จึงมีความจำเป็นที่จะต้องกำหนดปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ให้เป็นมาตรฐาน เพื่อการนำไปใช้ในแต่ละครั้งจะได้มีมาตรฐานที่เหมือน หรือเท่ากัน ซึ่งตรงตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้