246722

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246722

DBG4980013 รศ.ดร. ศิริพร โอโกโนกิ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
THE THAILAND RESEARCH FUND

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มคุณภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย ด้วยนาโนเทคโนโลยีโดยใช้กากเหลือใช้ในประเทศเป็นสารช่วย

Quality Improvement of Thai Medicinal Plant Extract via Nanotechnology by Using the Local Waste as Excipient

โดย รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร โอโกโนกิ และคณะ

เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2553

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246722

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
THE THAILAND RESEARCH FUND

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มคุณภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย ด้วยนาโนเทคโนโลยีโดยใช้กากเหลือใช้ในประเทศเป็นสารช่วย

Quality Improvement of Thai Medicinal Plant Extract via Nanotechnology by Using the Local Waste as Excipient

โดย รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร โอโกโนกิ และคณะ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2553

สัญญาเลขที่ DBG4980013

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มคุณภาพของสารสกัดสมุนไพรไทย ด้วยนาโนเทคโนโลยีโดยใช้กากเหลือใช้ในประเทศเป็นสารช่วย

คณะผู้วิจัย สังกัด

1. รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. รศ. ดร. สมบัติ เชาวนพูนผล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. อ. ดร. สุกัญญา เตชกิตติรุ่งโรจน์ คณะการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต
4. นายวิทยาพันธ์ นันติตานนท์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย

สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		i
Executive Summary		ii
สารบัญตาราง		vi
สารบัญรูปภาพ		x
บทคัดย่อภาษาไทย		xv
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		xvii
บทที่		
1.	บทนำ	1
2.	การทดลอง	9
3.	ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล	40
4.	สรุปผลการทดลอง	156
เอกสารอ้างอิง		159
ภาคผนวก ก	Standard curve ของ Trolox	168
ภาคผนวก ข	Standard curve ของ $FeSO_4$	170
ภาคผนวก ค	Standard curve ของ Gallic Acid	172
ภาคผนวก ง	Reprint เรื่อง Antioxidant active principles isolated from *Psidium guajava* grown in Thailand	174
ภาคผนวก จ	Reprint เรื่อง Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract	190

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับโครงการวิจัยนี้ ภายใต้ทุนวิจัยพื้นฐานแบบมุ่งเป้า สมุนไพร ยารักษาโรค สารเสริมสุขภาพและสารสำหรับการผลิตอาหารปลอดภัย พ.ศ. 2549

Executive Summary

ชื่อโครงการ การเพิ่มคุณภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยด้วยนาโนเทคโนโลยี โดยใช้กากเหลือใช้ในประเทศเป็นสารช่วย
(Quality Improvement of Thai Medicinal Plant Extract via Nanotechnology by Using the Local Waste as Excipient)

ชื่อหัวหน้าโครงการ รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1 เพื่อพัฒนามาตรฐานสารสกัดสมุนไพรที่ให้ฤทธิ์ตามต้องการ
2 เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรโดยนาโนเทคโนโลยี
3 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ให้สารสกัดสมุนไพรโดยนาโนเทคโนโลยี

สิ่งที่ได้ดำเนินและที่ค้นพบ

โครงการวิจัยนี้ได้เริ่มทำการวิจัยโดยการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อสารสกัดใบฝรั่ง ได้แก่ ปัจจัยจากขบวนการทำให้แห้ง วิธีการสกัด และอายุของใบฝรั่ง ด้านปัจจัยจากขบวนการทำให้แห้งได้ศึกษารวมถึงการทำ pretreatment ใบฝรั่งด้วย ได้แก่การลวกหรือไม่ลวก และการอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ ด้านปัจจัยจากวิธีการสกัด ได้ทำการศึกษาหลายวิธี ได้แก่ วิธี Maceration extraction, Stirring extraction, Sonication extraction, Soxhlet extraction และ Microwave extraction ส่วนด้านปัจจัยจากอายุของใบฝรั่ง ได้แบ่งใบฝรั่งเป็น 3 กลุ่มอายุ ได้แก่ใบที่มีอายุอ่อน อายุปานกลาง และอายุแก่ ผลการวิจัยพบว่าขบวนการทำให้แห้งที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือการลวกใบฝรั่งก่อนแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส วิธีการสกัดที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดและทำได้รวดเร็วที่สุดคือวิธี Sonication extraction และการใช้ Ethanol 95% เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารสกัดหยาบของใบฝรั่งจะได้สารสกัดที่มีปริมาณ

และฤทธิ์ดีกว่าการใช้ Absolute ethanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด ใบฝรั่งที่มีอายุอ่อนให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ใบที่มีอายุปานกลางและอายุแก่มีฤทธิ์ Antioxidant ใกล้เคียงกัน

ได้ทำการเตรียมสารสกัดแยกส่วนเพื่อทำให้ได้สารสกัดที่บริสุทธิ์มากขึ้น จากการเตรียมสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่ง โดยใช้ตัวทำละลายต่างขั้ว เริ่มต้นจากที่มีขั้วน้อยที่สุดไปสู่ที่มีขั้วมากที่สุด คือ n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol, Methanol และ น้ำกลั่นตามลำดับ พบว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่แยกได้จาก Ethanol และ Methanol ให้ฤทธิ์ Antioxidant สูงกว่าที่ได้จากตัวทำละลายชนิดอื่น ได้ทำการพัฒนาสภาวะ HPLC เพื่อสร้าง HPLC Finger print ของสารสกัดแยกส่วนจากใบฝรั่ง เพื่อใช้ในการควบคุมมาตรฐานของสารสกัด จาก Finger print ของสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่แยกได้จาก Ethyl acetate พบว่ามี Quercetin ในปริมาณมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดแยกส่วนจาก Butanol, Ethanol และ Methanol ตามลำดับ สารสกัดแยกส่วนจาก Hexane ไม่มี Quercetin ผลการทดลองนี้ทำให้พิจารณาได้ว่าในใบฝรั่งนอกจาก Quercetin แล้ว ยังมีสารออกฤทธิ์ตัวอื่น ๆ อีกหลายชนิดอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อทำการทดลองยืนยันผล พบว่าสารตัวอื่น ๆ เหล่านั้นได้แก่ Gallic acid และ Ellagic acid

ก่อนถึงขั้นตอนการเตรียมอนุภาคนาโน ได้ทำการศึกษาสมบัติเคมีกายภาพเบื้องต้นของสารสกัดส่วนที่คัดเลือกเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Quercetin ได้แก่สมบัติการละลายและพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งมีสมบัติการละลายที่ค่อนข้างแตกต่างจากสารมาตรฐาน Quercetin อีกทั้งมีพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อนที่แตกต่างกัน ผลการทดลองนี้ทำให้พิจารณาสกัดสารบริสุทธิ์ Quercetin ออกจากใบฝรั่งเพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นอนุภาคนาโนต่อไป

ได้ทำการศึกษาเตรียมอนุภาคนาโนของสารออกฤทธิ์ของใบฝรั่ง คือ Quercetin ซึ่งต่อไปนี้อาจเรียกว่า “สารสำคัญ” ได้พิจารณาใช้ไคโตซานเป็นสารช่วยหลักในการก่ออนุภาคนาโน ได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของอนุภาคนาโนเช่น ขนาด การกระจายขนาด zeta potential และประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญ โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ปัจจัยจากไคโตซานที่มีความแตกต่างกันในด้าน molecular weight (MW) และ degree of deacetylation (DD) รวมถึงแหล่งที่มาของไคโตซาน เช่นจากสัตว์ต่างชนิดกัน นอกจากนั้นยังศึกษาถึงปัจจัยจากขบวนการเตรียมอนุภาคนาโน เช่น ระบบตัวทำละลาย ความเข้มข้นของอัลจิเนต และลำดับการเติมสารต่าง ๆ

การวิจัยพบว่าปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้มีผลต่อสมบัติเคมีกายภาพของอนุภาคนาโนทั้งสิ้น การศึกษาปัจจัยด้านลำดับการเติมสารเพื่อให้เกิดอนุภาคนาโน พบว่าการผสมสารละลายอัลจิเนตเข้ากับสารละลายของสารสำคัญก่อน แล้วจึงเติมสารละลายของ calcium chloride และสารละลายของไคโตซานตามลงไปตามลำดับ จะทำให้ได้อนุภาคนาไคโตซานที่มีสมบัติเหมาะสมที่สุด กล่าวคือมีขนาดเล็กและการกระจายขนาดน้อยที่สุด

การศึกษาปัจจัยด้านไคโตซาน ได้เลือกศึกษาไคโตซานจากสัตว์ 3 ชนิด คือกุ้ง (จากส่วนเปลือก) ปู (จากส่วนกระดอง) ปลาหมึก (จากส่วนแกนภายในลำตัว) พบว่าไคโตซานชนิดโอลิโกเมอร์ที่ได้จากเปลือกกุ้งเป็นชนิดที่เหมาะสมที่สุด ไคโตซานที่มี MW ต่ำ สามารถเตรียมอนุภาคนาโนได้ดีกว่าที่มี MW สูง โดยจะให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าแต่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญได้มากกว่า นอกจากนั้นไคโตซานที่มี DD ต่ำจะให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กกว่า แต่มีประสิทธิภาพการกักเก็บน้อยกว่าไคโตซานที่มี DD สูง แต่ทั้ง MW และ DD ของไคโตซานไม่มีผลต่อ zeta potential ของอนุภาคที่เตรียมได้ นอกจากนั้นการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ จะทำให้ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นแต่ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดลดลง การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เห็นชัดเจนในไคโตซานที่มี DD ต่ำมากกว่าไคโตซานที่มี DD สูง

จากผลการศึกษาข้างต้นทั้งหมดเกี่ยวกับปัจจัยจากไคโตซาน จึงได้พิจารณาเลือกไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่มี MW 15000 และ DD 95% เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

ในขั้นตอนต่อไปได้ศึกษาปัจจัยที่เกิดจากระบบตัวทำละลาย ได้ทำการศึกษาระบบตัวทำละลาย 4 ระบบ คือ water-DMSO, water-PEG, water-PG, และ water-Tween ผลการทดลองพบว่าระบบตัวทำละลายมีผลต่อขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาค รวมทั้งประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อ zeta potential ของอนุภาค ระบบตัวทำละลายที่ให้ผลดีที่สุดในการกักเก็บสารสำคัญ คือระบบ water-PEG โดยที่ระบบนี้เป็นระบบที่ให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กที่สุดและมีการกระจายขนาดน้อยที่สุดที่ยังคงให้ประสิทธิภาพการกักเก็บมากที่สุด

ปัจจัยสุดท้ายที่ทำการศึกษาคือความเข้มข้นของอัลจิเนต ผลการทดลองพบว่าอัลจิเนตมีผลต่อ zeta potential ของอนุภาคที่เตรียมได้ เมื่อปริมาณอัลจิเนตเพิ่มขึ้นจะทำให้ zeta potential ของอนุภาคเป็นลบมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจะมีผลทำให้อนุภาคนาโนมีโอกาสเกิด aggregation น้อยลง สามารถแขวนลอยตัวได้นานขึ้น และมีความคงสภาพดีขึ้น ผลของอัลจิเนต

ต่อขนาดและประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคต้องพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่น ๆ เช่นความเข้มข้นของสารสำคัญและระบบตัวทำละลาย เป็นต้น

ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซานชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโน ผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนของไคโตซานแต่ละชนิด สามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ในระดับที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับ MW และ DD ของไคโตซาน พบว่าไคโตซานที่มี DD ต่ำ จะปลดปล่อยสารสำคัญช้ากว่าที่มี DD สูง และไคโตซานที่มี MW ต่ำ จะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้เร็วกว่าที่มี MW สูง นอกจากนั้นผลการทดลองนี้ยังสรุปได้อีกว่า อนุภาคนาโนของอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีสมบัติละลายน้ำได้ดีกว่าจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากกว่า

ได้ทำการศึกษาด้านความคงตัวโดยนำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบมาบรรจุในภาชนะสองชนิด คือที่กันแสงได้และกันแสงไม่ได้ จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้มีความคงสภาพทางเคมีกายภาพดี และสามารถรักษาความคงตัวของสารสำคัญไว้ได้ดีในระดับหนึ่ง สารสำคัญที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเป็นแบบ First order kinetic degradation อนุภาคนาโนไคโตซานสามารถเพิ่มความคงตัวให้สารสำคัญได้โดยการกักเก็บสารสำคัญไว้ภายในอนุภาค การสลายตัวของสารสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซานยังคงเป็นแบบ First order kinetic degradation แต่มี Degradation rate constant ต่ำกว่าที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนอย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่า โครงการวิจัยนี้สามารถเพิ่มคุณภาพและสร้างมาตรฐานให้สารสกัดใบฝรั่ง HPLC finger print ที่สร้างขึ้นมาสามารถใช้เป็นตัวควบคุมมาตรฐานของสารสกัดได้เป็นอย่างดี และสามารถเพิ่มความคงสภาพสารสำคัญของใบฝรั่งด้วยหลักการของนาโนเทคโนโลยี นอกจากนั้นการที่โครงการสามารถนำไคโตซานจากเปลือกกุ้งซึ่งเป็นของเหลือใช้และผลิตในประเทศมาเป็นสารช่วยให้เกิดอนุภาคนาโนกักเก็บสารสำคัญของใบฝรั่งได้สำเร็จ จึงสามารถสรุปได้ว่าโครงการนี้เป็นโครงการที่นอกจากจะแสดงถึงความสามารถในการเพิ่มคุณภาพและมาตรฐานให้กับสมุนไพรไทยแล้ว ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับกากของเหลือใช้ในประเทศได้อีกด้วย ซึ่งเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของโครงการที่ตั้งไว้ทุกประการ

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	รายละเอียดของ mobile phase ที่ใช้	24
3-1	อิทธิพลของขบวนการทำให้แห้งต่อ % yield และ TPC ของสารสกัด	43
3-2	อิทธิพลของขบวนการทำให้แห้งต่อค่า TEAC และ EC ของสารสกัด	43
3-3	อิทธิพลของวิธีสกัดต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด เมื่อใช้ Absolute Ethanol เป็นตัวทำละลาย	47
3-4	อิทธิพลของวิธีสกัดต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด เมื่อใช้ 95% Ethanol เป็นตัวทำละลาย	48
3-5	อิทธิพลของอายุต่อปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด	51
3-6	ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุอ่อน	54
3-7	ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุปานกลาง	55
3-8	ปริมาณและฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดแยกส่วนของใบที่มีอายุแก่	55
3-9	ปริมาณและสาร Antioxidant ที่พบในสารสกัดหยาบใบฝรั่ง	64
3-10	สมบัติการละลายของสารสกัด/Quercetin เมื่อตัวทำละลายที่เป็นของเหลว	66
3-11	สมบัติการละลายของสารสกัด/Quercetin เมื่อตัวทำละลายที่เป็นของแข็ง	67
3-12	NMR attribution ของ Quercetin และ ผงที่สกัดได้	72
3-13	ผลการเตรียมอนุภาคของไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ	74
3-14	ผลของลำดับการเติมสารละลายต่ออนุภาค	77
3-15	ผลของ MW ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค	81
3-16	ผลของ MW ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค	81
3-17	ผลของ MW ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค	82
3-18	ผลของ MW ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค	82
3-19	ผลของ DD ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค	88
3-20	ผลของ DD ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค	89

ตารางที่ **หน้า**

3-21 ผลของ DD ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค 89

3-22 ผลของ DD ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค 89

3-23 ผลของระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาค 95

3-24 ผลของระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาค 96

3-25 ผลของระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาค 96

3-26 ผลของระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค 97

3-27 ผลของอัลจิเนตต่ออนุภาคนาโนที่ไม่มี Quercetin 107

3-28 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin 107

3-29 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาด 107
ของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin

3-30 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential 109
ของอนุภาคที่ไม่มี Quercetin

3-31 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อขนาด 109
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-32 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาด 109
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-33 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential 110
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-34 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บ 110
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-35 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อขนาด 110
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-36 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาด 111
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3-37 ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential 111
ของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ **หน้า**

3-38	ผลของอัลจิเนตและระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคที่มี Quercetin 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	111
3-39	พฤติกรรมการละลายของ Quercetin ในเวลาต่าง ๆ	125
3-40	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกจากอนุภาคชนิดต่าง ๆ	126
3-41	ปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บในที่ถูกแสง	130
3-42	ปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บในที่ไม่ถูกแสง	130
3-43	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#1 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง	132
3-44	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#1 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง	132
3-45	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#2 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง	133
3-46	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#2 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง	133
3-47	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#3 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง	134
3-48	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#3 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง	134
3-49	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#4 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ถูกแสง	135
3-50	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกกักเก็บในอนุภาค CS#4 ที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสง	135
3-51	สมการและค่า correlation coefficient (r^2) ของการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ถูกแสง	144

ตารางที่ **หน้า**

3-52	สมการและค่า correlation coefficient (r^2) ของการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ไม่ถูกแสง	144
3-53	Degradation rate constant ในการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ถูกแสง	145
3-54	Degradation rate constant ในการสลายตัวของ Quercetin เมื่อเก็บในที่ไม่ถูกแสง	145
3-55	ขนาดของอนุภาคชนิด CS#1 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	147
3-56	ขนาดของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	148
3-57	ขนาดของอนุภาคชนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	149
3-58	ขนาดของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	150
3-59	Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#1 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	151
3-60	Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	152
3-61	Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	153
3-62	Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ	154
3-63	ปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในเวลาต่าง ๆ	155

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1-1	ลักษณะยอดอ่อนและใบอ่อนของฝรั่ง	3
1-2	ลักษณะใบสมบูรณ์อายุปานกลางของฝรั่ง	3
1-3	ลักษณะใบแก่จัดของฝรั่ง	3
1-4	ลักษณะดอกของฝรั่ง	4
1-5	ลักษณะผลดิบของฝรั่ง	4
1-6	ลักษณะผลสุกของฝรั่ง	4
2-1	การลวกใบฝรั่ง	13
2-2	การอบใบฝรั่ง	14
2-3	การผึ่งใบฝรั่ง	14
2-4	การบดใบฝรั่ง	14
2-5	ลักษณะใบอ่อนที่ใช้ในการวิจัย	19
2-6	ลักษณะใบที่มีอายุปานกลางที่ใช้ในการวิจัย	19
2-7	ลักษณะใบแก่ที่ใช้ในการวิจัย	19
2-8	ไคโคซานจากกุ้งชนิดโอลิโกเมอร์ (1)	28
2-9	ไคโตซานจากกุ้งชนิดโพลีเมอร์	28
2-10	ไคโคซานจากปูชนิดโอลิโกเมอร์	29
2-11	ไคโตซานจากปูชนิดโพลีเมอร์	29
2-12	ไคโคซานจากปลาหมึกชนิดโพลิเมอร์	29
2-13	ไคโตซานจากกุ้งชนิดโอลิโกเมอร์ (2)	29
2-14	โครงสร้างทางเคมีของ HGC	39
3-1	ลักษณะใบลวกที่ผ่านการผึ่ง	41
3-2	ลักษณะใบลวกที่ผ่านการอบ	41

รูปที่ **หน้า**

3-3 ลักษณะใบสดที่ผ่านการอบ 41

3-4 ลักษณะใบลวกที่ผ่านการผึ่ง 42

3-5 ลักษณะผงใบฝรั่งที่ผ่านการบด 42

3-6 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งที่ใช้ขบวนการทำให้แห้งแตกต่างกัน 44

3-7 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งที่ใช้ขบวนการทำให้แห้งแตกต่างกัน 45

3-8 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Absolute Ethanol 49

3-9 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Ethanol 95% 49

3-10 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Absolute Ethanol 50

3-11 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งจาก Ethanol 95% 50

3-12 ลักษณะสารสกัดจากใบฝรั่ง 51

3-13 เปรียบเทียบค่า TEAC ของสารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุแตกต่างกัน 52

3-14 เปรียบเทียบค่า EC ของสารสกัดใบฝรั่งที่มีอายุแตกต่างกัน 52

3-15 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุอ่อน 56

3-16 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุปานกลาง 57

3-17 ค่า TEAC และ EC ของสารสกัดแยกส่วนใบฝรั่งที่มีอายุแก่ 58

3-18 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก n-Hexane 59

3-19 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Ethyl acetate 60

3-20 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก n-Butanol 61

3-21 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Ethanol 62

3-22 HPLC chromatogram ของสารสกัดแยกส่วนจาก Methanol 63

3-23 HPLC chromatogram ของสารมาตรฐาน Quercetin 64

3-24 DSC Thermogram ของสารสกัด 67

3-25 DSC Thermogram ของ Quercetin 67

3-26 ลักษณะผงที่สกัดได้ 68

3-27 IR spectra ของสารที่สกัดได้ 69

รูปที่ **หน้า**

3-28 ^{1}H-NMR spectra ของ สารที่สกัดได้ 70

3-29 ^{13}C -NMR spectra ของสารที่สกัดได้ 71

3-30 สูตรโครงสร้าง ของ Quercetin 72

3-31 ลักษณะ (side view) ของอนุภาคที่ได้จากไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ 75

3-32 ลักษณะ (top view) ของอนุภาคที่ได้จากไคโตซานจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ 76

3-33 อิทธิพลของลำดับการเติมต่อขนาดของอนุภาค 78

3-34 อิทธิพลของลำดับการเติมต่อการกระจายขนาดของอนุภาค 78

3-35 แสดงอิทธิพลของลำดับการเติมต่อ Zeta potential ของอนุภาค 79

3-36 ผลของ MW ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค 83

3-37 ผลของ MW ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค 84

3-38 ผลของ MW ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค 85

3-39 ผลของ MW ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค 86

3-40 ลักษณะของอนุภาคที่มองเห็นด้วยตาเปล่าเมื่อใช้ไคโตซานที่มี MW แตกต่างกัน 87

3-41 ผลของ DD ของไคโตซานต่อขนาดของอนุภาค 90

3-42 ผลของ DD ของไคโตซานต่อการกระจายขนาดของอนุภาค 91

3-43 ผลของ DD ของไคโตซานต่อ Zeta potential ของอนุภาค 92

3-44 ผลของ DD ของไคโตซานต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค 93

3-45 ผลของระบบตัวทำละลายต่อขนาดของอนุภาค 98

3-46 ผลของระบบตัวทำละลายต่อการกระจายขนาดของอนุภาค 99

3-47 ผลของระบบตัวทำละลายต่อ Zeta potential ของอนุภาค 100

3-48 ผลของระบบตัวทำละลายต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาค 101

3-49 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO 102

3-50 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG 103

3-51 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG 104

3-52 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween 105

รูปที่ **หน้า**

3-53 ผลของอัลจิเนตต่อสมบัติของอนุภาคเปล่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย 108
3-54 ผลของอัลจิเนตต่อขนาดของอนุภาคในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ 112
3-55 ผลของอัลจิเนตต่อการกระจายขนาดของอนุภาคในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ 113
3-56 ผลของอัลจิเนตต่อ Zeta Potential ของอนุภาคในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ 114
3-57 ผลของอัลจิเนตต่อประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ 115
3-58 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO เมื่อไม่ผ่านลำแสง 116
3-59 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-DMSO เมื่อผ่านลำแสง 117
3-60 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG เมื่อไม่ผ่านลำแสง 118
3-61 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PEG เมื่อผ่านลำแสง 119
3-62 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG เมื่อไม่ผ่านลำแสง 120
3-63 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-PG เมื่อผ่านลำแสง 121
3-64 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween เมื่อไม่ผ่านลำแสง 122
3-65 ลักษณะของอนุภาคในระบบตัวทำละลาย Water-Tween เมื่อผ่านลำแสง 123
3-66 พฤติกรรมการละลายของ Quercetin ในเวลาต่าง ๆ 125
3-67 พฤติกรรมการปลดปล่อย Quercetin ออกจากอนุภาคนาโนชนิดต่าง ๆ 127
3-68 ปริมาณ Quercetin ที่ไม่ถูกกักเก็บที่เหลืออยู่ในเวลาต่าง ๆ 131
3-69 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 136
3-70 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 137
3-71 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 138
3-72 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 139
3-73 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 140
3-74 ปริมาณ Quercetin ที่เหลืออยู่ เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 141
3-75 Degradation kinetic ของ Quercetin เมื่อเก็บที่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 142
3-76 Degradation kinetic ของ Quercetin เมื่อเก็บที่ไม่ถูกแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 143
3-77 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#1 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 147

รูปที่ **หน้า**

3-78 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 148
3-79 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 149
3-80 เปรียบเทียบขนาดของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 150
3-81 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#1 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 151
3-82 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#2 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 152
3-83 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#3 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 153
3-84 เปรียบเทียบ Zeta Potential ของอนุภาคชนิด CS#4 ที่เก็บไว้ในเวลาต่าง ๆ 154
3-85 เปรียบเทียบปริมาณ Quercetin ที่ถูกปลดปล่อยออกมาในเวลาต่าง ๆ 155

บทคัดย่อ

246722

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มคุณภาพให้สมุนไพรไทยที่มีศักยภาพโดยอาศัยนาโนเทคโนโลยี พืชสมุนไพรที่ถูกเลือกมาศึกษาในโครงการนี้คือฝรั่ง โดยใช้ส่วนของใบในการศึกษาตลอดโครงการเนื่องจากมีรายงานว่าใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง

การวิจัยได้เริ่มโดยการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อสารสกัดใบฝรั่ง ได้แก่ ปัจจัยจากขบวนการทำให้แห้ง วิธีการสกัด และอายุของใบฝรั่ง ผลการทดลองด้านปัจจัยจากขบวนการทำให้แห้งโดยสภาวะต่าง ๆ พบว่าขบวนการทำให้แห้งที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือการลวกใบฝรั่งก่อนแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ด้านปัจจัยจากวิธีการสกัด ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีสกัด 5 วิธี ได้แก่ วิธี Maceration extraction, Stirring extraction, Sonication extraction, Soxhlet extraction และ Microwave extraction ผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดและทำได้รวดเร็วที่สุดคือวิธี Sonication extraction สำหรับปัจจัยด้านอายุของใบฝรั่ง พบว่าใบฝรั่งที่มีอายุอ่อนให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด

ได้ทำการเตรียมสารสกัดแยกส่วนเพื่อทำให้ได้สารสกัดที่บริสุทธิ์มากขึ้น จากการเตรียมสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่ง โดยใช้ตัวทำละลายต่างขั้ว เริ่มต้นจากที่มีขั้วน้อยที่สุดไปสู่ที่มีขั้วมากที่สุด คือ n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol, Methanol และ น้ำกลั่นตามลำดับ พบว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่แยกได้จาก Ethanol และ Methanol ให้ฤทธิ์ Antioxidant สูงกว่าที่ได้จากตัวทำละลายชนิดอื่น ได้ทำการพัฒนาสภาวะ HPLC เพื่อสร้าง HPLC Finger print ของสารสกัดแยกส่วนจากใบฝรั่ง เพื่อใช้ในการควบคุมมาตรฐานของสารสกัด จาก Finger print ของสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่แยกได้จาก Ethyl acetate พบว่ามี Quercetin ในปริมาณมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดแยกส่วนจาก Butanol, Ethanol และ Methanol ตามลำดับ สารสกัดแยกส่วนจาก Hexane ไม่มี Quercetin ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า Quercetin เป็นสาร Antioxidant หลักในใบฝรั่ง แต่ยังมีสาร Antioxidant ตัวอื่นร่วมอยู่ด้วยอย่างน้อย 2 ชนิด ได้แก่ Gallic acid และ Ellagic acid ได้ทำการศึกษาสมบัติการละลายและพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งมีสมบัติการละลายที่ค่อนข้างแตกต่างจากสารมาตรฐาน Quercetin อีกทั้งมีพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อนที่แตกต่างกัน ผลการทดลอง

246722

นี้ทำให้พิจารณาสกัดสารบริสุทธิ์ Quercetin ออกจากใบฝรั่งเพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นอนุภาคนาโนแทนสารสกัดแยกส่วนต่อไป

ในการศึกษาเตรียมอนุภาคนาโนของสารออกฤทธิ์ของใบฝรั่ง คือ Quercetin ซึ่งต่อไปนี้อาจเรียกว่า "สารสำคัญ" ได้พิจารณาใช้ไคโตซานเป็นสารช่วยหลักในการก่ออนุภาคนาโน ได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของอนุภาคนาโน ผลการทดลองพบว่าชนิดของไคโตซานและสภาวะของขบวนการก่ออนุภาคมีผลต่อ ขนาด การกระจายขนาด zeta potential และประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ พบว่าไคโตซานที่ได้จากเปลือกกุ้งเหมาะสมที่สุดในการนำมาเตรียมอนุภาคนาโน ไคโตซานที่มี MW ต่ำสามารถเตรียมอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าและมีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญมากกว่าที่มี MW สูง ไคโตซานที่มี DD ต่ำสามารถเตรียมอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าแต่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญน้อยกว่าที่มี DD สูง ได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ ผลการทดลองพบว่าความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้ก็ขึ้นกับ MW และ DD ของไคโตซานเช่นกัน ไคโตซานที่มี MW สูงจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้น้อยและช้ากว่าที่มี MW ต่ำ และไคโตซานที่มี DD สูงจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากและเร็วกว่าที่มี DD ต่ำ นอกจากนั้นยังพบว่าความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญของอนุภาคนาโนยังขึ้นกับสมบัติการละลายของไคโตซานด้วย ได้ศึกษาความคงสภาพของอนุภาคนาโนและสาระสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคโดยเก็บตัวอย่างไว้ในสภาวะถูกแสงและไม่ถูกแสงและที่อุณหภูมิต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้มีความคงสภาพดีเมื่อเก็บในสภาวะต่าง ๆ ส่วนสารสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนมีความคงสภาพมากกว่าที่ไม่ถูกกักเก็บ พบว่าสารสำคัญเกิดการสลายตัวเร็วขึ้นเมื่อเก็บที่สภาวะอุณหภูมิสูงและถูกแสง

โครงการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการพัฒนาคุณภาพให้กับสารสกัดใบฝรั่งและสามารถรักษาความคงสภาพให้กับสารสำคัญออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากใบฝรั่งโดยอาศัยนาโนเทคโนโลยีได้

คำสำคัญ: สารต้านออกซิเดชัน ใบฝรั่ง พืชสมุนไพร ไคโตซาน กากเหลือใช้ อนุภาคนาโน

ABSTRACT

246722

This research project is aimed to improve the quality of the potential Thai medicinal plant extract by using the principle of nanotechnology. Guava (*Psidium guajava*) was selected as the potential plant used in this study. The part of guava plant used in the whole study was the leaf because it was reported that guava leaves possess high antioxidant activity.

The research work started from the study of factors that might influence physicochemical properties of guava leaf extract i.e. drying process, method of extraction, and leaf age. Drying process with various conditions was applied to the fresh guava leaf samples. The result indicated that blanching of fresh guava leaves followed by drying at 50 $^{\circ}$C for 20 h was the best drying condition that yielded the extract with the highest antioxidant activity. Five extraction methods; maceration extraction, stirring extraction, sonication extraction, soxhlet extraction, and microwave extraction were compared and the results demonstrated that guava leaf extract obtained from the sonication extraction possessed the highest antioxidant activity. Among three age of guava leaves, it was found that the youngest leaves gave the highest antioxidant activity.

Fractionated extraction was carried out to obtain the extract with higher purity. Five different solvents; n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, ethanol, methanol, and water were used as extracting solvents with lower to higher polarity respectively. The results showed that guava leaf fractionated extracts obtained from ethanol and methanol possessed higher antioxidant activity than the others. The suitable condition of HPLC was investigated for developing the HPLC finger print of the fractionated extracts. The result from the finger prints obtained indicated that the fractionated extract from ethyl acetate possessed the highest amount of quercetin followed by that from butanol, ethanol, and methanol, respectively. It was found that the fractionated extract from hexane contained no quercetin. The results from this study also revealed that beside quercetin, there were at least 2 other antioxidant compounds; gallic acid and ellagic acid existing in the guava leaves.

246722

The solubility and thermal behavior of the fractionated extract was quite different from the standard quercetin. Hence, quercetin extracted from the samples was considered to be used for further study instead of the fractionated extract. The development of chitosan nanoparticles was performed and quercetin was used as an active ingredient. Factors that might affect the physicochemical properties of the nanoparticles were investigated. The results indicated that chitosan type and the conditions concerning in nanoparticles forming process influenced the size, size distribution, zeta potential, and entrapment efficiency of the nanoparticles obtained. It was found that chitosan from shrimp was the most suitable for developing the desirable nanoparticles. Chitosan with lower MW could produce nanoparticles with smaller size and higher entrapment efficiency that those with higher MW. Moreover, the result showed that chitosan with lower DD gave the nanoparticles with smaller size but lower entrapment efficiency that those with higher DD. The release study was performed and the results exhibited that the release characteristic of the obtained nanoparticles was depended on the MW and DD of chitosan. It was found that the nanoparticles from chitosan with lower MW could release the active constituent faster and higher amount than those with higher MW. Moreover, the nanoparticles with higher DD could release the active constituent faster and higher amount than those with lower DD. The stability study of the samples was performed under various temperatures with light and no light conditions. The results demonstrated that quercetin loaded nanoparticles prepared were physicochemical stable under all tested condition. Quercetin entrapped in the nanoparticles was more stable than the non-entrapped quercetin. It was found that quercetin was more rapidly degradable in conditions with high temperature and light exposal.

This research project showed the achievement how the quality of guava leaf extract could be improved and the antioxidant compound from guava leaves could be stabilized via nanotechnology.

Keywords: Antioxidant, guava leaves, Medicinal plant, chitosan, waste, nanoparticles