

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง
ในเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600

ผู้วิจัย

สังกัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัย โดยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2555 และมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่สนับสนุนสถานที่ รวมถึงครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้

ผศ. ดร. สุนีย์ จันสกา ว คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำแนะนำให้การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

ดร. อภิรดา สุคนธ์พันธุ์ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่กรุณาทดสอบความเป็นพิษในเซลล์

และ ผศ. ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล ที่ให้คำปรึกษาในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ผลงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ในการเผยแพร่ทั้งในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำยาง โดยการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการประยุกต์ใช้เมล็ดยางพาราในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางซึ่งนอกจากจะเป็นการผลิตวัตถุดิบในเครื่องสำอางได้ในประเทศแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นต่อไป

ผู้วิจัย

กรกฎาคม 2556

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการ ฤทธิ์ทางชีวภาพและกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางในเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600
Biological activities and essential fatty acids in cosmetics in rubber seed of RRIM 600 cultivar

ชื่อหัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

333 หมู่ 1

ตำบลท่าสุต

อำเภอเมือง

จังหวัดเชียงราย

57100

โทรศัพท์/โทรสาร 053-916-834/053-916-831

E-mail nattayal@mfu.ac.th

งบประมาณทั้งโครงการ 140,000 บาท

ปัญหาที่ท้าวิจัยและความสำคัญ

ยางพารา เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย โดยเป็นประเทศผู้ผลิตยางพารา 1 ใน 3 ของโลก (ไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย) และมีมูลค่า 36% ของปริมาณยางพาราทั้งหมดในตลาดโลก ส่งผลให้ประเทศไทยมีผลิตผลส่วนต่างๆที่ไม่ใช่น้ำยางพารา เช่น ต้น และเมล็ดยางจำนวนมากตามไปด้วย จึงเกิดการแปรรูปวัสดุทางการเกษตรเหล่านี้ให้มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะเฟอร์นิเจอร์จากไม้ยางซึ่งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากมีพื้นที่การส่งเสริมให้ปลูกยางพารามากขึ้นทั่วประเทศ แต่การใช้ประโยชน์จากเมล็ดที่ต้นยางติดผลทุกๆ ปีนั้น ยังมีไม่มากนัก มีเพียงการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ รวมถึงการศึกษาแนวทางเพื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพารา มาแปรรูปเป็น biodiesel เนื่องจากน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดยางพาราด้วย soxhlet extraction ใน ether และ/หรือ *n*-hexane ให้น้ำมัน 40-50% มีกรดไขมันสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น oleic, linolenic และ linoleic acids ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดยางพารามีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่เหมาะสม สำหรับการประยุกต์ใช้ในพลังงานทางเลือกในประเทศในจีเรียและอื่นๆ นอกเหนือจากการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมพลังงานแล้ว ยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสี แต่อย่างไรก็ตามการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อสุขภาพรวมถึงเครื่องสำอางยังมีไม่มากนัก โดยเฉพาะในประเทศไทยซึ่งมีเมล็ดยางจำนวนมากที่เหลือทิ้งจากการนำไปเพาะต้นกล้ายางใหม่ ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบถึงฤทธิ์ทางชีวภาพและสารสำคัญในน้ำมันเมล็ดยางพารา ที่เตรียมได้จากการ reflux, soxhlet และการหมักด้วยตัวทำละลาย ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการสกัดกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช

ดังนั้นการศึกษานี้ต้องการเตรียมสารสกัดจากเมล็ดยางพาราโดยวิธีการต่างๆ แล้วศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง ในน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เพาะปลูกในประเทศไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐาน และเป็นแนวทางสำคัญในการวิจัยและพัฒนาเพื่อการแปรรูปเมล็ดยางเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น เพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศบนพื้นฐานด้านทรัพยากรการเกษตร อย่างยั่งยืน และเป็นการเพิ่มศักยภาพด้านการแข่งขันยางพาราของประเทศในเวทีโลก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ด้วยวิธีการต่างๆ
2. เพื่อวิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดไขมันทางเครื่องสำอางในสารสกัดที่เตรียมได้

ผลการดำเนินงาน

นำเมล็ดยางพารา สายพันธุ์ RRIM 600 ไปหมักที่อุณหภูมิ 40 และ 60 °C สำหรับ petroleum ether และ *n*-hexane ตามลำดับ เป็นเวลา 30 นาที และทำการ reflux และ soxhlet เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยทำการสกัดจำนวน 3 ชั่วโมง ในแต่ละสภาวะ พบว่า ether เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถสกัดน้ำมันยางพาราได้ดีกว่า *n*-hexane และการสกัดโดย soxhlet extraction ด้วย ether ให้ปริมาณผลผลิตมากกว่าวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สารสกัดที่เตรียมด้วย soxhlet extraction ใน *n*-hexane มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย ABTS assay (66.54 ± 6.88 mg TEAC/100 g oil) ดีกว่าสารสกัดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รวมถึงน้ำมันที่ได้จากบีบอัด (24.12 ± 0.00 mg TEAC /100 g oil) จึงคัดเลือกสารสกัดนี้ไปทำการทดสอบในขั้นตอนต่อไป และพบว่าไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อ normal human skin fibroblasts โดยมีการรอดชีวิตของ cells มากกว่า 100% จากนั้นทำการวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางในสารสกัดที่เตรียมในอยู่ในรูป fatty acid methyl esters (FAMES) พบว่าน้ำมันจากเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศไทยสายพันธุ์ RRIM 600 ที่สกัดด้วย soxhlet ในตัวทำละลาย *n*-hexane มี oleic acid และ palmitic acid มากกว่ายางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย แต่มี linoleic acid และ stearic acid ปริมาณใกล้เคียงกัน และสารสกัดจากเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซียมีสีอ่อนกว่าสายพันธุ์ RRIM 600 ที่ปลูกในประเทศไทย ทั้งในค่า L^* ซึ่งให้ความสว่างน้อยกว่า เช่นเดียวกับสีแดง (ค่า a^*) และ สีเหลือง (b^*) และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพด้าน specific gravity, refractive index, iodine value, peroxide value และ saponification value พบว่า มีค่าเป็น 0.896 ± 0.002 (24.3 °C), 1.470 ± 0.000 , 42.339 ± 0.425 , 47.334 ± 0.215 และ 149.253 ± 1.557 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่เตรียมได้จากพืชอื่นๆ รวมถึงน้ำมันจากพืช ซึ่งมีการผลิตในเชิงพาณิชย์สำหรับ ใช้เป็นวัตถุดิบในเครื่องสำอาง พบว่าน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ในการวิจัยนี้ มีค่า specific gravity และ refractive index อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำมันที่ใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ในขณะที่ มีค่า iodine value ต่ำกว่า

สรุปผลการวิจัย

การเตรียมน้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่มีแหล่งเพาะปลูกในประเทศไทยด้วย soxhlet extraction ในตัวทำละลาย *n*-hexane เป็นเวลา 6 ชั่วโมงให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าวิธีการอื่นๆ เมื่อทดสอบด้วย ABTS assay โดยสามารถดำเนินการวิจัยได้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ข้อที่ 1 นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบความปลอดภัยพบว่าไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษใน fibroblast cells และเมื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญพบว่า มี oleic acid และ palmitic acid มากกว่าเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย ที่สกัดด้วยวิธีการเดียวกัน แต่มีปริมาณของ linoleic acid และ stearic acid ใกล้เคียงกัน และมีสีเข้มกว่า ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ข้อที่ 2 และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพอื่นๆ พบว่า มีค่า specific gravity และ refractive index อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำมันจากพืชที่ใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่มีค่า iodine value และ saponification

value ต่ำกว่าน้ำมันอื่นๆ สามารถใช้ผลการวิจัยตามวัตถุประสงค์การวิจัยข้อที่ 1 และ 2 เป็นข้อกำหนดมาตรฐานสำหรับน้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ได้

ดังนั้น จากผลการวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่า น้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการนำน้ำมันเมล็ดยางพาราซึ่งเป็นสารสกัดหยาบ ไปทำให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับน้ำมันจากพืชอื่นๆ ที่มีการผลิตเพื่อจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ โดยทำให้มีค่า peroxide value ที่ลดลง
2. ควรมีการเตรียมน้ำมันเมล็ดยางพารา โดยเครื่องมือและอุปกรณ์ในระดับ production scale เพื่อคำนวณต้นทุนการผลิตในเชิงพาณิชย์ โดยสามารถใช้สมบัติทางเคมีและกายภาพที่ได้จากโครงการวิจัยนี้ เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดน้ำมันเมล็ดยางพารา
3. ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลอง ก่อนนำน้ำมันเมล็ดยางพาราไปตั้งตำรับเครื่องสำอาง
4. ควรเตรียมตำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของน้ำมันเมล็ดยางพารา และทดสอบความคงตัวและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นั้น

ผลงานทางวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารเชิงวิชาการที่มีความน่าเชื่อถือ และได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติได้

ชื่อโครงการวิจัย

ฤทธิ์ทางชีวภาพและกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางในเมล็ดยางพารา
สายพันธุ์ RRIM 600

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

บทคัดย่อ

เตรียมสารสกัดเมล็ดยางพารา สายพันธุ์ RRIM 600 โดยการหมัก ใน ether และ *n*-hexane เป็นเวลา 30 นาที และทำการ reflux และ soxhlet เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ether เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสามารถสกัดน้ำมันยางพาราได้ดีกว่า *n*-hexane และการสกัดโดย soxhlet extraction ด้วย ether ให้ปริมาณผลผลิตมากกว่าวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ soxhlet extraction ในตัวทำละลาย *n*-hexane ให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบด้วย ABTS assay ดีกว่าวิธีการอื่นๆ (66.54 ± 6.88 mg TEAC/100 g oil) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้สารสกัดไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษใน fibroblast cells เมื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญพบว่า มี oleic acid และ palmitic acid มากกว่าเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย ที่สกัดด้วยวิธีการเดียวกัน แต่มีปริมาณของ linoleic acid และ stearic acid ใกล้เคียงกัน และมีสีเข้มกว่า และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพอื่นๆ พบว่า มีค่า specific gravity (0.896 ± 0.002 ที่ 24.3°C), refractive index (1.470 ± 0.000), iodine value (42.339 ± 0.425), peroxide value (47.334 ± 0.215) และ saponification value (149.253 ± 1.557) อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำมันจากพืชที่ใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ดังนั้น น้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เพาะปลูกในประเทศไทย จึงมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

Research title Biological activities and essential fatty acids in cosmetics in rubber seed of RRIM 600 cultivar

Researcher Asst. Prof. Dr. Nattaya Lourith

Abstract

Para rubber seed of RRIM 600 cultivar was macerated in ether and *n*-hexane, individually, for 30 min. The extraction was comparatively performed by reflux and soxhlet extractions for 6 hr with the same solvent and proportion. Soxhlet extraction by ether significantly ($p < 0.05$) afforded the greatest extractive yield. However, soxhlet extraction by *n*-hexane exhibited the significant ($p < 0.05$) that potentially terminated ABTS radicals (66.54 ± 6.88 mg TEAC/100 g oil). Accordingly, it was chosen for further assessments. This extract was non cytotoxic as examined in normal human fibroblast cells. In addition, oleic acid and palmitic acid were determined at a greater content than in Para rubber seed cultivated in Malaysia that extracted with the same method, although linoleic and stearic acid contents were not differed. This bright yellow extract was further evaluated on in terms of physicochemical characters. The determined specific gravity, refractive index, iodine value, peroxide value and saponification value (0.896 ± 0.002 at 24.3°C , 1.470 ± 0.000 , 42.339 ± 0.425 , 47.334 ± 0.215 and 149.253 ± 1.557) were in the range of commercialized vegetable oils commonly used as cosmetic raw material. Therefore, oil extracted from Para rubber of RRIM 600 cultivar cultivated in Thailand is highlighted as the promising ecological ingredient appraisal for cosmetics.

ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

ยางพารา เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย โดยเป็นประเทศผู้ผลิตยางพารา 1 ใน 3 ของโลก (ไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย) และมีมูลค่า 36% ของปริมาณยางพาราทั้งหมดในตลาดโลก (Nair, 2010; van Beilen and Poirier, 2007) ส่งผลให้ประเทศไทยมีผลิตภัณฑ์ส่วนต่างๆที่ไม่ใช่ยางพารา เช่น ต้น และเมล็ดยางจำนวนมากตามไปด้วย จึงเกิดการแปรรูปวัสดุทางการเกษตรเหล่านี้ให้มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะเพอร์นิเจอร์จากไม้ยางซึ่งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นทุกปี (สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง, 2012) เนื่องจากมีพื้นที่การส่งเสริมให้ปลูกยางพารามากขึ้นทั่วประเทศ แต่การใช้ประโยชน์จากเมล็ดที่ต้นยางติดผลทุกๆ ปีนั้น ยังมีไม่มากนัก มีเพียงการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2012a; 2012b; Gandhi, 1990) รวมถึงการศึกษาแนวทางเพื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพารา มาแปรรูปเป็น biodiesel เนื่องจากน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดยางพาราด้วย soxhlet extraction ใน ether และ/หรือ *n*-hexane ให้น้ำมัน 40-50% มีกรดไขมันสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น oleic และ linoleic acids ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดยางพารามีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่เหมาะสม สำหรับการประยุกต์ใช้ในพลังงานทางเลือกดังมีการวิจัยในประเทศไนจีเรียและอื่นๆ นอกเหนือจากการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมพลังงานแล้ว ยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสี (Abdullah and Salimon, 2010; Gandhi, 1990; Ikwuagwu et al., 2000; Ramadhas et al., 2005) แต่อย่างไรก็ตามการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อสุขภาพรวมถึงเครื่องสำอางยังมีไม่มากนัก โดยเฉพาะในประเทศไทยซึ่งมีเมล็ดยางจำนวนมากที่เหลือทิ้งจากการนำไปเพาะต้นกล้าใหม่ ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการที่ไม่เหมาะสม

ประกอบกับวิธีการเตรียมน้ำมันจากเมล็ดยางพารา มีทั้งการเตรียมโดยการบีบอัด การ reflux และ soxhlet รวมถึงการหมักในตัวทำละลาย petroleum ether หรือ *n*-hexane แตกต่างกันไปตามที่ปรากฏในรายงานวิจัยที่ทำในยางพาราที่ปลูกในประเทศต่างๆ ก่อนหน้านี้ จึงไม่อาจสรุปได้ว่า วิธีการเตรียมน้ำมันจากเมล็ดยางพาราแบบใด ที่ให้น้ำมันที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญหรือคุณภาพในแง่อื่นๆ ที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพมากที่สุด

ดังนั้นการศึกษานี้ต้องการเตรียมสารสกัดจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ปลูกมากในประเทศไทย โดยวิธีการต่างๆ ในการศึกษาเดียวกัน แล้วเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการคัดเลือกวิธีการสกัดน้ำมันจากเมล็ดที่มีความเหมาะสมกับยางพาราที่ปลูกในประเทศ และเป็นแนวทางสำคัญในการวิจัยและพัฒนาเพื่อการแปรรูปเมล็ดยางเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น เพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศบนพื้นฐานด้านทรัพยากรการเกษตร อย่างยั่งยืน เป็นการนำเมล็ดยางพาราซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากต้นยางมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่าหลากหลาย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มศักยภาพด้านการแข่งขันของประเทศในเวทีโลก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ด้วยวิธีการต่างๆ
2. เพื่อวิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดไขมันทางเครื่องสำอางในสารสกัดที่เตรียมได้

ทฤษฎี แนวคิดในการวิจัย และผลงานที่เกี่ยวข้อง

ยางพารา เป็นวัตถุดิบสำคัญในการเตรียมผลิตภัณฑ์ต่างๆ กว่า 40,000 ชนิด รวมถึงผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในทางการแพทย์ และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่างๆ (van Beilen and Poirier, 2007) และเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย โดยผลิตยางพารา 1 ใน 3 ของโลก (ไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย) และมีมูลค่า 36% ของปริมาณยางพาราทั้งหมดในตลาดโลก (Nair, 2010) ส่งผลให้ประเทศไทยมีผลิตภัณฑ์ส่วนต่างๆที่ไม่ใช่ยางพารา เช่น ต้น

และเมล็ดอย่างจำนวนมากตามไปด้วย จึงเกิดการแปรรูปวัสดุทางการเกษตรเหล่านี้ให้มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะเพอร์นิเจอร์จากไม้ยางซึ่งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากทักษะด้านฝีมือของช่างไทย (สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง, 2012) แต่การใช้ประโยชน์จากเมล็ดที่ต้นยางติดผลทุกๆ ปีนั้น ยังมีไม่มากนัก มีเพียงการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2012a; 2012b) เนื่องจากเป็นแหล่งที่ให้โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต รวมถึงวิตามิน และกรดไขมัน (Gandhi, 1990)

น้ำมันที่เตรียมได้จากเมล็ดยางพาราที่ปลูกในมาเลเซีย ด้วย soxhlet extraction ใน *n*-hexane เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีกรดไขมันสำคัญไม่อิ่มตัวในปริมาณมาก ได้แก่ oleic acid (22.95%), linoleic acid (37.28%) และ linolenic acid (19.22%) รวมถึง palmitic acid (8.56%) และ stearic acid (10.56%) (Abdullah and Salimon, 2010) และน้ำมันเมล็ดยางพาราทั้งในอินเดียและมาเลเซียไม่มีความเป็นพิษเมื่อทำการทดสอบในหนู (Gandhi, 1990; Abdullah and Salimon, 2010) และจากวิกฤตด้านพลังงาน จึงได้มีการศึกษาแนวทางเพื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพารา มาใช้ประโยชน์ โดยการสกัดด้วย soxhlet extraction ใน ether ให้ได้น้ำมัน 40-50% ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่เหมาะสม สำหรับนำมาแปรรูปเป็น biodiesel (Ikwuagwu et al., 2000) และมี linoleic acid มากถึง 40.24% รองลงมาได้แก่ oleic acid 32.16% และ linolenic acid 17.52% ซึ่ง น้ำมันยางพาราที่มีกรดไขมันในปริมาณสูงนี้ มีคุณสมบัติเหมาะสม สำหรับการประยุกต์ใช้ในพลังงานทางเลือก (Ikwuagwu et al., 2000; Ramadhas et al., 2005)

จากรายงานข้างต้น ผู้วิจัยพบว่ากรดไขมันที่พบในน้ำมันยางพารานั้นยังมีความสำคัญทางเครื่องสำอางอีกด้วย เช่น linoleic acid และ linolenic acid เป็นสารสำคัญในการบำรุงผิวหนัง ผสม และเล็บ ลดอาการอักเสบ ใช้แก้ปัญหารังแคและผดผื่น กระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นผม ให้ความชุ่มชื้นผิว และเล็บ ลดความมัน (Barceló-Coblijn et al., 2009; Cunnane et al., 1997; Darmstadt et al., 2002; Lautenschläger, 2003; Letawe et al., 1998) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์รักษาผิว (Kanlayavattanukul and Lourith, 2011) ส่วน palmitic acid นอกจากจะมีประสิทธิภาพในการลดโคเลสเตอรอลแล้ว (Wahrburg, 2004) ยังเป็นสารสำคัญที่ใช้ในเครื่องสำอางทำความสะอาดและใช้ในตำรับครีมและโลชั่น รวมถึง stearic acid (Mitsui, 1997) และ oleic acid ซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบสำคัญในเครื่องสำอางต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการซึมผ่านของสารสำคัญ และนำสารสำคัญที่มีขั้วต่ำเข้าสู่ชั้นผิวได้ดี (Alvarez and Rodríguez, 2000) แต่พบว่าการนำน้ำมันมาใช้นั้นในทางเครื่องสำอางยังมีไม่มากนัก มีเพียงการนำน้ำมันที่บีบจากเมล็ดยางพาราที่เพาะปลูกในประเทศไนจีเรียมาผลิตเป็นสบู่ (Ohikhen, 2006) แม้การเตรียมน้ำมันจากเมล็ดยางพาราจากงานวิจัยข้างต้นนั้น นิยมเตรียมจากวิธี soxhlet extraction แต่ใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ *n*-hexane หรือ ether (Abdullah and Salimon, 2010; Ikwuagwu et al., 2000; Ramadhas et al., 2005) ซึ่งให้ชนิดและปริมาณกรดไขมันสำคัญแตกต่างกันไป ประกอบกับเป็นข้อมูลจากการศึกษาวิจัยจากนักวิจัยหลายกลุ่ม และใช้เมล็ดยางพาราต่างสายพันธุ์ และไม่มีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงไม่สามารถหาข้อสรุปที่ชัดเจนเกี่ยวกับตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดกรดไขมันสำคัญในเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศไทย สำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และเครื่องสำอาง

ส่วนข้อมูลการเตรียมน้ำมันที่มีกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง จากพืชชนิดอื่นๆ ได้แก่ รำข้าว แกลบ เมล็ดทานตะวัน และมะกอกฝรั่ง (olive) พบว่า ยังสามารถทำได้อีกหลายวิธี ได้แก่ การบีบอัด การ reflux (Gunawan et al., 2006; Lourith and Kanlayavattanukul, 2013a) และการหมัก (บริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด, 2012; Dacera, 2003) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกันจะให้ชนิดและปริมาณกรดไขมันสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย ABTS และ DPPH assays แตกต่างกัน (Lianhe et al., 2012; Sahari et al., 2004; Uluata and Özdemir, 2012; Wu et al., 2011) โดยตัวทำละลายหลักที่ใช้สกัดน้ำมันพืชในระดับ

อุตสาหกรรมคือ *n*-hexane (Ribeiro et al., 2006) และจากงานวิจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้อง เช่น การเตรียมน้ำมันรำข้าว ด้วยการหมักที่ช่วงอุณหภูมิ 40-60 °C ในเวลาระหว่าง 5-30 นาที (Hu et al., 1996) พบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วย ether ที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 30 นาที และ สกัดด้วย *n*-hexane ที่ 60 °C เป็นเวลา 30 นาทีเช่นเดียวกัน จะให้ปริมาณกรดไขมันสำคัญมากที่สุด ส่วนการเตรียมน้ำมันรำข้าวโดยใช้ soxhlet extraction ด้วย *n*-hexane เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และน้ำมันเมล็ดชา เมล็ดทานตะวัน และ มะกอกฝรั่ง ด้วย ether เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าจะทำให้ได้กรดไขมันสำคัญที่แตกต่างกันตามไปด้วย (Hanmoungjai et al., 2001; Sahari et al., 2004)

การศึกษานี้จึงต้องการเตรียมสารสกัดเมล็ดอย่างพาราด้วยวิธีการต่างๆ คือ soxhlet, reflux การหมักด้วยตัวทำละลาย และการบีบอัดด้วยเครื่องมือที่ใช้ในอุตสาหกรรมการทึบน้ำมันพืช และนำน้ำมันที่ได้เหล่านั้น มาทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย ABTS assay และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดที่เตรียมได้รวมถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง และความเป็นพิษของสารสกัดใน human skin fibroblast cells เพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพและกำหนดมาตรฐานของสารสกัดเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและความงามจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และกำลังได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน (Moure et al., 2001)

วิธีดำเนินการวิจัย

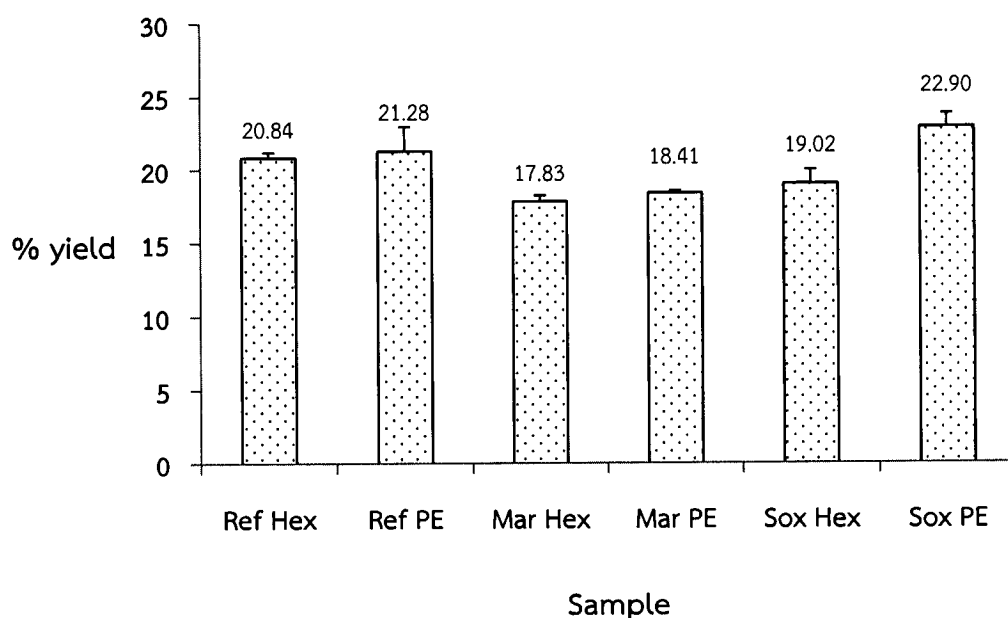
ดำเนินการวิจัยที่มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย โดยมีแผนการวิจัย ดังนี้

1. จัดเก็บเมล็ดอย่างพารา สายพันธุ์ RRIM 600 จากจังหวัดศรีสะเกษ
2. เตรียมสารสกัดเมล็ดอย่างพาราด้วยการ reflux และ soxhlet extraction เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (Abdullah and Salimon, 2010) ใน ether (Fisher, UK) และ *n*-hexane (Fisher) การหมัก (maceration) ใน ether และ *n*-hexane ที่อุณหภูมิ 40 และ 60 °C ตามลำดับ เป็นเวลา 30 นาที (Hu et al., 1996) และการบีบอัด
3. เปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เตรียมได้ทั้งหมด ด้วย ABTS (assay โดยเตรียมสารมาตรฐาน ABTS (Fluka, USA) เข้มข้น 7 mM ใน 2.45 mM potassium persulfate (Fluka) และ EtOH (Merck, Germany) แล้วทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างเป็นเวลา 5 นาที ก่อนวัดการดูดกลืนแสงที่ 750 nm ด้วยเครื่อง microplate reader (ASYS, UVM340, UK) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และแสดงผลเป็นค่า TEAC หรือ trolox equivalent antioxidant capacity (Kanlayavattanakul et al., 2012) โดยทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ
4. คัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเพื่อ
 - ทดสอบความเป็นพิษใน human skin fibroblast cell (Antignac et al., 2011; Eisenbrand et al., 2002; Valdivies-Garcia et al., 1993) ที่ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ
 - ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ (AOCS, 1998) และวัดสี (CIELAB parameters) ด้วยเครื่องวัดสี (UltraScan Vis, HunterLab, USA) (Lourith and Kanlayavattanakul, 2012; 2012; 2013b) จำนวน 3 ซ้ำ
 - วิเคราะห์ชนิด และกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง ที่เตรียมให้อยู่ในรูป fatty acid methyl esters (FAMES) โดยการผสมตัวอย่างใน toluene, MeOH และ 8% HCl (Merck) และให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 45 °C และสกัดแยกด้วย *n*-hexane (Ichihara and Fukubayashi, 2010) ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย Gas chromatography (Gunawan et al., 2006; Lourith and Kanlayavattanakul, 2013a) โดยทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ
5. สรุปผลการวิจัย และจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์

ผล และวิจารณ์ผลการวิจัย

อบเมล็ดยางพารา สายพันธุ์ RRIM 600 ที่ 45 °C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อไล่ความชื้น (Abdullah and Salimon, 2010; Ikwuagwu et al., 2000) บดเป็นชิ้นเล็ก และนำไปสกัดด้วยวิธีการต่างๆ โดยมีสัดส่วนระหว่างเมล็ดยางพารา 25 g ต่อตัวทำละลาย 750 ml (Hu et al., 1996)

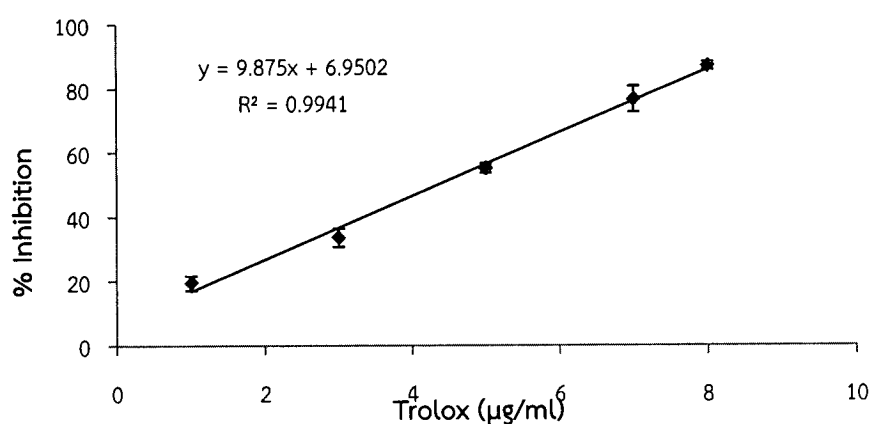
ทำการหมักที่อุณหภูมิ 40 และ 60 °C สำหรับ petroleum ether และ *n*-hexane ตามลำดับ (ให้สัญลักษณ์เป็น Mar PE และ Mar Hex ตามลำดับ) เป็นเวลา 30 นาที และเขย่าที่ 150 rpm (Hu et al., 1996; Ikwuagwu et al., 2000) ด้วย incubator shaker แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman no. 1 และลดปริมาตร (*in vacuo*) จนแห้ง ด้วย rotary evaporator และทำการ reflux (ให้สัญลักษณ์เป็น Ref PE และ Ref Hex) และ soxhlet (ให้สัญลักษณ์เป็น Sox PE และ Sox Hex) ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ในสัดส่วนระหว่างเมล็ดยางพาราและตัวทำละลายเดียวกับการหมัก เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (Abdullah and Salimon, 2010) กรองและทำให้แห้ง เช่นเดียวกัน โดยทำการสกัดจำนวน 3 ครั้ง ในแต่ละสภาวะ และนำไปคำนวณร้อยละผลผลิต พบว่า ether เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถสกัดน้ำมันยางพาราได้ดีกว่า *n*-hexane และการสกัดโดย soxhlet extraction ด้วย ether ให้ปริมาณผลผลิตมากกว่าวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในภาพที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดเหล่านี้ ยังให้น้ำมันน้อยกว่าที่ได้จากการบีบอัด ซึ่งมีผลผลิตมากกว่า 40%



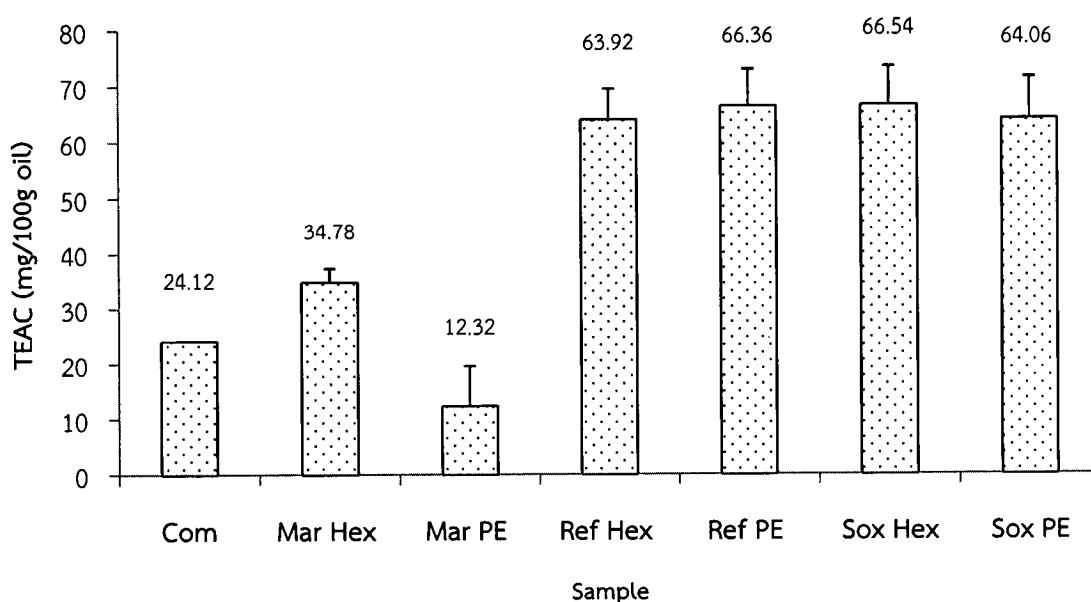
ภาพที่ 1 ผลผลิตของน้ำมันยางพาราเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ

จากนั้น นำสารสกัดที่ได้จำนวน 7 ตัวอย่าง (1000 µg/ml) รวมการบีบอัด (Compression) ซึ่งให้สัญลักษณ์เป็น Com ไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ซึ่งสอดคล้องกับการเกิด lipid peroxidation ของเซลล์ รวมถึง fibroblast cells (Dash et al., 2008) และมีความเหมาะสมกับน้ำมันที่เตรียมจากเมล็ดพืช (Uluata and Özdemir, 2012) โดยมี Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ วิตามิน E เป็น positive control (ภาพที่ 2) และแสดงผลเป็นค่า TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity)

พบว่า สารสกัดที่เตรียมด้วย soxhlet extraction ใน *n*-hexane ที่ให้สัญลักษณ์เป็น Sox Hex (ภาพที่ 3) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดีกว่าสารสกัดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รวมถึงน้ำมันที่ได้จากบีบอัด ซึ่งมีร้อยละผลผลิตมากกว่า นอกจากนี้สารสกัดจาก soxhlet extraction ใน *n*-hexane ยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ดีกว่าน้ำมันจากเมล็ดกัญชง สน radish และ nettle (39.69 ± 0.46 , 46.53 ± 1.15 , 35.57 ± 0.13 , 33.18 ± 0.69 mg TEAC /100 g oil) ที่เตรียมได้จาก soxhlet extraction ใน *n*-hexane เช่นกัน (Uluata and Özdemir, 2012) แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับน้ำมันเมล็ดยางพาราในการศึกษาอื่นๆ ได้เนื่องจากการวิจัยเหล่านั้นรายงานปริมาณของกรดไขมัน (Abdullah and Salimon, 2010; Gandhi et al., 1990; Ikwagwu et al., 2000; Ramadhas et al., 2005) แต่ไม่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงคัดเลือกสารสกัดนี้เพื่อนำไปศึกษาต่อไปในขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ความเป็นพิษในเซลล์ และการศึกษาสมบัติทางกายภาพ รวมถึงการวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง

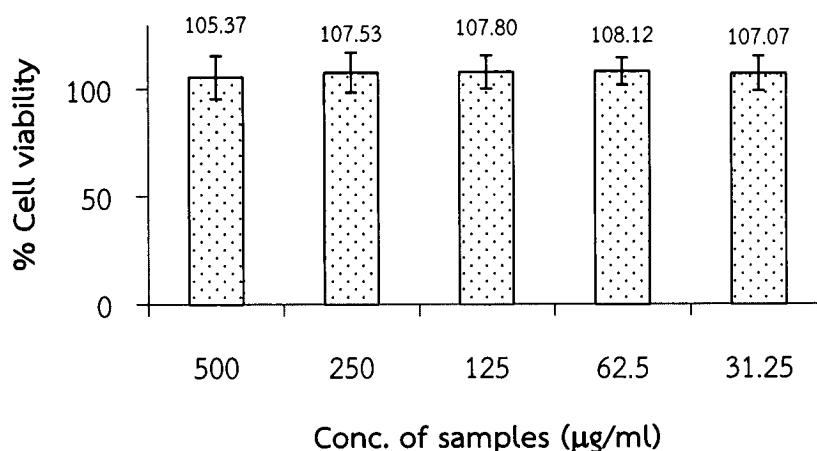


ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐาน Trolox ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay



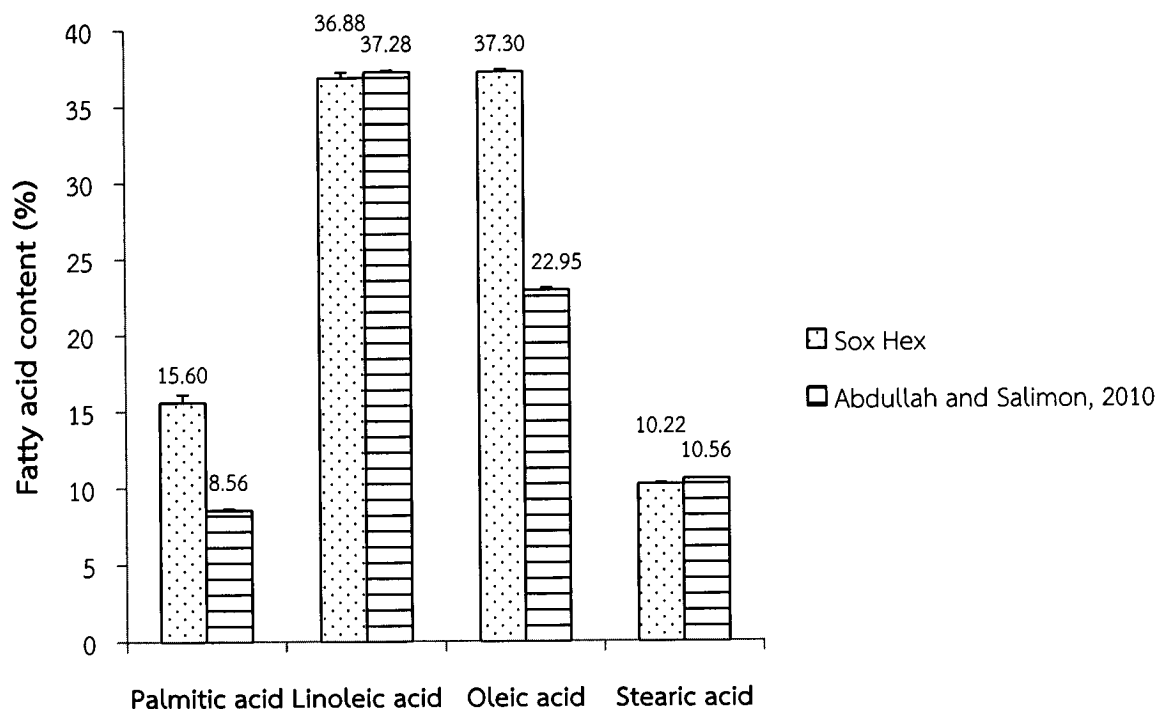
ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันยางพาราเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ

นำสารสกัดไปทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ (Eisenbrand et al., 2002; Valdivies-Garcia et al., 1993) รวมถึงผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Antignac et al., 2011) โดยทำการทดสอบใน human skin fibroblast cells ที่จะเกิดการเสื่อมสลายจาก oxidative stress อันเนื่องจาก lipid peroxidation และก่อให้เกิดริ้วรอยที่ผิวหนังต่อไป (Dash et al., 2008; Kanlayavattanakul et al., 2012; Pillai et al., 2005) พบว่าสารสกัดไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ ทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ โดยมีอัตราการรอดชีวิตของ fibroblast cells มากกว่า 100% (ภาพที่ 4)



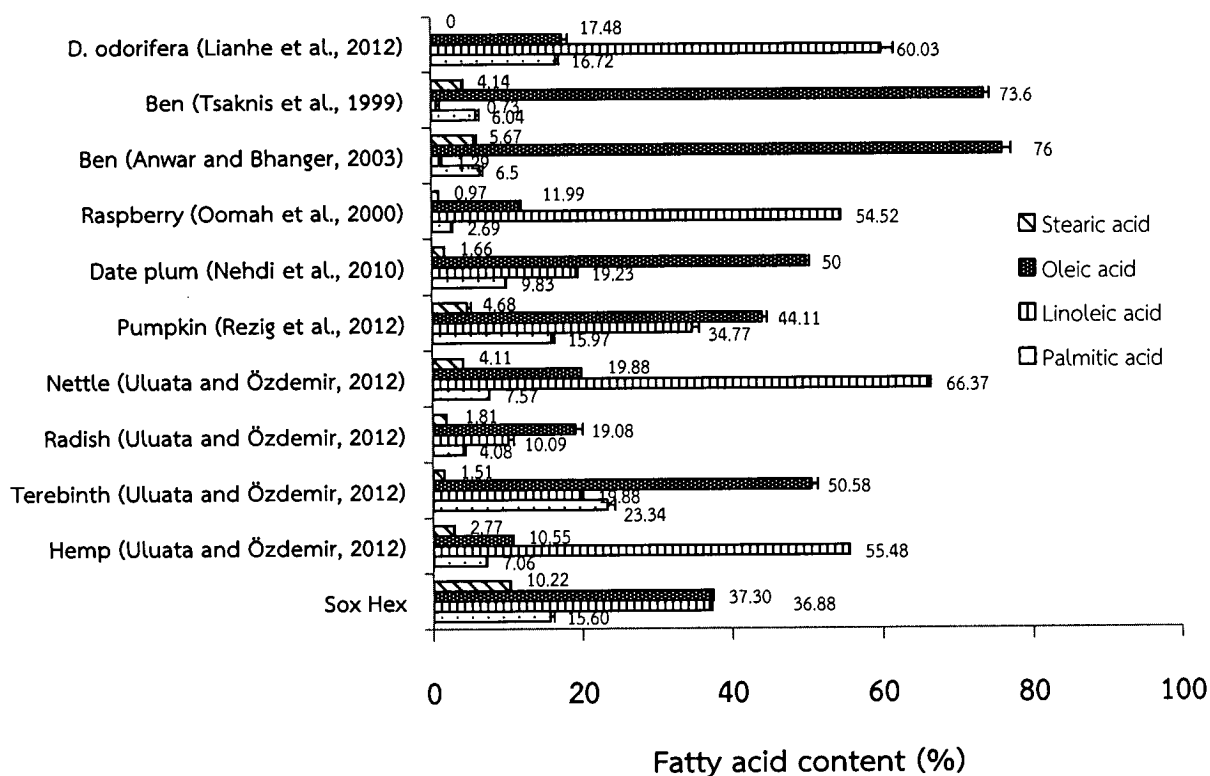
ภาพที่ 4 ความปลอดภัยของสารสกัดใน fibroblast cells

ทำการวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญในสารสกัด โดยเตรียมกรดไขมันมาตรฐาน ให้อยู่ในรูปของ fatty acid methyl esters (FAMES) โดยวิธีการของ Ichihara et al. (2010) ซึ่งสามารถเปลี่ยน free fatty acid ให้อยู่ในรูปของ FAME ได้แบบ quantitative yield ที่ให้ผลผลิตของ FAMES ในปฏิกิริยามากกว่าร้อยละ 98 จากนั้นนำไปศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ด้วย GC/MS จากนั้น นำ สารสกัด Soxhlet ในตัวทำละลาย *n*-hexane ที่เปลี่ยนให้อยู่ในรูป FAMES ไปวิเคราะห์ด้วยสถานะเดียวกับสารมาตรฐานข้างต้น โดยกรดไขมันหลักที่ต้องการวิเคราะห์ในครั้งนี้ได้แก่ linoleic acid, stearic acid, oleic acid และ palmitic acid ซึ่งเป็นกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง โดย linoleic acid และ oleic acid มีความสามารถในการบำรุง ผิว ผสม และเล็บ รวมถึงมีรายงานว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นผม เป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิวที่ดี และสามารถลดความมันได้ (Barceló-Coblijn et al., 2009; Cunnane et al., 1997; Darmstadt et al., 2002; Lautenschläger, 2003; Letawe et al., 1998) นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ tyrosinase ในกระบวนการสร้างสีของเมลานิน (Ando et al., 1999) ส่วน palmitic acid และ stearic acid เป็นกรดไขมันที่ใช้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด รวมถึงครีม และโลชั่น ทั่วไป (Mitsui, 1997) ประกอบกับกรดไขมันเหล่านี้พบในน้ำมันเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย ซึ่งไม่เป็นพิษในสัตว์ทดลอง ดังมีรายงานก่อนหน้านี้ (Abdullah and Salimon, 2010; Salimon et al., 2012) จึงนำผลการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกัน ดังแสดงผลในภาพที่ 5 พบว่า น้ำมันจากเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศไทยสายพันธุ์ RRIM 600 ที่สกัดด้วย Soxhlet ในตัวทำละลาย *n*-hexane มี oleic acid และ palmitic acid มากกว่า ยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย แต่มี linoleic acid และ stearic acid ปริมาณใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 5 กรดไขมันในน้ำมันยางพาราเมื่อสกัดด้วย soxhlet ใน *n*-hexane

เมื่อนำปริมาณของกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางในน้ำมันเมล็ดยางพาราไปเปรียบเทียบกับน้ำมันจากเมล็ดกัญชง (hemp) สน (terebinth) radish และ nettle (Uluata and Özdemir, 2012) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า น้ำมันเมล็ดยางพารา พบว่า น้ำมันจากพืชเหล่านี้มี oleic acid ในปริมาณที่น้อยกว่า ยกเว้นน้ำมันสน ในขณะที่ น้ำมันเมล็ดกัญชง ซึ่งมี TEAC น้อยกว่าน้ำมันเมล็ดยางพารา มี linoleic acid ในปริมาณที่มากกว่า และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับน้ำมันเมล็ดฟักทอง (pumpkin) ที่ได้จากการบีบอัด (Rezig et al., 2012) พบว่า ถึงแม้ว่าน้ำมันเมล็ดยางพารามีปริมาณ oleic acid น้อยกว่า แต่มี linoleic acid มากกว่า เล็กน้อย ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับ Date plum ที่สกัดน้ำมันจากเมล็ดโดยการ soxhlet ใน *n*-hexane เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (Nehdi et al., 2010) นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดยางพารายังมีกรดไขมันสำคัญมากกว่าน้ำมันเมล็ด raspberry ที่หมักใน *n*-hexane ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Oomah et al., 2000) ยกเว้น linoleic acid แต่อย่างไรก็ตาม oleic acid ในเมล็ดยางพารา มีน้อยกว่าในน้ำมันเมล็ดมะรุม ที่สกัดด้วย soxhlet ใน *n*-hexane เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง (Anwar and Bhanger, 2003) หรือ 10 ชั่วโมง (Tsaknis et al., 1999) และเมื่อเปรียบเทียบกับ *Dalbergia odorifera* ที่สกัดด้วย soxhlet ใน petroleum ether เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (Lianhe et al., 2012) พบว่า มี oleic acid น้อยกว่าน้ำมันเมล็ดยางพารา ดังแสดงในภาพที่ 6



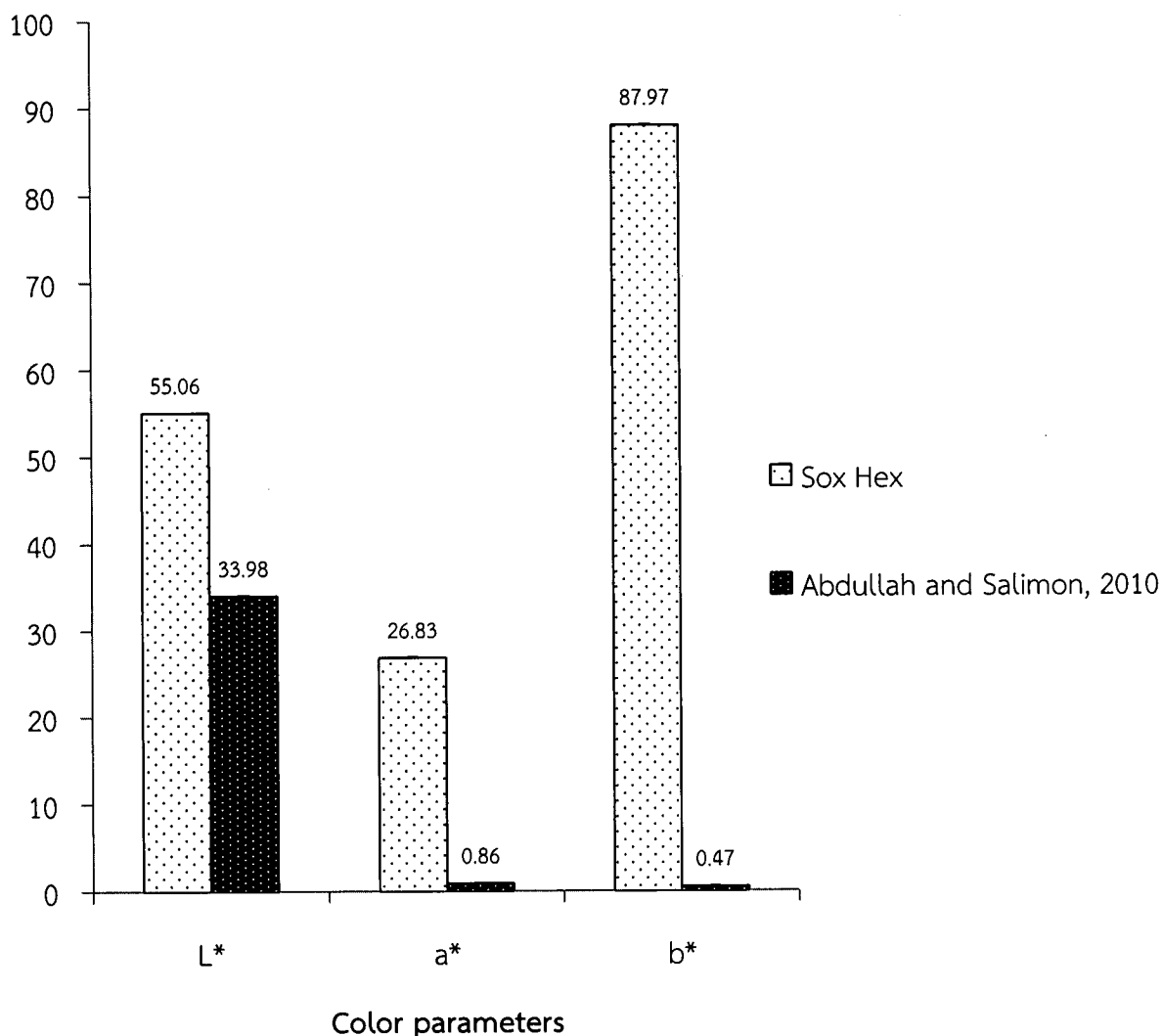
ภาพที่ 6 กรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอางในน้ำมันเมล็ดยางพาราในการศึกษานี้เปรียบเทียบกับน้ำมันจากพืชอื่นๆ

นำน้ำมันเมล็ดยางพารา ไปศึกษาสมบัติด้านสี ด้วย CIELAB parameters โดยเครื่องวัดสี (Lourith and Kanlayavattanakul, 2011; 2012; 2013b) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในการศึกษาสมบัติทางกายภาพ โดยเปรียบเทียบกับ น้ำมันเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย และสกัดด้วย soxhlet ใน *n*-hexane เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน (Abdullah and Salimon, 2010) พบว่าให้น้ำมันจากเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย ที่มีสีอ่อนกว่าการสกัดในสายพันธุ์ RRIM 600 ทั้งใน ค่า L^* ซึ่งให้แสงสว่างน้อยกว่า เช่นเดียวกับสีแดง (ค่า a^*) และ สี เหลือง (b^*) (ภาพที่ 7) ซึ่งการที่มีสีอ่อนกว่าน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้จากการศึกษาในครั้งนี้ อาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณกรดไขมันสำคัญทางเครื่องสำอาง โดยน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เพาะปลูกในประเทศไทยมีปริมาณของ palmitic acid และ oleic acid ที่สูงกว่า ดังแสดงในภาพที่ 5 ในขณะที่ linoleic acid และ stearic acid จากทั้ง 2 แหล่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน และอาจนำไปสู่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า ของน้ำมันเมล็ดยางพาราในประเทศไทย

ทำการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพด้าน specific gravity (SG), refractive index (RI), iodine value (IV), peroxide value (PV) และ saponification value (SV) พบว่า มีค่าเป็น 0.896 ± 0.002 (24.3°C), 1.470 ± 0.000 , 42.339 ± 0.425 , 47.334 ± 0.215 และ 149.253 ± 1.557 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันที่เตรียมได้จากพืชอื่นๆ รวมถึงน้ำมันพืชซึ่งมีการผลิตในเชิงพาณิชย์สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในเครื่องสำอาง (Ingredients & solutions, 2013) ดังแสดงในตารางที่ 1

น้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ในการวิจัยนี้ มีค่า specific gravity และ refractive index อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำมันจากพืชอื่นๆ รวมถึงน้ำมันที่ใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ในขณะที่ มีค่า iodine value ต่ำกว่าน้ำมันอื่นๆ แสดงถึงโอกาสในการเกิด oxidation หรือ hydrogenation ของน้ำมันเมล็ดยางพาราที่น้อยกว่า น้ำมันจากพืชอื่นๆ ซึ่งหมายความว่าน้ำมันเมล็ดยางพาราน่าจะมีความคงตัวมากกว่านั่นเอง และเมื่อพิจารณาในส่วน ของ peroxide value พบว่า สูงกว่าน้ำมันอื่นๆ ยกเว้น น้ำมันมะพร้าว ส่วนค่า saponification value ของน้ำมัน

เมล็ดยางพารานั้นต่ำกว่าน้ำมันพืชอื่นๆ เช่นเดียวกับ iodine value ดังนั้นน้ำมันเมล็ดยางพาราควรมี fatty acid ที่มีขนาดใหญ่กว่า หรือมี molecular weight มากกว่าน้ำมันจากพืชอื่นๆ นั่นเอง



ภาพที่ 7 คุณสมบัติด้านสีของน้ำมันเมล็ดยางพารา

เมื่อพิจารณาร่วมกับกรดไขมันสำคัญซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมัน (ภาพที่ 6) พบว่า น้ำมันเมล็ดยางพาราประกอบด้วย stearic acid ซึ่งมี molecular weight มากกว่า oleic acid, linoleic acid และ palmitic acid ตามลำดับ มากกว่าน้ำมันเมล็ดฟักทอง date plum, raspberry มะรุม และ *D. odorifera* และมีปริมาณของ oleic acid มากกว่า raspberry และ *D. odorifera* และมี linoleic acid มากกว่าทุกตัวยกเว้น raspberry และ *D. odorifera* นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดยางพารายังมี palmitic acid มากกว่า date plum, raspberry และ มะรุม

สรุปผลการวิจัย

การเตรียมน้ำมันจากเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่มีแหล่งเพาะปลูกในประเทศไทยด้วย soxhlet extraction ในตัวทำละลาย *n*-hexane เป็นเวลา 6 ชั่วโมงให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าวิธีการอื่นๆ เมื่อทดสอบด้วย ABTS assay และดีกว่าน้ำมันจากเมล็ดกัญชง สน radish และ nettle เมื่อสกัดด้วยวิธีเดียวกัน

นอกจากนี้สารสกัดไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษใน fibroblast cells เมื่อนำน้ำมันเมล็ดยางพาราที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์กรดไขมันสำคัญพบว่า มี oleic acid และ palmitic acid มากกว่าเมล็ดยางพาราที่ปลูกในประเทศไทย มาเลเซีย ที่สกัดด้วยวิธีการเดียวกัน แต่มีปริมาณของ linoleic acid และ stearic acid ใกล้เคียงกัน และมีสีเข้มกว่า และเมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพอื่นๆ พบว่า มีค่า specific gravity และ refractive index อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำมันจากพืชที่ใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่มีค่า iodine value และ saponification value ต่ำกว่าน้ำมันอื่นๆ ดังนั้น น้ำมันเมล็ดยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่ปลูกในประเทศไทยจึงมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการนำน้ำมันเมล็ดยางพาราซึ่งเป็นสารสกัดหยาบ ไปทำให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับน้ำมันจากพืชอื่นๆ ที่มีการผลิตเพื่อจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ โดยทำให้มีค่า peroxide value ที่ลดลง
2. ควรมีการเตรียมน้ำมันเมล็ดยางพารา โดยเครื่องมือและอุปกรณ์ในระดับ production scale เพื่อคำนวณต้นทุนการผลิตในเชิงพาณิชย์ โดยสามารถใช้สมบัติทางเคมีและกายภาพที่ได้จากโครงการวิจัยนี้ เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดน้ำมันเมล็ดยางพารา
3. ควรมีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลอง ก่อนนำน้ำมันเมล็ดยางพาราไปตั้งตำรับเครื่องสำอาง
4. ควรเตรียมตำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของน้ำมันเมล็ดยางพารา และทดสอบความคงตัวและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นั้น

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันเมล็ดยางพาราในการศึกษานี้เปรียบเทียบกับน้ำมันในเครื่องสำอาง

Oil	Physicochemical property*					Reference
	SG	RI	IV	PV	SV	
Para rubber	0.896 ± 0.002	1.470 ± 0.000	42.339 ± 0.425	47.334 ± 0.215	149.253 ± 1.557	Sox Hex
	-	-	135.79 ± 0.33	-	182.12 ± 0.27	Salimon et al., 2012
Pumpkin	0.91	1.46	153.66 ± 0.65	2.33 ± 0.65	175 ± 1.30	Rezig et al., 2012
Date plum	-	1.456 ± 0.01	76.66 ± 0.28	3.62 ± 0.56	191.28 ± 0.50	Nehdi et al., 2010
Raspberry	-	-	-	8.25 ± 0.1	191 ± 0.1	Oomah et al., 2000
Ben	-	1.4608 ± 0.001	69.45 ± 1.20	-	186.67 ± 2.01	Anwar and Bhanger, 2003
	-	1.4549 ± 0.001	66.83 ± 0.63	-	178.11 ± 3.99	Tsaknis et al., 1999
<i>D. odorifera</i>	-	-	106.53 ± 0.53	5.07 ± 0.28	196.78 ± 0.61	Lianhe et al., 2012
Almond	0.912	-	101.1	-	190.6	Parchem
Argan	-	-	-	10	-	Sictia
Avocado	0.908 - 0.923	-	75 - 95	10	177 - 198	Parchem
Coffee	-	1.46 - 1.49	-	-	-	RITA
Coconut	-	1.449	-	50	-	Sictia
Joboba	-	1.458 – 1.467	75 - 95	-	-	Sictia
Macadamia	-	1.460 – 1.470	68 - 82	10	-	Sictia
Marula	-	-	70 - 100	5	150 - 200	Lonza
Palm	-	-	-	5	-	Sictia
Raspberry	-	1.476 – 1.478	155 - 175	15	-	Sictia
Rice bran	-	-	99 – 115	-	180 - 190	Biosil
	0.890 – 0.959	-	70 - 130	10	190 - 200	RITA
Wheat germ	0.92	1.4753	128	-	186	Parchem

* SG: specific gravity, RI: refractive index, IV: iodine value, PV: peroxide value, SV: saponification value

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรมส่งเสริมการเกษตร. วัตถุดิบอาหารที่ให้โปรตีน. <http://www.doae.go.th/library/html/detail/afood/afood22.htm> (accessed on February 2012a).
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรมปศุสัตว์. กองอาหารสัตว์. กาแฟเมล็ดยางพารา. http://www.dld.go.th/nutrition/exhibition/feed_stuff/para_rubber_seed_meal.htm (accessed on February 2012b).
- สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง. ไม้ยางพาราแปรรูป. http://km.rubber.co.th/index.php?option=com_content&view=article&id=238:2011-06-06-08-30-22&catid=65:2011-06-06-08-28-16&Itemid=180 (accessed on February 2012).
- บริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด. กระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าว. http://www.thaiedibleoil.com/thai/product_process.php (accessed on February 2012).
- Abdullah B.M., Salimon J. Toxicity study of Malaysian rubber (*Hevea brasiliensis*) seed oil as rats and shrimps test. *Asian. J. Biochem.* 5, 33-39, 2010.
- Alvarez A.M.R., Rodríguez M.L.G. Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations. *Grasas y Aceites* 51, 74-96, 2000.
- Ando H., Funasaka Y., Oka M., Ohashi A., Furumura M., Matsunaga J., Matsunaga N., Hearing V.J., Ichihashi M. Possible involvement of proteolytic degradation of tyrosinase in the regulatory effect of fatty acids on melanogenesis. *J. Lipid Res.* 40, 1312-1316, 1999.
- Antignac E., Nohynek G.J., Re T., Clouzeau J., Toutain H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food Chem. Toxicol.* 49, 324-341, 2011.
- Anwar F., Bhanger M.I. Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6558-6563, 2003.
- Barceló-Coblijn G., Murphy E.J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain *n*-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue *n*-3 fatty acid levels. *Prog. Lipid Res.* 48, 355-374, 2009.
- Cunnane S., Anderson M. Pure linoleate deficiency in the rat: influence on growth, accumulation of *n*-6 polyunsaturates and (1-¹⁴C) linoleate oxidation. *J. Lipid Res.* 38, 805-812, 1997.
- Darmstadt G.L., Mao-Qiang M., Chi E., Saha S.K., Ziboh V.A., Black R.E., Santosham M., Elias P.M. Impact of topical oils on the skin barrier: possible implications for neonatal health in developing countries. *Acta Paediatrica* 91, 546-554, 2002.
- Dash R., Acharya C., Bindu P.C., Kundu S.C. Antioxidant potential of silk protein sericin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in skin fibroblasts. *BMR Rep.* 41, 236-141, 2008.
- Dacera D. Hexane reduction in a Thai rice bran oil factory: a cleaner technology approach. *Thammasat Int. J. Sci. Tech.* 8, 6-17, 2003.
- Eisenbrand G., Pool-Zobel B., Baker V., Balls M., Blaauboer B.J., Boobis A., Carere A., Kevekordes S., Lhuguenot J.C., Pieters R., Kleiner J. Methods of *in vitro* toxicology. *Food Chem. Toxicol.* 40, 193-236, 2002.

- Gandhi V.M., Cherian K.M., Mulky M.J. Nutritional and toxicological evaluation of rubber seed oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 67, 883-886, 1990.
- Gunawan S., Vali S.R., Ju Y.-H. Purification and identification of rice bran oil fatty acid steryl and wax esters. J. Am. Oil Chem. Soc. 83, 449-459, 2006.
- Hanmoungjai P., Pyle D.L., Niranjan K. Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran. J. Am. Oil Chem. Soc. 78, 817-821, 2001.
- Hu W., Wells J.H., Shin T.-S., Godber J.S. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. J. Am. Oil Chem. Soc. 73, 1653-1656, 1996.
- Ichihara K., Fukubayashi Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. J. Lipid Res. 51, 635-640, 2010.
- Ikwaagwu O.E., Ononogbu I.C., Njoku O.U. Production of biodiesel using rubber [*Hevea brasiliensis* (Kunth. Muell.)] seed oil. Ind. Crop. Prod. 12, 57-62, 2000.
- Ingredients & solutions. Active ingredient selectors. www.specialchem4cosmetics.com, 2013.
- Kanlayavattanakul M., Lourith N. Therapeutic agents and herbs in topical application for acne treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 33, 289-297, 2011.
- Kanlayavattanakul M., Ospondpant D., Ruktanonchai U., Lourith N. Biological activity assessment and phenolic compounds characterization from the fruit pericarp of *Litchi chinensis* for cosmetic application. Pharm. Biol. 50, 1384-1390, 2012.
- Lautenschläger H. Essential fatty acids – cosmetic from inside and outside. Beauty Forum 4, 54-56, 2003.
- Letawe C., Boone M., Pierard G.E. Digital image analysis of the effect of topically applied linoleic acid on acne microcomedone. Clin. Exp. Dermatol. 23, 56-58, 1998.
- Lianhe Z., Xing H., Li W., Zhengxing C. Physicochemical properties, chemical composition and antioxidant activity of *Dalbergia odorifera* T. Chen seed oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 89, 883-890, 2012.
- Lourith N., Kanlayavattanakul M. Biological activity and stability of mangosteen as a potential natural color. Biosci. Biotechnol. Biochem. 75, 2257-2259, 2011.
- Lourith N., Kanlayavattanakul M. Antioxidant color of purple glutinous rice (*Oryza sativa*) color and its stability for cosmetic application. Adv. Sci. Lett. 17, 302-305, 2012.
- Lourith N., Kanlayavattanakul M. Appraisal of Thai glutinous rice husk for health promotion products. J. Cereal Sci. 57, 343-347, 2013a.
- Lourith N., Kanlayavattanakul M. Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. Agro Food Hi-Tech. 24, 56-58, 2013b.
- Mitsui T. New cosmetic science, Elsevier, Tokyo, 1997.
- Moure A., Cruz J.M., Franco D., Domínguez M., Sineiro J., Domínguez H., Núñez M.J., Parajó J.C. Natural antioxidants from residue sources. Food Chem. 72, 145-171, 2001.
- Nair K.P.P. Rubber (*Hevea brasiliensis*). In: The agronomy and Economy of Important Tree Crops

- of the Developing World. Elsevier, Miami, USA. pp. 237-273, 2010.
- Nehdi I., Omri S., Khalil M.I., Al-Resayes S.I. Characteristics and chemical composition of date plum (*Phoenix canariensis*) seeds and seed oil. *Ind. Crop. Prod.* 32, 360-365, 2010.
- Ohikhena S.O. Small scale industrial application of rubber seed oil in soap manufacture. *Ife J. Sci.* 8, 207-210, 2006.
- Oomah B.D., Ladet S., Godfrey D.V., Liang J., Girard B. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food Chem.* 69, 187-193, 2000.
- Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation – a review. *Int. J. Cosmet. Sci.* 27, 17-34, 2005.
- Ramadhass A.S., Jayaraj S., Muraleedharan C. Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. *Fuel* 84, 335-340, 2005.
- Ribeiro A.P.B., de Moura J.M.L.N., Gonçalves L.A.G., Petrus J.C.C., Viotto L.A. Solvent recovery from soybean oil/hexane miscella by polymeric membranes. *J. Mem. Sci.* 282, 328-336, 2006.
- Rezig L., Chouaibi M., Msaada K., Hamdi S. Chemical composition and profile characterization of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Ind. Crop. Prod.* 37, 82-87, 2012.
- Sahari M.A., Ataii D., Hamed M. Characteristics of Tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81, 585-588, 2004.
- Salimon J., Abdullah B.M., Salih N. Rubber (*Hevea brasiliensis*) seed oil toxicity effect and Linamarin compound analysis. *Lipid Health Dis.* 11: 74, 2012.
- Tsaknis J., Lallas S., Geris V., Dourtoglou V., Spiliotis V. Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4495-4499, 1999.
- Uluata S., Özdemir N. Antioxidant activities and oxidative stabilities of some unconventional oilseeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89, 551-559, 2012.
- Valdiviesos-Garcia A, Clarke RC, Rahn K. *et al.* Neutral red assay for measurement of quantitative *vero* cell cytotoxicity. *Appl. Envi. Microbiol.* 59, 1981-1983, 1993.
- van Beilen J.B., Poirier Y. Establishment of new crops for the production of natural rubber. *Trend Biotechnol.* 25, 522-529, 2007.
- Wahrburg U. What are the health effects of fat? *Eur. J. Nutr.* 43, 1/6-1/11, 2004.
- Wu H., Shi J., Xue S., Kakuda Y., Wang D., Jiang Y., Ye X., Li Y., Subramanian J. Essential oil extracted from peach (*Prunus persica*) kernel and its physicochemical and antioxidant properties. *LWT-Food Sci. Technol.* 44, 2032-2039, 2011.

ภาคผนวก

รายงานฉบับสมบูรณ์ได้ดำเนินการแก้ไข และเพิ่มเติมรายละเอียด ตามข้อเสนอแนะ และข้อคิดเห็นของ ผู้ทรงคุณวุฒิ ทั้ง 3 ท่าน อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ เป็นที่เรียบร้อยแล้ว โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. เพิ่มเติมแหล่งที่มาของวัตถุดิบในหน้า 3
2. เพิ่มรายละเอียดเกี่ยวกับปริมาณกรดไขมันจากแหล่งข้อมูลอื่น และพืชอื่น ในหน้า 6-8 และการอธิบาย ตัวอย่างต่างๆ ในหน้า 4
3. แก้ไขคำว่า soxhlet extractor เป็น soxhlet extraction รวมถึงรายละเอียดเกี่ยวข้องกับการเขย่า ใน หน้า 3 และ 4
4. แก้ไขบทคัดย่อภาษาอังกฤษ
5. แก้ไขคำว่า พืช เป็น เมล็ดยางพารา (หน้า 4) และเปลี่ยนคำว่า คุณสมบัติ เป็นสมบัติ (หน้า 3, 5, 8, 9) รวมถึงการเขียน Sox Hex แบบเต็ม ในเนื้อหาทั้งเอกสาร
6. วิจัยผลลัพธ์เพิ่มเติมในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสมบัติด้านสี
7. วิจัยผลลัพธ์เพิ่มเติมในด้านปริมาณกรดไขมัน มุลค่า และสมบัติของกรดไขมัน รวมถึงการเพิ่มข้อมูลตัวเลขที่แสดงผลในกราฟต่างๆ ตามข้อเสนอแนะ