

การศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ความเป็นพิษเฉียบพลัน  
ต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่าย  
จากสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต

PHYTOCHEMICAL SCREENING, ACUTE TOXICITY AGAINST SKIN  
IRRITATION AND CORROSION IN RABBITS OF AQUEOUS FABRIC  
DYE FROM *BOUEA BURMANICA* GRIFF. LEAF EXTRACT

พัทวัฒน์ สีขาว<sup>1\*</sup> หนึ่งฤทัย เนื้อไม้หอม<sup>1</sup> นฤมล พรหมลา<sup>1</sup>

ครรชิต ณ วิเชียร<sup>1</sup> และ อรัญญา จุติวิบูลย์สุข<sup>2</sup>

Pattawat Seekhaw<sup>1\*</sup>, Nuengruethai Narmayhom<sup>1</sup>, Naruemon Promla<sup>1</sup>,

Kunchit na wichian<sup>1</sup>, and Aranya Jutiviboonsuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

<sup>2</sup>คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

<sup>1</sup>Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

<sup>2</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Huachiew Chalermprakiet University

\*corresponding author e-mail: pattawat\_apsc@hotmail.com

(Received: 24 January 2022; Revised: 4 April 2022; Accepted: 8 April 2022)

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายจากสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต พบสารพฤกษเคมี 4 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก แทนนิน ไตรเทอร์พีน และแอนทราควิโนน ส่วนการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายของสารสกัดปริมาณ  $0.5 \pm 0.05$  มิลลิลิตร ไม่พบการบวมและการแดงของผิวหนังในกระต่ายทั้ง 2 ตัว ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง และตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดสอบ ดัชนีการแดงและการบวมของผิวหนังกระต่ายที่ 72 ชั่วโมงแรกหลังจากการทาสีทดสอบ มีค่าเป็น 0 อยู่ในระดับที่ไม่มีการระคายเคืองกับผิวหนังกระต่าย นอกจากนี้ไม่พบความผิดปกติของพฤติกรรมและอาการทางคลินิกของกระต่ายตลอดระยะเวลา 14 วัน หลังจากทาสีทดสอบ และไม่พบว่า มีกระต่ายตัวใดตายหรือแสดงอาการเจ็บปวดตลอดระยะเวลาทดสอบ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็น

วารสารสกัดน้ำย้อมสีจากใบมะยงชิดไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่าย

**คำสำคัญ:** ใบมะยงชิด พฤษเคมี การระคายเคือง การกัดกร่อน

### Abstract

The objectives of this research are to evaluate the phytochemical screening and acute toxicity against skin irritation and corrosion in rabbits from aqueous extract of *Bouea burmanica* Griff. leaves. Phytochemical screening indicated the present of 4 groups of compound including phenolics, tannins, triterpenes and anthraquinones. Acute skin irritation and corrosion toxicity test in rabbits of the aqueous extract from the leaves of *B. burmanica* at the amount of  $0.5 \pm 0.05$  ml showed no swelling or redness of the skin in both rabbits at 24, 48 and 72 hours after application of the test material and over the entire period 14 days of the test. The redness and swelling index of rabbit skin at the first 72 hours after application of the test material was 0 indicated that the aqueous extract from the leaves of *B. burmanica* was not irritating to rabbit skin. In addition, no behavioral abnormalities and clinical signs were observed during 14 days after application of the test material. No rabbits were found dead or in pain during the testing period. The results of this study showed that the aqueous extract from the leaves of the *B. burmanica* did not cause acute toxicity against skin irritation and corrosion in rabbits.

**Keywords:** *Bouea burmanica* Griff. leaves, Phytochemical, Irritation, Corrosion

### บทนำ

การนำวัสดุธรรมชาติมาใช้เป็นสีในการย้อมผ้าเป็นการช่วยลดการใช้สารเคมี มีความปลอดภัย ไม่มีสารพิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ลดปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อม รวมถึงไม่ส่งผลกระทบต่อปัญหาสุขภาพของผู้ย้อม อีกทั้งยังมีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว ให้สีสันสวย เย็นตา ไม่ฉูดฉาด การคัดสรรวัตถุดิบใหม่จากธรรมชาติเพื่อสร้างความโดดเด่น มีความเป็นอัตลักษณ์ โดยเฉพาะการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาสร้างมูลค่าเพิ่มเป็นการใช้ทรัพยากรจากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์สูงสุด การย้อมสีเป็นกระบวนการสำคัญขั้นตอนหนึ่งของงานสิ่งทอ สีที่ได้จากวัสดุธรรมชาติ ส่วนใหญ่ได้จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล เปลือกต้น ราก เมล็ด เปลือกผล เป็นต้น สีธรรมชาติจากภูมิปัญญาชาวบ้านซึ่งสามารถหาได้ในพื้นที่ ได้ถูกถ่ายทอดตั้งแต่บรรพบุรุษและคงอนุรักษ์สืบสานกันมาตลอดจนมีการต่อยอดความรู้ดั้งเดิม (ประภากร, 2560) วัสดุหรือพืช

ธรรมชาติที่คนไทยนำมาใช้สกัดสีและเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายมีการใช้อย่างแพร่หลายในท้องถิ่น เช่น รากของยอป่าให้สีแดง-ส้ม แต่ถ้าใช้ส่วนของเนื้อ จะให้สีเหลือง แก่นไม้แกลให้สีเหลืองทอง เหลืองเข้ม เหลืองเขียว เปลือกเพกาได้ทั้งโทนสีเขียว-เหลือง ผักของต้นราชพฤกษ์หรือคุณให้สีโทนน้ำตาล เปลือกมังคุดให้สีน้ำตาล-น้ำตาลแดง ผลมะเกลือให้สีดำ และเปลือกต้นมะม่วงให้สีเหลืองอ่อน เขียว เขียวเข้ม เป็นต้น อย่างไรก็ตามเจดสีที่หลากหลายขึ้นอยู่กับสารช่วยย้อม ส่วนผสมของวัสดุอื่นในการย้อม และกรรมวิธีในการย้อมเช่นกัน (กมลเนตร, 2562)

มะยงชิด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bouea burmanica* Griff. เป็นผลไม้มีลักษณะคล้ายกับมะปรางมีถิ่นกำเนิดทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดใหญ่ ทรงพุ่มทึบ ใบใหญ่ ยาวรี เป็นไม้ผลเมืองร้อนที่ไม่มีการผลัดใบคือจะมีใบสีเขียวตลอดทั้งปี ดอกเป็นช่อมีสีเหลือง ผลมีขนาดใหญ่กว่ามะปราง ไม่มียาง ผลอ่อนสีเขียว มีรสชาติเปรี้ยวจัด ผลสุกสีเหลืองอมส้ม เนื้อผลสุกมีสีเหลืองอมแดง หรือมีสีส้มอมแดง ตามสายพันธุ์ เนื้อนุ่มฉ่ำน้ำ รสชาติหวานอมเปรี้ยว กลิ่นหอม มีเมล็ดแข็งทรงรี สีขาวนวลหรือสีม่วงอมชมพูอยู่ข้างใน (ชวนชม, 2550; ธีรวิธ และคณะ, 2560; พิมพ์ใจ และคณะ, 2559) จังหวัดสุโขทัยถือได้ว่าเป็นแหล่งปลูกมะยงชิดที่สำคัญแห่งหนึ่งในเขตภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งเป็นหนึ่งในของดีของจังหวัดสุโขทัยที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรในพื้นที่เป็นอย่างดี แต่เนื่องจากมะยงชิดให้ผลผลิตเพียงปีละครั้ง จึงทำให้เกษตรกรมีรายได้เพียงครั้งเดียวต่อปี กอปรกับจังหวัดสุโขทัยเป็นเมืองท่องเที่ยวมรดกโลก และมีความโดดเด่นในเรื่องของวิถีชีวิตชุมชนมีงานหัตถกรรมที่มีความสวยงาม มีอัตลักษณ์ ก็คือ “ผ้าหมักโคลน” ซึ่งเป็นของดีของชุมชน ตำบลบ้านตึก อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย เป็นที่รู้จักชื่นชอบของนักท่องเที่ยวและผู้มาเยือน ด้วยศักยภาพของการเป็นแหล่งเที่ยวชมชนนวัตวิถีที่โดดเด่นของจังหวัด ซึ่งนักท่องเที่ยวจะได้เรียนรู้วิถีชีวิตของคนในชุมชน ได้ท่องเที่ยวในเชิงอนุรักษ์สัมผัสกับธรรมชาติแบบครบวงจร คนในชุมชนมีอาชีพเสริม คือ ทอผ้า คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำใบมะยงชิด ซึ่งเป็นวัสดุจากธรรมชาติที่มีอยู่เป็นจำนวนมากในท้องถิ่นมาเป็นวัตถุดิบในการย้อมสีผ้าที่เป็นหัตถกรรมขึ้นชื่อ และสร้างรายได้ของชุมชนบ้านตึก อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย

การศึกษาศาสตร์วิธีการย้อมสีจากใบมะยงชิดเบื้องต้น พบว่า สามารถย้อมติดสีได้หลากหลายสี ได้แก่ เหลือง น้ำตาล เทา ขึ้นอยู่กับสารช่วยย้อมแต่ละชนิดที่ใช้ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการนำใบมะยงชิดมาใช้เป็นสีย้อมผ้า ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น และทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายจากสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยงชิดเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์และประเมินความปลอดภัยของสีย้อมจากใบมะยงชิด เพื่อสร้างความมั่นใจแก่ผู้สนใจผ้าทอย้อมสีจากใบมะยงชิดต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเก็บตัวอย่างใบมะยงชิด

เก็บตัวอย่างใบมะยงชิด (*Bouea bunmanica* Griff.) จากพื้นที่ตำบลไกรนอก อำเภอกงไกรลาศ จังหวัดสุโขทัย วันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2563 เก็บรักษา ตัวอย่างอ้างอิงไว้ ณ ห้องเก็บรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม (Voucher specimen no. PSRU 1010)

### 2. การสกัดน้ำย้อมสีใบมะยงชิด

#### 2.1 การเตรียมสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยงชิด

เลือกเก็บใบมะยงชิดสดมาล้างน้ำ ทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งหั่นใบมะยงชิดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1x1 นิ้ว แล้วต้มสกัดสีกับน้ำประปาในอัตราส่วน 1 : 2.5 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยงชิดที่ได้มารองกาออกด้วยผ้าขาวบาง แล้วแบ่งสารสกัดที่ได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเก็บใส่ภาชนะปิดสนิทกันแสงไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อไป ส่วนที่สองนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งสุญญากาศเพื่อทำการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น

#### 2.2 การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening)

การตรวจสอบสารพฤษเคมีของสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยงชิด โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ในการตรวจสอบสารพฤษเคมี 8 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ไคเทอร์พีน ไตรเทอร์พีน แอลคาลอยด์ และแอนทราควิโนน (โชติกา และคณะ, 2559) ดังนี้

1) **การตรวจสอบฟีนอลิก** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาหยดสารละลาย 2% เพอริคลอไรด์ (2%  $\text{FeCl}_3$ ) จำนวน 2 หยด ถ้าสารละลายให้สีน้ำเงินเข้มหรือสีดำแสดงว่าตรวจพบ “สารฟีนอลิก”

2) **การตรวจสอบฟลาโวนอยด์** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลอง เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) 1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลาย แล้วเติมลวดแมกนีเซียม (Mg) ลงไป 2 ชิ้นเล็ก ถ้าฟองที่เกิดเป็นสีส้มแดงหรือชมพู แสดงว่าตรวจพบ “สารฟลาโวนอยด์”

3) **การตรวจสอบแทนนิน** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาหยดสารละลาย 10% เลดอะซิเตด (10%  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) ถ้าเกิดตะกอนสีขาวขุ่นแสดงว่าตรวจพบ “สารแทนนิน”

4) **การตรวจสอบซาโปนิน** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาเขย่าแรงๆ หากเกิดฟอง และฟองมีความคงทนอยู่ประมาณ 10 นาที แสดงว่าตรวจพบ “สารซาโปนิน”

5) **การตรวจสอบไดเทอร์พีน** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาหยดสารละลาย 10% คอปเปอร์อะซิเตท ( $10\% \text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) ถ้าสารละลายเกิดสีเขียวมรกต แสดงว่าตรวจพบ “สารไดเทอร์พีน”

6) **การตรวจสอบไตรเทอร์พีน** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลองเติมคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 2 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2–3 นาที สังเกตสีของสารละลายชั้นล่างที่เกิดขึ้นหากปรากฏสีน้ำตาลแดงแสดงว่าตรวจพบ “สารไตรเทอร์พีน”

7) **การตรวจสอบแอลคาลอยด์** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาทดสอบด้วยสารละลาย Wagner's Reagent หากเกิดตะกอนสีน้ำตาลแสดงว่าตรวจพบ “สารแอลคาลอยด์”

8) **การตรวจสอบแอนทราควิโนน** โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ในหลอดทดลองเติมคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ผ่านการกรองมาเติมสารละลาย 10% แอมโมเนีย ( $10\% \text{NH}_3$ ) 2 มิลลิลิตร ถ้าชั้นแอมโมเนียมีสีส้มแดง ชมพู เหลืองส้ม แสดงว่าตรวจพบ “อนุพันธ์แอนทราควิโนน”

### 3. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายจากสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะขาง

การทดสอบครั้งนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (คกส.) (NU-TS620609-19) ตามแนวปฏิบัติของ OECD TG 404; Acute Dermal Irritation/Corrosion of the OECD Guidelines for Testing of Chemicals (2015) ใช้กระต่ายสายพันธุ์ New Zealand White (*Oryctolagus Cuniculus*) โตเต็มวัยที่มีสุขภาพดีจำนวน 2 ตัว เพศผู้ อายุ 7 เดือน โดยส่งกระต่ายจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติตมิลิดล ที่มีใบรับรองคุณภาพสายพันธุ์และสุขภาพ (Animal Health Certificate) และหลังจากการขนส่งกระต่ายถูกเลี้ยง ณ อาคารสถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัย ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานสากลจาก Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International; AAALAC ทั้งนี้เพื่อให้เป็นไปตาม

OECD TG 404 กระต่ายถูกเลี้ยงเพื่อกักกันโรค (Quarantine) และปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของห้องเลี้ยง (Acclimatization) เป็นเวลา 13 วัน กระต่ายถูกเลี้ยงที่ห้องควบคุมอุณหภูมิที่  $20 \pm 3$  องศาเซลเซียส ค่าความชื้นสัมพัทธ์ 30–70% โดยระบบ Humidity Ventilation Air Condition Control System; HVAC และมีระบบควบคุมแสงสว่างที่เหมาะสมในแต่ละวันโดยเปิดไฟเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และปิดไฟเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง มีการบันทึกสภาพแวดล้อมของห้องเลี้ยงกระต่ายตลอดระยะเวลาทดสอบ กระต่ายทุกตัวได้รับอาหารเม็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (สูตร 8RD65) หย้าจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล น้ำกรอง (Reverse Osmosis) ที่ผ่านการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากบริษัท เอนไวรอนเม้นท์ แอนด์ แลบลอราตอรี จำกัด ตลอดการทดสอบ มีการจดบันทึกปริมาณการกินอาหารและน้ำทุกวันตลอดการทดสอบด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักที่ผ่านการตรวจสอบความพร้อมก่อนการใช้งาน ชั่งน้ำหนักกระต่ายในวันที่ท้าวสดทดสอบ วันที่ 7 และ 14 หลังจากล้างวัสดุทดสอบ ทำการบันทึกปริมาณการกินอาหารและน้ำทุกวัน

### 3.1 ช่วงเวลาการปรับตัวของกระต่าย (Acclimatization of Rabbits)

กระต่ายได้รับการดูแลตรวจสุขภาพโดยสัตวแพทย์ประจำสถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัยหรือพนักงานเลี้ยงสัตว์ทุกวัน หลังจากกระต่ายถูกขนส่งมาถึงอาคารสถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัยกระต่ายถูกนำไปเลี้ยงที่ห้องกักกัน เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นถูกย้ายมาเลี้ยงที่ห้องเลี้ยงและปฏิบัติการ เป็นเวลา 6 วัน เพื่อให้กระต่ายปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของห้องเลี้ยงและปฏิบัติการ กระต่ายถูกเลี้ยงในกรงสำหรับกระต่าย ขนาดประมาณ  $25.71 \times 25.71 \times 17.72$  นิ้ว จำนวน 1 ตัวต่อกรง โดยอ้างอิงตามมาตรฐานการปฏิบัติงานการตรวจสุขภาพสัตว์ทดลองกรณีรับสัตว์ใหม่ ช่วงระยะกักกันและช่วงระยะเวลาปรับตัว (NUCAR/SOP VC-02)

### 3.2 การเตรียมและการให้สัญลักษณ์กระต่าย (Preparation and Marking of Rabbits)

กระต่ายถูกทำสัญลักษณ์ในวันที่เตรียมผิวหนัง โดยจะใช้ปากกา (Permanent) สีน้ำเงิน ระบุวิธีการทดสอบ OECD TG 404 ด้วยสัญลักษณ์  $\Delta$  ตามด้วยหมายเลขการศึกษา “NG17” และลำดับตัวกระต่ายที่บริเวณหูด้านในข้างขวา ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดการทำสัญลักษณ์กระต่าย

| กระต่าย<br>(Animals) | การให้วัสดุทดสอบ<br>(Treatments)          | บริเวณใบหูด้านในข้างขวา<br>(Right Inner Ear) |
|----------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------|
| ตัวที่ 1             | Initial Test; 1 <sup>st</sup> Rabbit      | $\Delta$ NG17-1                              |
| ตัวที่ 2             | Confirmatory Test; 2 <sup>nd</sup> Rabbit | $\Delta$ NG17-2                              |

ก่อนเริ่มการทดสอบ 24 ชั่วโมง กระต่ายถูกโกนขนขนาดพื้นที่ประมาณ 5X10 ตารางเซนติเมตร ที่ห้องเลี้ยงและปฏิบัติการ ด้วยปัตตาเลี่ยนไฟฟ้าที่มีการตรวจสอบประสิทธิภาพการใช้งาน โดยโกนขนบริเวณด้านหลังช่วงระหว่างขาหน้าและขาหลัง (Dorsal/Flank Area) อย่างระมัดระวังไม่ให้เกิดบาดแผลบนผิวหนังกระต่าย และกระต่ายที่มีสภาพผิวหนังสมบูรณ์เท่านั้นที่ถูกคัดเลือกมาใช้ในการทดสอบ

#### 4. การเตรียมวัสดุทดสอบ (Preparation of Test Item)

สารสกัดน้ำย้อมสีโบมาเยนซีด มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาล มีค่า pH เท่ากับ 3.76 ดูดสารสกัดด้วยเครื่องดูดสารละลายอัตโนมัติแบบปรับปริมาตรได้ (Auto Pipette) ขนาด  $0.5 \pm 0.05$  มิลลิลิตร แล้วหยดลงในแผ่นผ้าก๊อช ขนาด 6 ตารางเซนติเมตร ที่รองด้วยแผ่นพาราฟิล์ม

#### 5. การทาววัสดุทดสอบ (Test Item Application)

กระต่ายที่ถูกโกนขนแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการย้ายกระต่ายมายังห้องปฏิบัติการ และสังเกตการณ์ การทดสอบเบื้องต้นในกระต่ายตัวที่ 1 (ANG17-1) ทำการทดสอบที่ผิวหนัง จำนวน 1 จุด โดยนำแผ่นผ้าก๊อชที่มีสารสกัดน้ำย้อมสีปริมาณ  $0.5 \pm 0.05$  มิลลิลิตร ปิดลงบนผิวหนังบริเวณด้านขวาของกระต่าย ห่างจากแนวกระดูกสันหลัง ประมาณ 5-7 เซนติเมตร และปิดทับด้วยแผ่นปิดแผลชนิดที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง (Non-Irritating Tape) หลังจากนั้นพันด้วยผ้าพันแผลแบบยืดได้หรือเทปแต่งแผลชนิดใส (Transpore) จากนั้นนำแผ่นผ้าก๊อช ขนาด 6 ตารางเซนติเมตร ที่ถูกหยดด้วยน้ำกลั่นปริมาณ  $0.5 \pm 0.05$  มิลลิลิตร วางบนผิวหนังด้านซ้ายห่างจากแนวกระดูกสันหลัง ประมาณ 5-7 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นบริเวณควบคุม แล้วปิดทับด้วยแผ่นปิดแผลชนิดที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง หลังจากนั้นพันด้วยผ้าพันแผลแบบยืดได้หรือเทปแต่งแผลชนิดใส นำกระต่ายกลับเข้ากรงเลี้ยงโดยจะเลี้ยงกระต่ายกรงละ 1 ตัว เพื่อสังเกตอาการและพฤติกรรมที่ห้องปฏิบัติการและสังเกตการณ์ เมื่อครบ 4 ชั่วโมง นำกระต่ายออกจากกรงมาแกะแผ่นผ้าก๊อชออก ล้างผิวหนังด้วย 0.9% Normal Saline ต่อจากนั้นนำกระต่ายกลับไปยังกรงเลี้ยงเพื่อสังเกตลักษณะผิวหนังและอาการทางคลินิกเป็นเวลารวมทั้งหมด 14 วัน การทดสอบกับกระต่ายตัวที่ 2 (ANG17-2) ทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับกระต่ายตัวที่ 1

การประเมินลักษณะผิวหนังและอาการทางคลินิกของกระต่ายบันทึกผลที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง หลังจากล้างวัสดุทดสอบ โดยให้คะแนน 0-4 ตามหลักเกณฑ์การให้คะแนนการแดงและการบวมของผิวหนัง ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** หลักเกณฑ์การให้คะแนนการแดงและบวมของผิวหนัง (Draize, 1944)

| การแดงและชั้นเนื้อตาย (Erythema and Eschar Formation)                                                                                                         |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| ไม่พบการแดงที่ผิวหนัง (no erythema)                                                                                                                           | 0 |
| พบการแดงเพียงเล็กน้อย (very slight erythema; barely perceptible)                                                                                              | 1 |
| พบการแดงชัดเจน (well-defined erythema)                                                                                                                        | 2 |
| พบการแดงปานกลาง (moderate to severe erythema)                                                                                                                 | 3 |
| พบการแดงรุนแรงถึงขั้นมีชั้นเนื้อตายของผิวหนัง (severe erythema; beef redness to eschar formation preventing grading of erythema)                              | 4 |
| ค่าสูงสุดที่เป็นไปได้ (maximum possible)                                                                                                                      | 4 |
| การเกิดการบวม (Oedema Formation)                                                                                                                              |   |
| ไม่พบการบวม (no oedema)                                                                                                                                       | 0 |
| พบการบวมเล็กน้อย (very slight oedema; barely perceptible)                                                                                                     | 1 |
| พบการบวมที่มองเห็นขอบเขตชัดเจน (slight oedema; edges of area well defined by definite raising)                                                                | 2 |
| พบการบวมปานกลาง สูงขึ้นประมาณ 1 มิลลิเมตร (moderate oedema; raised approximately 1 millimeter)                                                                | 3 |
| พบการบวมรุนแรง ขอบสูงกว่า 1 มิลลิเมตร และลามไปทั่วบริเวณที่สัมผัสตัวอย่าง (severe oedema raised more than 1 millimeter and extending beyond area of exposure) | 4 |
| ค่าสูงสุดที่เป็นไปได้ (maximum possible)                                                                                                                      | 4 |

**ผลการวิจัย****1. ผลการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening)**

การตรวจสอบสารพฤษเคมีของสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชนิดด้วยปฏิกิริยาทางเคมีพบกลุ่มสาร 4 ชนิด ได้แก่ ฟีนอลิก แทนนิน ไตรเทอร์พีน และแอนทราควิโนน ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ผลการตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชนิด

| สารพฤษเคมี   | ผลการตรวจสอบสารสกัดน้ำย้อมสีจากใบมะยมชนิด |
|--------------|-------------------------------------------|
| ฟีนอลิก      | +                                         |
| ฟลาโวนอยด์   | -                                         |
| แทนนิน       | +                                         |
| ซาโปนิน      | -                                         |
| ไตรเทอร์พีน  | -                                         |
| ไตรเทอร์พีน  | +                                         |
| อัลคาลอยด์   | -                                         |
| แอนทราควิโนน | +                                         |

**หมายเหตุ** + หมายถึง ตรวจสอบพบ และ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ

## 2. ผลการตอบสนองของผิวหนังกระต่ายต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนหลังจากทดสอบด้วยสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต

กระต่ายตัวที่ 1 (ANG17-1) และตัวที่ 2 (ANG17-2) ได้รับสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต ปริมาณ 0.4956 และ 0.4903 กรัม ตามลำดับ เมื่อประเมินตามหลักเกณฑ์การให้คะแนน การแดงและการบวมของผิวหนังกระต่าย กระต่ายทั้ง 2 ตัว ไม่พบการแดงและการบวมของผิวหนัง หลังจากล้างวัสดุทดสอบไปแล้วในช่วงระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 14 วัน หลังจากล้างวัสดุทดสอบ และค่าดัชนีการระคายเคืองและการกัดกร่อนที่เวลา 72 ชั่วโมง หลังจากล้างวัสดุทดสอบ มีค่าเท่ากับ 0 เมื่อประเมินตามเกณฑ์การประเมินผิวหนังกระต่ายตาม มอก. 152-2555 สรุปผลได้ว่าสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนัง

**ตารางที่ 4** ผลการประเมินลักษณะผิวหนังกระต่ายต่อการแดงและการบวมหลังจากทดสอบด้วยสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต

| กระต่าย | คะแนนการแดงและการบวมของผิวหนังกระต่ายหลังจากล้างวัสดุทดสอบที่เวลา |     |            |     |            |     | ดัชนีการระคายเคืองและการกัดกร่อน | ระดับการระคายเคือง* |
|---------|-------------------------------------------------------------------|-----|------------|-----|------------|-----|----------------------------------|---------------------|
|         | 24 ชั่วโมง                                                        |     | 48 ชั่วโมง |     | 72 ชั่วโมง |     |                                  |                     |
|         | แดง                                                               | บวม | แดง        | บวม | แดง        | บวม |                                  |                     |
| ΔNG17-1 | 0                                                                 | 0   | 0          | 0   | 0          | 0   | 0                                | ไม่ระคายเคือง       |
| ΔNG17-2 | 0                                                                 | 0   | 0          | 0   | 0          | 0   | 0                                | ไม่ระคายเคือง       |

**หมายเหตุ** \* เกณฑ์การประเมินผิวหนังกระต่าย มอก.152-2555 ระบุว่า ค่าดัชนีการระคายเคืองและการกัดกร่อน 0-1 ไม่ระคายเคือง มากกว่า 1-2 ระคายเคืองเล็กน้อย มากกว่า 2-5 ระคายเคืองปานกลาง มากกว่า 5-8 ระคายเคืองรุนแรง

## 3. การตอบสนองของความตายและอาการใกล้ตายทางคลินิกหลังจากทดสอบ

กระต่ายที่ถูกทดสอบด้วยสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตทั้ง 2 ตัว ไม่พบว่ามีอาการตาย และไม่มีการแสดงอาการผิดปกติทางคลินิกหลังจากล้างวัสดุทดสอบไปแล้วในช่วงระยะเวลา 72 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดสอบ ไม่พบว่ากระต่ายแสดงอาการเจ็บปวดที่เกิดจากความเป็นพิษของวัสดุทดสอบ รวมทั้งไม่พบว่ากระต่ายมีอาการสั่น (Tremor) ชัก (Convulsion) น้ำตาไหล (Salivation) ท้องเสีย (Diarrhea) อ่อนเพลีย (Lethargy) หมดสติ (Coma) ไม่พบการเคลื่อนไหว (Somatic Activity) หรือพฤติกรรม (Behavior) ที่ผิดปกติ

#### 4. การกินอาหารและน้ำ (Food and Water Consumption)

กระต่ายทั้ง 2 ตัว ได้รับอาหารและน้ำแบบไม่จำกัด โดยมีการชั่งน้ำหนักอาหารและน้ำทุกวันตลอดระยะเวลา 14 วัน หลังจากทาวัสตุทดสอบ พบว่า กระต่ายทั้ง 2 ตัว มีการกินอาหารและน้ำที่น้อยกว่าเกณฑ์ปกติในบางวันโดยเกณฑ์ปกติของกระต่ายสายพันธุ์ New Zealand White โตเต็มวัยมีปริมาณการกินอาหารอยู่ที่ 100–120 กรัม/ตัว/วัน และมีปริมาณการกินน้ำ 50–100 มิลลิลิตร/1 กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (Suckow et al., 2010) อย่างไรก็ตามน้ำหนักตัวของกระต่ายทั้ง 2 ตัว ที่เวลา 14 วัน หลังทาวัสตุทดสอบมีค่าลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ทาวัสตุทดสอบ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 น้ำหนักตัวของกระต่ายในช่วงที่ทำการทดสอบ

| สัญลักษณ์กระต่าย     | น้ำหนักตัวของกระต่าย (กิโลกรัม) |          |           |
|----------------------|---------------------------------|----------|-----------|
|                      | วันที่ทาวัสตุทดสอบ              | วันที่ 7 | วันที่ 14 |
| ANG17-1              | 3.52                            | 3.53     | 3.47      |
| ANG17-2              | 3.62                            | 3.60     | 3.61      |
| ค่าเฉลี่ย (กิโลกรัม) | 3.57                            | 3.57     | 3.54      |

#### อภิปรายผล

การตรวจหาสารพิษจากเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิต เพื่อใช้สำหรับเป็นสีย้อมผ้าจากธรรมชาติ ทำการตรวจสอบโดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีในการเกิดสีหรือตะกอน พบสารพิษเคมีจำนวน 4 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก แทนนิน ไตรเทอร์พีน และแอนทราควิโนน ซึ่งสารกลุ่มแทนนิน และแอนทราควิโนนนั้นจัดเป็นสารให้สีธรรมชาติจากพืช (วินัย, 2000) และแทนนินยังจัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการช่วยติดสี ในกระบวนการย้อมสีธรรมชาติ เนื่องจากโครงสร้างเคมีของแทนนินมีหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิลที่สามารถเชื่อมโยงกับโปรตีน จึงทำให้เกิดการยึดติดกับเส้นใยได้อย่างมีประสิทธิภาพ (พรพิมล และคณะ, 2560; Win et al., 2020) นอกจากนี้สารพิษเคมีที่ตรวจพบจัดเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (Fernandez-Pancho et al., 2008; Kumar et al., 2014) ต้านแบคทีเรีย (Akiyama et al., 2001) เป็นต้น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตมีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในย้อมสีที่มีศักยภาพ เพื่อสร้างความมั่นใจในการนำใบมะยมชิตมาใช้เป็นวัตถุดิบ จึงได้นำสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตมาทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่าย ตามหลักการองค์การเพื่อความร่วมมือและการพัฒนาทางเศรษฐกิจ OECD TG 404 พบว่าภายหลังจากการทดสอบไปแล้วในช่วง 1–72 ชั่วโมงแรก และตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดสอบ ไม่พบการระคายเคืองและการกัดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายทั้ง 2 ตัว กระต่ายมีการกินอาหารและ

น้ำน้อยกว่าเกณฑ์ปกติในบางวัน แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความผิดปกติของพฤติกรรมและอาการทางคลินิกอื่นๆ ของกระต่ายทั้ง 2 ตัว ตลอดช่วงระยะเวลา 14 วันของการทดสอบ จึงแสดงให้เห็นได้ว่าการหาผิวหนังของกระต่ายด้วยสารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตที่ปริมาณ  $0.5 \pm 0.05$  มิลลิลิตร ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและการกีดกร่อนของผิวหนังในกระต่ายตามหลักเกณฑ์ของ GHS ที่ระดับ Unclassified (United Nations, 2019)

### สรุปผลการวิจัย

จากข้อมูลการตรวจหาสารพิษเคมีเบื้องต้น พบว่า สารสกัดน้ำย้อมสีใบมะยมชิตพบสารสำคัญทางพิษวิทยาเคมี จำนวน 4 ชนิด คือ ฟีนอลิก แทนนิน ไตรเทอร์พีน และแอนทราควิโนน ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของสารให้สีจากธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อการย้อมผ้า และยังพบว่าไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อการระคายเคืองและการกีดกร่อนของผิวหนังในกระต่าย ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาย้อมจากใบมะยมชิตได้ต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกลุ่มการทองเที่ยวและเศรษฐกิจสร้างสรรค์ หน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (บพข.) กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กสว.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สำนักประสานงานการพัฒนาศักยภาพการทองเที่ยวและเศรษฐกิจสร้างสรรค์ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย รวมถึงสาขาวิชาเคมี และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ในการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- กมลเนตร จันทร์แก้ว. (2562). **วัสดุธรรมชาติให้สีต่างๆ**. สืบค้นเมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม 2563, จาก <https://www.seub.or.th/blogging>.
- ชวนชม. (2550). **มะยมชิต มะปรางหวาน ของดีเมืองนครนายก**. สืบค้นเมื่อวันที่ 2 พฤษภาคม 2563. จาก [http://bot.swu.ac.th/upload/article\\_document/1228385627.pdf](http://bot.swu.ac.th/upload/article_document/1228385627.pdf)
- โชติกา คุณประทุม, ปกิต กำบุญมา, ปุณยรัชต์ คริสฐพัฒน์ชาวัน, และชนกพร เผ่าศิริ. (2559). การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทาบอลจากยอดและกิ่งอ่อนสะเดาหวาน. ใน **การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติ และนานาชาติ** (น. 308–316) ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ถิรฐ บัญวงศ์, เจนจิรา ชุมภูคำ, และชินวัฒน์ ยี่พัฒน์พันธ์. (2560). ผลของสีวัสดุห่อต่อคุณภาพผลมะยมชิตพันธุ์ทูลเกล้า. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 6(3), 214–220.
- ประกาศ สุนทรธมณี. (2560). สีสันจากพันธุ์พฤษภา. **วารสารมหาวิทยาลัยศิลปากร**, 37(3), 183–202.

- พรพิมล พิมลรัตน์, นิวุฒิ หวังชัย, สุพันธ์ณี สุวรรณภักดี, และพัชราวลัย ศรียะศักดิ์. (2560). เอกสารประกอบ  
การอบรมสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง: วิธีการเตรียมอย่างง่ายและการประยุกต์ใช้ในปลา  
สวยงาม. สืบค้นเมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2565, จาก [https://chumphon.mju.ac.th/government/Doc\\_2...PDF](https://chumphon.mju.ac.th/government/Doc_2...PDF)
- พิมพ์ใจ สีหะนาม, วิมลฉัตร สมนิยาม, และดรุณี มูลโรจน์. (2559). อิทธิพลของขนาดผลต่อคุณภาพของผลมะยง  
ชิดพันธุ์สุวิไล. *วารสารแก่นเกษร*, 44(1), 95–104.
- วินัย อุดมทรัพย์. (2000). การใช้สีธรรมชาติจากพืชย้อมผ้า. *วารสารวิชาการคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ สจล.*,  
2(1), 73–82.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki. (2001). Antibacterial action of several tannins against  
*Staphyrococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487–491.
- Fernandez–Panchon, M.S., Villand, D., Troncoso, A.M., & Garcia–Parrilla, M.C. (2008). Antioxidant activity of  
phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. *Critical Reviews in Food Science  
and Nutrition*, 48, 649–671.
- Kumar, H., Choudhary, N., Varsha, N., Kumar, S., & Seth, R. (2014). Phenolic compounds and their health  
benefits: A review. *Journal of Food Research and Technology*, 2(2), 46–59.
- Sekar, M. (2015). Molecules of interest – mangiferin – A review. *Annual Research & Review in Biology*,  
5(4), 307–320.
- Suckow, M.A., Schroeder, V., & Douglas, F.A. (2020). *The Laboratory Rabbit*. (2<sup>nd</sup> ed.). Boca Raton: CRC  
Press.
- United Nations. (2019). *Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS)*. New York &  
Geneva. 564 p.
- Win, K.H., Khaing, T., Naing H.H., Khaing, Y.K. (2020). Extraction of tannin as a natural mordant from tea leaf  
for dyeing of cotton cloth. *University of Mandalay, Research Journal*, 11, 48–55.