

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

คุณลักษณะของสารสกัดสาหร่ายสีเขียวน้ำจืดขนาดใหญ่  
[*Rhizoclonium hieroglyphicum* (C.Agardh) Kützinger] และการ  
ประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอาง

ผู้เขียน

นางสาวลภัสรดา มุ่งหมาย

ปริญญา

วิทยาศาสตรคุณวุฒิบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ พิมพร ดีลาพรพิสิฐ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
รองศาสตราจารย์ ดร.บุษบัน ศิริธัญญลักษณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
ดร.สุพัฒน์ จิราณุสรณ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้ ทำการศึกษาสาหร่าย *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C.Agardh) Kützinger จากแม่น้ำน่านในภาคเหนือของประเทศไทย โดยสกัดสาหร่ายแห้งด้วยน้ำกลั่น และ 95% เอทานอล ได้สารสกัด RW และ RE ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin resistant *S. aureus* และ *Propionibacterium acne* ATCC 6919 ด้วยวิธี agar well diffusion ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง 3 วิธี คือ DPPH, ABTS และ TBARS และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก จากนั้นนำสารสกัด RW มาวิเคราะห์หาโพลีแซคคาไรด์ ปริมาณโปรตีน กรดอะมิโนและคุณลักษณะทางกายภาพและเคมี และศึกษาประสิทธิภาพการให้ความชุ่มชื้นโดยทำการศึกษากับโมเดลหนังหมูและผิวหนังมนุษย์เปรียบเทียบกับสารให้ความชุ่มชื้นบางชนิด เช่น กลีเซอริน (G) โพรพิลีน ไกลคอล (PG) และกรดไฮยาลูโรนิก (HA) ซึ่งพบว่าสารสกัด RW เพิ่มความชุ่มชื้นได้สูงในผิวหนังมนุษย์ จึงนำสารสกัด RW ผสมในครีมดำรับพื้นได้ RW cream แล้วนำไปทดสอบ

คุณสมบัติทางกายภาพ pH ความหนืด และความคงตัว ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน จากนั้นศึกษาการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยทดสอบในอาสาสมัครจำนวน 30 คน ด้วย Finn chamber® และประสิทธิภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นด้วยเครื่องมือ Corneometer® ทำการวัดผลการเพิ่มความชุ่มชื้นก่อนและหลังใช้เป็นเวลา 15, 30 นาที และ 1 ชั่วโมง สำหรับการศึกษาผลระยะสั้น และ 1 สัปดาห์ สำหรับการศึกษาผลระยะยาว โดยเปรียบเทียบกับ cream base, G, PG and HA creams และทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์โดยอาสาสมัคร

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดทั้งสอง (RE และ RW) ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด และสารสกัด RW มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัด RE ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัด RW ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเป็น 2 เท่าของสารมาตรฐาน Trolox เมื่อศึกษาสารสกัด RW ด้วยวิธี ฟลูออโรทรานส์ฟอรัมอินฟราเรดสเปกโตรสโคปีพบว่า RW เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีซัลเฟตเป็นองค์ประกอบ และจากการทดสอบด้วยโครมาโทกราฟีชนิดผิวนาง พบว่ามีน้ำตาล แรมโนส ไซโลส อราบีโนส และกาแลกโตส เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัด RW มีปริมาณโปรตีนต่ำและพบกรดอะมิโน ทรีปโตฟาน ไทโรซีนและฟีนิลอะลานีน เป็นองค์ประกอบหลัก การศึกษาคุณสมบัติของ RW เจล พบว่าที่ความเข้มข้น 10% ให้ความแข็งแรงของเจลเท่ากับ  $52.68 \pm 2.56 \text{ g/cm}^2$  สามารถก่อก้อนและหลอมละลายที่อุณหภูมิ 50-55 °C และ 70-85 °C ตามลำดับ โดยพบว่า RW เจล แสดงคุณสมบัติใกล้เคียงกับคาร์ราจีแนน เจล สามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ยาและเครื่องสำอาง ส่วนผลของประสิทธิภาพการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวใกล้เคียงกับกรดไฮยาลูโรนิก และกลีเซอริน และเมื่อทดสอบค่ารับครีม RW ในอาสาสมัคร พบว่าสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวทั้งการใช้ในระยะสั้นและระยะยาว ซึ่งใกล้เคียงกับครีมที่มีกรดไฮยาลูโรนิก ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และเมื่อประเมินความพึงพอใจจากอาสาสมัคร พบว่าส่วนใหญ่อยู่ในช่วงพอใจปานกลางถึงมาก ดังนั้นสารสกัด RW จึงสามารถนำมาใช้เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางให้ความชุ่มชื้นจากธรรมชาติ

<b>Thesis Title</b>	Characterization of Freshwater Green Macroalgae [ <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i> (C.Agardh) Kützinger] Extracts and Cosmetic Applications
<b>Author</b>	Ms. Lapatrada Mungmai
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Pharmacy)
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Pimporn Leelapornpisid      Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Busaban Sirithunyalug      Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Yuwadee Peerapornpisal      Co-advisor
	Dr. Supat Jiranusornkul      Co-advisor

## ABSTRACT

In this study, *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C.Agardh) Kützinger from the Nan River in northern Thailand was selected for investigation. The dried macroalga was extracted by water and 95% (v/v) ethanol to obtain an aqueous extract (RW) and ethanolic extract (RE), respectively. Each extract was examined for antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin resistant *S. aureus* and *Propionibacterium acne* ATCC 6919 by agar well diffusion method. Their *in vitro* antioxidant activity was determined by three different methods: 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

and thiobarbituric acid reaction substances (TBARS) assays. The total phenolic content was further evaluated. The polysaccharide analysis, protein, amino content and physicochemical characterizations of the RW extract were carried out. Furthermore, its moisturizing effect in pig skin model and on human skin compared with some well-known commercial moisturizers such as glycerin (G), propylene glycol (PG) and hyaluronic acid (HA) was also investigated. The RW extract exhibited high moisturizing effect on human skin, which was then formulated into algae extract cream (RW cream) and investigated its physical properties, pH and viscosity as well as stability under various storage conditions. The skin irritation and clinical evaluation for skin moisturizing effect in healthy volunteers were also evaluated. Skin patch test using Finn chamber<sup>®</sup> and skin moisturizing measurement using Corneometer<sup>®</sup> were conducted in 30 healthy volunteers. The skin hydration was measured at before and after applying the RW cream and control creams (cream base, G, PG and HA creams) for 15, 30 min, 1 hour for a short-term effect and 1 week (twice daily) for long-term usage. Satisfaction test using questionnaire was also performed.

The results revealed that both of the extracts had no effective antibacterial activity against the test microorganisms. Interestingly, RW exhibited two times higher antioxidant activity than that of Trolox, a vitamin E analog, and showed a higher Gallic acid Equivalent Antioxidant Capacity (GEAC) value than the RE extract. The Fourier Transform infrared (FT-IR) spectrum assay of RW presenting the absorption characteristics of sulfated polysaccharides and Thin Layer Chromatography (TLC) analysis showed that it consisted of rhamnose, xylose, arabinose and galactose as sugar units. The RW exhibited very low protein content and the amino acids analysis

showed that major abundant amino acids were tryptophan, tyrosine and phenylalanine. The 10% of RW gel showed  $52.68 \pm 2.56$  g/cm<sup>2</sup> of gel strength while the gelling and melting temperature of this extract ranged from 50-55 °C and 70-85 °C, respectively. These gelling properties resembled that of carrageenan. This finding suggested that *R. hieroglyphicum* could be used for nutritional, pharmaceutical and cosmetic products. For the moisturizing effect on human skin, the results revealed that RW is very similar to hyaluronic acid and glycerin. From clinical evaluation, the skin hydration increased after using RW cream for both short-term and long-term usage and no skin irritation occurred. Interestingly, the moisturizing effect of RW cream was comparable to HA cream ( $p < 0.05$ ). More than 80% of the volunteers were satisfied with RW cream, ranging from “like moderately” to “like extremely”. In conclusion, the RW extract might be a promising natural skin moisturizer for skin care cosmetics.