

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาหลักการเหตุผล

ปัจจุบันข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพล้วนบ่งชี้ว่า อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของโรคในมนุษย์มากกว่าชนิดและที่ได้รับความสนใจมากชนิดหนึ่ง คือ บทบาทของอนุมูลอิสระในผิวหนังจากแสงแดด 100 (photoaging) ซึ่งโดยขบวนการชีวเคมีของเซลล์ในร่างกายนั้นจะผลิตอนุมูลอิสระออกมาตลอดเวลา และถ้าไม่มีการควบคุมเซลล์จะถูกทำลาย เนื่องจากผิวหนังเป็นอวัยวะที่ปกคลุมร่างกายภายนอกโดยต้องสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม เช่น แสงแดด ความร้อน ความเย็นหรือสารเคมีตลอดเวลา จึงรับอนุมูลอิสระจากพลังงานที่ถูกส่งต่อจากเม็ดสีผิว (melanin pigment) ภายหลังที่ได้รับแสงยูวี ซึ่งพลังงานนี้สามารถกระตุ้นออกซิเจนให้เปลี่ยนเป็น superoxide radical ก่อให้เกิด lipid peroxidation, lipid radical และ melanin radical นอกจากนี้อนุมูลอิสระมีผลทำให้คอลลาเจนถูกทำลายหรือถูกระงับการสร้าง และหากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีปริมาณสูงเกินกว่าระบบต้านทานในร่างกายจะกำจัดได้ย่อมทำให้เซลล์ถูกทำลายด้วย ทำให้ผิวหนังเกิดริ้วรอย ขาดความยืดหยุ่นและไม่นุ่มเนียน จึงมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระอย่างกว้างขวางและแพร่หลายมากขึ้น¹⁻² ทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ และจากการที่ผู้บริโภคได้ตระหนักถึงความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้นเรื่อยๆ จึงมีการผลักดันให้มีการค้นคว้าหาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้แทนสารสังเคราะห์

ดังนั้นเครื่องสำอางประเภทลดเลือนริ้วรอยที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติจึงได้รับการตอบรับจากผู้บริโภคเป็นอย่างมากในปัจจุบัน³⁻⁴ ประกอบกับในปัจจุบันวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากพบสารกลุ่มฟีนอลิกซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้ดีในปริมาณสูง เช่น เมล็ดลำไย เมล็ดองุ่น⁵ เปลือกทับทิม และเปลือกมังคุด เป็นต้น⁶ และมีการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอางที่จำหน่ายในท้องตลาดมากมาย ซึ่งนอกจากเป็นการแสวงหาแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแล้วยังเป็นการเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้อีกด้วย⁶⁻⁷

เงาะ เป็นผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทยอีกประเภทหนึ่งที่นิยมนำมาบริโภคทั้งในแบบสด รวมถึงการแปรรูปเป็นผลไม้กระป๋อง เงาะอบแห้ง และน้ำผลไม้ โดยเฉพาะเงาะโรงเรียนที่ได้รับความนิยมมากกว่าเงาะสีชมพูประมาณ 8 เท่า⁸ และนิยมบริโภคทั้งในและต่างประเทศส่งผลให้มีมูลค่าการผลิตและการส่งออกเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ เพื่อรองรับความต้องการที่เพิ่มมากขึ้น⁹ จึงทำให้มีเศษเหลือทิ้งจากการบริโภคและอุตสาหกรรมการผลิตเงาะกระป๋องจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเปลือกเงาะ และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าสารสกัดหยาบเปลือกเงาะส่วน methanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ดี ($IC_{50} = 4.94 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$)¹⁰ และพบสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบ คือ corilagin, ellagic acid และ geraniin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน¹¹ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยระบุว่า สารสกัดหยาบเปลือกเงาะที่สกัดด้วย 95% ethanol

เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ดีและมีความปลอดภัยสูงต่อ normal cells เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ($IC_{50} = 0.006 \pm 0.003$ mg/ml) และ ABTS assay (TEAC value = 3.074 ± 0.003 mM/mg) ซึ่งสารสกัดหยาบนี้ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อ caco-2 cells (Human colon adenoma) และ PBMC (Peripheral blood mononuclear cells) ที่ระดับความเข้มข้น $> 100 \mu\text{g/ml}$ ⁶ และพบว่าไม่เป็นพิษต่อ normal mouse fibroblast cells อีกด้วย⁷

นอกจากนี้กลุ่มผู้วิจัยได้ทดลองพัฒนาวิธีการสกัดเปลือกเงาะพันธุ์โรงเรียนด้วย 70% ethanol และสกัดด้วย liquid-liquid extraction technique ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆตามลำดับขั้น เพื่อค้นหาสารสกัดส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น พบว่า สารสกัดหยาบเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate และ 70% ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย ABTS assay ($IC_{50} = 2.915 \pm 0.022$ และ $4.447 \pm 0.047 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) ดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ($IC_{50} = 6.288 \pm 0.098 \mu\text{g/ml}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)¹² และ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธีอื่นๆ เช่น DPPH assay และ β -carotene/linoleic acid assay พบว่าสารสกัดหยาบเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดส่วนอื่นๆ คือ *n*-hexane และ aqueous extract และสารมาตรฐาน¹³ และไม่เป็นพิษต่อ vero cells¹² และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate ซึ่งมีปริมาณของฟีนอลิครวมมากที่สุด (45.50 ± 0.886 g GAE/100 g crude extract) พบสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกได้แก่ ferulic, gallic และ rosmarinic acids มากกว่าส่วนสกัดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) เช่นกัน นอกจากนี้พบว่าปริมาณฟีนอลิครวมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ($r = 0.955$)^{12,14}

จากความสัมพันธ์ระหว่างสารกลุ่มฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่อการลดเลือนริ้วรอย รวมทั้งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของสารสกัดเปลือกเงาะดังกล่าวข้างต้น กลุ่มผู้วิจัยคาดว่าสารสกัดเปลือกเงาะโดยมุ่งเน้นเฉพาะส่วน ethyl acetate มีศักยภาพและความปลอดภัยในการนำมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางกลุ่มลดเลือนริ้วรอย จึงต้องการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดเลือนริ้วรอยจากสารสกัดเปลือกเงาะที่มีความคงตัว เพื่อเป็นเครื่องสำอางต้นแบบและสามารถนำไปขยายผลเพื่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป ซึ่งนอกจากจะเป็นการส่งเสริมความสามารถในการแข่งขันทางธุรกิจของประเทศบนพื้นฐานด้านการวิจัยและพัฒนาแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศรษฐกิจเหลือทิ้งทางการเกษตรและมูลค่าของเงาะอีกทางหนึ่ง และเป็นการสร้างบุคลากรที่มีศักยภาพโดยการผลิตบัณฑิตและมหาบัณฑิตที่มีความเชี่ยวชาญด้านวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในการพัฒนาประเทศบนพื้นฐานด้านการศึกษาต่อไป

แผนการดำเนินงานในปีที่ 1

พัฒนาตำรับเครื่องสำอางจากสารสกัดเปลือกเงาะที่มีความคงตัวดีและไม่ระคายเคืองต่อผิวหนังสัตว์ทดลอง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ปีที่ 1

1. เพื่อเตรียมและทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกเงาะ
2. เพื่อพัฒนาตำรับเครื่องสำอางผสมสารสกัดเปลือกเงาะ
3. เพื่อทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของตำรับเครื่องสำอางที่พัฒนาขึ้น

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้ทำการเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และหาปริมาณฟีนอลิกรวม ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัด เพื่อเป็นข้อมูลในการกำหนดปริมาณสารสกัดตลอดจนนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นตำรับเครื่องสำอางรูปแบบครีม ที่มีความคงตัว ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังระคาย

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม กลุ่มอะตอม หรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวเป็นส่วนประกอบอยู่ ซึ่งปกติวงโคจรของอิเล็กตรอน 1 รอบจะต้องมีอิเล็กตรอนเป็นคู่ๆ เสมอ หากอะตอมหรือโมเลกุลมีอิเล็กตรอนขาดหรือเกินเพียงหนึ่งอิเล็กตรอน จะว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาซึ่งถ้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลปกติจะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ เช่น lipid peroxidation มีการส่งต่อของอนุมูลอิสระไปเรื่อยๆ เกิดการทำลายผนังเซลล์ตามมาโดยทั่วไปอนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้เองในร่างกายจากการที่ภายในเซลล์สร้าง หรือปลดปล่อยอนุมูลอิสระที่เป็นอนุพันธ์ออกซิเจนจากปฏิกิริยา เช่น mitochondrial electron transport chain, microsomal electron transport chain ตัวอย่าง อนุมูลอิสระอนุพันธ์ออกซิเจนที่รู้จักกันดี ได้แก่ superoxide radical ($O_2^{\bullet}$), hydroperoxide radical ($OH_2^{\bullet}$) และ hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$)

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายเซลล์ผิวหนัง โดยปฏิกิริยา lipid peroxidation เนื่องจากไขมันที่ผนังเซลล์ทั่วไปและผิวหนังส่วนมากเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) จึงถูกออกซิไดซ์เป็น lipid peroxide ได้ง่ายจากการกระตุ้นของรังสียูวี ดังนั้นไขมันจึงเป็นเป้าหมายที่อนุมูลอิสระจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง นอกจากผลต่อผนังเซลล์แล้ว อนุมูลอิสระยังทำลายคอลลาเจนอีกด้วย¹ คอลลาเจนเป็นโครงสร้างหลักของผิวหนัง (ร้อยละ 70 ของน้ำหนักผิวหนัง) ที่พบในผิวหนังตามธรรมชาติ โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ละลายน้ำ (soluble collagen) และไม่ละลายน้ำ (insoluble collagen) การสร้างเส้นคอลลาเจนใหม่เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสร้างความแข็งแรงและช่วยกระชับผิวหนัง โดยสิ่งที่มีบทบาทสำคัญของการเกิดริ้วรอย คือ การเสื่อมสลายของคอลลาเจนซึ่งเป็นสายของโปรตีนที่มีลักษณะเป็นตาข่ายสามสายเรียงตัวกันเป็นเกลียวหนาแน่น สร้างขึ้นจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ชั้นหนังแท้ของมนุษย์ และเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสร้างความแข็งแรงและทำให้ผิวหนังกระชับ¹⁵⁻¹⁶

วิธีที่ดีที่สุดเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ การกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งต้องมีปริมาณมากพอที่จะสามารถยับยั้งปฏิกิริยาได้ ปัจจุบันมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระอย่างกว้างขวางและแพร่หลายมากขึ้น โดยมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์

2.2 ผลกระทบต่อเครื่องสำอาง

ผลกระทบต่อผิวหนังแบ่งออกได้ ประเภท ได้แก่ เครื่องสำอาง เวชสำอาง 3 และยารักษาโรคผิวหนัง ซึ่งมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อการบำบัดผิวหนังที่เป็นโรคต่างๆ และบำรุงรักษาผิวหนังให้มีสุขภาพแข็งแรง โดยปกติหน้าที่หลักทั่วไปของผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง คือ บำบัดอาการอักเสบและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ บำบัด

อาการปวดและคัน บำรุงรักษาและป้องกันผิวหนัง เช่น ป้องกันผิวหนังจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ฝุ่นละออง เชื้อจุลินทรีย์ แสงแดด และสารเคมี ช่วยหล่อลื่นและเพิ่มความชุ่มชื้น เช่น ช่วยเพิ่มหรือทดแทนปริมาณไขมัน สำหรับผิวหนังที่แห้ง ป้องกันไม่ให้ผิวหนังสูญเสียน้ำมันมากเกินไป เป็นต้น โดยผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพนั้น ต้องไม่ทำลายเซลล์ผิวหนังและไม่มีผลระคายเคือง¹⁷

รูปแบบเครื่องสำอางบำรุงผิวหนัง มีหลากหลายรูปแบบ โดยรูปแบบที่ได้รับความนิยม คือ ครีม ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่สวยงาม น่าใช้ เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีกลิ่น ทาแล้วไม่ติดสี ครีม เป็นตำรับในรูปแบบอิมัลชัน ที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีลักษณะขุ่นขาวประกอบด้วย ของเหลวสองชนิดที่ไม่เข้ากัน ได้แก่ น้ำ น้ำมันและตัวกระทำอิมัลชัน (emulsifier) โดยของเหลวหนึ่ง กระจายตัวเป็นหยดเล็กๆในอีกของเหลว (วัฏภาคภายใน) การเติม (วัฏภาคภายนอก) หนึ่ง emulsifier ลงไปจะช่วยให้วัฏภาคภายในกระจายเป็นหยดเล็กๆในวัฏภาคภายนอกเป็นเวลานาน อิมัลชันที่ได้มีเสถียรภาพ โดยสามารถแบ่งชนิดของครีมตามลักษณะของการเกิดอิมัลชันได้เป็น 2 ชนิด คือ ครีมชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil) และครีมชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water) การที่จะเลือกครีมชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น คุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ จุดมุ่งหมายของการใช้ครีม และสภาวะของผิวหนัง เป็นต้น ส่วนซีรัม เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อเบาที่มีการดูดซึมดี ไม่เหนอะหนะ ซึ่งอาจอยู่ในรูปแบบของอิมัลชัน หรือเจลก็ได้

การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องมีเพื่อเป็นหลักประกันคุณภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยสิ่งจำเป็นที่ต้องประเมิน คือ

1. ลักษณะภายนอก
2. สมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ความหนืด ค่าความเป็นกรด ต่าง เป็นต้น
3. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์
4. ความคงตัวของตำรับ เพื่อให้ตำรับที่ได้มีคุณภาพตามที่กำหนดไว้ มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้
5. การทดสอบการระคายเคือง

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพเป็นการยืนยันผลการใช้ของผลิตภัณฑ์ ซึ่งนิยมทำในอาสาสมัครและประเมินผลโดยใช้เครื่องทดสอบทางผิวหนังตามค่าที่ต้องการประเมิน¹⁸

2.3 เฉาก

เฉาก (*Nephelium lappaceum* Linn.) เป็นไม้ยืนต้น ขนาดกลางถึงใหญ่ เปลือกไม่มีสีเทาแก่ปนน้ำตาล ใบ เป็นใบรวม สีเขียวเป็นมัน มีใบย่อย 2-4 คู่ ดอก สีเหลืองออกตามกิ่งหรือยอด ผล มีทั้งแบบกลมแบน และแบบกลมยาว เปลือกนอกค่อนข้างหนา มีขนอยู่รอบผล ขนมีสีเหลือง แดง หรือเขียว เนื้อเฉากมีสีขาวใสหุ้มอยู่กับเมล็ดและเฉากพันธุ์โรงเรียนเป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมสูงสุด⁸ เนื่องจากมีรสชาติดี ซึ่งผลเฉากแก่จัดจะมีสีแดงสวย ปลายขนมีสีเขียวปนแดง มีรสชาติหวาน เนื้อกรอบ และเปลือกเมล็ดบางไม่แข็ง



ภาพที่ 2.1 เงาะ (*Nephelium lappaceum*)

เงาะ เป็นผลไม้เศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย แม้การผลิตส่วนใหญ่เพื่อการบริโภคภายในประเทศแต่การส่งออกเงาะซึ่งมีทั้งเงาะสด และกระป๋อง มีอัตราการขยายตัวมากขึ้น (สอดคล้องกับสถิติ) ล้านบาท 54 และ 93 มีมูลค่า 2553 ตามลำดับ โดยในปี^{9,19} ทำให้วัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปเงาะมีมากขึ้นตามไปด้วยโดยเฉพาะเปลือกซึ่งมีปริมาณมากกว่าเมล็ดเงาะ จึงทำให้มีการศึกษาวิจัยเพื่อนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนี้มาใช้ให้เกิดประโยชน์

จากรายงานการวิจัยพบว่าสารสกัดเปลือกเงาะมีปริมาณฟีนอลิกรวมและต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าสารสกัดจากเมล็ด ทำให้เปลือกเงาะมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีราคาถูก^{7,10} โดยนำเปลือกเงาะมาหมักด้วย ether, methanol และน้ำตามลำดับ พบว่าสารสกัดส่วน methanol มีปริมาณฟีนอลิกรวม (542.2 ± 0.0 catechin equivalent; CE) มากกว่า ส่วนน้ำ และ ether (393.3 ± 7.4 CE และ 293.3 ± 0.5 CE) ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดเปลือกเงาะส่วน methanol ยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay (IC_{50} 4.94 ± 0.26 μ g/ml), β -carotene/linoleic acid assay) IC_{50} 0.46 μ g/ml และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*Pseudomonas aeruginosa* และ *Vibrio cholerae*; Minimum Inhibitory Concentration; MIC = 62.5 และ 15.6 mg/ml ตามลำดับ และแกรมลบ (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* และ *S. epidermidis*; MIC = 15.6, 31.2 และ 2.0 mg/ml ตามลำดับ) ซึ่งดีกว่าสารสกัดส่วนอื่นๆ¹⁰ และมีรายงานสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบ คือ corilagin, ellagic acid และ geraniin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน¹¹

ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัด 95% ethanol ของเปลือกผลไม้ต่างๆ 8 ชนิด พบว่าสารสกัดที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3 อันดับแรกได้แก่ ทับทิม รองลงมา คือ เงาะและมังคุด ตามลำดับ (DPPH assay; IC_{50} = 0.003 ± 0.002 , 0.006 ± 0.003 และ 0.023 ± 0.0037 mg/ml และ ABTS assay; TEAC value = 4.006 ± 0.0037 , 3.074 ± 0.0037 และ 3.001 ± 0.0016 mM/mg) แต่มีเพียงสารสกัดเปลือกเงาะเท่านั้นที่ไม่เป็นพิษหรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของ caco-2 cells และ PBMC (IC_{50} > 100 μ g/ml)⁶

จากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากส่วนต่างๆของเงาะ คือ ใบ เปลือก เมล็ด และเนื้อ พบว่า สารสกัดเปลือกเงาะที่สกัดด้วยวิธี supercritical CO₂ fluid แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าส่วนใบ เมล็ด และเนื้อ นอกจากนี้ยังไม่แสดงความเป็นพิษต่อ normal mouse fibroblast cells ทำให้เปลือกเงาะมีความปลอดภัยและเหมาะต่อการนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์และเภสัชกรรม⁷

จากรายงานของกลุ่มผู้วิจัย เมื่อนำเปลือกเงาะพันธุ์โรงเรียนมาสกัดด้วย 70% ethanol และสกัดต่อโดย liquid – liquid extraction technique ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ตามลำดับขั้น เพื่อหาสารสกัดส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่างานวิจัยดังกล่าวข้างต้น พบว่าสารสกัดหยาบเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate และ 70% ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย ABTS assay ($IC_{50} = 2.915 \pm 0.022$ และ $4.447 \pm 0.047 \mu g/ml$ ตามลำดับ) ดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ($IC_{50} 6.288 \pm 0.098 \mu g/ml$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)¹² และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธีอื่นๆ เช่น DPPH assay และ β -carotene/linoleic acid assay พบว่าสารสกัดหยาบเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดส่วนอื่นๆ คือ n-hexane extract, aqueous extract และสารมาตรฐาน¹³ และพบฟีนอลิกธรรมชาติสูงสุดในสารสกัดส่วน ethyl acetate (45.50 ± 0.866 g GAE/100 g crude) โดยปริมาณฟีนอลิกธรรมชาติมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ($r = 0.955$)¹² นอกจากนี้ยังพบปริมาณของ ferulic, gallic และ rosmarinic acids มากกว่าส่วนสกัดอื่นๆ (8.203 ± 0.413 , 2.434 ± 0.044 และ 1.744 ± 0.151 g/kg crude) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)^{12,14} และเมื่อนำไปทดสอบความปลอดภัยพบว่าไม่เป็นพิษต่อ vero cells ที่ความเข้มข้น $50 \mu g/ml$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ทดสอบ และเป็นความเข้มข้นที่มากกว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ประมาณ 17 เท่า¹² แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยของการนำสารสกัดเปลือกเงาะมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้านี้⁶⁻⁷

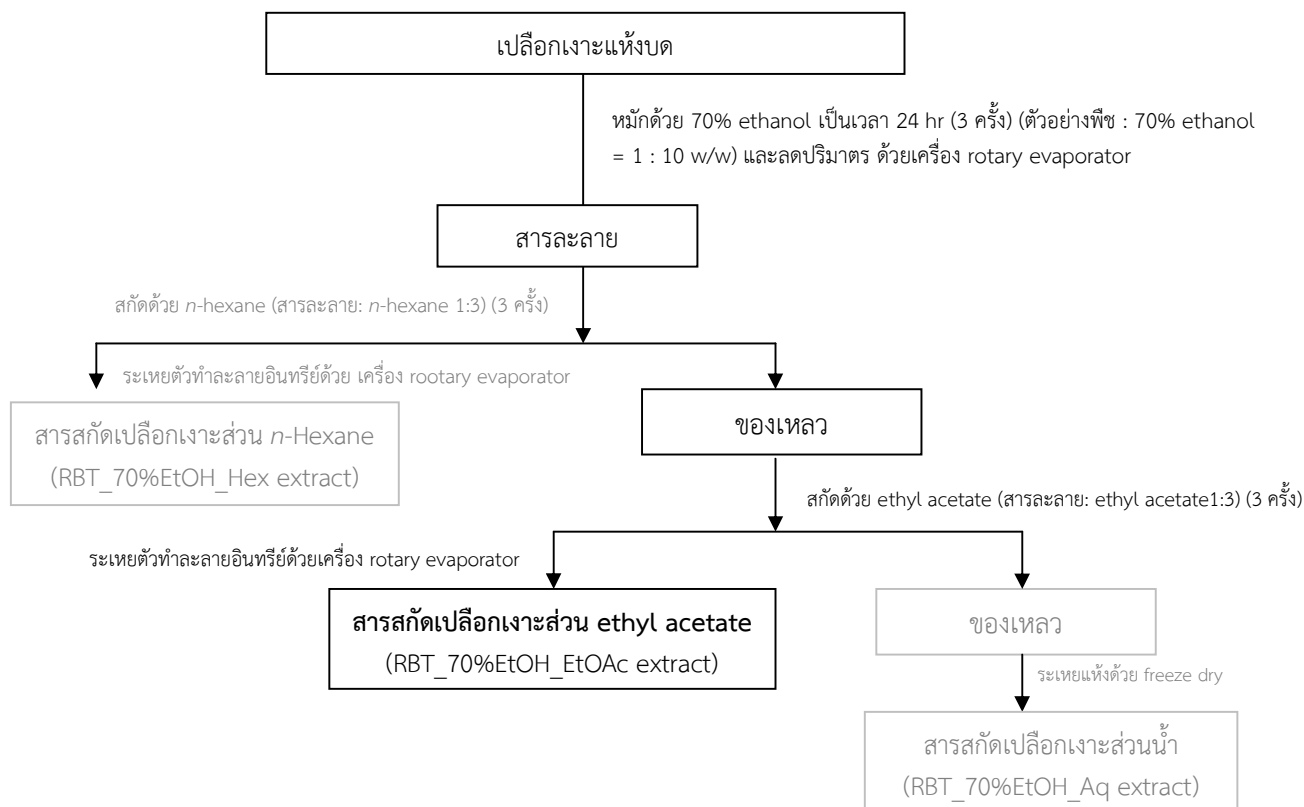
บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะ

3.1.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วย ethyl acetate

3.1.1.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการหมักด้วย 70% ethanol เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง และนำมา partition ต่อด้วย *n*-hexane และ ethyl acetate ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 3.1 เพื่อนำสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc¹² เพียงส่วนเดียวไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ต่อ เนื่องจากการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด RBT_70%EtOH_Hex และ RBT_70%EtOH_Aq อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹³



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะ

3.1.1.2 การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการหมักด้วย ethyl acetate เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง และนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate (RBT_EtOAc extract) และนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ต่อไป

3.1.2 การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วย 95% ethanol

การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการหมักด้วย 95% ethanol เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้ง และนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้สารสกัดเปลือกเงาะส่วน 95% ethanol (RBT_95%EtOH extract) และนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ต่อไป

การเตรียมสารสกัด RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH เพื่อเติมในการศึกษา เนื่องจากการเตรียมสารสกัดทั้งสองนั้นลดขั้นตอนในการสกัดลง จึงต้องการทราบว่า จะแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ซึ่งศึกษามาก่อนหน้านี้หรือไม่ ดังนั้น จึงทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด 3 วิธี คือ สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc, RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม

3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS¹²

การเตรียม ABTS working solution

- เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7mM ในน้ำกลั่น ปริมาตร 2 ml
- เตรียม สารละลาย potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ในน้ำกลั่น ปริมาตร 5 ml
- นำสารละลาย ABTS ผสมกับสารละลาย potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1.5 แล้วเก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ก่อนจะใช้งาน เจือจางด้วย absolute ethanol ด้วยอัตราส่วน 1:20 (v/v) ให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ในช่วง 0.800 ± 0.200

การเตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน

- เตรียมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ใน absolute ethanol
- เตรียมสารมาตรฐาน (ascorbic acid) ละลายด้วย absolute ethanol ที่ความเข้มข้นต่างๆ

การทำปฏิกิริยา

- เติมน้ำทดสอบและสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ปริมาตร 20 μ l ลงใน 96 well plate
- เติม ABTS working solution ปริมาตร 180 μ l ผสมกับสารตัวอย่างและสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น
- ทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที โดยการเขย่าอย่างต่อเนื่อง

- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm เปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{control}}) * 100$$

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

Plot กราฟความสัมพันธ์แนวแกน X คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง แกน Y คือ ร้อยละการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ และหาค่า IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH¹⁵

1. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} M ปริมาตร 20 ml ใน Absolute ethanol
2. เตรียมสารทดสอบที่มีความเข้มข้นต่างๆ ใน Absolute ethanol

การทำปฏิกิริยา

- เติมสารทดสอบที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 μl ใส่ในหลุมของ 96-well plate
 - เติมสารละลาย 6×10^{-5} M DPPH ปริมาตร 100 μl ของ ลงไป และผสมให้เข้ากัน
 - ทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที
 - วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm เปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control)
- นำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{control}}) * 100$$

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

Plot กราฟความสัมพันธ์แนวแกน X คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง แกน Y คือ ร้อยละการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ และหาค่า IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP¹⁶

1. เตรียมสารละลาย acetate buffer pH 3.6 (A)

- ซั่ง sodium acetate trihydrate ปริมาณ 0.75 g ใน acetic acid 4 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ ปริมาตร 250 ml
2. เตรียมสารละลาย 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ในสารละลาย 40 mM HCl (B)
 - เตรียม 40 mM HCl โดยการปิเปต hydrochloric acid (37%) 164 μ l (0.16 ml) ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 ml
 - เตรียม 10 mM โดยซั่ง 15.60 mg TPTZ ในสารละลาย 40 mM hydrochloric acid ปริมาตร 5 ml
 3. เตรียมสารละลาย 20 mM ferric chloride (C)
 - ซั่ง ferric chloride 32.40 mg ละลายในน้ำกลั่น 10 ml
 4. แล้วนำสารละลาย A สารละลาย B และสารละลาย C มาผสมกันในอัตราส่วน 10:1:1
 5. เตรียมสารมาตรฐาน ferrous sulfate ที่ความเข้มข้น 100 – 2000 μ M
 6. เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 300 (μ g/ml)

การทำปฏิกิริยา

- เติมน้ำที่เตรียม (สารมาตรฐาน หรือ สารทดสอบ) ปริมาตร 20 μ l ลงใน 96 well – plate
- เติมน้ำสารละลาย FRAP ปริมาตร 180 μ l
- ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm
- เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย ferrous sulfate แสดงผลในรูป μ g ของ ferrous sulfate ต่อ mg ของสารสกัด (μ g FeSO₄ /1 mg extract)

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม¹²

1. เตรียมสารมาตรฐาน คือ gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ใน methanol
2. เตรียมสารทดสอบใน methanol
3. การทำปฏิกิริยา
 - เติมน้ำตัวอย่าง ปริมาตร 4 μ l ลงใน 96-well plate
 - เติมน้ำสารละลาย Folin Ciocalteu reagent ปริมาตร 4 μ l
 - เติมน้ำสารละลาย 7.5% sodium carbonate ปริมาตร 80 μ l
 - เติมน้ำกลั่น 112 μ l และผสมให้เข้ากัน
 - ตั้งทิ้งไว้ 60 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm
 - เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid แสดงในรูป g gallic acid equivalent/100 g ของสารสกัด (g GAE/100 g extract)

3.3 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเปลือกเงาะต่อเซลล์ normal human skin fibroblast¹⁷

1. เตรียม cell culture plate ของ normal human skin fibroblast
2. ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วย sulphorhodamine B assay เปรียบเทียบ % cell growth ของกลุ่มเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบกับกลุ่มเซลล์ควบคุม

$$\text{โดยคำนวณ \% cell viability} = \frac{\text{OD treated cell}}{\text{OD control cell}} \times 100$$

เมื่อ OD treated cell = ค่า OD ของกลุ่มตัวอย่างที่เวลา 24 ชั่วโมง
OD control cell = ค่า OD ของกลุ่มควบคุมที่เวลา 24 ชั่วโมง

3.4 การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดเปลือกเงาะ²⁰

3.4.1 ความสามารถในการละลายใน propylene glycol และ glycerin

ทำการทดสอบการละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย คือ propylene glycol และ glycerin และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดในตัวทำละลายต่างๆ

3.4.2 การทดสอบความคงตัวของสารสกัดเปลือกเงาะ

เตรียมตัวอย่างสารสกัดเปลือกเงาะ 2 แบบ คือ ของแข็ง และ สารละลายใน absolute ethanol และเก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ ดังนี้

3.4.2.1 การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง

โดยเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 °C 24 ชั่วโมง สลับกับที่ 45 °C 24 ชั่วโมง จำนวน 4 รอบ²⁰⁻²¹

3.4.2.2 การทดสอบความคงตัวเป็นระยะเวลา 1 และ 3 เดือน

เก็บไว้ในอุณหภูมิต่างๆ คือ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C เป็นเวลา 1 และ 3 เดือน²¹⁻²²

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ ferulic acid ซึ่งเป็นสารสำคัญในสารสกัดด้วย Ultrahigh Performance Liquid Chromatography (UPLC) และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของตัวอย่างเริ่มต้น และหลังจากเก็บไว้ในสภาวะต่างๆข้างต้น และเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้เพื่อประเมินความคงตัวของสารสกัด

3.5 การพัฒนาตำรับครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

พัฒนาตำรับครีมพื้นต่างๆ เลือกชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารสกัดและผสมสารสกัดในตำรับพื้นที่มีความคงตัว ประเมินผลทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ความเป็นกรด-ด่าง และความหนืด (โดยใช้เข็มเบอร์ 5 ความเร็วรอบ 80 rpm และ % torque > 60%)²⁰⁻²¹

3.6 การทดสอบความคงตัวของตำรับครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

3.6.1 การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง^{15, 18-19}

3.6.1.1 การปั่นเหวี่ยง โดยเตรียมครีมปริมาณ 0.8 g ลงใน eppendoff ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm เป็นระยะเวลา 30 นาที

3.6.1.2 เก็บไว้ในสภาวะ heating cooling

เก็บครีมที่อุณหภูมิ 4 °C 24 ชั่วโมง สลับกับที่ 45 °C 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ เก็บทั้งสิ้นจำนวน 7 รอบ รวมระยะเวลา 14 วัน

3.6.2 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 1 และ 3 เดือน¹⁸⁻¹⁹

เก็บครีมที่อุณหภูมิ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C เป็นเวลา 1 และ 3 เดือน

จากข้อ 3.6.1-3.6.2 นำมาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เช่น ความเป็นกรด-ด่าง การตกตะกอน การแยกชั้น รวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับที่พัฒนาขึ้น หลังจากเตรียมครีมเสร็จใหม่ๆ และหลังจากผ่านสภาวะที่กำหนดข้างต้น^{15,19}

3.7 การทดสอบความระคายเคืองของครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะต่อผิวหนังกระต่าย²⁰⁻²²

ทำการทดสอบ Acute dermal irritation/corrosion ตาม OECD Guidelines for Testing of Chemicals (2002)

มีหลักเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

อาการแดง	คะแนน
ไม่แดง	0
แดงเล็กน้อยแทบสังเกตไม่ได้	1
แดงจนมองเห็นได้ชัดเจน	2
แดงปานกลางถึงแดงมาก	3
แดงซ้ำบริเวณผิวหนังตลอกัน	4

อาการบวม	คะแนน
ไม่บวม	0
บวมเล็กน้อยแทบสังเกตไม่ได้	1
บวมน้อย (ขอบนูนเห็นได้ชัดเจน)	2
บวมปานกลาง (นูนขึ้นมา 1 mm)	3
บวมมาก (นูนขึ้นมา 1 mm และลามออกไป)	4

นำมาคำนวณค่า Primary Irritation Index (PII) จากสูตร

คะแนนบวมและแดงของกระต่ายแต่ละตัว/จำนวนกระต่ายที่ทำการทดสอบ

ค่า $PII < 2.0$	แสดงว่าตัวอย่างไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง
$PII = 2-5$	แสดงว่าตัวอย่างเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังเล็กน้อย-ปานกลาง
$PII > 5$	แสดงว่าตัวอย่างเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังมาก

หมายเหตุ ส่งผลิตภัณฑ์ทดสอบที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จ. ปทุมธานี

3.8 รวบรวม วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

จากข้อมูลการทดลอง รวบรวม วิเคราะห์ผล และสรุปผลการทดลองตลอดจนจัดทำรายงาน

บทที่ 4

ผลการวิจัย อภิปรายและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะ

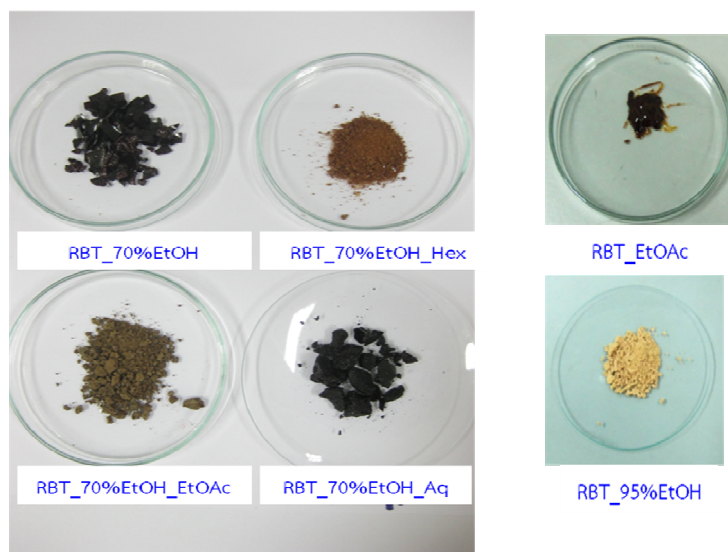
ผลการเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะทั้งสามชนิด คือ สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc, RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH ซึ่งระเหยตัวทำละลายออกจนหมด ด้วยเครื่อง rotary evaporator และบรรจุในขวดสีแก้วชา จากนั้นนำสารสกัดที่อยู่ในขวดสีแก้วชาไปทำให้แห้งสนิทด้วย vacuum desiccator จนน้ำหนักของสารสกัดคงที่ และเก็บสารสกัดไว้ในตู้เย็น 4 °C

สารสกัดเปลือกเงาะที่สกัดด้วย 95% ethanol โดยตรง (RBT_95%EtOH extract) ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุด (23.6% w/w) ส่วน RBT_70% EtOH_EtOAc extract ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตต่ำ (4.0% w/w) เนื่องจากเป็น สารสกัดที่เลือกเฉพาะกลุ่มของสารสำคัญด้วยการใช้เทคนิคการสกัดแยกด้วย liquid-liquid extraction (selected active extract) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และมีลักษณะทางกายภาพดังแสดงในภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตสารสกัดเปลือกเงาะต่อน้ำหนักเปลือกเงาะแห้ง

สารสกัด	ร้อยละผลผลิตต่อน้ำหนักเปลือกเงาะแห้ง (%w/w)	ลักษณะของสารสกัด
RBT_70%EtOH_Hex extract	0.2	ของแข็งสีน้ำตาลแดง
RBT_70%EtOH_EtOAc extract*	4.0	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน
RBT_70%EtOH_Aq extract	18.5	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม
RBT_EtOAc extract*	12.7	กึ่งแข็งกึ่งเหลวสีน้ำตาลเข้ม
RBT_95%EtOH extract*	23.6	ของแข็งสีเหลืองอ่อน

* สารสกัดที่นำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดเปลือกเงาะจากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

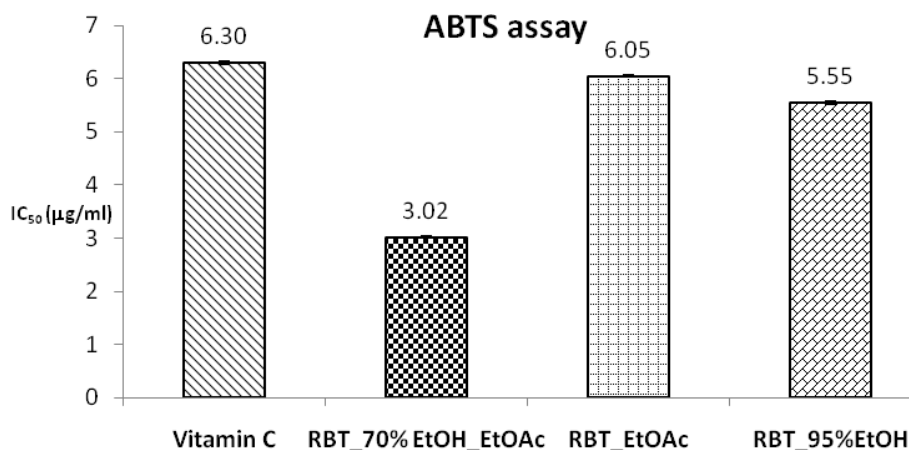
การเตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการหมักด้วย 70% ethanol และนำมา partition ต่อด้วย *n*-hexane และ ethyl acetate เพื่อนำสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc เพียงส่วนเดียวไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ต่อ เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด RBT_70%EtOH_Hex และ RBT_70%EtOH_Aq อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹³ ส่วนการเตรียมสารสกัด RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH เพื่อเติมในการศึกษา เนื่องจากการเตรียมสารสกัดทั้งสองนั้นลดขั้นตอนในการสกัดให้น้อยลง จึงต้องการทราบว่า จะแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีเทียบเท่าสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ซึ่งศึกษามาก่อนหน้านี้หรือไม่ ดังนั้น จึงทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด 3 วิธี คือ สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc, RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกเงาะ

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

จากนั้นทำสารสกัดเปลือกเงาะทั้ง 3 วิธีการสกัดไปศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ดังภาพที่ 4.2 ซึ่งแสดงค่า IC_{50} เฉลี่ยของสารสกัดเปลือกเงาะและสารมาตรฐานวิตามินซีต่ออนุมูลอิสระ ABTS พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract ($3.02 \pm 0.02 \mu g/ml$) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าสารสกัดเปลือกเงาะที่สกัดด้วยการสกัดใน 95% ethanol และ ethyl acetate โดยตรงที่ให้ร้อยละของผลผลิตมากกว่า และมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ($IC_{50} = 2.915 \pm 0.022 \mu g/ml$)^{12,14} ถึงแม้ RBT_95%EtOH extract จะมีร้อยละผลผลิตมากกว่า RBT_EtOAc extract เกือบ 2 เท่า แต่กลับมี

ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้เท่าๆ กัน ส่วน RBT_70%EtOH_EtOAc extract นั้น แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดและสูงกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

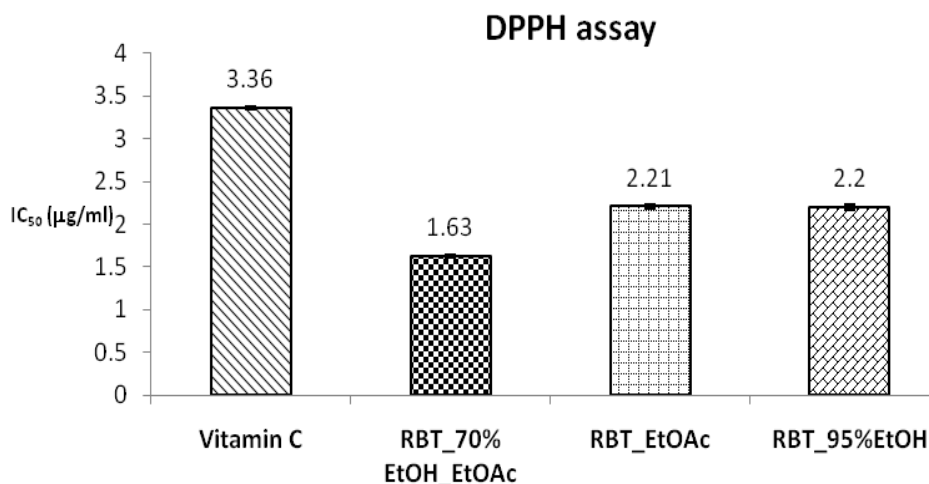


ภาพที่ 4.2 ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (วิตามินซี) และสารสกัดเปลือกเงาะที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ที่ร้อยละ 50 (IC₅₀; µg/ml)

เพื่อเป็นการยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ RBT_70%EtOH_EtOAc extract ที่ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ จึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับ DPPH assay ซึ่งมีกลไกของการต้านอนุมูลอิสระด้วย single-electron transfer mechanism เช่นเดียวกัน²³

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

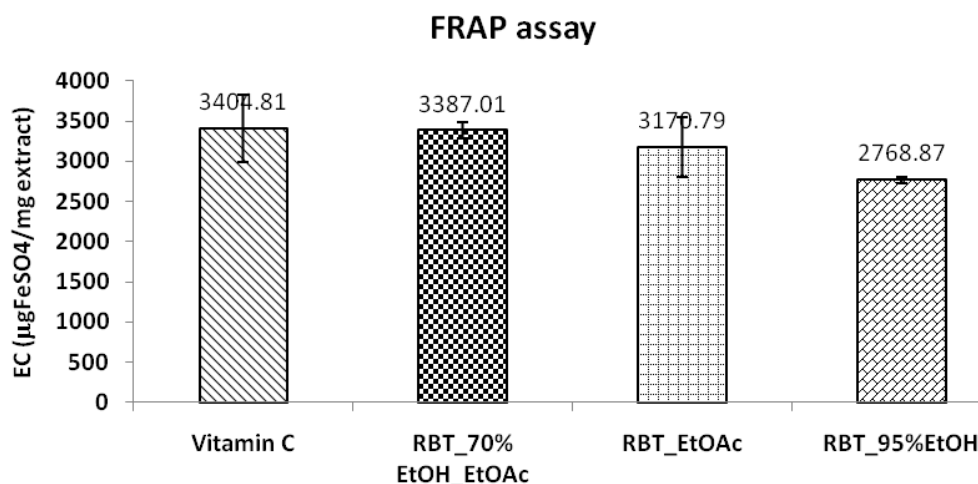
จากภาพที่ 4.3 พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่า RBT_95%EtOH และ RBT_EtOAc extracts ตามลำดับ และมีแนวโน้มเช่นเดียวกัน และสอดคล้องกับผลการทดสอบใน ABTS assay ($r = 0.9807$) สูงกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.3 ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (วิตามินซี) และสารสกัดเปลือกเงาะที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ร้อยละ 50 (IC₅₀; µg/ml)

4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการลดอนุมูลอิสระอนุพันธ์ออกซิเจนจากปฏิกิริยา lipid peroxidation¹ ด้วย FRAP assay เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกเงาะที่ได้จากการเตรียมสารสกัดทั้ง 3 วิธี เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานและแสดงค่าเป็น EC (µg FeSO₄/mg extract)



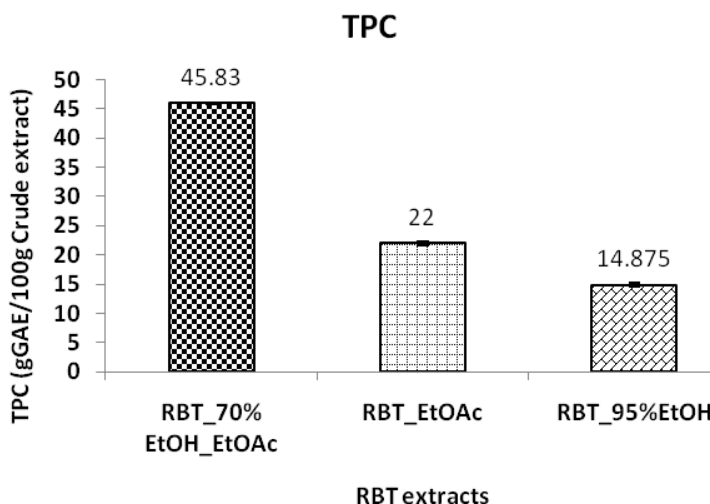
ภาพที่ 4.4 ค่า Equivalent concentration (EC) เฉลี่ยของสารมาตรฐานวิตามินซีและสารสกัดเปลือกเงาะ

จากภาพที่ 4.4 พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract มีค่า EC (3,387.01 ± 105.28 µg FeSO₄/mg extract) สูงกว่าสารสกัดเปลือกเงาะที่สกัดโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) อย่างไรก็ตาม ferric reducing power of plasma ของสารสกัดเปลือกเงาะนี้ น้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี (3,404.81 ± 421.96 µg FeSO₄/mg extract) อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วย FRAP assay ให้ผลที่สอดคล้องกับ ABTS และ DPPH ยืนยันประสิทธิภาพของ RBT_70%EtOH_EtOAc extract ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งได้ ทั้ง primary และ secondary oxidants²³

4.2.4 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกเงาะ

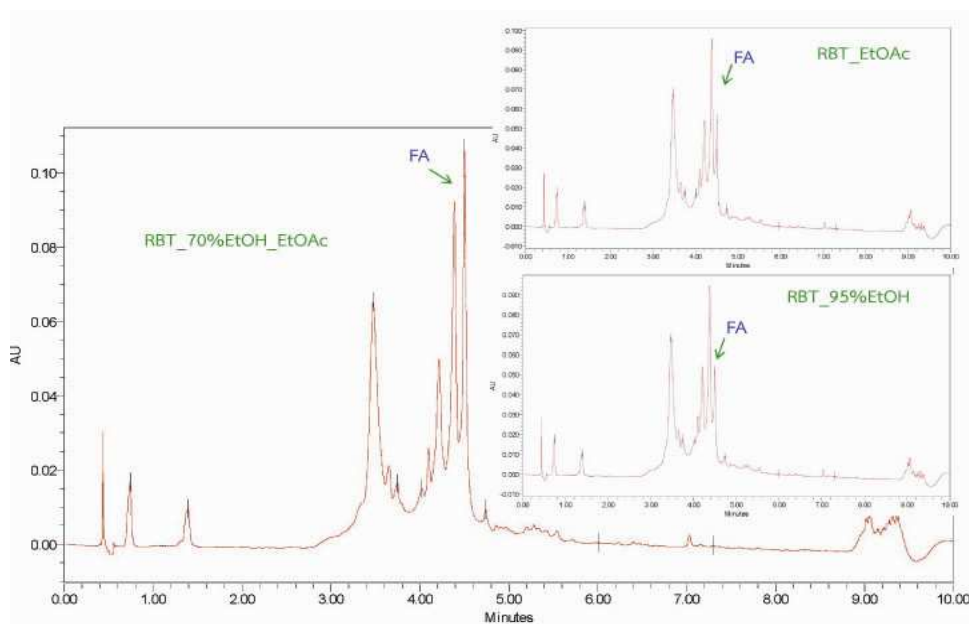
จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของสารสกัด²⁴ ดังแสดงในภาพที่ 4.5 ซึ่งเป็นเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกเงาะด้วยวิธีต่างๆ พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (45.83 ± 0.11 g GAE/100 g extract) และมีปริมาณมากกว่าสารสกัดที่เตรียมด้วยวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (45.50 ± 0.87 g GAE/100 g extract)^{12,14} นอกจากนี้ปริมาณฟีนอลิกรวม มีความสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย DPPH มากกว่า ABTS และ FRAP ($r = 0.9450, 0.8651$ และ 0.7918) แสดงให้เห็นว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay มีความเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดมากกว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอื่นๆ



ภาพที่ 4.5 ปริมาณฟีนอลิกรวม (g GAE/100 g extract) ของสารสกัดเปลือกเงาะ

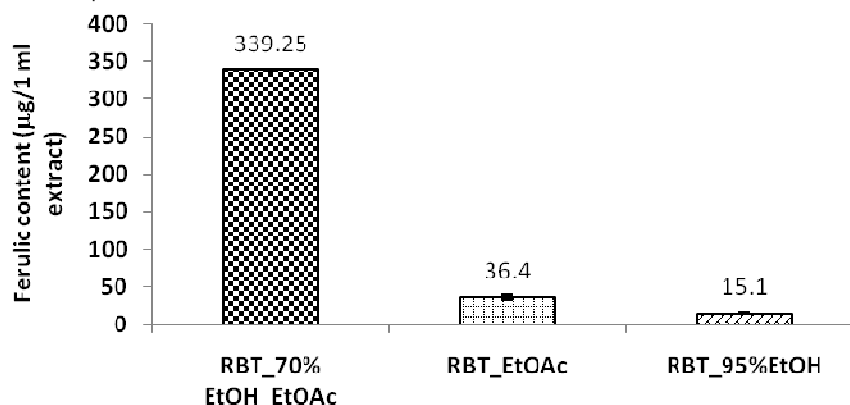
4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ ferulic acid ของสารสกัดเปลือกเงาะด้วย UPLC

จากการศึกษาก่อนหน้านี้¹⁴ พบว่า ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดเปลือกเงาะ คือ ferulic acid ดังนั้นจึงวิเคราะห์เปรียบเทียบหาปริมาณ ferulic acid ในสารสกัดเงาะต่างๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง นอกเหนือจากการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการนำสารสกัดธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง²⁴



ภาพที่ 4.6 UPLC chromatogram ของสารสกัดเปลือกเงาะ

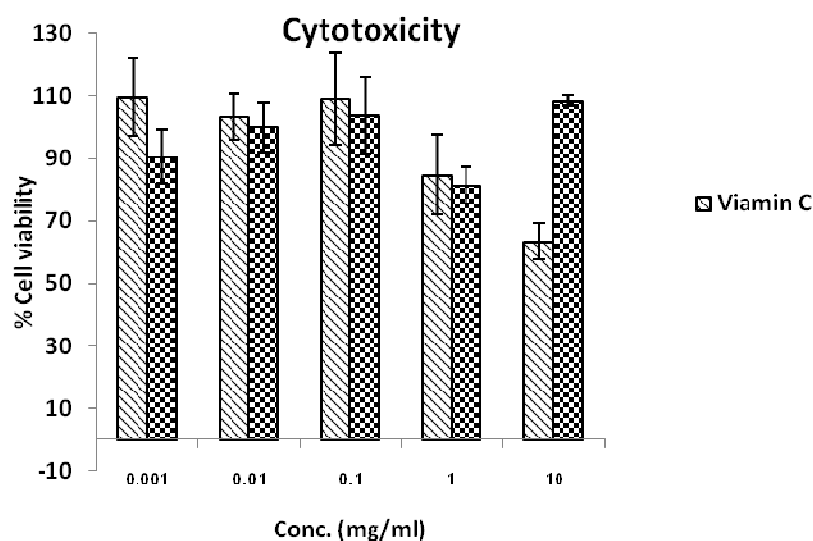
จากภาพที่ 4.6 เป็น UPLC chromatogram ของสารสกัดเปลือกเงาะ แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบที่คล้ายกัน เมื่อเตรียมสกัดเปลือกเงาะสกัดด้วยวิธีต่างๆ โดยมี ferulic acid เป็นองค์ประกอบหลัก ใน RBT_70%EtOH_EtOAc extract เช่นเดียวกับผลการวิจัยก่อนหน้านี้ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณ ferulic acid (ภาพที่ 4.7) พบว่ามีสูงที่สุดใน RBT_70%EtOH_EtOAc extract และ RBT_EtOAc extract ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากเป็นอันดับสอง พบ ferulic acid ในปริมาณที่มากรองลงมา และพบใน RBT_95%EtOH extract น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ($r_{DPPH} = 0.9946$, $r_{ABTS} = 0.9552$, $r_{FRAP} = 0.6466$) โดยเฉพาะเมื่อทดสอบด้วย DPPH assay และปริมาณฟีนอลิกรวม ($r = 0.9737$) จึงคัดเลือก RBT_70%EtOH_EtOAc extract ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ human skin fibroblast ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ก่อนนำไปพัฒนาเป็นตำรับครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ



ภาพที่ 4.7 ปริมาณ ferulic acid ในสารสกัดเปลือกเงาะด้วย UPLC

4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเปลือกเงาะต่อเซลล์ normal human skin fibroblast

การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ รวมถึงผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ที่ได้รับการยอมรับและทดสอบกันอย่างแพร่หลาย ตาม OECD guideline²⁵ เมื่อพิจารณาจากการมีชีวิตรอดของเซลล์ (% cell viability) ที่แสดงความปลอดภัยของสารที่ใช้ทดสอบ ที่ร้อยละ 50 ขึ้นไป โดยมีการทดสอบเปรียบเทียบกับ วิตามินซี²⁶⁻²⁷



ภาพที่ 4.8 ความเป็นพิษของสารสกัดเปลือกเงาะต่อเซลล์ normal human skin fibroblast

จากภาพที่ 4.8 พบว่าเมื่อทดสอบความเป็นพิษของ RBT_70%EtOH_EtOAc extract ต่อเซลล์ human skin fibroblast เปรียบเทียบกับวิตามินซีในช่วงความเข้มข้น 0.001-10 mg/ml พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกๆความเข้มข้น เนื่องจากมีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ร้อยละ 80 ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยก่อนหน้านี้ซึ่งทดสอบใน normal mouse fibroblast cells⁶⁻⁷ และ vero cells¹² ดังนั้น RBT_70%EtOH_EtOAc extract เป็นสารสกัดที่มีความปลอดภัยสูง^{23,28}

4.5 ผลการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดเปลือกเงาะ

4.5.1 ความสามารถในการละลายใน glycerin และ propylene glycol และความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดเปลือกเงาะ

นอกจากฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบหลักของสารสกัดแล้ว ความสามารถในการละลายและความคงตัวเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่ต้องทำการศึกษา ก่อนนำสารสกัดมาผสมในเครื่องสำอาง²⁴ ดังนั้นจึงต้อง

ทำการศึกษาความสามารถในการละลาย และทดสอบความเป็นกรด-ด่างของ RBT_70%EtOH_EtOAc extract ก่อน โดยเตรียมตัวทำละลาย คือ propylene glycol หรือ glycerin ปริมาณ 10 g แล้วเติมสารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate ลงไป 10 mg คนให้เข้ากันจนสารละลายใส ค่อยๆเติมสารสกัดลงไปเรื่อยๆ ครั้งละ 5 mg จนสารละลายเริ่มอึดตัว สังเกตพบว่า มีอนุภาคสีน้ำตาลขนาดเล็กๆแขวนลอยอยู่ในสารละลายให้ตั้งทิ้งไว้ หากอนุภาคเล็กๆในสารละลายหายไป จึงค่อยๆเติมสารสกัดลงไปครั้งละ 5 mg คนให้เข้ากัน เมื่อครบ 24 ชั่วโมง หากยังพบอนุภาคเล็กๆยังลอยในสารละลายแสดงว่าสารละลายอึดตัวนั้นแล้ว จากนั้นบันทึกปริมาณรวมสารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate ก่อนการเติมสารสกัดครั้งสุดท้าย ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการละลายสูงสุดของสารสกัดในตัวทำละลาย และคำนวณเป็นร้อยละของการละลายสูงสุดของสารสกัดในตัวทำละลายนั้นๆ ดังแสดงใน ตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการละลายของสารสกัดเปลือกเงาะ

สารสกัดเปลือกเงาะ (RBT_70%EtOH_EtOAc extract)	ตัวทำละลาย ปริมาณ 10 g	
	Glycerin	Propylene glycol
ปริมาณสารสกัด (mg)	150	650
ค่า pH	4.458 $\pm$ 0.001	4.103 $\pm$ 0.015
ลักษณะสารละลาย	สารละลายใส สีเหลืองน้ำตาล	สารละลายใส สีเหลืองน้ำตาล
ร้อยละของสารสกัดในตัวทำละลาย	1.5	6.5

RBT_70%EtOH_EtOAc extract สามารถละลายสูงสุด ใน propylene glycol และ glycerin ได้ร้อยละ 6.5 และ 1.5 (w/w) ตามลำดับ จึงเลือก propylene glycol เป็นตัวช่วยละลายในตำรับ โดยสารละลายที่ได้มีลักษณะใส สีเหลืองน้ำตาล มีค่า pH เท่ากับ 4.103 $\pm$ 0.015

4.5.2 ผลการทดสอบความคงตัวของสารสกัดเปลือกเงาะ

การนำสารสกัดธรรมชาติไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางต้องศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัย นอกเหนือจากการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ และการระคายเคืองในผิวหนัง โดยทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญ รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพ²⁴ จึงทำการทดสอบความคงตัวของสารสกัดโดยการเก็บในรูปแบบที่เป็นผงแห้ง และสารละลาย ภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่างๆ²⁹⁻³¹

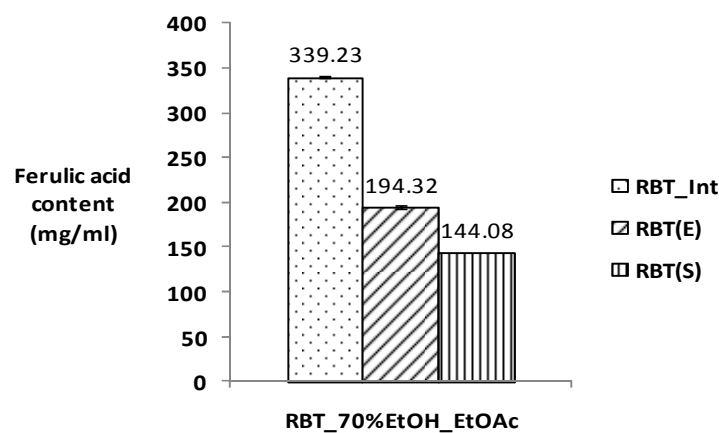
นำ RBT_70%EtOH_EtOAc extract ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดมาทดสอบความคงตัวของสารสำคัญโดยการวิเคราะห์จากปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid และ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมที่สูงกว่าวิธีการทดสอบอื่นๆ ($r_{DPPH} = 0.9450$ และ $r_{ferulic\ acid} = 0.9737$) โดยการเตรียมตัวอย่างสารสกัดเปลือกเงาะ 2 แบบ คือ

เป็นของแข็ง (E) และสารละลายใน absolute ethanol (S) และเก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ²⁹⁻³¹

4.5.2.1 ผลการทดสอบความคงตัวของสารสกัดด้วย UPLC

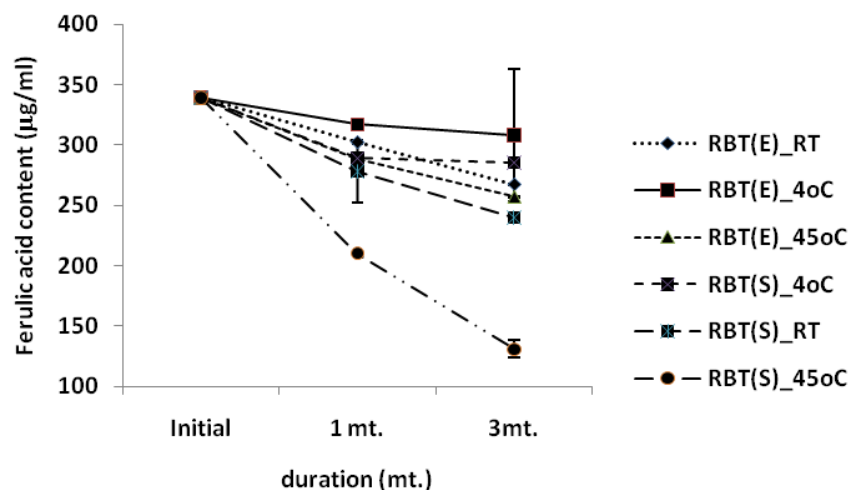
4.5.2.1.1 ในสภาวะเร่ง (heating cooling)

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ferulic acid ด้วย UPLC ของสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ในสภาวะเริ่มต้นและผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง (heating cooling) พบว่า ปริมาณ ferulic acid ลดปริมาณลง ทั้งการเก็บสารสกัดในรูปแบบของแข็ง (E) เหลือร้อยละ 57 และในรูปแบบสารละลาย (S) เหลือร้อยละ 42 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ ferulic acid เริ่มต้นที่ (339.23 ± 0.98 mg/ml) (ภาพที่ 4.9)



ภาพที่ 4.9 ปริมาณ ferulic acid ในสารสกัดเปลือกเงาะทั้งสองรูปแบบในสภาวะเร่งแบบ heating cooling

4.5.2.1.2 ในช่วงเวลา 1 และ 3 เดือน ที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C



ภาพที่ 4.10 ปริมาณ ferulic acid ของสารสกัดเปลือกเงาะ เริ่มต้นและภายใต้อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 1 และ 3 เดือน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ ferulic acid ของสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 1 และ 3 เดือน พบว่า สารสกัดที่เก็บในรูปแบบของแข็ง (E) มีปริมาณ ferulic acid คงเหลือมากที่สุด โดยเฉพาะการเก็บไว้ภายใต้สภาวะ 4 °C ส่วนการเก็บสารสกัดในรูปแบบสารละลาย (S) โดยเฉพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง (45 °C) จะมีปริมาณ ferulic acid เหลือเพียงร้อยละ 38 เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือน (ภาพที่ 4.10)

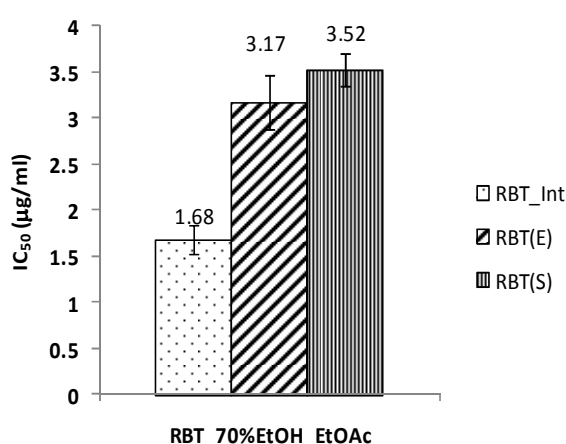
ซึ่งปริมาณของสารสำคัญเป็นไปในแนวเดียวกับงานวิจัยที่ทำในพืชอื่นๆ ที่การเก็บสารสกัดในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำๆ จะช่วยให้สารสกัดมีความคงตัวดีกว่าการเก็บในรูปแบบของสารละลาย²⁹⁻³¹ จากนั้นได้นำสารสกัดไปทดสอบความคงตัวของสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วย DPPH assay ต่อไป

4.5.2.2 ผลการทดสอบความคงตัวของสารสกัดเปลือกเงาะด้วยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

4.5.2.2.1 ในสภาวะเร่ง (heating cooling)

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay และแสดงผลเป็นค่า IC_{50} ของสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ที่เวลาเริ่มต้นและหลังจากการเก็บสารสกัดทั้ง 2 รูปแบบภายใต้สภาวะเร่ง พบว่า สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง มีความคงตัวดีกว่าสารสกัดที่เก็บในรูปแบบสารละลาย (ภาพที่ 4.11) เช่นเดียวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าแห้งที่ดีกว่าสารละลายข้า³⁰ โดยการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณ ferulic acid ของสารสกัดเมื่อทำการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ($r = 0.9950$)

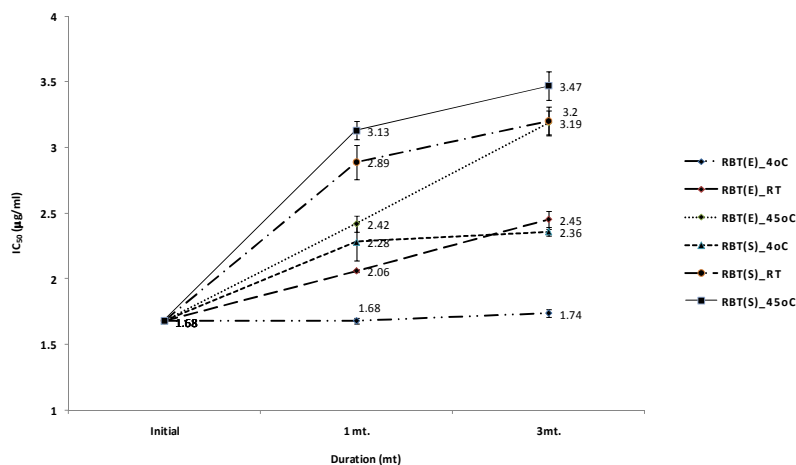
จากนั้น นำสารสกัดทั้ง 2 แบบ (E และ S) ไปทดสอบความคงตัวระยะยาวเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน ภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 4.11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} ; $\mu\text{g/ml}$) ของสารสกัดเปลือกเงาะในสภาวะเร่งแบบ heating cooling

4.5.2.2.2 ในช่วงเวลา 1 และ 3 เดือน ที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C

จากภาพที่ 4.12 แสดงค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า IC_{50} ของสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ที่เวลาเริ่มต้นและเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C พบว่า สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง มีความคงตัวด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดในรูปแบบของสารละลาย โดยเฉพาะที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน ที่ อุณหภูมิ 4 °C มีความคงตัวสูงที่สุด ($IC_{50} = 1.74 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$) เนื่องจากแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ใกล้เคียงกับสารสกัดเริ่มต้น ($IC_{50} = 1.68 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$) ส่วน สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc รูปแบบสารละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C เก็บเป็นเวลา 3 เดือน ($IC_{50} = 3.47 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงมากที่สุด และพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงนั้นสอดคล้องกับปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid ที่ลดลงดังภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.12 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} ; $\mu\text{g/ml}$) ของสารสกัดเปลือกเงาะในช่วงเวลาและสภาวะต่างๆ

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าการเก็บสารสกัดในรูปแบบของแข็งที่ระเหยตัวทำละลายออกจนหมดสามารถรักษา สารสำคัญ ดีกว่า การเก็บในรูปแบบของสารละลาย เช่นเดียวกับการทดสอบในสมุนไพรชนิดอื่น และการเก็บสารสกัดในสภาวะอุณหภูมิต่ำ จะช่วยให้สารสกัดมีความคงตัวดี เช่นเดียวกัน²⁹⁻³¹

จากความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย DPPH assay กับสารสำคัญและปริมาณฟีนอลิกรวม ซึ่งมีความสอดคล้องกัน ($r_{\text{TPC}} = 0.9450$ และ $r_{\text{ferulic acid}} = 0.9737$) จึงเลือกวิธีการทดสอบด้วยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพื่อไปทดสอบความคงตัวของสารสกัดในตำรับครีมที่พัฒนาได้เช่นกัน เนื่องจาก มีความสะดวกรวดเร็ว และประหยัดต้นทุนมากกว่าการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วย UPLC

4.6 ผลการพัฒนาตำรับครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

พัฒนาตำรับอิมัลชันรูปแบบครีมพื้นน้ำมันในน้ำ โดยมีองค์ประกอบในสัดส่วนต่างๆ ของชั้นน้ำและน้ำมันของตำรับครีมชนิดน้ำมันในน้ำ โดยมี propylene glycol ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมของสารสกัด (ตารางที่ 4.2) เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของตำรับที่พัฒนาขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.3 นอกจากนี้ทำการทดสอบความคงตัวของครีมพื้นแบบเร่งด้วยวิธี centrifugation assay พบว่ามีเพียงสูตร 7 ที่เกิดการแยกชั้น และสูตร 8 เป็นสูตรที่พัฒนาจนได้ครีมพื้นที่มีเนื้อสัมผัส และความหนืดเหมาะสมที่สุดต่อการนำไปพัฒนาต่อไปเป็นครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ ซึ่งกำหนดปริมาณสารสกัดที่ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 ในตำรับครีม

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบของครีมพื้น

Part	องค์ประกอบ	หน้าที่	ร้อยละ w/w							
			1	2	3	4	5	6	7	8
A	DI water	Diluent	79.40	77.40	77.90	79.20	79.70	79.90	80.70	78.20
	Carbopol® ultrez 21	Thickening agent	-	-	-	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	Propylene glycol	Humectant	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
	EDTA 2Na	Chelating agent	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
B	Jobba oil	Emollient	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	4.00
	Cyclomethicone	Emollient	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	5.00
	Glyceryl monostearate (GMS)	Co-emulsifier	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	Cetyl alcohol	Emollient	3.00	5.00	3.00	3.00	2.50	2.00	1.50	1.00
	Stearic acid	Emulsifier	2.00	2.00	3.50	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
C	Triethanolamine (TEA)	Neutralizer	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	DI water	Diluent	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
D	Preservative	Preservative	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

วิธีทำ

1. เตรียม Part A โดยให้ความร้อน ที่ 70 – 75 °C
2. เตรียม Part B และนำไปให้ความร้อนที่ 70-75 °C
3. เติม Part B ลง Part A และผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Homogenizer เป็นเวลาประมาณ 3-5 นาที จะได้ Part AB
4. ลดอุณหภูมิ Part AB ลงมาที่ 50-55 °C แล้วเติม Part C ที่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันและผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Homogenizer
5. ลดอุณหภูมิลงมาที่ 40 -45 °C แล้วเติม Part D และผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Homogenizer



สูตรที่ 1 2 3 4 5 6 7 8

ภาพที่ 4.13 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นสูตร 1-8

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของสูตร ที่ 1-8 และการทดสอบภายใต้สภาวะเร่งแบบ centrifugation

ลักษณะภายนอก	สูตรที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส	เนื้อครีมสีขาวใส
เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู	เนื้อเบาฟู
ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว	ครีมขาวบนผิว
ค่า pH	6.27 ± 0.02	5.89 ± 0.01	6.33 ± 0.01	6.32 ± 0.01	6.30 ± 0.00	6.30 ± 0.00	6.31 ± 0.00	6.39 ± 0.00
ความหนืด	++	+++	+++	++	++	++	+	++
ลักษณะหลังการปั่นเหวี่ยง	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	แยกชั้น	ไม่แยกชั้น

ความหนืด: + น้อย ++ ปานกลาง +++ มาก

พัฒนาสูตร 8 ซึ่งเป็นสูตรครีมพื้นและครีมผสมสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc โดยครีมพื้นสูตรที่ 8.1 และ 8.2 ได้เพิ่มปริมาณ TiO_2 ลงไปในสูตร (ตารางที่ 4.5) เพื่อให้เนื้อครีมมีสีขาว มันวาว (ตารางที่ 4.6) ซึ่งได้คัดเลือกสูตร 8.2 ที่มีเนื้อสัมผัสที่ดีกว่าเป็นครีมพื้น เพื่อพัฒนาต่อไปโดยการเติมสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ร้อยละ 0.1-0.3 (สูตร 8.2.1-8.2.3; ภาพที่ 4.14) มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.93-6.31 มีความหนืดประมาณ 3,400-4,400 cps และ ไม่แยกชั้นหลังการทดสอบความคงตัวแบบเร่งเบื้องต้นโดยการปั่นเหวี่ยง จึงนำทั้ง 4 สูตร (สูตร 8.2-8.2.3) ไปทดสอบความคงตัวทางเคมีและกายภาพในสภาวะเร่งแบบ heating cooling และเก็บไว้ที่ 1 และ 3 เดือนที่อุณหภูมิต่างๆ



สูตรที่ 8.2 8.2.1 8.2.2 8.2.3

ภาพที่ 4.14 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมพื้นผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบของครีมพื้นและครีมพื้นผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

Part	องค์ประกอบ	หน้าที่	ร้อยละ w/w					
			8	8.1	8.2	8.2.1	8.2.1	8.2.2
A	DI water	Diluent	78.20	79.70	79.80	79.70	79.60	79.50
	Carbopol [®] ultrez 21	Thickening agent	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	EDTA 2Na	Chelating agent	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	TiO ₂	Opacifying	-	0.50	0.40	0.40	0.40	0.40
	Propylene glycol	Humectant	5.00	5.00	5.00	-	-	-
B	Jobba oil	Emollient	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
	Cyclomethicone	Emollient	5.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
	Glyceryl monostearate (GMS)	Co-emulsifier	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	Cetyl alcohol	Emollient	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Stearic acid	Emulsifier	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
C	Triethanolamine (TEA)	Neutralizer	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	DI water	Diluent	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
D	Preservative	Preservative	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
E	Rambutan peel extract	Active	-	-	-	0.10	0.20	0.30
	Propylene glycol	Solubilizer/ Humectant	-	-	-	5.00	5.00	5.00

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของสูตรที่ 8-8.2.3 และการทดสอบภายใต้สภาวะเร่งแบบ centrifugation

	สูตรที่					
	8	8.1	8.2	8.2.1	8.2.2	8.2.3
ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาวใส ไม่ ทั้งคราบขาวและ เหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว	เนื้อครีมสีขาวทึบ มันวาว ไม่ทั้ง คราบขาวและ เหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว	เนื้อครีมสีขาว ม่น วาว ไม่ทั้งคราบขาว และเหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว ไม่ทั้งคราบ ขาวและเหนอะหนะ หลังทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลือง มันวาว ไม่ทั้ง คราบขาวและ เหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลือง เข้มมันวาว ไม่ทั้ง คราบขาวและ เหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว
ค่า pH	6.39 ± 0.50	6.50 ± 0.01	6.31 ± 0.02	6.12 ± 0.01	6.03 ± 0.03	5.93 ± 0.01
ลักษณะหลังการปั่น เหวี่ยง	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
ความหนืด (cps)	-	4,386.0 ± 15.4	4,218.3 ± 33.7	4,025.0 ± 26.7	3,750.0 ± 27.9	3,452.3 ± 27.9

4.7 ผลการทดสอบความคงตัวของตำรับครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

4.7.1 ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของตำรับครีมในสภาวะเร่งแบบ heating cooling

นำครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ผ่านการทดสอบความคงตัวแบบ centrifugation มาทำการทดสอบในสภาวะเร่ง (heating cooling) โดยเก็บรักษาครีม ที่อุณหภูมิ 4 °C เวลา 24 ชั่วโมง สลับกับที่ 45 °C เวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 7 รอบ และสังเกตลักษณะภายนอก วัดความหนืด และค่า pH

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางกายภาพของสูตรครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ (สูตร 8.2-8.2.3) เริ่มต้นและภายใต้สภาวะเร่งแบบ heating cooling

สภาวะ		8.2	8.2.1	8.2.2	8.2.3
เริ่มต้น	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว ไม่ทั้งคราบขาว และเหนอะหนะ หลังทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว ไม่ทั้งคราบขาวและ เหนอะหนะ หลังทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลืองมันวาว ไม่ทั้ง คราบขาวและเหนอะหนะ หลัง ทาบนผิว	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม มันวาว ไม่ทั้งคราบ ขาวและเหนอะหนะ หลังทาบนผิว
	ค่า pH	6.31 ± 0.02	6.12 ± 0.01	6.03 ± 0.03	5.93±0.01
	ความหนืด (cps)	4,218.3 ± 33.7	4,025.0 ± 26.7	3,750.0 ± 27.9	3,452.3 ± 27.9
ภายหลังสภาวะ heating cooling	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม ขึ้น
	ค่า pH	6.34 ± 0.02	6.00 ± 0.50	6.13 ± 0.40	5.78 ± 0.03
	ความหนืด (cps)	4,159.0 ± 30.7	3,753.0 ± 12.7	3,450.0 ± 18.9	3,253.7 ± 15.9



สูตรที่ 8.2 8.2.1 8.2.2 8.2.3

ภาพที่ 4.15 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมพื้นผสมสารสกัดเปลือกเงาะหลังการเก็บไว้ในสภาวะ heating cooling

จากตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.15 แสดงลักษณะทางกายภาพ เนื้อครีมของสูตรครีมพื้น (สูตร 8.2) ซึ่งมีสีขาว มันวาว มีค่า pH เท่ากับ 6.31 ความหนืดประมาณ 4,200 cps ส่วนสูตรครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 มีลักษณะเนื้อครีมเป็นสีเหลืองอ่อนๆจนถึงสีเหลืองเข้มตามปริมาณสารสกัดที่ใส่เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งค่า pH ที่ลดลงจากครีมพื้น อยู่ในช่วง 5.9-6.1 เนื่องจากสารสกัดมีค่า pH ต่ำกว่าครีมพื้น และความหนืดลดลงจากครีมพื้น หลังจากผ่านสภาวะทดสอบความคงตัวแบบเร่ง พบว่าครีมทุกสูตรไม่เกิดการแยกชั้น มีสีเข้มขึ้นเล็กน้อย ค่า pH และความหนืดลดลงเล็กน้อยแต่ยังมีความคงตัวดีไม่แตกต่างจากครีมเริ่มต้น

4.7.2 ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของตำรับครีมเริ่มต้นและภายใต้อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา 1, 3 และ 6 เดือน

จากตารางที่ 4.8 พบว่าครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะเมื่อเก็บไว้ ที่อุณหภูมิห้อง 4 °C และ 45 °C เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะมีความคงตัวดีทางกายภาพ จะมีเพียงครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะร้อยละ 0.3 (สูตร 8.2.3) ที่เก็บไว้ที่ 45 °C ครบ 1 เดือน สังเกตพบสีเข้มขึ้นและเนื้อครีมมีความหนืดลดลงเล็กน้อย เมื่อ ครบ 3 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่าครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะเมื่อเก็บไว้ ที่อุณหภูมิห้อง และ 4 °C มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น เหมือนที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน แต่มีเพียงความหนืดลดลงเล็กน้อย และทุกความสูตรมีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น มีเพียงครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 มีลักษณะเหลวลง และมีสีเข้มขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 เดือน อาจเนื่องจากปริมาณสารสกัดมีปริมาณสูง

ส่วนลักษณะครีมพื้นและครีมผสมสารสกัด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ ที่อุณหภูมิห้อง 4 °C และ 45 °C ครบ 6 เดือน พบว่าครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะเมื่อเก็บไว้ ที่อุณหภูมิห้อง และ 4 °C มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น เหมือนที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 3 เดือน แต่มีเพียงความหนืดลดลงเล็กน้อย และทุกความสูตรมีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น ส่วนครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 มีลักษณะเหลวลง และมี

สีเข้มขึ้นอย่างชัดเจนเช่นเดียวกับ 3 เดือน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C ดังแสดงในตารางที่ 4.10 โดยสูตรตำรับมีลักษณะภายนอกดังแสดงในภาพที่ 4.16

ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ (สูตร 8.2-8.2.3) เริ่มต้นและภายใต้อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน

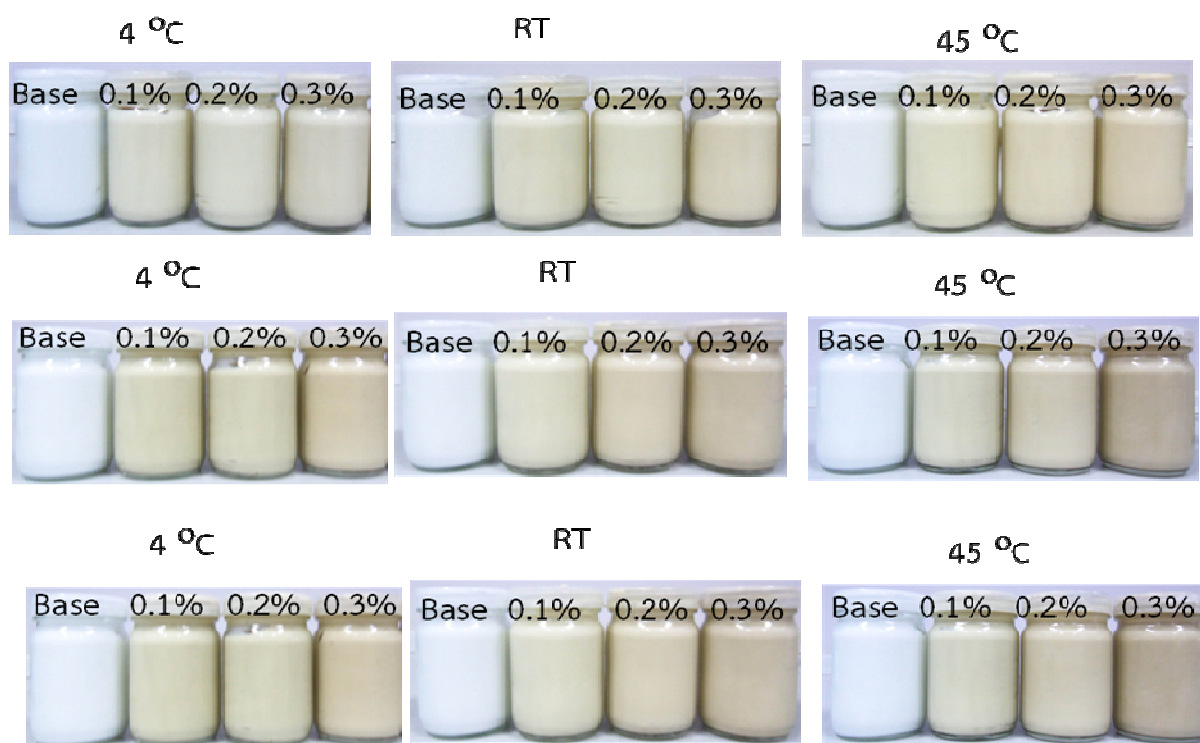
สภาวะ	สูตร				
		8.2	8.2.1	8.2.2	8.2.3
เก็บไว้ 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม
	ค่า pH	6.32 ± 0.02	6.09 ± 0.25	6.01 ± 0.07	5.96±0.01
	ความหนืด (cps)	4,358.1 ± 55.2	3982.0 ± 8.5	3,698.0 ± 10.2	3,253.0 ± 7.9
เก็บไว้ 1 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม
	ค่า pH	6.38 ± 0.02	6.01 ± 0.01	5.99 ± 0.03	5.71±0.01
	ความหนืด (cps)	4,101.0 ± 13.2	4,002.7 ± 16.1	3,728.0 ± 11.5	3,178.0 ±10.9
เก็บไว้ 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 45 °C	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว ไม่ทิ้งคราบขาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน	เนื้อครีมสีเหลือง	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม ขึ้นเล็กน้อย
	ค่า pH	6.40 ± 0.02	6.00 ± 0.01	5.96 ± 0.03	5.68±0.07
	ความหนืด (cps)	4,098.0 ± 12.5	3952.0 ± 6.7	3,681.0 ± 7.9	3,028.0 ± 57.9

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ (สูตร 8.2-8.2.3) เริ่มต้นและภายใต้อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

สภาวะ	สูตร				
		8.2	8.2.1	8.2.2	8.2.3
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 °C	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง ความหนืดใกล้เคียงเริ่มต้น	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม มันวาว
	ค่า pH	6.37 ± 0.02	6.15 ± 0.01	6.40 ± 0.03	5.89 ± 0.01
	ความหนืด (cps)	4,111.0 ± 13.7	3,902.0 ± 16.7	3,695.0 ± 24.5	3,178.0 ± 37.1
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง ความหนืดใกล้เคียงเริ่มต้น	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม
	ค่า pH	6.42 ± 0.10	6.02 ± 0.01	6.07 ± 0.05	6.40 ± 0.03
	ความหนืด (cps)	4,095.0 ± 74.2	3,812.0 ± 68.1	3,524.2 ± 42.9	3,025.2 ± 15.6
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 45 °C	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลืองอ่อน	เนื้อครีมสีเหลือง ความหนืดใกล้เคียงเริ่มต้น	เนื้อครีมสีเหลืองเข้มขึ้น ความหนืดลดลง
	ค่า pH	6.47 ± 0.02	5.98 ± 0.01	5.87 ± 0.08	5.63 ± 0.12
	ความหนืด (cps)	4,027.0 ± 65.9	3,642.0 ± 29.7	3,497.6 ± 35.2	2,822.0 ± 56.1

ตารางที่ 4.10 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ (สูตร 8.2-8.2.3) เริ่มต้นและภายใต้อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน

สภาวะ	สูตร				
		8.2	8.2.1	8.2.2	8.2.3
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 °C	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง อ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง ความ หนืดลดลง	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม มันวาว
	ค่า pH	6.27 ± 0.01	6.12 ± 0.28	6.40 ± 0.03	5.69 ± 0.01
	ความหนืด (cps)	4,000.0 ± 18.2	3,802.0 ± 16.7	3,290.0 ± 14.2	2,918.0 ± 22.7
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง อ่อน มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง ความ หนืดลดลง	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม
	ค่า pH	6.22 ± 0.10	6.12 ± 0.52	6.07 ± 0.05	6.40 ± 0.03
	ความหนืด (cps)	4,005.0 ± 42.5	3,702.0 ± 21.8	3,224.2 ± 12.8	2,825.2 ± 12.6
เก็บไว้ 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 45 °C	ลักษณะภายนอก	เนื้อครีมสีขาว มันวาว	เนื้อครีมสีเหลือง อ่อน	เนื้อครีมสีเหลือง ความ หนืดลดลง	เนื้อครีมสีเหลืองเข้ม ขึ้น ความหนืดลดลง
	ค่า pH	6.30 ± 0.02	5.78 ± 0.01	5.87 ± 0.08	5.63 ± 0.12
	ความหนืด (cps)	3,925.0 ± 50.1	3,542.0 ± 19.2	3,371.1 ± 25.5	2,502.0 ± 72.6

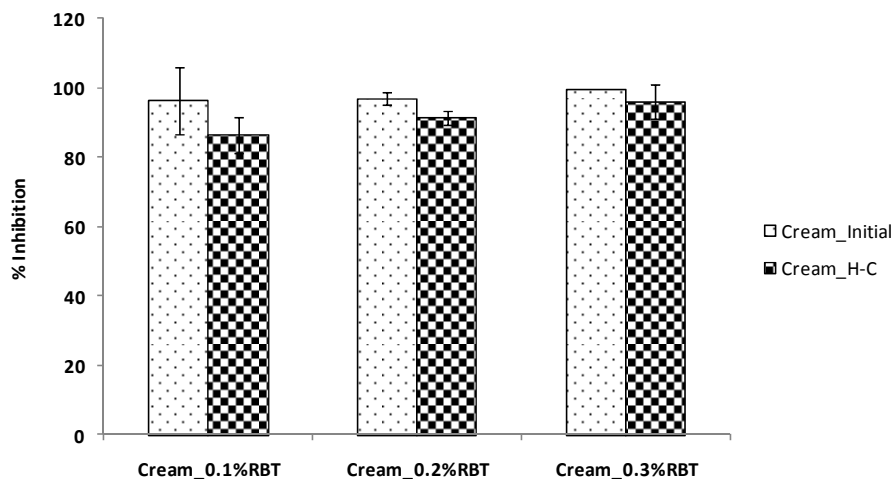


ภาพที่ 4.16 ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นและครีมพื้นผสมสารสกัดเปลือกเงาะหลังการเก็บไว้เป็นเวลา 1, 3 และ 6 เดือน ที่อุณหภูมิต่างๆ

4.7.3 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวยาครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ

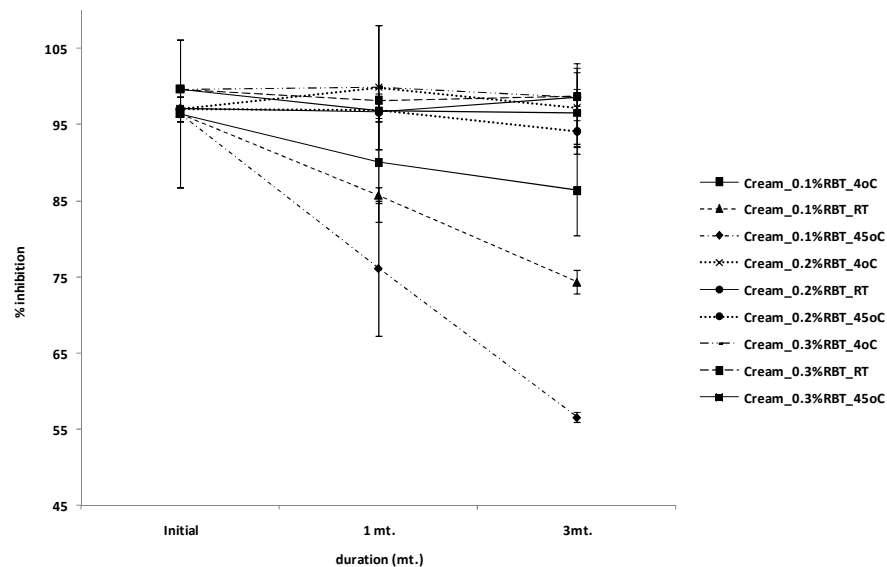
นำครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้นต่างๆ วัดประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระของตัวยาครีมเริ่มต้น และหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะต่างๆ

โดยเตรียมครีมปริมาณ 0.06 g ละลายใน absolute ethanol 1000 μ l และนำไป sonicate เป็นระยะเวลา 20 นาที อุณหภูมิไม่เกิน 40 °C จากนั้นนำไป centrifuge ด้วยความเร็วรอบ 7,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนสารละลายใส (supernatant) โดยปรับวิธีการเตรียมสารสำหรับการทดสอบจากเอกสารอ้างอิง³² มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay



ภาพที่ 4.17 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของครีมผสมสารสกัดเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 ในสภาวะเร่งแบบ heating cooling

จากภาพที่ 4.12 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 ก่อนและหลังการเก็บไว้ในสภาวะเร่ง พบว่า ครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะทุกความเข้มข้น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงกว่าเริ่มต้น อย่างไรก็ตามครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะร้อยละ 0.2 และ 0.3 ยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าร้อยละ 80 หลังผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง ซึ่งถือว่ามียุทธิตกกว่าเครื่องสำอางสมุนไพรตำรับอื่นที่มีเพียงร้อยละ 32³³ และ 75³⁴



ภาพที่ 4.18 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของครีมผสมสารสกัดเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 ในช่วงเวลาและสภาวะต่างๆ

จากภาพที่ 4.18 เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของครีมผสมสารสกัดเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 ในสภาวะเริ่มต้น และเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง 4 และ 45 °C เป็นระยะเวลา 1 และ 3 เดือน พบว่า ครีมผสมสารสกัดที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ 45 °C สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง โดยเฉพาะในตำรับที่มีสารสกัดในปริมาณน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ ร้อยละ 0.2 และ 0.3 ยังสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากกว่าร้อยละ 80 ทุกสภาวะอุณหภูมิ เมื่อเก็บไว้ครบ 3 เดือน สอดคล้องกับการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง

4.8 ผลการทดสอบความระคายเคืองของครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะต่อผิวหนังกระต่าย

จากผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 จึงนำครีมผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ 0.3 ซึ่งมีความคงตัวทางเคมีและกายภาพดีกว่าไปทดสอบความปลอดภัยเบื้องต้น โดยการทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่ายเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น หลังจากการล้างตัวอย่างทดสอบออกและสังเกตความผิดปกติของผิวหนังกระต่ายที่ระยะเวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลคะแนนความผิดปกติของผิวหนังกระต่ายบริเวณควบคุมและบริเวณที่ได้รับครีมทดสอบ

กระต่าย ตัวที่	ระยะเวลาที่ สังเกต อาการ (ชั่วโมง)	ลักษณะอาการ	บริเวณควบคุม เชืงลบ (น้ำกลั่น)	ทาครีมผสม สารสกัดร้อยละ 0.2	ทาครีมผสม สารสกัดร้อยละ 0.3
1	1	อาการแดง	0	0	1
		อาการบวม	0	0	0
	24	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	48	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	72	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
2	1	อาการแดง	0	0	1
		อาการบวม	0	0	0
	24	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	48	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	72	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
3	1	อาการแดง	0	0	1
		อาการบวม	0	0	0
	24	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	48	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0
	72	อาการแดง	0	0	0
		อาการบวม	0	0	0

จากตารางที่ 4.11 แสดงผลคะแนนความผิดปกติของผิวหนังกระต่ายบริเวณควบคุมและบริเวณที่ได้รับครีมผสมสารสกัดร้อยละ 0.2 และ 0.3 และคำนวณค่า PII พบว่าบริเวณที่ทาครีมผสมสารสกัดร้อยละ 0.2 มีค่า PII = 0 ส่วนบริเวณที่ทาครีมผสมสารสกัดร้อยละ 0.3 มีค่า PII = 0.25 ซึ่งถือว่าไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง²¹⁻²²

อย่างไรก็ตามหากมีการทดสอบการระคายเคืองจากผลิตภัณฑ์ต่างๆและมีความพร้อมด้านห้องปฏิบัติการรวมถึงสัตว์ทดลอง ควรมีการทดสอบตัวควบคุมเชิงบวกเพิ่มเติม

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้เตรียมสารสกัดเปลือกเงาะด้วยวิธีการและตัวทำละลายต่างๆกัน พบว่า RBT_70%EtOH_EtOAc extract ให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตต่ำที่สุด (4.0% w/w) แต่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย DPPH, ABTS, และ FRAP assays ดีที่สุด มีปริมาณฟีนอลิกรวม รวมถึงปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid สูงกว่า RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH extracts จึงคัดเลือก RBT_70%EtOH_EtOAc extract ไปทดสอบความคงตัวของสารสกัด ความเป็นพิษต่อ normal human skin fibroblast ผลการทดสอบความคงตัวของสารสกัด RBT_70% EtOH_EtOAc พบว่า สารสกัดมีความคงตัวที่สุดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4 °C รองลงมาคือ อุณหภูมิห้อง และ มีความคงตัวต่ำ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 °C ทั้งในรูปสารสกัดที่ระเหยตัวทำละลายจนหมดและในรูปสารละลาย โดยพบว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีความสอดคล้องกับปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid ดังนั้นจึงเลือกวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในการทดสอบความคงตัวของตำรับครีมที่พัฒนาต่อไป ส่วนในแง่ความปลอดภัยเบื้องต้นพบว่า สารสกัด RBT_70% EtOH_EtOAc ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ normal human skin fibroblast ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/ml

นำ RBT_70% EtOH_EtOAc extract ไปพัฒนาต่อยอดเป็นตำรับอิมัลชันรูปแบบครีมผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 พบว่า ทั้งครีมพื้นและครีมผสมสารสกัดมีความคงตัวดีทางกายภาพ ไม่เกิดการแยกชั้น มีเพียงครีมผสมสารสกัดร้อยละ 0.3 ที่มีสีเข้มขึ้นและมีความหนืดลดลงมาก เมื่อทิ้งไว้ครบ 3 เดือนโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 45 °C ส่วนผลการทดสอบความคงตัวทางเคมีของครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะ ในสภาวะเร่งและเก็บไว้ครบ 1 และ 3 เดือน ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะร้อยละ 0.2 และ 0.3 ยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าร้อยละ 80 ในทุกสภาวะ

อย่างไรก็ตาม ครีมผสมสารสกัดเปลือกเงาะร้อยละ 0.2 มีความเหมาะสมในการนำไปทดสอบการระคายเคืองและประสิทธิภาพในการลดเลือนริ้วรอยในอาสาสมัครต่อไป เนื่องจากมีความความคงตัวทางกายภาพดี แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าร้อยละ 80 ประกอบกับไม่ก่อให้เกิดระคายเคืองในผิวหนังตาย (PII = 0)

5.2 ผลผลิตจากวิจัย

- สรุปได้ว่า สารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc มีความน่าสนใจในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มากที่สุด เนื่องจาก แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และมีปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid สูงกว่าสารสกัด RBT_EtOAc และ RBT_95%EtOH extracts

2. ทราบความคงตัวของสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc โดยการติดตามจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ คือ ferulic acid
3. ตั้งตำรับเครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชันผสมสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ที่มีความคงตัวทางกายภาพดีและไม่ก่อให้เกิดระคายเคืองในสัตว์ทดลอง
4. ทราบความคงตัวของตำรับ เครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชันผสมสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3
5. ได้ตำรับเครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชันผสมสารสกัด RBT_70%EtOH_EtOAc ที่มีความเหมาะสมและมีศักยภาพ ต่อการนำทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิภาพการลดเลือนริ้วรอยในอาสาสมัคร

เอกสารอ้างอิง

1. ญัตติ รักษะนาวัน .2547. สารต้านอนุมูลอิสระกรุงเทพฯ .ในแสงแดดและผิวหนัง .: คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาลมหาวิทยาลัยมหิดล ..
2. Darr D, Fridovich I. 1994. Free radical in cutaneous biology. *J. Invest. Dermatol.* **102**, 671-675.
3. พิมพ์ ลิลาพรพิสิฐ. 2544. เครื่องสำอางจากธรรมชาติ. ในเครื่องสำอางธรรมชาติและผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
4. ฤดีกร วิวัฒน์ปฐพี. 2538. ความแก่ของผิวหนัง. ในสารชะลอความแก่ในตำรับเครื่องสำอาง. สงขลา: คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
5. Song YY, Barlow PJ. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem.* **88**, 411-417.
6. Okonogi S, Duangrat S, Anuchpreeda S. *et al.* 2007. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem.* **103**, 839-846.
7. Palanisamy U, Ming CH, Masilamani T. *et al.* 2008. Rind of rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. *Food Chem.* **109**, 54-63.
8. กรมส่งเสริมการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เงาะ.
<http://ssnet.doae.go.th/ssnet2/Library/plant/rambutan.htm>. Retrieved on March 18, 2011.
9. กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. กระทรวงพาณิชย์. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกเงาะสด.
http://agri.dit.go.th/web_dit_sec3/admin/uploadfiles/upload_files/ส่งออกเงาะสดรายเดือนปี%2048-53. Retrieved on March 18, 2011.
10. Thitilertdecha N, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. 2008. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT*, **40**, 2029-2035.

11. Thitilerdecha N, Teerawutgulrag A, Kilburn J. *et al.* 2010. Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. and their antioxidant activities. *Molecules*, **15**, 1453-1465.
12. Pongpunyayuen P, Lourith N. 2011. Radical scavenging activity and phenolic compounds in Rambutan peels extracts. *In: Pure and Applied Chemistry International Conference 2011*. Bangkok, Thailand, January 5-7.
13. Solawat P, Sodjit W. 2010. Pilot study of Rambutan peel extracts for cosmetic utilization. Special Project. Mae Fah Luang University.
14. Pongpunyayuen P, Lourith N. 2011. Appraisal of antityrosinase activity and phenolic compounds from Rambutan peels for cosmetics. *In: The 3rd International Conference on Natural Products for Health and Beauty*. Bangkok, Thailand, March 16-18.
15. Lourith N, Kanlayavattanakul M, Chanpirom S. Free radical scavenging efficacy of Tamarind seed coat and its cosmetics application. *J. Health Res.* **23**, 159-162, 2009.
16. Kanlayavattanakul M, Lourith N. Ferulic acid in paper mulberry and its wastewater from pulps production. *J. Chem. Chem. Eng.* **4**, 58-62, 2010.
17. Papazisis KT, Geromichalos GD, Dimitriadis KA, Kortsaris AH. 1997. Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Met.* **208**, 151-158.
18. Churienthong P, Lourith N, Leelapornpisid P. 2010. Clinical efficacy comparison of anti-wrinkle cosmetics containing herbal flavonoids. *Int. J. Cosmet. Sci.* **32**, 99-106.
19. Anchisi C, Maccioni AM, Sinica C. *et al.* 2001. Stability studies of new cosmetic formulations with vegetable extracts as functional agents. *Il Farmaco.* **56**, 427-431.
20. Organization of Economic Co-operation and Development. 2002. OECD guidelines testing of Chemicals, vol.2, section 4: Health effects. Acute Dermal Irritation Corrosion. Test Guideline No. 404.

21. Barel AO, Paye M, Maibach HI. 2001. Handbook of Cosmetic Science and Technology. New York: Marcel Dekker, Inc.
22. Kojic Z, Stojanovic D, Popadic S. *et al.* 2009. The irritation property of α -tricalcium phosphate to the rabbit skin. *Gen. Physiol. Biophys.* **28**, 168-173.
23. Kanlayavattanakul M, Ospondpant D, Ruktanonchai U, Lourith N. 2012. Biological activity assessment and phenolic compounds characterization from the fruit pericarp of *Litchi chinensis* for cosmetic application. *Pharm. Biol.* **50**, 1384-1390.
24. Antignac E, Nohynek GJ, Re T, Clouzeau J, Toutain H. 2011. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food Chem. Toxicol.* **49**, 324-341.
25. Organization of Economic Co-operation and Development. 2004. OECD guideline for testing of chemicals: in vitro 3T3 NRU phototoxicity test. Guideline No. 432.
26. Horan I, Clotworthy M, Fokunang CN, Tomkins PT. 2003. The development of an in vitro screening strategy for topical applied products. *J. Ethnopharmacol.* **89**, 81-90.
27. Jírová D, Kejlová K, Brabec M, Bendová H, Kolárová H. 2003. The benefits of the 3T3 NRU test in the safety assessment of cosmetics: long-term experience from pre-marketing testing in the Czech Republic. *Toxicol. in Vitro* **17**, 791-796.
28. Dash R, Acharya C, Bindu PC, Kundu SC. 2008. Antioxidant potential of silk protein sericin against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in skin fibroblasts. *BMB Rep.* **41**, 236-241.
29. Chang Q, Zuo Z, Chow MSS, Ho WKK. 2006. Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chem.* **98**, 426-430.
30. Juntachote T, Berghofer E, Siebenhandl S, Bauer F. 2007. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. *LWT.* **40**, 324-330.

31. Arabshashi D S, Devi DV, Urooj A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem.* **100**, 1100-1105.
32. Padilla M, Palma M, Barroso CG. 2005. Determination of phenolics in cosmetic creams and similar emulsions. *J. Chromatogr. A.* **1091**, 83-88.
33. Ashwat MS, Saraf S, Saraf S. 2007. Antioxidant activity of skin care herbal cosmetic cream and lotion. *Plant Arch.* **7**, 685-687.
34. Di Mambro VM, Azzolini AECS, Valim YML, Fonseca MJV. 2003. Comparison of antioxidant activities of tocopherols alone and in pharmaceutical formulations. *Int. J. Pharm.* **262**, 93-99.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

- ชื่อ – สกุล นางสาวมยุรี กัลยาวัฒนกุล
Miss Mayuree Kanlayavattanakul
 - รหัสบัตรประจำตัวประชาชน 00440 5299 3xx x
 - ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ต. ท่าสุต อ. เมือง จ. เชียงราย 57100 โทรศัพท์ 0-5391-6832
โทรสาร 0-5391-6931 e-mail: mayuree@mfu.ac.th
- ประวัติการศึกษา .4

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	วิชาเอก	ชื่อสถาบัน
2541	ตรี	ภบ. เภสัชศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1)	เภสัชศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2547	เอก	วท.ด. วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- Pharmaceutical Science and Natural Products
- Phytochemistry
- Herbal Cosmetics

6 .ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย .ตั้งแต่ปี คศ)2008 – ปัจจุบัน

1. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Carboxymethylglucan in cosmetics. Thai Pharm. Health Sci. J. 3: 378-382, 2008.
2. Lawan K, **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Antimicrobial efficacy of caprylyl glycol and ethylhexylglycerine in emulsion. J. Health Res. 23: 1-3, 2009.
3. **Kanlayavattanakul M**, Phrutivorapongkul A, Lourith N, Ruangrungsi N. Pharmacognostic specification of *Naringi crenulata* stem wood. J. Health Res. 23: 65-69, 2009.
4. Patin R, **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Aromatherapy and essential oils in Thai spa business. IJPS. 5: 160-166, 2009.
5. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**, Chanpirom S. Free radical scavenging efficacy of Tamarind seed coat and its cosmetics application. J. Health Res. 23: 159-162, 2009.
6. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Natural surfactants used in cosmetics : glycolipids. Int. J. Cosmet. Sci. 31: 255-261, 2009.
7. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Lipopeptides in cosmetics. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 1-8, 2010.

8. Futrakul B, **Kanlayavattanakul M**, Krisdaphong P. Biophysics evaluation of polysaccharide gel from durian's fruit hulls for skin moisturizer. *Int. J. Cosmet. Sci.* 32: 211-215, 2010.
9. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Oral malodor and active ingredients for treatment. *Int. J. Cosmet. Sci.* 32: 321-329, 2010.
10. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of wastewater from paper mulberry pulps production. *In: Pure and Applied Chemistry International Conference 2010 Proceeding*. January 21-23, 2010. 123-126.
11. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Ferulic acid in paper mulberry and its wastewater from pulps production. *J Chem. Chem. Eng.* 4: 58-62, 2010.
12. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**, Pongpunyayuen S. Botanical arbutin from *Naringi crenulata*. *Cosmetics: Types, Allergies and Applications*. (Ed.; Hayes, LM) Nova Science Publishers, Inc.: New York. 157-164, 2011.
13. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Therapeutic agents and herbs in topical application for acne treatment. *Int. J. Cosmet. Sci.* 33: 289-297, 2011.
14. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Body malodours and their topical treatment agents. *Int. J. Cosmet. Sci.* 33: 298-311, 2011.
15. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Sapodilla seed coat as a multifunctional ingredient for cosmetic applications. *Process Biochem.* 46: 2215-2218, 2011.
16. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Biological activity and stability of mangosteen as a potential natural color. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 2257-2259, 2011.
17. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**, Siriluk Pongpunyayuen P, Jeeranan Chaiwarith J. Characterization of arbutin and kojic acid in *Naringi crenulata*. *Household and Personal care Today* 1: 20-21, 2012.
18. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Sunscreen liquid foundation containing *Naringi crenulata* powder. *Adv. Mat. Res.* 506: 583-586, 2012.
19. **Kanlayavattanakul M**, Rodchuea C, Lourith N. Moisturizing effect of alcohol-based hand rub containing okra polysaccharide. *Int. J. Cosmet. Sci.* 24: 280-283, 2012.
20. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Thanaka loose powder and liquid foundation preparations. *Household and Personal care Today* 2: 30-32, 2012.
21. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Biologically active phenolics in seed coat of three sweet *Tamarindus indica* varieties grown in Thailand. *Adv. Sci. Eng. Med.* 4: 511-516, 2012.
22. 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.
23. **Kanlayavattanakul M**, Ospondant 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.
24. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Spent Arabica coffee as a rich source of antioxidant appraisal for cosmetic applications. *Adv. Sci. Eng. Med.* 5: 173-176, 2013.

25. Lourith N, Kanlayavattanakul M. Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. J. Oleo Sci. 62: 235-240, 2013.

26. Lourith N, Kanlayavattanakul M. Appraisal of Thai glutinous rice husk for health promotion products. J. Cereal Sci. 57: 343-347, 2013.

ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ สกุล - นางสาว ณัฐยา เหล่าฤทธิ
Miss Nattaya Lourith
2. รหัสบัตรประจำตัวประชาชน 01470 3601 3xx x
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ต. ท่าสุต อ. เมือง จ. เชียงราย 57100 โทรศัพท์ 0-5391-6834
โทรสาร 0-5391-6931 E-mail: nattaya@mfu.ac.th
4. ประวัติการศึกษา

ปีที่ยก การศึกษา	ระดับ ปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	วิชาเอก	ชื่อสถาบัน
2540	ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต	เคมี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2544	โท	วท.ม. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	เคมี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2547	เอก	Ph.D.	Bioorganic Chemistry	Kagawa University, Japan

5. ประวัติการทำงาน

- พ.ศ.2544-2547 ตำแหน่งresearch assistant และ teaching assistant, Kagawa University
- พ.ศ. 2548 ตำแหน่ง research associate, Institute of Biological Chemistry, Washington State University

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- เคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Products Chemistry)
- เคมีอินทรีย์สังเคราะห์ (Organic Synthesis)
- Herbal Cosmetics

7. ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย (ตั้งแต่ปี คศ. 2005 – ปัจจุบัน)

1. Lourith N., Katayama T., Suzuki T. Stereochemistry and biosynthesis of 8-O-4' neolignans in *Eucommia ulmoides*: diastereoselective formation of guaiacylglycerol-8-O-4'-(sinapyl alcohol) ether. J. Wood Sci. 51: 370-378, 2005.

2. Lourith N., Katayama T., Ishikawa K., Suzuki T. Biosynthesis of a syringyl 8-O-4' neolignan in *Eucommia ulmoides*: formation of syringylglycerol-8-O-4'-(sinapyl alcohol) ether. J. Wood Sci. 51: 379-386, 2005.

3. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Carboxymethylglucan in cosmetics. Thai Pharm. Health Sci. J. 3: 378-382, 2008.
4. **Lourith N.** Natural colors. SCCT newsletter. 3 : 14-15, 2008 (in Thai).
5. Ruamrak C., **Lourith N.** and Natakankitkul S. Comparison of clinical efficacies of sodium ascorbyl phosphate, retinol and their combination in acne treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 3: 41-46, 2009.
6. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Natural surfactants used in cosmetics : glycolipids. Int. J. Cosmet. Sci. 31: 255-261, 2009.
7. Lawan K., Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Antimicrobial efficacy of caprylyl glycol and ethylhexylglycerine in emulsion. J. Health Res. 23: 1-3, 2009.
8. Kanlayavattanakul M., Phrutivorapongkul A., **Lourith N.**, Ruangrunsi N. Pharmacognostic specification of *Naringi crenulata* stem wood. J. Health Res. 23: 65-69, 2009.
9. Patin R., Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Aromatherapy and essential oils in Thai spa business. IJPS. 5: 160-166, 2009.
10. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M., Chanpirom, S. Free radical scavenging efficacy of Tamarind seed coat and its cosmetics application. J. Health Res. 23: 159-162, 2009.
11. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Lipopeptides in cosmetics. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 1-8, 2010.
12. Churienthong P., **Lourith N.**, Leelapornpisid P. Clinical efficacy comparison of anti-wrinkle cosmetics containing herbal flavonoids. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 99-106, 2010.
13. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Oral malodor and active ingredients for treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 321-329, 2010.
14. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Ferulic acid in paper mulberry and its waste water from pulps production. J. Chem. Chem. Eng. 4: 58-62, 2010.
15. **Lourith N.** Herbs for hair loss. SCCT newsletter. 1: 9-11, 2010 (in Thai).
16. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Therapeutic agents and herbs in topical application for acne treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 33: 289-297, 2011.
17. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Body malodours and their topical treatment agents. Int. J. Cosmet. Sci. 33: 298-311, 2011.
18. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M., Pongpunyayuen S. Botanical arbutin from *Naringi crenulata*. Cosmetics: Types, Allergies and Applications. (Ed.; Hayes, LM) Nova Science Publishers, Inc.: New York. 157-164, 2011.
19. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Sapodilla seed coat as a multifunctional ingredient for cosmetic applications. Process Biochem. 46: 2215-2218, 2011.
20. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Biological activity and stability of mangosteen as a potential natural color. Biosci. Biotechnol. Biochem. 75: 2257-2259, 2011.
21. Charoennit P., **Lourith N.** Validated UV-spectrophotometric method for the evaluation of the efficacy of makeup remover. Int. J. Cosmet. Sci. 34: 190-192, 2012
22. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M., Siriluk Pongpunyayuen P., Jeeranan Chaiwarith J. Characterization of arbutin and kojic acid in *Naringi crenulata*. Household and Personal care Today 1: 20-21, 2012.

23. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Sunscreen liquid foundation containing *Naringi crenulata* powder. Adv. Mat. Res. 506: 583-586, 2012.
24. Kanlayavattanakul M., Rodchuea C., **Lourith N.** Moisturizing effect of alcohol-based hand rub containing okra polysaccharide. Int. J. Cosmet. Sci. 24: 280-283, 2012.
25. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Thanaka loose powder and liquid foundation preparations. Household and Personal care Today 2: 30-32, 2012.
26. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Biologically active phenolics in seed coat of three sweet *Tamarindus indica* varieties grown in Thailand. Adv. Sci. Eng. Med. 4: 511-516, 2012.
27. **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.
28. 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.
29. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.** Spent Arabica coffee as a rich source of antioxidant appraisal for cosmetic applications. Adv. Sci. Eng. Med. 5: 173-176, 2013.
30. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. J. Oleo Sci. 62: 235-240, 2013.
31. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Appraisal of Thai glutinous rice husk for health promotion products. J. Cereal Sci. 57: 343-347, 2013.