

สารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของ  
สารสกัดสมุนไพร และการพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวจากสารสกัดมะขามป้อม  
Phytochemicals, Antioxidant Activity, Anti-tyrosinase Activity of  
Herbal Extracts, and the Development of Skin Care Lotion from  
Gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.) Extract

เคมีกา เคียงณฟ้า มานอก<sup>1\*</sup> ชารินันท์ แจงกลาง<sup>2</sup> นิโลบล พุทธชื่น<sup>2</sup> ชวิศา วรรณญาณนท์<sup>2</sup> และ ปิยะมาศ แก้วกลม<sup>3</sup>  
Khemika Kieng Na Fah Manok<sup>1\*</sup> Charinan Jangklang<sup>2</sup> Nilobol Putthachuen<sup>2</sup> Chavisa Warunyanon<sup>2</sup>  
and Piyamas Kaewklom<sup>3</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา  
กรุงเทพฯ ประเทศไทย

<sup>2</sup>สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา  
กรุงเทพฯ ประเทศไทย

<sup>3</sup>ศูนย์บริการสาธารณสุขที่ 6 สนามบินน้ำ เทศบาลนครนนทบุรี จ.นนทบุรี ประเทศไทย

<sup>1</sup>Thai Traditional Pharmacy Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat  
University, Bangkok, Thailand

<sup>2</sup>Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat  
University, Bangkok, Thailand

<sup>3</sup>Public Health Center 6, Sanambinnam, Nonthaburi City Municipality, Nonthaburi, Thailand

วันที่ส่งบทความ : 9 ธันวาคม 2566 วันที่แก้ไขบทความ : 3 พฤศจิกายน 2568 วันที่ตอบรับบทความ : 5 พฤศจิกายน 2568

Received: 9 December 2023, Revised: 3 November 2025, Accepted: 5 November 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวจากสารสกัดสมุนไพรไทยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสามารถต้านอนุมูลอิสระ โดยนำสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ มะขามป้อม อัญชัน บัวหลวง หม่อน แครอท ฟักทอง สมอไทย บัวบก ไซเท้า และมะขามป้อม มาสกัดสารโดยวิธีการแช่หมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 นำสารทั้งหมดมาศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า สารสกัดสมอไทยมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด โดยมีปริมาณ  $12,083.08 \pm 232.18$  มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด ในขณะที่สารสกัดอัญชันให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดเท่ากับ  $3,397.07 \pm 41.01$  มิลลิกรัมของเคอร์ซีตินต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด และสารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.229 \pm 0.632$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) อย่างไรก็ตาม สารสกัดมะขามป้อมสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2'-Azino-bis(3-

\*ที่อยู่ติดต่อ E-mail address: suchada.ma@bsru.ac.th

<https://doi.org/10.55003/scikmitl.2025.261494>

ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $41.426 \pm 13.485$  มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม และ  $27.440 \pm 2.048$  มิลลิโมลาร์  $Fe^{2+}$  ต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome พบว่า สารสกัดใบหม่อนสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดมะขามป้อม โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $123.820 \pm 4.671$  และ  $226.625 \pm 13.737$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดมะขามป้อมมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว โดยทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรผสมสารสกัดมะขามป้อม (MKP) เปรียบเทียบกับตำรับโลชั่นสูตรควบคุม (C) และตำรับที่ผสมสารมาตรฐานกรดโคจิก (KJ) ในสภาวะสลับร้อนสลับเย็น จำนวน 7 รอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวสูตร MKP และสูตร KJ สามารถต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงกว่าสูตรควบคุม (C) โดยโลชั่นสูตรผสมสารสกัดมะขามป้อมสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดในทางกลับกัน โลชั่นสูตรผสมสารโคจิกนั้นสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงกว่าตำรับที่ผสมสารสกัดมะขามป้อม

**คำสำคัญ :** สารสกัดมะขามป้อม สารต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โลชั่นบำรุงผิว

### Abstract

This research aimed to develop a skin care lotion product from Thai herbal extracts with tyrosinase-inhibiting and antioxidant properties. Ten herbs, *Moringa oleifera*, *Clitoria ternatea*, *Nelumbo nucifera*, *Morus alba*, *Daucus carota*, *Cucurbita moschata*, *Terminalia chebula*, *Centella asiatica*, *Raphanus sativus* and *Phyllanthus emblica*, were macerated in 95 % ethanol. All extracts were analyzed for phytochemical contents, antioxidant capacity, and tyrosinase inhibition. The result showed that total phenolic content was highest in *Terminalia chebula* extract reaching  $12,083.08 \pm 232.18$  mg gallic acid equivalents per 100 mg extract. *Clitoria ternatea* extract showed the greatest total flavonoid content at  $3,397.07 \pm 41.01$  mg quercetin equivalents per 100 mg extract. *Terminalia chebula* extract exhibited the strongest DPPH radical-scavenging activity with an  $IC_{50}$  of  $10.23 \pm 0.63$   $\mu$ g/ml. However, *Phyllanthus emblica* extract provided the highest antioxidant activity in the ABTS and FRAP assays, with  $IC_{50}$  values of  $41.426 \pm 13.485$  mM/mg and  $27.44 \pm 2.05$  mM  $Fe^{2+}$ /mg, respectively. In the Dopachrome tyrosinase-inhibition assay, *Morus alba* extract was the most potent inhibitor with an  $IC_{50}$  of  $123.82 \pm 4.67$   $\mu$ g/ml, followed by *Phyllanthus emblica* extract with an  $IC_{50}$  of  $226.63 \pm 13.74$   $\mu$ g/ml. Therefore, *Phyllanthus emblica* was chosen to develop as a skin care lotion product. A lotion formulated with *Phyllanthus emblica* extract (MKP) was compared with a control lotion (C) and a kojic-acid lotion (KJ) through seven heating-cooling cycles to evaluate physical and chemical stability. It was found that the MKP and KJ lotion formulations exhibited higher antioxidant activity and tyrosinase

inhibition than the control formulation (C). The lotion containing *Phyllanthus emblica* extract showed the highest antioxidant activity, whereas the lotion containing kojic acid demonstrated greater tyrosinase inhibitory activity than the formulation with *Phyllanthus emblica* extract.

**Keywords:** *Phyllanthus emblica* extract, Antioxidant, Anti-tyrosinase, Body lotion

## 1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดจัด ซึ่งเป็นสาเหตุหลักชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาความบกพร่องของผิว เช่น ฝ้า กระ รอยด่างดำ ริ้วรอย รอยหมองคล้ำ ฯลฯ เนื่องจากแสงแดดเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการผลิตเม็ดสีเมลานิน (Melanin) ที่มากเกินไป และยังสร้างอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย (Halliwell & Gutteridge, 2007) ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง จึงมีการใส่สารให้ความขาว (Whitening agent) เพื่อไปยับยั้งการผลิตของเม็ดสีเมลานิน ไทโรซิเนส (Tyrosinase, EC 1.14.18.1) เป็นเอนไซม์ที่พบในธรรมชาติ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสร้างเมลานินจากสารตั้งต้นแอล-ไทโรซีน (L-Tyrosine) และ 3,4-ไดไฮดรอกซีแอล-ฟีนิลอะลานีน (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine: L-DOPA) (Kim & Uyama, 2005; Lin et al., 2008) ดังนั้น เอนไซม์ไทโรซิเนสจึงมีความสำคัญต่อการเกิดความผิดปกติของผิวหนัง เช่น ฝ้า กระ จุดด่างดำ รวมถึงมะเร็งผิวหนัง (Kim & Uyama, 2005) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้จะช่วยทำให้ผิวขาวขึ้นและช่วยลดความผิดปกติของผิวหนังลงได้ (Solano et al., 2006) ดังนั้น การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดการผลิตและการสะสมเมลานิน (Kim & Uyama, 2005) ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากสารสกัดธรรมชาติได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอาง เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารสังเคราะห์จากห้องปฏิบัติการบางชนิดที่มีราคาสูง ดังนั้นการใช้สารประกอบจากพืชทดแทนสารสังเคราะห์จึงการช่วยลดต้นทุนการผลิตและทำให้มีผลข้างเคียงกับผู้บริโภคน้อยกว่า ประเทศไทยมีทั้งพืชและสมุนไพรหลากหลายชนิด บางชนิดมีสารทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และบางชนิดมีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสได้ จึงมีการนำสารสกัดจากพืชและสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ทำให้มีความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารสังเคราะห์ไฮโดรควิโนน ซึ่งปัจจุบันถูกห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เนื่องจากมีผลข้างเคียงและมีอันตรายสูง ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาพืชและสมุนไพรจำนวน 10 ชนิด ดังนี้ ใบมะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* Linn.) ใบหม่อน (*Morus alba* Linn.) ผลสมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) ใบบัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urb.) เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) หัวไชเท้า (*Raphanus sativus* Linn.) ผลฟักทอง (*Cucurbita moschata* Decne) หัวแครอท (*Daucus carota* Linn.) และผลมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) ซึ่งมีการใช้งานกันอย่างแพร่หลายทั้งในการบริโภคและในผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพ มีรายงานวิจัยพบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบมะรุม (IC<sub>50</sub> เท่ากับ 1.02 ± 0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Xu et al., 2019) แครอท (27.5 ± 1.7 มิลลิกรัม Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) ต่อกรัม น้ำหนักพืชแห้ง) (Chatatikun & Chiabchalard, 2013) ฟักทอง (IC<sub>50</sub> เท่ากับ

18.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Xiaoxia, 2008) ใบหม่อน ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.106 \pm 0.0$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Chen et al., 2022) สมอไทย ( $IC_{50}$  เท่ากับ 14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Saha & Verma, 2016) ใบบัวบก ( $IC_{50}$  เท่ากับ 78.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Yahya & Nurrosyidah, 2020) หัวไชเท้า ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $605.88 \pm 5.78$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และมะขามป้อม ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $33.47 \pm 1.24$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Sungthong & Phadungkit, 2015) สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) ได้ดี ในขณะที่มีการนำสารสกัดอัญชัน ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $18.33 \pm 1.52$  ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) และเกสรบัวหลวง ( $IC_{50}$  เท่ากับ  $15.65 \pm 0.70$  ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ไปใช้เตรียมเครื่องดื่มชาหมักคอมบูชา (Kombucha) ซึ่งจัดเป็นเครื่องดื่มประเภทโพรไบโอติก โดยเมื่อนำสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้ไปหมักคอมบูชาเป็นเวลา 20 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้เพิ่มมากขึ้น (Wongthai et al., 2021) ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ ปริมาณฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม รวมถึงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพรรวม 10 ชนิด จากนั้น คัดเลือกสมุนไพรรวมจำนวน 1 ชนิด ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด นำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดสมุนไพรรูปแบบโลชั่น โดยศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของตำรับในสภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (Heating cooling cycle)

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การสกัดตัวอย่างสมุนไพรรวม

สมุนไพรรวมที่ใช้ในงานวิจัย 10 ชนิด ได้แก่ เกสรบัวหลวง หัวแครอท ใบบัวบก ผลผักทอง ผลมะขามป้อม ผลสมอไทย หัวไชเท้า ดอกอัญชันจากจังหวัดกรุงเทพมหานคร ใบมะรุ้ม และใบหม่อน จากจังหวัดอุทัยธานี ประเทศไทย นำตัวอย่างสมุนไพรรวมแต่ละชนิดมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ออบในอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งและได้น้ำหนักคงที่ บดเป็นผงละเอียด เก็บไว้ในถุงซิปล็อค การสกัดตัวอย่างสมุนไพรรวมใช้วิธีการแช่หมัก (Maceration) โดยนำผงสมุนไพรรวม 100 กรัม ใส่ในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1 ลิตร (อัตราส่วน 1 ต่อ 10) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน กรองแยกกาก แล้วระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) คำนวณร้อยละผลผลิตที่ได้ตามสมการที่ (1) เก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

$$\% \text{ ผลผลิตที่ได้} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้สกัด}} \times 100 \quad (1)$$

### 2.2 การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด

#### 1) การหาปริมาณฟีนอลรวม

เตรียม Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรรวมทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายผลมะขามป้อมและผลสมอไทย ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายดอกอัญชัน ความเข้มข้น 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวง ใบหม่อน ใบบัวบก และใบมะรุ้ม ความเข้มข้น 7,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายหัวไชเท้า ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายผลผักทองและ

ห้วแครอท ความเข้มข้น 15,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติม Folin-ciocalteu reagent 25 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืด 8 นาที หลังจากนั้น นำมาเติมน้ำกลั่น 75 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ (Microplate reader) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยแสดงผลในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด (Sithisarn et al., 2015)

## 2) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

เตรียม Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายผลสมอไทย ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายดอกอัญชัน ความเข้มข้น 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวง ใบหม่อน และผลมะขามป้อม ความเข้มข้น 7,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบมะขาม ความเข้มข้น 20,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบบัวบก ความเข้มข้น 30,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายห้วไซเท้าและห้วแครอท ความเข้มข้น 50,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายผลฟักทอง ความเข้มข้น 80,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3$ ) ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน (Quercetin) แสดงผลในหน่วย มิลลิกรัม QE ต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัด (Leakaya et al., 2018)

## 2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

ทดสอบคุณสมบัติความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด เทียบกับสารมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

### 2.3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ

#### 1) วิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals)

เตรียม Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายผลสมอไทยและผลมะขามป้อม ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบมะขาม ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวง ความเข้มข้น 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบหม่อน ความเข้มข้น 2,800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายห้วไซเท้าและดอกอัญชัน ความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบบัวบกและห้วแครอท ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายผลฟักทอง ความเข้มข้น 30,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้น เจือจาง Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ด้วยวิธีการเจือจางแบบอนุกรม (Two-fold dilution) ประมาณ 5 - 6 ความเข้มข้น ปิเปตสารละลายโดยแบ่งการทดลองออกเป็น ดังนี้ ชุด  $A_{\text{sample}}$  เติมสารสกัดสมุนไพรในแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100

ไม่โครลิตร ขณะเดียวกัน ชุด  $A_{\text{blank sample}}$  เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตร แต่เติมน้ำผสมกับตัวทำละลายเมทานอล (Methanol) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ส่วนชุด สารละลายควบคุม  $A_{\text{control}}$  เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และชุด  $A_{\text{blank control}}$  เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่า สารละลายทุกชุดให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ คำนวณค่า % Radical scavenging ดัง สมการที่ (2) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) แสดงผลในรูปของค่า  $IC_{50}$  ทำ การทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และนำมาหาค่าเฉลี่ย (Kim et al., 2022)

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{[(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})]}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}})} \times 100 \quad (2)$$

## 2) วิธี ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid))

เตรียมสารละลาย ABTS จากสาร 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) เข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ โดยผสมสารละลายทั้งสองในอัตราส่วน 1 ต่อ 0.5 ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง ก่อน นำไปใช้งาน ทำการเจือจางสารละลาย  $ABTS^{+}$  ด้วยเอทานอล ให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ประมาณ  $0.70 \pm 0.02$  จากนั้น เตรียม Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายผลมะขามป้อม ความเข้มข้น 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวง ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายผลสมอไทยและหัวแครอท ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบมะรุม ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบบัวบกและดอกอัญชัน ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบหม่อนและหัวไชเท้า ความเข้มข้น 3,000 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร สารละลายผลฟักทอง ความเข้มข้น 20,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ปิเปตสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย  $ABTS^{+}$  ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 6 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ โดยใช้เอทานอลเป็นชุดการทดลองควบคุม เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก แสดงผลในรูปค่า Vitamin C equivalent antioxidant capacity ในหน่วยมิลลิโมลาร์กรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัดแห้ง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หา ค่าเฉลี่ย (Re et al., 1999; Lee et al., 2015)

## 3) วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent ซึ่งประกอบด้วยบัฟเฟอร์แอสซีเทต 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 สารละลาย 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) 10 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ นำสารละลายทั้ง 3 ชนิด มาผสม กันในอัตราส่วนของปริมาตร 10 ต่อ 1 ต่อ 1 ตามลำดับ จากนั้น เตรียม Stock solution ของสารสกัด สมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายผลมะขามป้อมและผลสมอไทย ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวงและใบมะรุม ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลาย

ใบบัวบกและดอกอัญชัน ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายหัวไข่เต่า ใบหม่อนและหัวแคโรท ความเข้มข้น 3,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายผลฟักทอง ความเข้มข้น 20,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด แต่ละความเข้มข้น แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ดังนี้ ชุด A เติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ FRAP reagent 200 ไมโครลิตร ชุด B เติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์แอซีเทต 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และชุด C เติมเอทานอลปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ FRAP reagent 200 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ หาค่า  $A_{abs}$  ของสารตัวอย่างจากสมการที่ (3) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Ferrous sulfate ( $FeSO_4$ ) คำนวณค่า FRAP value ในหน่วยมิลลิโมลาร์  $Fe^{2+}$  ต่อมิลลิกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้งทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นหาค่าเฉลี่ย (Benzie & Strain, 1996; Nemes et al., 2018)

$$A_{abs} = A - B - C \quad (3)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรที่ผสมกับ FRAP reagent

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรที่ผสมกับบัฟเฟอร์แอซีเทต

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอลที่ผสมกับ FRAP reagent (Manok & Limcharoen, 2015)

### 2.3.2 การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยวิธี Dopachrome

เตรียม Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ดังนี้ สารละลายใบหม่อนและผลมะขามป้อม ความเข้มข้น 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายเกสรบัวหลวง ใบบัวบก ผลฟักทอง หัวแคโรทและดอกอัญชัน ความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายใบมะรุ้ม ผลสมอไทยและหัวไข่เต่า ความเข้มข้น 9,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจาง Stock solution ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ด้วยวิธีการเจือจางแบบอนุกรม ประมาณ 5-6 ความเข้มข้น แบ่งการทดลองออกเป็นชุดดังนี้ ชุดการทดลอง A (Control) เติมตัวทำละลายปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ส่วนชุดการทดลอง B (Blank of A) ผสมตัวทำละลายปริมาตร 80 ไมโครลิตร กับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร สำหรับชุดสารละลายตัวอย่าง C (Test sample) เติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และชุดการทดลอง D (Blank of C) ผสมสารสกัดสมุนไพรแต่ละความเข้มข้นกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้น นำชุดการทดลอง A ถึง D มาเติมสารละลาย L-DOPA ความเข้มข้น 0.85 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บ่มต่อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492

นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย คำนวณร้อยละกิจกรรมการยับยั้งไทโรซิเนส (% Tyrosinase inhibition activity) ดังสมการที่ (4) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) แสดงผลในรูปค่า IC<sub>50</sub> (Long et al., 2002; Kanyaprasit & Butkhup, 2021)

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition activity} = \frac{[(A - B) - (C - D)]}{(A - B)} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายที่ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์และเอนไซม์ไทโรซิเนส

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายที่ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรที่ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์และเอนไซม์ไทโรซิเนส

D คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรที่ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์

## 2.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตำรับโลชั่น

คัดเลือกสมุนไพรที่แสดงผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จำนวน 1 ตัวอย่าง จากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี ได้แก่ วิธี DPPH, ABTS และ FRAP นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในรูปแบบโลชั่น โดยมีองค์ประกอบของสารที่ใช้ในสูตรแต่ละตำรับ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. อัตราส่วนผสมของสารแต่ละชนิดในผลิตภัณฑ์โลชั่นแต่ละตำรับ

| ลำดับที่ | สารที่ใช้                | ร้อยละ (โดยน้ำหนัก) |          |           |
|----------|--------------------------|---------------------|----------|-----------|
|          |                          | ตำรับ C             | ตำรับ KJ | ตำรับ MKP |
| 1        | DI water                 | 66.98               | 66.08    | 66.972    |
| 2        | เจลเบส                   | 15                  | 15       | 15        |
| 3        | Tween20                  | 0.6                 | 0.6      | 0.6       |
| 4        | Disodium EDTA            | 0.02                | 0.02     | 0.02      |
| 5        | Propylene glycol         | 3                   | 3        | 3         |
| 6        | Butylene glycol          | 2                   | 2        | 2         |
| 7        | Phenoxyethanol           | 0.5                 | 0.5      | 0.5       |
| 8        | Talcum                   | 0.1                 | 0.1      | 0.1       |
| 9        | Mineral oil              | 2                   | 2        | 2         |
| 10       | Cetearyl alcohol         | 4                   | 4        | 4         |
| 11       | Stearyl alcohol          | 2                   | 2        | 2         |
| 12       | Glyceryl monostearate SE | 2                   | 2        | 2         |

ตารางที่ 1. (ต่อ) อัตราส่วนผสมของสารแต่ละชนิดในผลิตภัณฑ์โลชั่นแต่ละตำรับ

| ลำดับที่ | สารที่ใช้                        | ร้อยละ (โดยน้ำหนัก) |          |           |
|----------|----------------------------------|---------------------|----------|-----------|
|          |                                  | ตำรับ C             | ตำรับ KJ | ตำรับ MKP |
| 13       | Dimethicone                      | 0.5                 | 0.5      | 0.5       |
| 14       | DC 200/100                       | 0.5                 | 0.5      | 0.5       |
| 15       | Coconut oil                      | 0.3                 | 0.3      | 0.3       |
| 16       | Vitamin B3                       | 0.5                 | 0.5      | 0.5       |
| 17       | สารแต่งสี                        | 10 หยด              | 10 หยด   | 10 หยด    |
| 18       | สารแต่งกลิ่น                     | 2 ml                | 2 ml     | 2 ml      |
| 19       | Crude extract (สารสกัดมะขามป้อม) | -                   | -        | 0.9       |
| 20       | Std. kojic acid                  | -                   | 0.0076   | -         |

จากตารางที่ 1 การพัฒนาตำรับโลชั่นแบ่งออกเป็น 3 ตำรับ คือ ตำรับ C เป็นตำรับควบคุม ตำรับ KJ เป็นตำรับเปรียบเทียบกับสูตรมาตรฐาน Kojic acid และตำรับ MKP เป็นตำรับที่ใส่สารสกัดสมุนไพร (สารสกัดมะขามป้อม) โดยเติมส่วนผสมนี้ แบ่งน้ำ (ลำดับที่ 1) ส่วนหนึ่งละลายสารสกัดและสารมาตรฐาน (ลำดับที่ 19-20) นำสารในส่วนของวัฏภาคน้ำ (ลำดับที่ 1 ถึง 6 และ 8) ทั้งหมดลงในภาชนะแล้วหลอมที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และสารในส่วนของวัฏภาคน้ำมัน (ลำดับที่ 9 ถึง 15) นำไปหลอมที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อย ๆ เทสารวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำ (O/W) คนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นกวนผสม (Overhead stirrer homogenizer) เมื่ออุณหภูมิลดลงจนถึง 45 องศาเซลเซียส เติมสารลำดับที่ 16 ตามด้วยสารสกัดหรือสารมาตรฐานกรดโคจิกที่ได้ละลายไว้ และสารกันเสีย (ลำดับที่ 19 หรือ 20 และตามด้วยลำดับ 7) ผสมให้เข้ากันจนขึ้นเป็นเนื้อโลชั่น แล้วเติมสารแต่งสีและสารแต่งกลิ่น (ลำดับที่ 17 และ 18) ตามลำดับ

## 2.5 การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น

นำผลิตภัณฑ์โลชั่นที่เตรียมเสร็จ แบ่งบรรจุในกระปุกพลาสติกทึบแสงขนาด 500 กรัม และหลอดทึบแสงขนาด 100 กรัม ปิดฝาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้น เปลี่ยนมาเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทดสอบที่ 6 ถึง 8 รอบ โดยแต่ละรอบสุ่มตัวอย่างมาทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี ดังนี้

### 2.5.1 การศึกษาความคงตัวทางกายภาพ

นำโลชั่นที่บรรจุในกระปุกพลาสติกทึบแสงขนาด 500 กรัม มาทำการวัดค่า pH ของตัวอย่างด้วยเครื่อง pH meter และวัดความหนืดด้วยเครื่อง Viscometer ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Organoleptic test) เช่น สี กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ เป็นต้น

### 2.5.2 การศึกษาความคงตัวของเคมี

นำโลชั่นที่บรรจุในหลอดทึบแสงขนาด 100 กรัม มาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนี้

#### 1) การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของตำรับโลชั่นด้วยวิธี DPPH

เตรียม Stock solution โดยชั่งโลชั่นตำรับ C ( $5 \times 10^5$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และตำรับ MKP (4,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตัวอย่างละ 10 กรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และชั่งโลชั่นตำรับ KJ (50.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) 20 กรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาเจือจางแบบอนุกรม 5 ความเข้มข้น ปิเปตสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นใส่ลงใน 96-Well plate ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในหัวข้อ 2.3.1.1 จากนั้น คำนวณ % Radical scavenging แสดงผลในรูปของ  $IC_{50}$  ของโลชั่นแต่ละตำรับ เปรียบเทียบกับตำรับ KJ ที่ใช้สารมาตรฐาน Kojic acid

#### 2) การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของตำรับโลชั่น

เตรียม Stock solution โดยชั่งโลชั่นตำรับ C ( $5 \times 10^5$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตำรับ KJ (38.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และตำรับ MKP (4,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตัวอย่างละ 10 กรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาเจือจางแบบอนุกรม 5 ความเข้มข้น ปิเปตสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นใส่ลงใน 96-Well plate ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดในหัวข้อ 2.3.2 จากนั้น คำนวณ % Tyrosinase inhibition activity แสดงผลในรูปของ  $IC_{50}$  ของโลชั่นแต่ละตำรับ เปรียบเทียบกับตำรับ KJ ที่ใช้สารมาตรฐาน Kojic acid

## 2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

สำหรับการทดลองทั้งหมด จะทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ( $n=3$ ) และหาค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ย ( $\pm$  SEM) โดยที่การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มด้วย Independent t-test ( $p<0.05$ ) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย Pearson's correlation coefficient ส่วนการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนืด ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ และค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทิศทางเดียว (One-way ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละตำรับในการทดสอบรอบเดียวกัน และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบวัดซ้ำ (Repeated-measures ANOVA) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในตำรับเดียวกันในแต่ละรอบการทดสอบ ด้วยวิธี Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p<0.05$ )

### 3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 3.1 ผลการสกัดและการศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการนำสมุนไพร 10 ชนิด มาสกัดสารและศึกษาปริมาณผลผลิตสารสกัดทั้งหมด รวมถึงปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่า สารสกัดสมอไทยให้ร้อยละผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 35.72 รองลงมาคือ สารสกัดมะขามป้อม ร้อยละ 31.81 และสารสกัดดอกอัญชัน ร้อยละ 12.36 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ในขณะที่สารสกัดเกสรบัวหลวงให้ร้อยละผลผลิตน้อยที่สุดเท่ากับ 3.94 ดังตารางที่ 2 ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kakatum et al. (2012) ซึ่งสกัดสารและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหัตถสาราที่บรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อจากตัวสมุนไพร 21 ชนิด พบว่า สมอไทยที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่หมักเป็นเวลา 3 วัน ให้ร้อยละผลผลิตสารสกัดทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 41.7 (Kakatum et al., 2012) จากตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดสมอไทยให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดเท่ากับ  $12,083.08 \pm 232.18$  มิลลิกรัม GAE ต่อ 100 มิลลิกรัม รองลงมาคือ สารสกัดมะขามป้อมและดอกอัญชันที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ  $10,735.19 \pm 207.14$  และ  $2,983.57 \pm 108.71$  มิลลิกรัม GAE ต่อ 100 มิลลิกรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม สารสกัดดอกอัญชันให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดเท่ากับ  $3,397.07 \pm 41.01$  มิลลิกรัม QE ต่อ 100 มิลลิกรัม รองลงมาคือ สารสกัดสมอไทยและเกสรบัวหลวงให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ  $2,315.89 \pm 150.21$  และ  $1,142.76 \pm 154.37$  มิลลิกรัม QE ต่อ 100 มิลลิกรัม ในขณะที่สารสกัดแครอทให้ปริมาณฟีนอลิกรวมต่ำสุดเท่ากับ  $143.55 \pm 14.91$  มิลลิกรัม QE ต่อ 100 มิลลิกรัม และไม่สามารถตรวจพบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดฟักทอง ดังตารางที่ 2 ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pancoke et al. (2012) ที่พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมแห้งให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงกว่ามะขามป้อมสดที่ 260.20 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และผลการวิจัยของ Buachoon et al. (2018) ที่พบว่าสารสกัดหยาบสมอไทยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 85.22 มิลลิกรัม GAE ต่อ 100 มิลลิกรัมสารสกัดแห้ง ในขณะที่งานวิจัยของ Halee & Rattanapun (2017) ศึกษาสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด พบว่า สารสกัดเมทานอลจากอัญชันมีฟลาโวนอยด์สูงสุดคือ 8.65 มิลลิกรัม QE ต่อกรัม ซึ่งอัญชันเป็นสมุนไพรที่มีสารสีในกลุ่มแอนโทไซยานินจัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Jirumand & Srihanam, 2011) และเป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ จึงทำให้อัญชันมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น ๆ

ตารางที่ 2. ร้อยละผลผลิตของสารสกัด ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม จากสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด

| ลำดับ | สารสกัด   | ส่วนที่ใช้ | ร้อยละผลผลิต (%) | ฟีนอลิกรวม (TPC)<br>(มิลลิกรัม GAE/100 มิลลิกรัม) | ฟลาโวนอยด์รวม (TFC)<br>(มิลลิกรัม QE/100 มิลลิกรัม) |
|-------|-----------|------------|------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1     | สมอไทย    | ผล         | 35.72            | $12,083.08 \pm 232.18^a$                          | $2,315.89 \pm 150.21^b$                             |
| 2     | มะขามป้อม | ผล         | 31.81            | $10,735.19 \pm 207.14^b$                          | $343.15 \pm 29.60^d$                                |
| 3     | บัวหลวง   | เกสร       | 3.94             | $1,827.77 \pm 35.73^d$                            | $1,142.76 \pm 154.37^c$                             |
| 4     | มะรุม     | ใบ         | 9.48             | $663.59 \pm 7.31^f$                               | $150.94 \pm 19.19^e$                                |

ตารางที่ 2. (ต่อ) ร้อยละผลผลิตของสารสกัด ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม จากสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด

| ลำดับ | สารสกัด | ส่วนที่ใช้ | ร้อยละผลผลิต (%) | ฟีนอลิกรวม (TPC)<br>(มิลลิกรัม GAE/100 มิลลิกรัม) | ฟลาโวนอยด์รวม (TFC)<br>(มิลลิกรัม QE/100 มิลลิกรัม) |
|-------|---------|------------|------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 5     | บัวบก   | ใบ         | 9.39             | 368.75 ± 35.49 <sup>g</sup>                       | 89.62 ± 11.88 <sup>e,f</sup>                        |
| 6     | อัญชัน  | ดอก        | 12.36            | 2,983.57 ± 108.71 <sup>c</sup>                    | 3,397.07 ± 41.01 <sup>a</sup>                       |
| 7     | หม่อน   | ใบ         | 7.70             | 710.41 ± 32.97 <sup>f</sup>                       | 337.23 ± 39.15 <sup>d</sup>                         |
| 8     | แคระอท  | หัว        | 8.00             | 143.55 ± 14.91 <sup>h</sup>                       | 36.07 ± 9.66 <sup>g</sup>                           |
| 9     | ไซเท้า  | หัว        | 10.83            | 839.99 ± 21.86 <sup>e</sup>                       | 61.19 ± 9.76 <sup>f,g</sup>                         |
| 10    | ฟักทอง  | ผล         | 4.39             | 165.01 ± 20.75 <sup>h</sup>                       | ND                                                  |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันคือค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ ) \*ND คือ ไม่สามารถตรวจพบปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

### 3.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ABTS และ FRAP assay การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี DPPH สารสกัดสมอไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.229 \pm 0.632$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่แตกต่างจากสารสกัดมะขามป้อมที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $10.273 \pm 0.794$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 3 โดยสารสกัดทั้งสองดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $30.557 \pm 2.188$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 3 ในขณะที่เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ FRAP สารสกัดมะขามป้อมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า VEAC และ FRAP เท่ากับ  $41.426 \pm 13.485$  มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม และ  $27.440 \pm 2.048$  มิลลิโมลาร์  $Fe^{2+}$  ต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pancake et al. (2012) ที่เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมระหว่างมะขามป้อมทั้งสดและแห้ง พบว่า สารสกัดจากมะขามป้อมแห้งสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยการทดสอบวิธี DPPH และ ABTS สูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 4,191.88 และ 1,744.7 มิลลิกรัม BHT equivalent ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่ผลการวิจัยของ Buachoon et al. (2018) พบว่า สารสกัดหยาบสมอไทยที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 13.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะเดียวกันการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดใบหม่อนให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $123.820 \pm 4.671$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดมะขามป้อมที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $226.625 \pm 13.737$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิกที่มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $3.809 \pm 0.529$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรแล้ว พบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 10 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อยกว่ากรดโคจิก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yodthong et al. (2020) ที่ทำการสกัดใบหม่อน 3 สายพันธุ์ คือ เชียงใหม่ 60 (CM60) บุรีรัมย์ 60 (BR60) และสกลนคร 75 (SN75) โดยใช้ตัวทำละลาย 6 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เบนซีน เอทิลแอลกอฮอล์ แอซิโตน เอทานอล และน้ำ พบว่า สารสกัดใบหม่อนสายพันธุ์

CM60 สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้มากกว่าสารสกัดใบหม่อนสายพันธุ์ BR60 และ SN75 โดยที่สารสกัดแอซิโตนให้ค่าการยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดเอทานอลและเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสอาจจะเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ตามรายงานของ Chang et al. (2011) และ Zhang et al. (2016) และสารในกลุ่มของ Hydroxystilbene เช่น Resveratrol และ Oxyresveratrol ที่พบว่ามีสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและการผลิตเมลานินได้ (Lee et al., 2014) เช่นเดียวกันกับรายงานวิจัยของ Perera et al. (2018) ที่ทดสอบสมบัติการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของผลมะขามป้อมสกัดด้วยเมทานอลโดยใช้วิธี Sonication ให้ค่า  $IC_{50}$  สูงที่สุดเท่ากับ 251 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการนำผลที่ได้ไปศึกษาความสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation) พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดผลมะขามป้อมและหัวไชเท้ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.998 และ 0.999 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4 นอกจากนี้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อมที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH ยังมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับวิธี FRAP ในระดับสูง ( $r^2 = 0.61$  ถึง  $0.80$ ) รวมถึงปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมด้วย ในขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดดอกอัญชันมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟีนอลิกรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยมีค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 1.000 และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหัวแครอทมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.999 จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี พบว่ามีความสัมพันธ์กันทางด้านกลไกการยับยั้งปฏิกิริยา ซึ่งสารสกัดแต่ละชนิดแสดงความสัมพันธ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้แตกต่างกันออกไป เช่น ในสารสกัดใบหม่อน เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับวิธี ABTS และ FRAP ในระดับสูงมาก ( $r^2 = 0.81$  ถึง  $1.0$ ) นั้นแสดงว่า สารสกัดใบหม่อนมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH โดยกลไกการให้อะตอมของไฮโดรเจนได้ดี และกำจัดอนุมูลชนิดเปอร์ออกซีในวิธี ABTS อีกทั้งยังต้านอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์ในปฏิกิริยารีดักชันของ  $Fe^{3+}$ -TPTZ ไปเป็น  $Fe^{2+}$ -TPTZ ในวิธี FRAP ได้อีกด้วย

ตารางที่ 3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด

| สารสกัด       | ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ       |                         |                                    | ผลการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ( $IC_{50}$ ; $\mu g/ml$ ) |
|---------------|--------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|               | วิธี DPPH ( $IC_{50}$ ; $\mu g/ml$ ) | วิธี ABTS (VEAC; mM/mg) | วิธี FRAP (FRAP; mM $Fe^{2+}/mg$ ) |                                                                 |
| Kojic acid    | -                                    | -                       | -                                  | $3.809 \pm 0.529^a$                                             |
| Ascorbic acid | $30.557 \pm 2.188^b$                 | -                       | -                                  | -                                                               |
| ผลสมอไทย      | $10.229 \pm 0.632^a$                 | $0.038 \pm 0.007^c$     | $24.989 \pm 0.474^a$               | $1,601.509 \pm 132.551^g$                                       |
| ผลมะขามป้อม   | $10.273 \pm 0.794^a$                 | $41.426 \pm 13.485^a$   | $27.440 \pm 2.048^a$               | $226.625 \pm 13.737^c$                                          |
| เกสรบัวหลวง   | $150.398 \pm 8.453^c$                | $18.822 \pm 4.943^b$    | $2.128 \pm 0.046^b$                | $387.786 \pm 35.749^{d,e}$                                      |
| ใบมะรุม       | $304.254 \pm 26.665^d$               | $0.011 \pm 0.003^c$     | $2.031 \pm 0.255^{b,c}$            | $566.376 \pm 59.012^{e,f}$                                      |
| ใบบัวบก       | $343.482 \pm 1.812^d$                | $0.006 \pm 0.002^c$     | $1.200 \pm 0.069^{d,e}$            | $494.862 \pm 82.701^{d,f}$                                      |

ตารางที่ 3. (ต่อ) ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพรร 10 ชนิด

| สารสกัด   | ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ       |                            |                                           | ผลการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (IC <sub>50</sub> ; µg/ml) |
|-----------|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|           | วิธี DPPH (IC <sub>50</sub> ; µg/ml) | วิธี ABTS (VEAC; mM/mg)    | วิธี FRAP (FRAP; mM Fe <sup>2+</sup> /mg) |                                                                 |
| ดอกอัญชัน | 639.705 ± 27.698 <sup>e</sup>        | 0.004 ± 0.000 <sup>c</sup> | 0.837 ± 0.056 <sup>f</sup>                | 561.494 ± 80.052 <sup>d,f</sup>                                 |
| ใบหม่อน   | 645.272 ± 30.729 <sup>e</sup>        | 0.005 ± 0.001 <sup>c</sup> | 1.305 ± 0.075 <sup>c,d</sup>              | 123.820 ± 4.671 <sup>b</sup>                                    |
| หัวแคระอห | 1,253.592 ± 53.702 <sup>f</sup>      | 0.172 ± 0.040 <sup>c</sup> | 0.507 ± 0.031 <sup>e,g</sup>              | 1,919.728 ± 164.808 <sup>g</sup>                                |
| หัวไชเท้า | 1,450.135 ± 60.807 <sup>f</sup>      | 0.005 ± 0.001 <sup>c</sup> | 0.493 ± 0.064 <sup>g</sup>                | 380.339 ± 16.014 <sup>d</sup>                                   |
| ผลผักทอง  | 7,368.406 ± 296.730 <sup>g</sup>     | 0.001 ± 0.000 <sup>c</sup> | 0.132 ± 0.004 <sup>h</sup>                | 561.674 ± 24.657 <sup>f</sup>                                   |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (n=3)

ตารางที่ 4. ความสัมพันธ์เพียร์สันของ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดทั้ง 10 ชนิด

| สารสกัด     | Correlation | DPPH  | ABTS  | FRAP   | Tyrosinase | TPC    | TFC    |
|-------------|-------------|-------|-------|--------|------------|--------|--------|
| ผลสมอไทย    | DPPH        | 1.000 | 0.863 | 0.121  | 0.557      | 0.816  | 0.051  |
|             | ABTS        | -     | 1.000 | -0.396 | 0.548      | 0.996  | 0.062  |
|             | FRAP        | -     | -     | 1.000  | 0.892      | -0.476 | -0.985 |
|             | Tyrosinase  | -     | -     | -      | 1.000      | -0.026 | -0.801 |
|             | TPC         | -     | -     | -      | -          | 1.000  | 0.619  |
|             | TFC         | -     | -     | -      | -          | -      | 1.000  |
| ผลมะขามป้อม | DPPH        | 1.000 | 0.515 | 0.800  | 0.998*     | -0.548 | -0.935 |
|             | ABTS        | -     | 1.000 | -0.102 | 0.455      | 0.435  | -0.178 |
|             | FRAP        | -     | -     | 1.000  | 0.840      | -0.940 | -0.961 |
|             | Tyrosinase  | -     | -     | -      | 1.000      | -0.604 | -0.957 |
|             | TPC         | -     | -     | -      | -          | 1.000  | 0.808  |
|             | TFC         | -     | -     | -      | -          | -      | 1.000  |
| เกสรบัวหลวง | DPPH        | 1.000 | 0.223 | -0.989 | -0.925     | 0.138  | 0.910  |
|             | ABTS        | -     | 1.000 | -0.073 | -0.577     | -0.935 | -0.200 |
|             | FRAP        | -     | -     | 1.000  | 0.857      | -0.286 | -0.962 |
|             | Tyrosinase  | -     | -     | -      | 1.000      | 0.249  | -0.684 |
|             | TPC         | -     | -     | -      | -          | 1.000  | 0.536  |
|             | TFC         | -     | -     | -      | -          | -      | 1.000  |

ตารางที่ 4. (ต่อ) ความสัมพันธ์ Person correlation ของสารต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดทั้ง 10 ชนิด

| สารสกัด   | Correlation | DPPH  | ABTS   | FRAP   | Tyrosinase    | TPC            | TFC           |
|-----------|-------------|-------|--------|--------|---------------|----------------|---------------|
| ใบมะรุม   | DPPH        | 1.000 | 0.267  | 0.887  | -0.970        | -0.488         | 0.915         |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | 0.682  | -0.493        | 0.710          | -0.143        |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | -0.973        | -0.031         | 0.627         |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | 0.262          | -0.791        |
|           | TPC         | -     | -      | -      | -             | 1.000          | -0.798        |
|           | TFC         | -     | -      | -      | -             | -              | 1.000         |
| ใบบัวบก   | DPPH        | 1.000 | -0.676 | 0.954  | -0.281        | 0.833          | 0.774         |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | -0.865 | 0.897         | -0.155         | -0.057        |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | -0.555        | 0.630          | 0.550         |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | 0.297          | 0.390         |
|           | TPC         | -     | -      | -      | -             | 1.000          | 0.995         |
|           | TFC         | -     | -      | -      | -             | -              | 1.000         |
| ดอกอัญชัน | DPPH        | 1.000 | 0.405  | -0.161 | -0.834        | <b>1.000**</b> | 0.961         |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | -0.967 | 0.167         | 0.419          | 0.643         |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | -0.411        | -0.175         | -0.428        |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | -0.825         | -0.648        |
|           | TPC         | -     | -      | -      | -             | 1.000          | 0.965         |
| ใบหม่อน   | DPPH        | 1.000 | 0.991  | 0.972  | -0.631        | -0.721         | 0.790         |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | 0.932  | -0.522        | -0.808         | 0.700         |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | -0.795        | -0.540         | 0.911         |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | -0.081         | -0.974        |
|           | TPC         | -     | -      | -      | -             | 1.000          | -0.144        |
|           | TFC         | -     | -      | -      | -             | -              | 1.000         |
| หัวแครอท  | DPPH        | 1.000 | -0.666 | -0.831 | -0.290        | 0.544          | -0.630        |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | 0.968  | 0.907         | 0.264          | <b>0.999*</b> |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | 0.773         | 0.015          | 0.955         |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | 0.646          | 0.926         |
|           | TPC         | -     | -      | -      | -             | 1.000          | 0.310         |
|           | TFC         | -     | -      | -      | -             | -              | 1.000         |
| หัวไชเท้า | DPPH        | 1.000 | -0.785 | -0.992 | <b>0.999*</b> | -0.140         | -0.544        |
|           | ABTS        | -     | 1.000  | 0.701  | -0.760        | 0.723          | -0.092        |
|           | FRAP        | -     | -      | 1.000  | -0.996        | 0.014          | 0.645         |
|           | Tyrosinase  | -     | -      | -      | 1.000         | -0.101         | -0.577        |

**ตารางที่ 4.** (ต่อ) ความสัมพันธ์ Person correlation ของสารต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดทั้ง 10 ชนิด

| สารสกัด   | Correlation | DPPH  | ABTS  | FRAP  | Tyrosinase | TPC    | TFC    |
|-----------|-------------|-------|-------|-------|------------|--------|--------|
| หัวไชเท้า | TPC         | -     | -     | -     | -          | 1.000  | -0.755 |
|           | TFC         | -     | -     | -     | -          | -      | 1.000  |
| ผลผักทอง  | DPPH        | 1.000 | 0.883 | 0.928 | -0.050     | -0.488 | 0.638  |
|           | ABTS        | -     | 1.000 | 0.645 | 0.425      | -0.840 | 0.202  |
|           | FRAP        | -     | -     | 1.000 | -0.418     | -0.128 | 0.879  |
|           | Tyrosinase  | -     | -     | -     | 1.000      | -0.848 | -0.801 |
|           | TPC         | -     | -     | -     | -          | 1.000  | 0.361  |
|           | TFC         | -     | -     | -     | -          | -      | 1.000  |

**หมายเหตุ** \*ค่าความสัมพันธ์เพียร์สันที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $p < 0.05$  (two-tailed) และ \*\*ค่าความสัมพันธ์เพียร์สันที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $p < 0.01$  (two-tailed)

### 3.3 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตำรับโลชั่นจากสารสกัดมะขามป้อม

จากการนำผลการศึกษาเบื้องต้นของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มาให้คะแนน โดยเรียงคะแนนจากปริมาณสารสูงสุดและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเป็นลำดับที่ 1 พบว่า สารสกัดมะขามป้อมสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดและสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เป็นอันดับที่ 2 รองจากสารสกัดใบหม่อน โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูง รองจากสารสกัดผลสมอไทยและให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเป็นลำดับที่ 4 รองจากสารสกัดดอกอัญชัน ผลสมอไทยและเกสรบัวหลวง ตามลำดับ ดังตารางที่ 5 จึงคัดเลือกสารสกัดมะขามป้อมไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบโลชั่นบำรุงผิว โดยแบ่งออกเป็น 3 ตำรับ ได้แก่ ตำรับควบคุม (ตำรับ C) ตำรับที่ใส่สารมาตรฐานกรดโคจิก (ตำรับ KJ) และตำรับที่ใส่สารสกัดมะขามป้อม (ตำรับ MKP) ผลิตภัณฑ์โลชั่นบรรจุหลอดขนาด 100 กรัม แสดงดังรูปที่ 1

**ตารางที่ 5.** ลำดับการให้คะแนนเมื่อเรียงจากปริมาณสารสูงสุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด

| สารสกัด     | ลำดับการให้คะแนน           |                      |           |           |            |               |
|-------------|----------------------------|----------------------|-----------|-----------|------------|---------------|
|             | การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส | ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ |           |           | ฟีนอลิกรวม | ฟลาโวนอยด์รวม |
|             |                            | วิธี DPPH            | วิธี ABTS | วิธี FRAP |            |               |
| ผลสมอไทย    | 5                          | 1                    | 3         | 1         | 1          | 2             |
| ผลมะขามป้อม | 2                          | 1                    | 1         | 1         | 2          | 4             |
| เกสรบัวหลวง | 3                          | 2                    | 2         | 2         | 4          | 3             |
| ใบมะรุม     | 4                          | 3                    | 3         | 2         | 6          | 5             |
| ใบบัวบก     | 4                          | 3                    | 3         | 3         | 7          | 6             |

ตารางที่ 5. (ต่อ) ลำดับการให้คะแนนเมื่อเรียงจากปริมาณสารสูงสุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด

| สารสกัด   | ลำดับการให้คะแนน           |                      |           |           |            |               |
|-----------|----------------------------|----------------------|-----------|-----------|------------|---------------|
|           | การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส | ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ |           |           | ฟีนอลิกรวม | ฟลาโวนอยด์รวม |
|           |                            | วิธี DPPH            | วิธี ABTS | วิธี FRAP |            |               |
| ดอกอัญชัน | 4                          | 4                    | 3         | 4         | 3          | 1             |
| ใบหม่อน   | 1                          | 4                    | 3         | 3         | 6          | 4             |
| หัวแครอท  | 5                          | 5                    | 3         | 5         | 8          | 7             |
| หัวไชเท้า | 3                          | 5                    | 3         | 5         | 5          | 6             |
| ผลฟักทอง  | 4                          | 6                    | 3         | 6         | 8          | ND            |

หมายเหตุ \*ND คือ ไม่สามารถตรวจพบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมได้



รูปที่ 1. ผลิตภัณฑ์โลชั่นจากสารสกัดมะขามป้อมและลักษณะทางกายภาพด้านสี ณ เวลาเริ่มต้น

จากการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว พบว่า ณ วันที่ 0 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวมีความคงตัวดี โลชั่นตำรับ C และ KJ มีลักษณะเหนียวหนืด สีขาวขุ่น มีกลิ่นคงสภาพ ในขณะที่โลชั่นตำรับ MKP มีลักษณะเหนียวหนืด สีครีมเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว โลชั่นมีค่าความเป็นกรด-ด่าง และความหนืดอยู่ในช่วง  $6.08 \pm 0.05$  ถึง  $7.23 \pm 0.00$  และ  $6,656.67 \pm 228.05$  ถึง  $8,400.00 \pm 49.32$  เซนติพอยส์ (cP) ตามลำดับ ณ จุดเริ่มต้น ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวตำรับ C, KJ และ MKP มีค่า  $IC_{50}$  ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ  $7.12 \pm 1.67 \times 10^5$ ,  $37.29 \pm 1.58$  และ  $38.91 \pm 0.51$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า  $IC_{50}$  จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome เท่ากับ  $19.59 \pm 1.10 \times 10^4$ ,  $7.55 \pm 0.87$  และ  $853.52 \pm 6.91$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 2

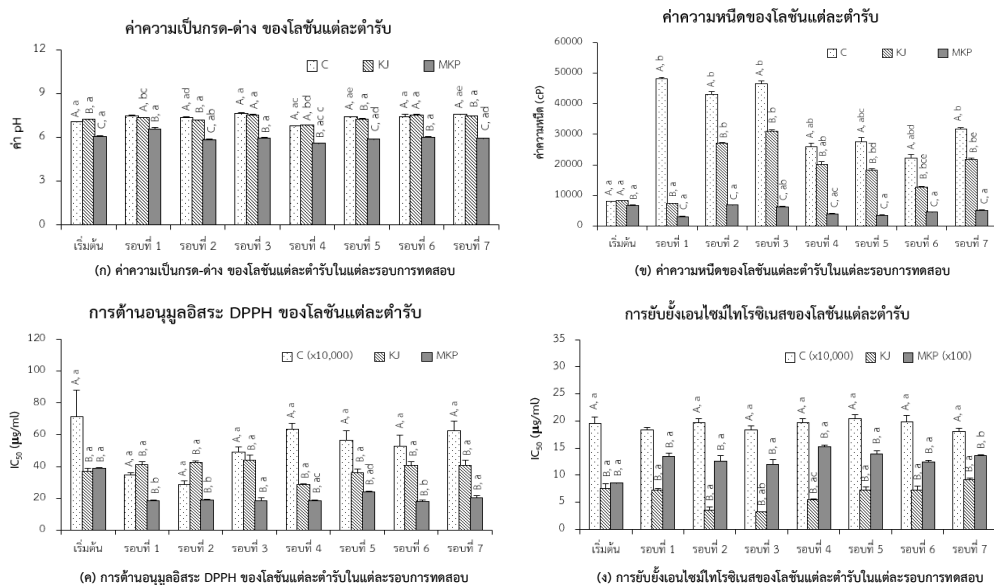
### 3.4 ผลการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ณ สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น

จากการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น โดยสุ่มตรวจทั้งหมด 7 รอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวตัวรับ C, KJ และ MKP ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ  $6.79 \pm 0.00$  ถึง  $7.63 \pm 0.09$ ,  $6.83 \pm 0.02$  ถึง  $7.53 \pm 0.07$  และ  $5.59 \pm 0.02$  ถึง  $6.54 \pm 0.27$  ตามลำดับ ดังรูปที่ 2 เมื่อระยะเวลาผ่านไป ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวทุกตัวรับมีความหนืดเพิ่มขึ้น โดยตัวรับ C มีความหนืดเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวรับอื่น ๆ โดยมีค่าเท่ากับ  $8,116.66 \pm 105.03$  ถึง  $48,080.00 \pm 750.19$  เซนติพอยส์ รองลงมาคือตัวรับ KJ มีความหนืดเท่ากับ  $7,560.00 \pm 0.00$  ถึง  $30,960.00 \pm 935.52$  เซนติพอยส์ และ MKP มีความหนืดเท่ากับ  $2,976.66 \pm 650.56$  ถึง  $6,946.66 \pm 169.21$  เซนติพอยส์ ดังรูปที่ 2 ขณะเดียวกันตัวรับ KJ และ MKP มีแนวโน้มค่าความคงตัวทางเคมีลดลง โดยตัวรับ MKP มีผลการต้านอนุมูลอิสระซึ่งให้ค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง  $18.11 \pm 1.34$  ถึง  $38.91 \pm 0.88$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สูงกว่าตัวรับ KJ ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง  $28.62 \pm 0.84$  ถึง  $44.13 \pm 5.27$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 2 ตัวรับ MKP มีแนวโน้มการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 46.92 ในขณะที่ตัวรับ KJ ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระแนวโน้มลดลงร้อยละ 9.69 แต่เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวตัวรับ MKP มีการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งให้ค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง  $853.52 \pm 11.97$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้อยกว่าผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวตัวรับ KJ ซึ่งมีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง  $3.17 \pm 0.07$  ถึง  $9.10 \pm 0.58$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 2 ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวทั้งตัวรับ KJ และตัวรับ MKP มีแนวโน้มของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ลดลง คิดเป็นร้อยละ 20.60 และ 59.23 ตามลำดับ จากการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น พบว่า บางรอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของโลชั่นลดลง ในขณะที่รอบถัดไป มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากอัตราการระเหยของน้ำในตัวรับแต่ละจุดที่สัมผัสกับอุณหภูมิสูง-ต่ำสลับกันในแต่ละรอบ ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดที่อยู่ภายในตัวรับมีความเข้มข้นสูงขึ้น เนื่องจากน้ำที่ระเหยออกไป จึงทำให้บางรอบของการทดสอบมีฤทธิ์สูงขึ้นจากเดิม ทั้งนี้การทดสอบฤทธิ์ในสภาวะเร่งอุณหภูมิจึงควรทดสอบอย่างต่ำ 6-7 รอบ เพื่อดูแนวโน้มความคงตัวของสารสำคัญในตัวรับ จากผลการศึกษาความคงตัวดังกล่าว จะเห็นได้ว่านอกจากบรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่ออัตราการระเหยของน้ำในผลิตภัณฑ์และความหนืดที่เพิ่มขึ้นแล้ว ทั้งนี้ส่วนหนึ่งยังขึ้นอยู่กับระบบทดสอบ ซึ่งไม่ได้ทำการทดสอบในระบบปิดด้วยเครื่อง Freeze Thaw Cycle ที่ควบคุมการสลับอุณหภูมิ 4 และ 45 องศาเซลเซียสภายในเครื่องเดียวกัน แต่เป็นการเปลี่ยนสลับสภาวะอุณหภูมิการทดสอบระหว่างตู้เย็นและตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งระบบอาจส่งผลต่อการประเมินความคงตัวของโลชั่น ในขณะที่ส่วนประกอบในตัวรับ C ซึ่งเป็นตัวรับพื้นฐานไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $2.90 \pm 0.38 \times 10^5$  ถึง  $7.12 \pm 2.90 \times 10^5$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยให้ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $18.06 \pm 0.96 \times 10^4$  ถึง  $20.49 \pm 1.20 \times 10^4$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงมาจากสารสกัดมะขามป้อมที่เติมลงไปในตัวรับโลชั่น

สำหรับลักษณะทางกายภาพที่สังเกตได้ทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่นและเนื้อสัมผัส พบว่าตัวรับ C ในรอบที่ 3 ถึง 7 มีกลิ่นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย สีและลักษณะเนื้อโลชั่นค่อนข้างมีความคงตัว ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ขณะเดียวกัน ตัวรับ KJ ในรอบที่ 2 ถึง 6 มีกลิ่นเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อย โดยที่กลิ่นเปลี่ยนแปลงไปปานกลางในรอบที่ 7 ขณะที่ในรอบที่ 3 ถึง 7 มีการเปลี่ยนแปลงสีเพียงเล็กน้อย และ

ลักษณะเนื้อโลชันมีการเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยในรอบที่ 4 ถึง 6 และมีความเปลี่ยนแปลงในระดับปานกลางในรอบที่ 7 ในขณะที่ตำรับ MKP มีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นในรอบที่ 2 ถึง 3 เล็กน้อย และมีการเปลี่ยนแปลงไปในระดับปานกลางช่วงรอบที่ 4 ถึง 7 สีของตำรับ MKP เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในรอบที่ 2 ถึง 3 ส่วนรอบที่ 4 ถึง 5 มีความเปลี่ยนแปลงไปในระดับปานกลาง ในขณะที่สีเปลี่ยนแปลงไปมากในรอบที่ 6 ถึง 7 ลักษณะเนื้อสัมผัสของรอบที่ 3 ถึง 4 มีความเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย และเปลี่ยนแปลงในระดับปานกลางช่วงรอบที่ 5 ถึง 7 จากการเปลี่ยนแปลงของสีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นดังตารางที่ 6 สำหรับการทดสอบด้วยกระดาษสัมผัส ในการพิจารณาสีหากมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเชิงอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคตควรใช้การวัดค่าสี  $L^*a^*b$  ด้วยเครื่อง Colorimeter spectrophotometer จะเหมาะสมมากกว่า

อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์โลชันบำรุงผิวทั้ง 3 ตำรับ มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส โดยผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรมีมาตรฐาน มอก.เอส เลขที่ 15-2561 โดยกำหนดค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 3.5 ถึง 7.5 ตำรับผลิตภัณฑ์โลชันบำรุงผิวที่ผสมสารสกัดมะขามป้อมมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด ผลของมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบหลัก อีกทั้งยังเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก สอดคล้องกับรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมทานอลจากผลมะขามป้อมที่พบองค์ประกอบฟีนอลิก 6 ชนิด ได้แก่ Ellagic acid, Gallate, Methyl gallate, Mucic acid 1-4-lactone methyl ester 5-O-gallate, Mucic acid dimethyl ester 2-O-gallate และ Mucic acid 1-ethyl 6-methyl ester 2-O-gallate



**หมายเหตุ** สัญลักษณ์ A, B, C ที่ต่างกันในแต่ละรอบการทดสอบแสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบในรอบเดียวกันแต่ตำรับต่างกัน ในขณะที่สัญลักษณ์อักษรตัวพิมพ์เล็กเปรียบเทียบที่ตำรับเดียวกันในแต่ละรอบการทดสอบ

**รูปที่ 2.** ค่าความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของโลชันบำรุงผิวแต่ละตำรับ ในสภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น

ตารางที่ 6. ระดับการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสีไลซันแต่ละตำรับที่ผ่านสภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น เป็นเวลา 7 รอบ

| รอบที่   | ตำรับ C                                                                                                | ตำรับ KJ                                                                                                         | ตำรับ MKP                                                                                                       |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| เริ่มต้น | <br>สี 5+ (สีขาวขุ่น) | <br>สี 5+ (สีขาวขุ่น)           | <br>สี 5+ (สีเหลืองอ่อน)     |
| รอบที่ 7 | <br>สี 5+ (สีขาวขุ่น) | <br>สี 4+ (สีขาวขุ่นเป็นมันวาว) | <br>สี 3+ (สีเหลืองอมน้ำตาล) |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ +5 ถึง +1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นและเนื้อสัมผัส ดังนี้ +5 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง +4 เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย +3 เปลี่ยนแปลงปานกลาง +2 เปลี่ยนแปลงมาก +1 เปลี่ยนแปลงมากที่สุด

เมื่อนำสารทั้ง 6 ชนิดนี้ ไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารประกอบทั้ง 6 ชนิด มีสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 5.6 ถึง 12.9 ไมโครโมลาร์ วิธี ABTS โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.87 ถึง 8.43 ไมโครโมลาร์ Trolox และด้วยวิธี FRAP โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.01 ถึง 5.79 ไมโครโมลาร์  $Fe^{3+}$  (Zhang et al., 2017) ในขณะที่รายงานการวิจัยของ Sungthong & Phadungkit (2015) ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome ในสมุนไพร 7 ชนิด ที่ใช้ผสมลงในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว โดยสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และหมักเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัดมะขามป้อมสามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้สูงสุด โดยยับยั้งถึงร้อยละ  $48.38 \pm 4.77$  อย่างไรก็ตาม สารสกัดมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสได้ต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิกที่ยับยั้งได้ถึงร้อยละ  $60.37 \pm 2.35$  จากรายงานการวิจัยดังกล่าว สารสกัดมะขามป้อมได้รับความนิยมสูงในการผสมในผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพ เนื่องจากมีสารจำพวก Hydrolysable tannins ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของโพลีฟีนอลที่ประกอบไปด้วย Emblicanin-A, Emblicanin-B, Pedunculagin และ Punigluconin (Fujii et al., 2008) สารเหล่านี้ถูกนำมา ใช้ผสมในครีมบำรุงผิวและโทนเนอร์ ฯลฯ ส่วนใหญ่ สารสกัดมะขามป้อมจะใช้เวลาเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ถึง 1.0 สำหรับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ผสมในเครื่องสำอางนั้นจะขึ้นกับชนิดของสารสกัด ถ้าเป็นสารสกัดแห้ง นิยมใช้ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ถึง 2.0 แต่ถ้าเป็นสารสกัดบริสุทธิ์จะใช้ความเข้มข้นต่ำเพียงร้อยละ 0.25 ถึง 1.0 เท่านั้น ในงานวิจัยนี้ ใช้สารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง) มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดมะขามป้อมเมื่อป้อนให้หนูถีบจักรในปริมาณ 10 กรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ไม่ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษ เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังพบว่า ปริมาณที่ทำให้สัตว์ทดลองตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง ( $LD_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ 4.8 กรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น ความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อมที่นำมาใช้ในการพัฒนาโลชั่นจึงมีความปลอดภัย (Mokkhasmit et al., 1971) ผลการทดลองยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Homklob et al. (2010) ที่ใช้สารสกัดมะขามป้อมในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวในการเพิ่มความชุ่มชื้น ช่วยให้ผิวขาวและช่วยชะลอวัย แสดงให้เห็นว่านอกจากมะขามป้อมจะสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีแล้ว ยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อีกด้วย จาก

ผลการทดลองในงานวิจัยนี้ ผลลัพธ์ที่ได้นั้นบ่งชี้ว่าสารสกัดมะขามป้อมค่อนข้างมีความคงตัวในปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีปริมาณของวิตามินซีสูง แต่เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย จึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพในเรื่องการเปลี่ยนแปลงของสี หากเก็บในที่อุณหภูมิสูงหรือเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน จะทำให้สีของตำรับ MKP เปลี่ยนแปลงไปมาก ในขณะที่สารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นสารในกลุ่ม Hydrolysable tannins เช่น Emblicanin-A และ Emblicanin-B รวมทั้ง Pedunculagin และ Punigluconin มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ยาวนาน และมีความเสถียรมากกว่าวิตามินซี แต่อาจเกิดการสลายตัวในขั้นตอนการทำ Heating cooling cycle แต่ละครอบ จึงทำให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสลดลง (Chaudhuri, 2002; Ghosal et al., 1996) เมื่อเทียบกับตำรับที่เติมสารมาตรฐานกรดโคจิก (ตำรับ KJ) จะมีความคงตัวของสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ค่อนข้างคงที่กว่าตำรับ MKP ดังนั้นในการพัฒนาสารสกัดมะขามป้อมให้มีความคงตัวดีในผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคตเพื่อใช้ในระดับอุตสาหกรรม อาจจะต้องใช้สาร Antioxidant ตัวอื่นเพิ่มเติมในการช่วยเรื่องความคงตัวทางด้านกายภาพ รวมถึงลดอัตราส่วนของเจลเบสลงในสูตรพื้นฐาน เนื่องจากเมื่อผ่านสภาวะเร่งอุณหภูมิจนครบ 7 รอบ มีการระเหยของน้ำในตำรับมากขึ้น จึงทำให้ความหนืดของตำรับเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ควรเพิ่มสารตรึงกลิ่นและสี เช่น Sodium diethylenetriamine penta methylene phosphonate และ Sodium gluceptate เป็นต้น เพื่อช่วยป้องกันเนื้อผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสี แยกชั้น หรือเปลี่ยนกลิ่น ทำให้ลักษณะทางกายภาพของโลชั่นมีความคงสภาพและเสถียรมากยิ่งขึ้น

#### 4. สรุปผลการวิจัย

สารสกัดมะขามป้อมด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง รวมถึงมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี จากผลดังกล่าว สารสกัดมะขามป้อม จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดต่าง ๆ โดยช่วยชะลอการเกิดริ้วรอย (Anti-aging) และทำให้ผิวขาวกระจ่างใส (Whitening) ดังนั้นการพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิวจากสารสกัดมะขามป้อมให้ผลการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดี ในขณะที่เมื่อผ่านการเก็บที่อุณหภูมิสูงจะทำให้การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสลดลง การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสมุนไพรอาจจำเป็นต้องเพิ่มสารเติมแต่งบางชนิด เพื่อเก็บกักรักษาประสิทธิภาพการทำงานของสารสกัดให้ยาวนานมากยิ่งขึ้นเพื่อการใช้งานเชิงพาณิชย์ในอนาคต

#### เอกสารอ้างอิง (References)

- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Buachoon, N., Singasuk, N., Kanran, P., & Kaeoprasoet, S. (2018). Antioxidant activity of crude extract from *Terminalia chebulia*. *VRU Research and Development Journal Science and Technology*, 13(2), 98-107. <https://so06.tci-thaijo.org/index.php/vrurdistjournal/article/view/143390> (in Thai)

- Chang, L. W., Juang, L. J., Wang, B. S., Wang, M. Y., Tai, H. M., Hung, W. J., Chen, Y. J., & Huang, M-H. (2011). Antioxidant and antityrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. *Food and Chemical Technology*, 49(4), 785-790.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.045>
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(4), 97-102.  
<https://www.jocpr.com/articles/phytochemical-screening-and-free-radical-scavenging-activities-of-orange-baby-carrot-and-carrot-daucus-carota-linn-root.pdf>
- Chaudhuri, R. K. (2002). Emblica cascading antioxidant: A novel natural skin care ingredient. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 15(5), 374-380.  
<https://doi.org/10.1159/000064544>
- Chen, C., Mokhtar, R. A. M., Sani, M. S. A., & Noor, N. Q. I. M. (2022). The effect of maturity and extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant activity of mulberry (*Morus alba*) fruits and leaves. *Molecules*, 27(8), Article 2406.  
<https://doi.org/10.3390/molecules27082406>
- Fujii, T., Wakaizumi, M., Ikami, T., & Saito, M. (2008). Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) extract promotes procollagen production and inhibits matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 53-57.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.05.039>
- Ghosal, S., Tripathi, V. K., & Chauhan, S. (1996). Active constituents of *Emblica officinalis*. Part 1. The chemistry and antioxidative effects of two new hydrolysable tannins, emblicanin A (Ia) and B (Ib). *Indian Journal of Chemistry*, 27(47), 941-948.  
<https://doi.org/10.1002/chin.199647279>
- Halee, A., & Rattanapun, B. (2017). Study of antioxidant efficacies of 15 local herbs. *King Mongkut's University of Technology Thonburi Research and Development Journal*, 40(2), 283-293. (in Thai)
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* (4th ed.). Oxford publishing, Oxford University Press.
- Homklob, J., Winitcha, S., & Rimkeeree, H. (2010). Free radical scavenging capacity, tyrosinase inhibition activity and total phenolics content of ethyl acetate extracts from Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.) in Thailand. *Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry* (pp. 91-99). Kasetsart University. [https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr\\_es/index.php?/BKN/search\\_detail/result/12131](https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr_es/index.php?/BKN/search_detail/result/12131) (in Thai)

- Jirumand, J., & Srihanam, P. (2011). Oxidants and antioxidants : sources and mechanism. *Academic Kalasin Rajabhat University*, 1(1), 59-70. (in Thai)
- Kakatum, N., Jaiarree, N., Makchucit, S., & Itharat, A. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Thai medicinal plants in saasthan remedy for muscle pain treatment. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 95(1), 120-126.
- Kanyaprasit, W., & Butkhup, L. (2021). Optimization of microwave-assisted extraction of mulberry twigs (*Morus alba* Linn.) on antityrosinase and antioxidant potential using response surface methodology. *Proceedings of the 8th International Conference on Food, Agriculture and Biotechnology (ICoFAB2021)* (pp. 16-28). Mahasarakham University. [https://doi.nrct.go.th/admin/doc/doc\\_591204.pdf](https://doi.nrct.go.th/admin/doc/doc_591204.pdf)
- Kim, C. H., Hwang, B. S., Hwang, Y., Oh, Y. T., & Jeong, J. W. (2022). Evaluation of antioxidant and antiinflammatory activity of ethanolic extracts of *Polygonum senticosum* in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *Journal of Laboratory Medicine*, 46(1), 51-59. <https://doi.org/10.1515/labmed-2021-0099>
- Kim, Y. J., & Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 1707-1723. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5054-y>
- Leakaya, N., Hirunpanich Sato, V., & Chewchinda, S. (2018). Antioxidant activity, total phenolic, total flavonoid content and HPTLC analysis of morin in *Maclura cochinchinensis* heartwood extract. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42, 27-31. [http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding\\_file/7\\_PN\\_FP\\_Nantakarn%20Leakaya%20\(27-31\).pdf](http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding_file/7_PN_FP_Nantakarn%20Leakaya%20(27-31).pdf)
- Lee, K. J., Oh, Y. C., Cho, W. K., & Ma, J. Y. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), Article 165457. <https://doi.org/10.1155/2015/165457>
- Lee, T. H., Seo, J. O., Baek, S. H., & Kim, S. Y. (2014). Inhibitory effects of resveratrol on melanin synthesis in ultraviolet B-induced pigmentation in guinea pig skin. *Biomolecules & Therapeutics*, 22(1), 35-40. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2013.081>
- Lin, J. W., Chiang, H. M., Lin, Y. C., & Wen, K. C. (2008). Natural products with skin - whitening effects. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16(2), Article 8. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2366>.

- Long, Z. P., Park, H. R., Park, Y. K., Lee, S. K., Park, J. H., & Park, M. K. (2002). Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(3), 309-311. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.309>
- Manok, S., & Limcharoen, P. (2015). Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in ya-hom thepphachit. *Advanced Science*, 15(1), 106-117. (in Thai)
- Mokkhasmit, M., Swatdimongkol, K., & Satrawaha, P. (1971). Study on toxicity of Thai medicinal plants. *The Bulletin of the Department of Medical Sciences*, 12(2), 36-65.
- Nemes, A., Szóllósi, E., Stündl, L., Biró, A., Homoki, J. R., Szarvas, M. M., Balogh, P., Cziáky, Z., & Remenyik, J. (2018). Determination of flavonoid and proanthocyanidin profile of Hungarian sour cherry. *Molecules*, 23, Article 3278. <https://doi.org/10.3390/molecules23123278>
- Pancoke, J., Kerdchoechuen, O., & Laohakunjit, N. (2012). Antioxidant capacity and total phenolics of some Thai medicinal plant extracts. *Agricultural Science Journal*, 43(2), 361-364.
- Perera, H. K. I., Pradeep, A. P. C., Devinda, K. D. U., Ratnayake, R. M. U. K., Gunawardhana, D. K. L. R., & Jayasinghe, J. A. V. P. (2018). Antityrosinase activities of *Thespesia populnea* bark and *Phyllanthus emblica* fruit. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 1-8. <https://doi.org/10.9734/JAMPS/2018/40775>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Saha, S., & Verma, R. J. (2016). Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Terminalia chebula* retzius fruits. *Journal of Taibah University for Science*, 10(6), 805-812. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.09.003>
- Sithisarn, P., Rojsanga, P., Sithisarn, P., & Kongkiatpaiboon, S. (2015). Antioxidant activity and antibacterial effects on clinical isolated *Streptococcus suis* and *Staphylococcus intermedius* of extracts from several parts of *Cladogynos orientalis* and their phytochemical screenings. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, Article 908242. <https://doi.org/10.1155/2015/908242>
- Solano, F., Briganti, S., Picardo, M., & Ghanem, G. (2006). Hypopigmenting agents: An updated review on biological, chemical and clinical aspects. *Pigment Cell Research*, 19(6), 550-571. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2006.00334.x>

- Sungthong, B., & Phadungkit, M. (2015). Anti-tyrosinase and DPPH radical scavenging activities of selected Thai herbal extracts traditionally used as skin toner. *Pharmacognosy Journal*, 7(2), 97-101. <https://doi.org/10.5530/pj.2015.2.3>
- Wongthai, N., Tanticharakunsiri, W., Mangmool, S., & Ochaikul, D. (2021). Characteristics and antioxidant activity of royal kotus pollen, butterfly pea flower, and oolong tea kombucha beverages. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 26(4), 1-11. <https://doi.org/10.14456/apst.2021.47>
- Xiaoxia, L. (2008). In vitro antioxidant activity of the ethanol extract of *Cucurbita moschata* D. (pumpkin). *Natural Product Research and Development*, 20(2), 245-250.
- Xu, Y. B., Chen, G. L., & Guo, M. Q. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and their correlations with flavonoids. *Antioxidants (Basel)*, 8(8), Article 296. <https://doi.org/10.3390/antiox8080296>
- Yahya, M. A., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Antioxidant activity ethanol extract of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) with DPPH method (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil). *Journal of Halal Product and Research*, 3(2), 106-112. <https://doi.org/10.20473/jhpr.vol.3-issue.2.106-112>
- Yodthong, W., Chaiwongsar, S., Wanachantararak, P., Keereeta, Y., Panthuwat, W., Saovapha, B., & Sassa-deepaeng, T. (2020). Influence of different extraction solvents on antioxidant and antityrosinase activities of *Morus alba* Linn. leaf extract. *Journal of Science and Agricultural Technology*, 1(1), 7-17. <https://doi.org/10.14456/jsat.2020.2>
- Zhang, J., Miao, D., Zhu, W. F., Xu, J., Liu, W. Y., Kitdamrongtham, W., Manosroi, J., Abe, M., Akihisa, T., & Feng, F. (2017). Biological activities of phenolics from the fruits of *Phyllanthus emblica* L. (Euphorbiaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 14(12), Article e1700404. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700404>
- Zhang, L., Tao, G., Chen, J., & Zheng, Z.-P. (2016). Characterization of a new flavone and tyrosinase inhibition constituents from the twigs of *Morus alba* L. *Molecules*, 21(9), Article 1130. <https://doi.org/10.3390/molecules21091130>