

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สบู่เหลว

Antioxidant activity of *Carissa carandas* Linn. fruit extract and its application in a liquid soap product

สุธิดา กระณสุตร^{1*} และ เวชกา เช้าเจริญ¹

Suthida Kunasut, ^{1*} and Wethaka Chaochareon¹

Received: 3 October 2024 ; Revised: 20 September 2024 ; Accepted: 12 December 2024

บทคัดย่อ

มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยา สารสกัดจากผลและใบของพืชชนิดนี้มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ตามมาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเอทานอล 95% มีลักษณะข้นหนืด มีสีแดงเข้ม และมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 21.80 โดยมวล การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH เทียบกับวิตามินซีมาตรฐาน มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome พบว่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL เมื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวจากสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่ามีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด – ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระมีปริมาณของสารที่ไม่มีละลายในเอทานอลลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 สารต้านอนุมูลอิสระจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นงานที่น่าสนใจอย่างมาก เนื่องจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพผิวและมีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: มะม่วงหาวมะนาวโห่, อนุมูลอิสระ, เอนไซม์ไทโรซิเนส สบู่เหลว

Abstract

Carissa carandas Linn. is a plant that has medicinal properties. Extracts from the fruit and leaves of this plant contain antioxidant active substances with high efficiency. The objectives of this research were to study the antioxidant activity of extracts of *C. carandas* L. fruit, investigate the effect of inhibiting the activity of the enzyme tyrosinase, and develop a liquid soap formula from extracts of *C. carandas* L. fruit tested according to TIS standards 14–2019. The research results found that *C. carandas* L. fruit extract made from 95% ethanol has a viscous consistency. It has a dark red color and smells like burnt sugar. It has a yield of 21.80% by mass. Testing the antioxidant activity of *C. carandas* L. extract using the DPPH method compared to standard vitamin C. It has an IC₅₀ value equal to 14.24 ± 0.03 mg/mL and tested the effect of inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme using the modified dopachrome method. It was found that the inhibition value of the tyrosinase enzyme of the *C. carandas* L. extract was 50%, equal to 14.37 ± 0.05 mg/mL. When used to develop a liquid soap product from *C. carandas* L. fruit extract and test the chemical properties of the liquid soap from *C. carandas* L. fruit extract, it was found that it has a total fat content of

¹ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

¹ Department of Chemistry, Faculty of science and technology, Phetchaburi Rajabhat University

* Corresponding author; e-mail suthida.tho@mail.pbru.ac.th

15.40 percent by mass. It has an acidity-alkalinity of 4.5. No free alkalinity was found. There is an amount of substances that are not soluble in ethanol of 0.45 percent by mass, which passes the TIS 14-2019 standard criteria. Antioxidants from *C. carandas* L. fruit are very interesting because the *C. carandas* L. fruit has properties that are beneficial to skin health and contains extracts that have antioxidant effects that can be used in dietary supplements and cosmetics.

Keywords: *Carissa carandas* Linn., free radicals, tyrosinase, liquid soap

บทนำ

มะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) เป็นผลไม้พื้นบ้านที่มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย อุดมไปด้วยวิตามินซี ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและต้านอนุมูลอิสระมีสรรพคุณช่วยบำรุงหัวใจ ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด แก้ท้องเสีย ทั้งยังช่วยบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน โรคเกาต์และปวดข้อ ผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถนำไปทำเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปแบบต่าง ๆ เช่น แยม น้ำหมัก หรือรับประทานสด (สมชาย มูลเจริญ, 2550) จากการศึกษาทางวิจัยเกี่ยวกับมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า สารสกัดจากผลและใบของพืชชนิดนี้มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง สารสำคัญที่พบมาก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และฟีนอลิก (phenolic compounds) (พืชราภรณ์ ปัญญาวิจิตร, 2563) ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมของเซลล์ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน งานวิจัยยังระบุว่ามะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่า ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) สูง ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่ช่วยลดการอักเสบและปกป้องเซลล์จากความเสียหาย (Mahale & Pathade, 2013; Prabhakar *et al.*, 2011) เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งเป็นสารที่กำหนดสีผิว สีผม และสีตาในมนุษย์และสัตว์ กระบวนการนี้เริ่มจากการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนไทโรซีนเป็น DOPA และจากนั้นเป็น DOPAquinone ซึ่งนำไปสู่การสร้างเมลานินไทโรซิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้ การทำงานของไทโรซิเนสที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดความผิดปกติทางเม็ดสี เช่น ฝ้าและกระ การยับยั้งไทโรซิเนสจึงเป็นหัวใจสำคัญในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการรักษาภาวะสีผิวที่ไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้และผักบางชนิดที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอนไซม์นี้

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นหัวข้อที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างเมลานินและมีความเกี่ยวข้องกับโรค

ที่เกี่ยวกับเม็ดสีผิว เช่น ฝ้า กระ และภาวะผิวแห้งเมลานินรวมถึงการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในอาหาร นอกจากนี้ยังมีการค้นคว้าเพื่อพัฒนาไทโรซิเนสอินฮิบิเตอร์สำหรับใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยสารที่พบว่ามีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์นี้ประกอบด้วย 1) Hydroquinone เป็นสารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูงในการลดการสร้างเมลานิน แต่มีความเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียง จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง 2) Kojic Acid เป็นสารที่สกัดจากเชื้อรา ใช้แพร่หลายในผลิตภัณฑ์ความงามเนื่องจากมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ 3) Arbutin สารที่สกัดจากพืช ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเช่นกัน แต่ปลอดภัยกว่าไฮโดรควิโนน (Di Petrillo *et al.*, 2016)

สบู่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญอย่างมากในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ไม่เพียงแต่สำหรับการรักษาความสะอาดและสุขอนามัย แต่ยังมีความสำคัญในการป้องกันโรคและส่งเสริมสุขภาพทั่วไป ดังนี้ 1) การรักษาความสะอาด สบู่ช่วยล้างสิ่งสกปรกและน้ำมันส่วนเกินออกจากผิวหน้า ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาความสะอาดส่วนบุคคล 2) ป้องกันการติดเชื้อ การล้างมือด้วยสบู่เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัสที่อาจทำให้เกิดโรค การใช้สบู่จึงช่วยลดความเสี่ยงของการติดเชื้อและการแพร่กระจายของโรค 3) สุขอนามัยส่วนบุคคล การอาบน้ำด้วยสบู่ช่วยขจัดเหงื่อ กลิ่นตัว และสิ่งสกปรกที่สะสมอยู่บนผิวหน้า ช่วยให้ร่างกายสดชื่นและมีความสะอาด 4) ความสวยงามและการดูแลผิวพรรณ สบู่บางชนิดมีส่วนผสมที่ช่วยบำรุงผิวพรรณ เช่น มอยส์เจอร์ไรเซอร์ วิตามิน และสารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งช่วยให้ผิวนุ่มนวลและมีสุขภาพดี 5) สุขอนามัยทางสังคม ในบริบทของสังคม การรักษาความสะอาดส่วนบุคคลโดยใช้สบู่เป็นการแสดงความรับผิดชอบต่อสุขอนามัยของตนเองและผู้อื่น ลดการแพร่กระจายของเชื้อโรคในชุมชน 6) ประโยชน์ด้านจิตใจ การอาบน้ำด้วยสบู่หอมสามารถช่วยผ่อนคลายความเครียดและความเหนื่อยล้า ทำให้รู้สึกสดชื่นและมีพลังในการดำเนินชีวิตประจำวัน ดังนั้น สบู่จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพอนามัยและคุณภาพชีวิตของคนในทุกช่วงวัย (Centers for Disease Control and Prevention, 2020;

World Health Organization, 2020) การนำผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มาผลิตเป็นสบู่เหล่านั้นมีความน่าสนใจและมีคุณประโยชน์หลายประการ ดังนี้ คือ 1) สารสกัดจากผล *C. carandas* L. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยปกป้องผิวหนังกจากการเสื่อมสภาพที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการรักษาความสุขของผิวหนัง 2) สบู่เหลวมีคุณสมบัติที่ช่วยทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น ทำให้ผิวหนังดูสุขภาพดี 3) เป็นการนำสารสกัดจากพืชธรรมชาติช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและปลอดภัยต่อผิวหนัง ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ การนำผล *C. carandas* L. มาผลิตเป็นสบู่เหลวเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งในการดูแลและปกป้องผิวหนัง

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาสบู่เหลวจากผลของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเหตุผลดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นและเพื่อให้สบู่เหลวที่พัฒนาขึ้นมีคุณสมบัติทางเคมีเป็นไปตาม มาตรฐานมอก. เอส 14 – 2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การเตรียมตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการสกัด นำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีจำหน่ายในตลาดจังหวัดเพชรบุรีที่มีสีม่วงมาปอกเปลือกและนำเมล็ดออก นำส่วนเนื้อมาห่อด้วยผ้าขาวบางและนำไปแช่หมักใน 95% เอทานอล อัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในภาชนะปิดทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองแยกส่วนกากเนื้อและเก็บส่วนของตัวทำละลายไว้ จากนั้นนำกากเนื้อผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดแล้วแช่ในเอทานอลซ้ำในอัตราส่วนเดิมเป็นเวลา 3 วัน ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) จนแห้งจะได้สารสกัดเอทานอลของมะม่วงหาวมะนาวโห่และนำไปใช้ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนต่อไป

1.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ด้วยวิธี DPPH Assay นำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.10 mM มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400 – 800 nm เพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่สารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด (λ_{max}) เตรียมสารละลายตัวอย่างทั้งหมดและวิตามินซีที่มีความเข้มข้น 1000 ppm (stock solution) ใน methanol เตรียมสารละลายตัวอย่างทั้งหมดและวิตามินซีจาก stock solution ที่มีความเข้มข้น 1 10 50 100 และ 500 ppm ใน methanol ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้น

ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1.60 mL และสารละลาย DPPH 2.40 mL โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความคลื่น 516 nm แล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดย A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

จากนั้น สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดกับ % inhibition และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) ได้ 50% (IC_{50})

2. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

นำสารละลาย Tyrosinase ความเข้มข้น 314.8 unit/mL มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-VIS spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-800 nm และเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.02 M Sodium Phosphate Buffer (pH 6.8) โดยชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 1.76 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 0.69 g ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000.00 mL โดยปรับค่า pH ให้ได้ 6.8 จากนั้น เตรียมสารละลายตัวอย่างและวิตามินซีให้มีความเข้มข้น 0.01 0.05 0.1 0.5 และ 1 mg/mL ใน methanol และเตรียมสารละลาย L-DOPA (L-3,4 dihydroxyphenylalanine) เข้มข้น 0.34 mM

จากนั้น นำสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome method โดยใช้สารละลายวิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐาน โดยดำเนินการ ดังนี้ เติมสารละลาย control (สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 500 μ L Sodium Phosphate Buffer 0.02 M (pH 6.8) 1500 μ L และ Methanol 500 μ L และ สารตัวอย่าง (สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 500 μ L Sodium Phosphate Buffer 0.02 M (pH 6.8) 1500 μ L และสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 500 μ L) แยกกันลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 5.00 mL เขย่าให้สารละลายผสมกันบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 10 นาที จากนั้น

เติมสารละลาย L-DOPA 500 μL ลงในแต่ละขวดปรับปริมาตรด้วย methanol เขย่าและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 495 nm จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 $^{\circ}\text{C}$ ต่ออีก 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (%inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดย A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆของสารสกัดกับ % inhibition เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC_{50})

3. การพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่และการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสบู่เหลว

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตสบู่เหลวประกอบด้วย 1) sodium laureth sulfate หรือ N70 2) cocamidopropyl betaine 3) glycerin 4) น้ำสะอาด 5) สารกันเสีย และ 6) น้ำหอม โดยผู้วิจัยได้พัฒนาสูตรสบู่โดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีวิธีในการผลิตสบู่ดังนี้ ซึ่งน้ำหนัก N70, cocamidopropyl betaine, glycerin, สารสกัดธรรมชาติ และสารกันเสียให้เรียบร้อย ผสมส่วนประกอบน้ำ โดยเติมน้ำสะอาดลงในภาชนะผสมขนาดใหญ่ ค่อยๆ เติม N70 ลงในน้ำสะอาดทีละน้อย ขณะเติมควรคนเบาๆ เพื่อให้ N70 ละลายเข้ากับน้ำ เติมสารลดแรงตึงผิวรอง โดยเติม cocamidopropyl betaine ลงในส่วนผสมและคนให้เข้ากัน เติม glycerin และสารสกัดลงในส่วนผสมแล้วคนให้เข้ากัน เติมน้ำหอมและสารกันเสียลงในส่วนผสมและคนให้เข้ากัน ปรับความหนืด โดยเติมเกลือแกงทีละน้อย (ประมาณ 1-2%) โดยการละลายเกลือในน้ำกลั่นเล็กน้อยก่อน แล้วค่อยๆ เติมลงในส่วนผสมหลัก คนให้เข้ากันจนได้ความหนืดตามต้องการ (Barel *et al.*, 2014) จากนั้นนำสบู่เหลวที่พัฒนาขึ้นทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมีอ้างอิงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มอก. เอส 14 – 2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด - ด่างทดสอบโดยใช้เครื่องมือ

วัดความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไขมันทั้งหมดตามวิธี ISO 685 ปริมาณต่างอิสระทดสอบโดยการไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารที่ไม่ละลายในเอทานอลตามวิธี ISO 673 รายละเอียดของวิธีการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีดังแสดงใน Table 1

Table 1 Chemical characteristics of herbal liquid soap according to TIS 14 – 2019 standards

Order	Chemical characteristics	Criteria
1	Total fat (%w/w) not less than	12
2	Acidity - Alkalinity	4 – 8
3	Free alkali (%w/w calculated as NaOH) not more than	0.05
4	Substances insoluble in ethanol (%w/w) not less than	2.0

ผลการทดลองและอภิปรายผล

1. การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่และการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การสกัดสารสำคัญจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ เมื่อนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สุกที่ปอกเปลือกและนำมาเมล็ดออกแล้ว มาแช่หมักโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สกัดเป็นระยะเวลา 3 วัน และทำซ้ำ 3 ครั้ง พบว่า สารสกัดที่ได้มีลักษณะขุ่นหนืด มีสีแดงเข้มและมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ ร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบ (% yield) เท่ากับ 21.80 สารสกัดเอทานอลของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่แสดงดัง Figure 1



Figure 1 Ethanolic extract of *Carissa carandas* Linn. fruits

1.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH Assay ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH Assay (DPPH) เมื่อนำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.10 mM มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer พบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (λ_{max}) ที่ความยาวคลื่น 516 nm จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี DPPH ผลการศึกษาแสดงดัง Table 2

Table 2 Results of testing the antioxidant activity of *Carissa carandas* Linn. fruits extract and standard using the DPPH method

Substance	IC ₅₀ (mg/mL)
Ethanolic extract of <i>Carissa carandas</i> Linn. fruits	14.24 ± 0.03
Ascorbic acid	0.47 ± 0.01

จาก Table 2 พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% เท่ากับ 0.47 ± 0.01 mg/mL

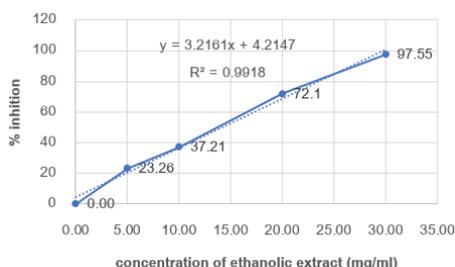


Figure 2 The graph shows the % free radical inhibition of ethanolic extracts

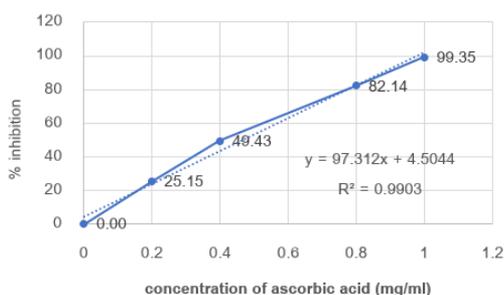


Figure 3 The graph shows the % free radical inhibition of standard ascorbic acid

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่โดยวิธี DPPH Assay นั้น พบว่า สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.03 mg/mL ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยของ สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล และคณะ (2562) ศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผล *Carissa carandas* L. ผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดี เช่นเดียวกับกับ Mahale and Pathade (2013) และ Monika *et al.* (2024) ที่พบว่าสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ การที่ผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระนั้น เนื่องมาจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารสำคัญหลายชนิดที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง สารเหล่านี้ช่วยในการจับอนุมูลอิสระและลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย เช่น วิตามินซี พอลิฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยในการลดปฏิกิริยาออกซิเดชันและป้องกันความเสียหายต่อเซลล์ (Monika *et al.*, 2024; Mahale & Pathade, 2013) จากผลการศึกษาค่า IC₅₀ ของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สูงกว่าวิตามินซีมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญ (14.24 มก./มล. เทียบกับ 0.47 มก./มล.) ซึ่งหมายความว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ต้องใช้ในความเข้มข้นที่สูงกว่าวิตามินซีเพื่อให้ได้ผลการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เท่ากัน แม้ว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี แต่การมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL แสดงให้เห็นว่าสารสกัดนี้ยังมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพหรือเครื่องสำอาง สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถนำมาใช้ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ

2. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส นำสารละลาย Tyrosinase ความเข้มข้น 314.8 unit/mL มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer พบว่า มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (λ_{max}) ที่ความยาวคลื่น 495 nm จากการศึกษาศักยภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome เทียบกับวิตามินซีมาตรฐานและคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC₅₀) ผลแสดงดัง Table 3

Table 3 Results of the study on the tyrosinase-inhibiting activity of the extracts from the fruits of the mangosteen and the standard compounds using the modified dopachrome method

สาร	ค่า $IC_{50} \pm SD$ (mg/mL)
Mango and gooseberry ethanol extract	14.37 ± 0.05
Standard Vitamin C	0.66 ± 0.02

จาก Table 3 พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ 0.66 ± 0.02 mg/mL

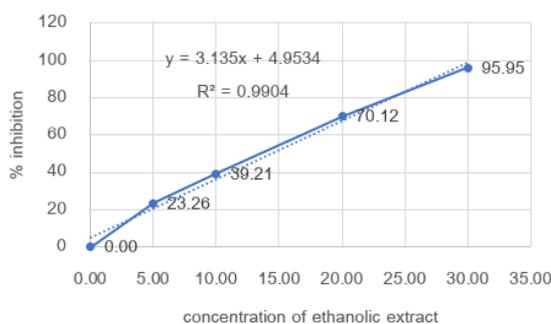


Figure 4 The graph shows the % inhibition of tyrosinase enzyme activity of ethanolic extract

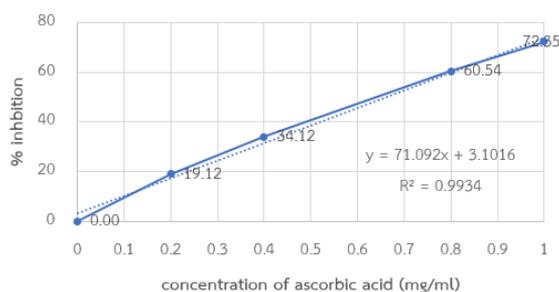


Figure 5 The graph shows the % inhibition of tyrosinase enzyme activity of ascorbic acid

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Modified Dopachrome พบว่า สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL และสารมาตรฐานวิตามินซีมีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% เท่ากับ 0.66 ± 0.02 mg/mL ซึ่งผลงานวิจัยของผู้ที่เคยศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระหรือ

การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 50% (IC_{50}) เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดธรรมชาติ (Monika *et al.*, 2024) และงานวิจัยของ Kokate *et al.* (2009) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ด้านการอักเสบของผล *Carissa carandas* L. ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะมีการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยเช่นกัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จึงเป็นผลจากการมีสารประกอบชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารประกอบที่สามารถจับกับเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นเอนไซม์สำคัญในการผลิตเมลานิน (เม็ดสีผิว) ทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีที่เอนไซม์นี้ทำงานอยู่ไม่สามารถเกิดขึ้นได้หรือเกิดขึ้นในอัตราที่ลดลงอย่างมาก ส่งผลให้การผลิตเม็ดสีเมลานินลดลง สารสำคัญในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ประกอบด้วย สารประกอบในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โพลีฟีนอล (Polyphenols) กรดแกลลิก (Gallic acid) และวิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสามารถจับกับเอนไซม์และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเมลานิน (Monika *et al.*, 2024; Mahale & Pathade, 2013; Jiang *et al.*, 2011; Choudhary & Swarnkar, 2011; Siddiqui *et al.*, 2018; สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล และคณะ, 2562) จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ความเข้มข้น 14.37 ± 0.05 mg/mL ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพ แต่ต้องใช้ความเข้มข้นสูงเมื่อเทียบกับวิตามินซี แม้ว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จะมีค่า IC_{50} สูงกว่าวิตามินซีแต่ยังคงแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสแต่สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งมีข้อได้เปรียบเนื่องจากมีส่วนประกอบหลายชนิดที่อาจมีประโยชน์เพิ่มเติม เช่น สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ หรือสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้สารสกัดจากธรรมชาติอาจมีผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือการบำรุงผิวพรรณ ในการศึกษาครั้งต่อไปอาจมีการปรับปรุงกระบวนการสกัดหรือการเพิ่มความเข้มข้นของสารสำคัญอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสหรือกลไกการ

ทำงานของสารสำคัญในสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสหรือการทดสอบผลของสารสกัดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้จริงเพื่อประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้งาน

3. การพัฒนาสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่และการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสบู่เหลว ผลการพัฒนาสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยมีอัตราส่วนร้อยละของส่วนในสบู่เหลวแสดงดัง Table 4 สบู่เหลวจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ได้เป็นของเหลวใสสีแดงชมพูแสดงดัง Figure 6

Table 4 Recipe ratio of liquid soap from *Carissa carandas* Linn. fruit extract

component	properties	weight (%w/w)
1. sodium laureth sulfate	major surfactants	30
2. cocamidopropyl betaine	minor surfactants	5
3. glycerine	moisturizing substances	5
4. water	solvent	57
5. sodium chloride	viscosity modifier preservatives add	1 – 2
6. preservatives	fragrance	0.5
7. perfume	antioxidants/	1
8. <i>C.carandas</i> Linn. fruit extract	inhibitor of tyrosinase enzyme	1.4
total		100



Figure 6 liquid soap from *Carissa carandas* Linn. fruit extract

จากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นของเหลวใสสีชมพูแดงไม่แยกชั้น มีกลิ่นหอม ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด - ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระมีปริมาณของสารที่ไม่มีละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2562 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส, 2562) เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 วัน สีของสบู่เหลวมีสีเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อย ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่แสดงดัง Table 5

ในการพัฒนาสูตรสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ ผู้วิจัยนำข้อมูลจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสมาใช้เป็นข้อมูลในการออกแบบสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยให้ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ 14.24 mg/mL หรือ 1.4 %w/w ร่วมกับสูตรสบู่เหลวที่ใช้ N70 เป็นวัตถุดิบหลักเป็นวัตถุดิบหลักนั้นได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากสามารถสร้างฟองได้ดีและมีประสิทธิภาพในการทำทำความสะอาด (McDaniel, 2000) เป็นสูตรพื้นฐานที่พบได้ทั่วไปในเอกสารและแหล่งข้อมูลด้านการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เป็นสูตรที่สามารถนำไปใช้ได้จริงในระดับครัวเรือนหรือระดับการผลิตขนาดเล็ก การปรับสูตรสามารถทำได้ตามความต้องการซึ่งสอดคล้องกับ Spencer (2014) ที่สรุปไว้ว่า N70 หรือ SLES เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพสูงและมีการใช้งานอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหลากหลายประเภท เนื่องจากมีความสามารถในการทำความสะอาดดี สร้างฟองได้มากและมีความปลอดภัยในการใช้งานเมื่อควบคุมความเข้มข้นอย่างเหมาะสม อย่างไรก็ตาม ต้องมีการควบคุมการผลิตและการใช้งานเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัยของผู้ใช้และกระบวนการทำสบู่สามารถทำได้โดยการใช้กลีเซอรินและสารเติมแต่งอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ใสและมีฟองละเอียด (Failor, 2000) และสำหรับสบู่เหลวที่มีการเติมสารสกัดจากธรรมชาติลงไปมักถูกพิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัยที่ดีต่อผิวหนัง มีความอ่อนโยนและมั่นใจได้ว่าไม่มีสารเคมีที่อันตราย

Table 5 Results of testing the chemical properties of *Carissa carandas* Linn. fruit extract liquid soap

attribute according to standard TIS 14-2019	specified criteria	Test results	Evaluation results according to standard TIS 14-2019
1. Total fat content (percentage by mass)	not less than 12	15.40	pass
2. pH value	4 - 8	4.5	pass
3. Free alkalinity (percentage by mass of NaOH)	not more than 0.05	nd*	pass
4. substances that are insoluble in ethanol (percentage by mass)	not more than 2.0	0.45	pass

* nd = not detected

การช่วยให้ผิวเนียน ลดริ้วรอยหรือลดการอักเสบของผิวมีสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยในการปกป้องผิวจากอันตรายของอนุมูลอิสระที่เกิดจากการรบกวนจากปัจจัยภายนอก เช่น แสงแดดและมลพิษจากสิ่งแวดล้อมผู้บริโภคในปัจจุบันมีแนวโน้มที่จะเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมธรรมชาติและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ดังนั้นการเติมสารสกัดธรรมชาติในสบู่เหลวจะช่วยเพิ่มความน่าสนใจและความเชื่อมั่นของผู้บริโภค สำหรับสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่สารสกัดธรรมชาติที่มีอยู่ในมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงช่วยลดการเสียดสีของผิวและช่วยลดการทำลายของเซลล์ผิวที่เกิดจากอนุมูลอิสระและยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งส่งผลให้เกิดเม็ดสีของผิวลดลงอีกด้วย จากผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า มีปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวล มีความเป็นกรด - ด่าง 4.5 ไม่พบค่าต่างอิสระที่มีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก.เอส 14-2561 เหมาะสมตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 15.40 โดยมวลบ่งชี้ถึงความสมดุลของส่วนผสมในสบู่ โดยมีส่วนผสมของไขมัน ค่าความเป็นกรด - ด่างที่เหมาะสมของสบู่เหลว สบู่เหลวมีความบริสุทธิ์และไม่มีการปนเปื้อนต่างอิสระ สบู่เหลวมีปริมาณของสารที่ไม่ละลายในเอทานอลร้อยละ 0.45 โดยมวล แสดงให้เห็นว่าสบู่มีคุณภาพดีและประสิทธิภาพ

ในการใช้งาน ผลของการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณภาพที่เหมาะสมและตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้และเหมาะสมสำหรับการใช้งานในการผลิตสบู่และการใช้งานอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀) เท่ากับ 14.24 ± 0.03 mg/mL มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC₅₀) เท่ากับ 14.37 ± 0.05 mg/mL และเมื่อนำมาพัฒนาเป็นสูตรสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่คุณสมบัติทางกายภาพของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นของเหลวใสสีชมพูแดง ไม่แยกชั้น มีกลิ่นหอม และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 วัน สีของสบู่เหลวมีสีเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อยและผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสบู่เหลวมะม่วงหาวมะนาวโห่ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐาน มอก.เอส 14 - 2562 สารต้านอนุมูลอิสระจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นงานที่น่าสนใจอย่างมาก เนื่องจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพผิวและมีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ปีงบประมาณ 2566 ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในงานวิจัยนี้ รวมถึงสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีที่สนับสนุนสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- พัชรภรณ์ ปัญญาวิจิตร. (2563). การสร้างน้ำเฆลาจากลูกเฆลาสดเป็นเครื่องดื่มซูชิ. *วารสารการอาหารและสารพัดสำนักวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร*, 10(1), 15-24.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอส. (2562). *มาตรฐานการผลิตสบู่เหลว (มอก.เอส 14-2562)*. กรมมาตรฐานสิ่งแวดล้อม กระทรวงอุตสาหกรรม. <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/14-2562.pdf>
- สมชาย มูลเจริญ. (2550). *พืชไทย: สมุนไพรที่ใช้เป็นอาหาร*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุขสวัสดิ์ พงษ์ทวีกุล, รัชดา บัวไพโรจน์ และวิสูตร เจริญวงศ์. (2562). การศึกษาสารสกัดและสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากผล *Carissa carandas* Linn. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี*, 8(3), 41-49.

- Barel, A. O., Paye, M., & Maibach, H. I. (Eds.). (2014). *Handbook of cosmetic science and technology* (4th ed.). CRC Press.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). *The importance of hand hygiene*. CDC Hand Hygiene Guidelines.
- Choudhary, R., & Swarnkar, P. L. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of *Carissa carandas* (Linn.) fruit extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(10), 2054–2058.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A. M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., & Fais, A. (2016). Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, Article 404. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1393-z>
- Failor, C. (2000). *Making transparent soap: The art of crafting, molding, scenting & coloring*. Storey Publishing.
- Jiang, W., An, M., & Zhang, Z. (2011). Phenolic compounds from *Carissa carandas* fruits. *Journal of Natural Products*, 74(4), 699–704. <https://doi.org/10.1021/np100789z>
- Kokate, C. K., Purohit, A. P., & Gokhale, S. B. (2009). Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Carissa carandas* Linn. fruit extracts. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(2), 125–130.
- Mahale, A. R., & Pathade, G. R. (2013). Study of antioxidant properties in *Carissa carandas* L. fruit extracts. *Journal of Phytochemistry and Pharmacology*, 45(2), 120–130.
- McDaniel, A. (2000). *The soapmaker's companion: A comprehensive guide with recipes, techniques & know-how*. Storey Publishing.
- Monika, S., Thirumal, M., & Kumar, P. R. (2024). Pharmacognostical studies of *Carissa carandas* Linn leaves. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 13(1), 61–70. <https://doi.org/10.31032/IJBPAS/2024/13.1.7563>
- Prabhakar, P., Rao, S., & Sharma, K. (2011). Antioxidant and medicinal properties of *Carissa carandas* (Bengal Currant). *International Journal of Medicinal Plants Research*, 1(1), 30–35.
- Siddiqui, S., Verma, A., Rather, A. A., Jabeen, F., & Meghvansi, M. K. (2018). *Carissa carandas* Linn.: A comprehensive review on pharmacological, biochemical, and ethnomedicinal aspects. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.027>
- World Health Organization. (2020, October 8). *Guidelines on hand hygiene in health care*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906>