Published online: 26 July 2019

ฤทธิ์ทางเครื่องสำอางและการประยุกต์สารสกัดพิกัดเบญจเกสรในอิมัลชัน

Cosmetic Activities and Potential Application of Benjakasorn Remedy Extract in Emulsion

ณัฐณิชา พึ่งสาระ

อีเมล์: fayeriinz@gmail.com

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา วิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผศ.ดร. ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล์: phanuphong@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดพิกัดเบญจเกสร ซึ่งประกอบด้วย ดอกมะลิ (*Jasminum sambac* Ait.) ดอกพิกุล (*Mimusops elengi* L.) ดอกบุนนาค (*Mesua ferrea* L.) ดอกสารภี (*Mammea siamensis* (Miq.) T. Anderson) และเกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) และเปรียบเทียบตัวทำละลายในการสกัด คือ น้ำปราศจากไอออน และ เอทานอล 95% โดยวิธีการหมักแช่ ได้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบพิกัดเบญจเกสร เท่ากับร้อยละ 14.28±0.08 และ 11.29±0.35 ของน้ำหนักแห้งของสารสกัด ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 81.50±9.75 และ 478.14±28.19 mg GAE/g ตามลำดับ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบโดยวิธี DPPH รายงานผลในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 108.07±3.73 และ 23.41±1.18 ug/ml ตามลำดับ และให้ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก โดยวิธี FRAP เท่ากับ 91.35±10.32 และ 230.87±2.63 mg TEAC/g ตามลำดับ ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน รายงานผลในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 317.19±11.14 และ 320.99±11.65 ug/ml ตามลำดับ ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เท่ากับ 129.97±5.57 mg KE/g แต่ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสในสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำ และจากการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับเครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชันโดยใส่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ปริมาณความเข้มข้น 0.05%, 0.1% และ 0.2% พบว่า ทุกตำรับมีความคงตัวทางกายภาพ

จากผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพิกัดเบญจเกสรมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้านเครื่องสำอาง จึงมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: พิกัดเบญจเกสร/ฟีนอลิก/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน/ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส

Abstract

The objective of this study was to prepare the extract from Benjakasorn remedy including *Jasminum sambac* Ait., *Mimusops elengi* L., *Mesua ferrea* L., *Mammea siamensis* (Miq.) T. Anderson and *Nelumbo nucifera* Gaertn. by maceration method. DI water and 95% ethanol were compared as solvents. Extractable yield of Benjakasorn extracts were 14.28±0.08 and 11.29±0.35 % w/w, respectively. DI water and the ethanolic extracts gave the total phenolics content of 81.50±9.75 and 478.14±28 mg GAE/g, respectively. DPPH radical scavenging capacities of the extracts reported as IC_{50} were found to be 108.07±3.37 and 23.41±1.18 µg/ml for DI water and ethanol extraction, respectively. When measuring the ferric reducing ability by FRAP assay the DI water extract showed 91.35±10.32 mg TEAC/g, while the ethanolic extract exhibited 230.87±2.63 mg TEAC/g. Antiglycation activities as IC_{50} of the extracts from DI water and ethanol were 317.19±11.14 and 320.99±11.65 ug/ml, respectively. Tyrosinase inhibitory activity investigation revealed that the water extract did not show tyrosinase inhibition, while the ethanolic extract inhibited tyrosinase at 129.97±5.57 mg KE/g. Different amounts of ethanolic extract (0.05%, 0.1% and 0.2%) were included into emulsion formulation and stable emulsion after testing was obtained.

This study indicated that the Benjakasorn remedy extract would be promising source for application in cosmetics.

Keywords: Benjakasorn remedy/Phenolic/Antioxidant/Antiglycation/Tyrosinase inhibition

Mae Fah Luang University

บทนำ

พิกัดเบญจเกสร หรือ เกสรทั้งห้า ประกอบด้วย ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี และเกสรบัวหลวง มักใช้เป็นเครื่องยาสมุนไพรไทยของตำรับยาหอมในบัญชียาหลักแห่งชาติ ได้แก่ ยาหอมเทพจิตร ยาหอมทิพโอสถ และยาหอมนวโกฐ (คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ, 2556) มีรสเย็นสุขุม และมีกลิ่นเฉพาะตัว ทำให้จิตใจที่ร้อนรุ่ม เย็นลงและสงบมากขึ้นได้ จึงใช้ในการบรรเทาอาการวิงเวียนศีรษะ บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต แก้อ่อนเพลีย ซึ่งเป็นภูมิปัญญาไทยที่มีการใช้ในการรักษามาอย่างช้านาน (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, 2555)

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา มีงานวิจัยที่รายงานฤทธิ์ของดอกไม้แต่ละชนิดในพิกัดเบญจเกสร โดยการศึกษาส่วนใหญ่จะใช้ในการรักษาทางการแพทย์ ยังพบการนำไปใช้ในทางเครื่องสำอางค่อนข้างน้อย อีกทั้งยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของดอกไม้รวมทั้งพิกัดเบญจเกสร ซึ่งพิกัดเบญจเกสรเมื่อรวมกันทำให้เกิดฤทธิ์ทางแพทย์แผนไทย จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอาง

ดังนั้น ผู้ทำวิจัยจึงสนใจทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน และฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสจากสารสกัดพิกัดเบญจเกสร และศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร ซึ่งคาดว่าเมื่อสกัดดอกไม้ทั้งพิกัดรวมกันจะมีการเสริมฤทธิ์กัน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้แทนสารสังเคราะห์ในเครื่องสำอาง อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับสมุนไพรในตำรับยาไทยนอกจากการรับประทานอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อเตรียมสารสกัดพิกัดเบญจเกสร และเปรียบเทียบตัวทำละลายในการสกัด
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน และฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร
3. เพื่อทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

ขอบเขตของการศึกษา

งานวิจัยนี้จะศึกษาข้อมูลของการสกัดพิกัดเบญจเกสร โดยสกัดจากดอกไม้แห้งของพิกัดเบญจเกสรในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำและเอทานอล เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบสารสกัดและประเมินประสิทธิภาพฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร โดยหาสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส และทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

Mae Fah Luang University

ทบทวนวรรณกรรม

พิกัด หมายถึง การจำกัดจำนวนตัวยาตั้งแต่สองสิ่งขึ้นไป โดยตัวยาที่นำมารวมกัน ต้องมีน้ำหนักเสมอภาคกันหรือเท่าเทียมกัน รวมเรียกเป็นชื่อเดียวกัน (มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ, 2548)

พิกัดเบญจเกสร หรือ เกสรทั้งห้า เป็นพิกัดยาสมุนไพรไทย ประกอบด้วย ดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี และเกสรบัวหลวง โดยมีน้ำหนักเสมอภาคกัน สรรพคุณ แก้ร้อนในกระหายน้ำ บำรุงหัวใจ แก้ไข้ แก้ลมวิงเวียน แก้น้ำดีให้เจริญอาหาร และแก้โรคตา (มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ, 2548) ซึ่งมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่า ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทและสมอง ซึ่งสนับสนุนการใช้ตามภูมิปัญญาของไทยที่นำพิกัดเบญจเกสรมาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยาหอมแก้ลมวิงเวียน นอกจากนี้ ยังไม่พบรายงานความเป็นพิษของพิกัดเบญเกสร (กนกพร อะทะวงษา, 2559)

Shekhar and Prasad (2015) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกมะลิ 8 สายพันธุ์ สกัดโดยใช้เมทานอล และ เอทานอล เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Hydrogen Peroxide Assay พบว่า มะลิพันธ์ *Jasminum Sambac* มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และพบ alkaloids, flavonoids, terpenoids, carbohydrates, proteins, phenols, tannins, saponins และ phytosterols เป็นองค์ประกอบด้วย

Narayanaswamy et al. (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งไทโรซิเนส และสารต้านอนุมูลอิสระของดอกพิกุล โดยการสกัดด้วยน้ำ เมทานอล และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ พบร้อยละการยับยั้งไทโรซิเนสเท่ากับ 10.97, 89.85 และ 27.36 ตามลำดับ ส่วนร้อยละการยับยั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 50.35, 96.57 และ 12.49 ตามลำดับ เมื่อนำดอกพิกุลที่สกัดด้วยเมทานอล ซึ่งมีฤทธิ์การสกัดมากที่สุด หาค่าการยับยั้งไทโรซิเนสและการต้านอนุมูลอิสระในรูป IC_{50} เท่ากับ 401 และ 193.37 µg/ml

Liyanaarachchi et al. (2018) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของบุนนาค โดยการสกัดด้วยเอทานอล พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของใบ กลีบดอก และเกสรบุนนาค เท่ากับ 215.5±2.9, 92.66±2.92 และ 93.45±2.92 mg GAE/g ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 62.69±0.41, 146.9±6.4 และ 90.23±2.11 µg/ml ตามลำดับ ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 7,162± 702, 308.1±14.8 และ 321.5±7.3 mg TE/g ตามลำดับ แต่ไม่พบฤทธิ์การยับยั้งไทโรซิเนส ของทั้งใบ กลีบดอก และเกสรบุนนาค ที่ 500 µg/ml

Mae Fah Luang University

สรินยา จุลศรีไกวัล (2559) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกสารภี โดยการสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS เท่ากับ 177.29 และ 118.53 mg Trolox/g ตามลำดับ และค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ด้วยวิธี FRAP เท่ากับ 143.65 และ 64.03 mg Trolox/g ตามลำดับ

Srichayanurak and Phadungkit (2008) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเกสรบัวหลวง โดยการสกัดด้วยเอทานอล 95% พบร้อยละการยับยั้งไทโรซิเนส เท่ากับ 26.05 และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ในรูป EC_{50} เท่ากับ 4.88 µg/ml

Wu et al. (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันของ Oligomers Procyanidin จากเมล็ดฝักบัว (LSOPC) ด้วยวิธี Scavenging reactive carbonyls ใน bovine serum albumin (BSA) -glucose model โดยการสกัดด้วยเอทานอล 70% พบการยับยั้งไกลเคชันในรูป IC_{50} เท่ากับ 0.039 mg/ml

พัชราภรณ์ นนทสวัสดิ์ศรี และอริสรา วันชัย (2552) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของยาหอม จำนวน 3 ตำรับ โดยไม่ระบุชื่อ โดยสกัดด้วยเมทานอล 80% และน้ำ รายงานผลในรูปค่า IC_{50} พบว่า การสกัดด้วยเมทานอล 80% ของตำรับที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 61.97, 121.37 และ 30.37 µg/ml ส่วนการสกัดด้วยน้ำของตำรับที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 689.48, 488.23 และ 137.15 µg/ml และตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้น พบว่า สารสกัดเมทานอล 80% และน้ำ ของยาหอมทั้งสามชนิด มีสารกลุ่ม tannins, phenolic compounds และ flavonoids ที่แตกต่างกัน

สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ (2558) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร โดยการสกัดด้วยเอทานอล พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี และเกสรบัวหลวง ในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 851.138, 19.953, 57.544, 11.749 และ1,288.250 ppm ตามลำดับ ส่วนวิธี ABTS เท่ากับ -0.070, 1.241, 0.725, 1.115 และ 0.047 mM TEAC/g ตามลำดับ ค่า FRAP value เท่ากับ 0.693, 1.290, 0.945, 1.281 และ 0.632 mM Fe^{2+}/g ตามลำดับ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 97.333, 176.083, 29.625, 199.417 และ 181.292 ppm ตามลำดับ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

ใช้สมุนไพรพิกัดเบญจเกสรในรูปแบบผงแห้ง แบ่งการสกัดเป็น 2 ชุด คือ ชุดแรกต้มน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส แล้วเทน้ำลงใส่ผงสมุนไพร ชุดที่ 2 เทสารละลายเอทานอล 95% ใส่ผงสมุนไพร ใช้อัตราส่วนผงสมุนไพร 100 กรัมต่อสารละลาย 500 มิลลิลิตร (1:5) โดยวิธีการหมักแช่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์1 และ

Mae Fah Luang University

นำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ชั่งน้ำหนักสารสกัด และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -4°C

2. วิเคราะห์ปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

ปิเปตสารตัวอย่างที่ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วเติม 7.5% Na_2CO_3 จำนวน 1,500 ไมโครลิตร, Folin-Ciocalteu reagent จำนวน 250 ไมโครลิตร และน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid รายงานผลเป็น mg Gallic acid equivalents (mg GAE/g)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดเบญเกสร

วิธี DPPH ((2,2-Diphenly-1-picrylhydrazyl) Radical Scavenging Capacity Assay)

ปิเปตสารตัวอย่างที่ปริมาตร 50-350 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH จำนวน 2,000 ไมโครลิตร และ เอทานอล 95% เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox รายงานผลเป็นค่า IC_{50}

วิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay)

ปิเปตสารตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ ปริมาตร 60 ไมโครลิตร และสารตัวอย่างที่สกัดด้วย เอทานอล 95% ปริมาตร 30 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย FRAP จำนวน 1,500 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Acetate buffer pH 3.6 เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณการหาปริมาณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP Value) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox รายงานผลเป็น mg Trolox equivalent antioxidant capacity (mg TEAC/g)

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันของสารสกัดพิกัดเบญเกสร

ปิเปตสารตัวอย่างที่ปริมาตร 10-600 ไมโครลิตร เติมสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml, 100 mM ฟรุกโตส และ Phosphate buffer pH 7.4 เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C นำไปวัดปริมาณการเกิด AGEs ชนิดเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ กำหนดค่าการเรืองแสง excitation 355 nm และ emission 460 nm แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งปฏิกิริยาไกลเคชัน โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Aminoguanidin รายงานผลเป็นค่า IC_{50}

Mae Fah Luang University

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

ปิเปตสารตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และสารตัวอย่างที่สกัดด้วย เอทานอล 95% ปริมาตร 120 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย Tyrosinase จำนวน 20 ไมโครลิตร และ Phosphate buffer pH 6.8 ลงไปในสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 3 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติม L-dopa จำนวน 40 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Kojic acid รายงานผลเป็น mg Kojic acid equivalent antioxidant capacity (mg KE/g)

6. การทดสอบความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

พัฒนาสูตรตำรับอิมัลชันบำรุงผิวหน้าพื้นฐานจนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อครีมที่เหมาะสม จากนั้นนำสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่ได้รับการวิเคราะห์คุณภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดมาเป็นส่วนประกอบ แล้วทำการทดสอบความคงตัว ที่สภาวะเร่งอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating/cooling) จำนวน 7 รอบ โดยตั้งรอบที่อุณหภูมิ 4°C นาน 24 ชั่วโมง และ 45°C นาน 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 50°C และที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำการทดสอบความคงตัวก่อนและหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง โดยดูการแยกชั้นด้วยเครื่อง Centrifuge วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH Meter วัดค่าสีด้วยเครื่อง Colorimeter วัดความหนืดด้วยเครื่อง Viscometer และทดสอบกลิ่นของตำรับอิมัลชัน

7. วิเคราะห์ผลการศึกษาทางสถิติ

นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS version 21

ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

1. สารสกัดพิกัดเบญจเกสร

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำ และ เอทานอล 95% มีลักษณะที่คล้ายกัน แต่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีความหนืด และความเป็นกรดมากกว่าสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำ โดยสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% มีค่าความเป็นกรด-เบส ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ในน้ำ เท่ากับ 6.16$\pm$0.01 และ 5.00$\pm$0.01 ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารสกัดหยาบของพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% คิดเป็นร้อยละ เท่ากับ 14.28$\pm$0.08 และ 11.29$\pm$0.35 ของน้ำหนักแห้งของสารสกัด ตามลำดับ

Mae Fah Luang University

2. ปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% มีปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 81.50±9.75 และ 478.14±28.19 mg GAE/g ตามลำดับ

การศึกษาพิกัดเบญจเกสรนี้ ให้ผลปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ได้ดีกว่างานวิจัยของกลีบดอกและเกสรบุนนาคที่สกัดด้วยเอทานอล ซึ่งพบปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 92.66±2.92 และ 93.45±2.92 mg GAE/g ตามลำดับ (Liyanaarachchi et al., 2018) เนื่องจากเป็นผลการศึกษาของการสกัดดอกไม้ทั้งพิกัดเบญจเกสรรวมกัน จึงอาจทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์กัน

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดเบญเกสร

จากการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดเบญเกสร ด้วยวิธี DPPH พบว่า Trolox มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 3.03±0.02 ug/ml ในขณะที่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 108.07±3.73 และ 23.41±1.18 ug/ml ตามลำดับ

การศึกษาพิกัดเบญจเกสรนี้ ให้ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ได้สูงกว่าดอกไม้ที่แยกออกเป็นดอกเดี่ยว โดยการสกัดด้วยเอทานอล 95% คือ ดอกมะลิ ดอกบุนนาค และเกสรบัวหลวง แต่น้อยกว่า ดอกพิกุล และดอกสารภี ซึ่งพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รายงานผลในรูปค่า IC_{50} ของดอกมะลิ ดอกพิกุล ดอกบุนนาค ดอกสารภี และเกสรบัวหลวง เท่ากับ 851.14, 19.95, 57.54, 11.75 และ1,288.25 ug/ml ตามลำดับ (สุชาดา มานอก, 2558) เนื่องจากดอกพิกุล และดอกสารภี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง ในขณะที่ดอกมะลิ ดอกบุนนาค และเกสรบัวหลวง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น้อย จึงทำให้เมื่อผสมรวมกันทั้งพิกัดเบญจเกสร ซึ่งมีสัดส่วนอย่างละเท่าๆกัน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรน้อยกว่าสารสกัดของดอกพิกุลและดอกสารภี ซึ่งเป็นสารสกัดดอกเดี่ยวที่ให้ฤทธิ์สูง

ส่วนค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในสารสกัดพิกัดเบญเกสร ด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 91.35±10.32 และ 230.87±2.63 mg TEAC/g ตามลำดับ

การศึกษาพิกัดเบญจเกสรนี้ ให้ผลค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก โดยวิธี FRAP ได้ดีกว่างานวิจัยของดอกสารภี ซึ่งพบค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของดอกสารภีในการสกัดด้วยเอทานอล และน้ำ เท่ากับ 143.65 และ 64.03 mg TEAC/g ตามลำดับ (สรินยา จุลศรีไกวัล, 2559) ซึ่งมีฤทธิ์น้อยกว่าการศึกษานี้ เนื่องจากเป็นผลการศึกษาของการสกัดดอกไม้ทั้งพิกัดเบญจเกสรรวมกัน จึงอาจทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์กัน

Mae Fah Luang University

4. ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันของสารสกัดพิกัดเบญเกสร

จากการศึกษาหาฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน พบว่า สารละลาย Aminoguanidin มีฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 53.73±0.43 ug/ml ในขณะที่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% มีฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน ในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 317.19±11.14 และ 320.99±11.65 ug/ml ตามลำดับ

การศึกษาพิกัดเบญจเกสรนี้ ให้ผลของฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันน้อยกว่างานวิจัยของเกสรบัวหลวงที่สกัดด้วยเมทานอล ซึ่งพบฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน เท่ากับ 125.48±7.80 µg/ml (Jung et al., 2008) เนื่องจากมีตัวทำละลายของสารสกัดที่แตกต่างกัน โดยพบว่า การยับยั้งปฏิกิริยาไกลเคชันมีแนวโน้มสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายมีขั้วสูง จะมีฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชันได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีขั้วต่ำกว่า ซึ่งเมทานอลมีขั้วสูงกว่าเอทานอล จึงสกัดได้ดีกว่า ในขณะที่น้ำมีขั้วสูงที่สุด แต่เกิดการให้ความร้อนขณะสกัด จึงอาจทำให้เกิดการสูญเสียฤทธิ์ของสารสกัดได้

5. ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

จากการศึกษาหาฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส พบว่า สารละลาย Kojic acid มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 60.58 ที่ความเข้มข้น 20 µg/ml ในขณะที่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำไม่พบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ส่วนสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสเท่ากับ 129.97±5.57 mg KE/g คิดเป็นร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 67.92±2.25 ที่ความเข้มข้น 200 µg/ml

การศึกษาพิกัดเบญจเกสรนี้ ให้ผลของฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสได้ดีกว่างานวิจัยของกลีบดอกและเกสรบุนนาคที่สกัดด้วยเอทานอล ซึ่งไม่พบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ที่ความเข้มข้น 500 µg/mL (Liyanaarachchi et al., 2018) เนื่องจากเป็นผลการศึกษาของการสกัดดอกไม้ทั้งพิกัดเบญจเกสรรวมกัน จึงอาจทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์กัน

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพิกัดเบญเกสร

สารสกัด	TPC (mg GAE/g)	DPPH IC_{50} (ug/ml)	FRAP (mg TEAC/g)	ฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน IC_{50} (ug/ml)	Tyrosinase inhibition (mg KE/g)
เบญจเกสรสกัดด้วยน้ำ	81.50±9.75[a]	108.07±3.73[a]	91.35±10.32[a]	317.19±11.14[a]	ND
เบญจเกสรสกัดด้วยเอทานอล 95%	478.14±28.19[b]	23.41±1.18[b]	230.87±2.63[b]	320.99±11.65[a]	129.97±5.57

หมายเหตุ ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Mae Fah Luang University

6. ความคงตัวของตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

จากการศึกษาความคงตัวของอิมัลชัน โดยนำสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับเครื่องสำอางที่ได้รับการพัฒนาสูตรแล้ว ที่ปริมาณความเข้มข้น 0.05% , 0.1% และ 0.2% ดังภาพที่ 1 พบว่า ไม่เกิดการแยกชั้นของอิมัลชันทุกตำรับในทุกสภาวะ ค่า pH ของตำรับอิมัลชันทุกตำรับ เมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น มีแนวโน้มความเป็นกรดมากขึ้น ค่าสีของตำรับอิมัลชัน เมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น และที่อุณหภูมิสูงขึ้น จะมีสีเหลืองที่เข้มขึ้นค่อนข้างน้อย ค่าความหนืดของอิมัลชันทุกตำรับ มีแนวโน้มลดลงในทุกสภาวะ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงกลิ่นของอิมัลชันทุกตำรับในทุกสภาวะ จึงสรุปได้ว่า สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีความคงตัวในทุกสภาวะ เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่น้อยมาก

หมายเหตุ C1 คือ ตำรับอิมัลชันพื้น

C2 คือ ตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร 0.05%

C3 คือ ตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร 0.1%

C4 คือ ตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร 0.2%

ภาพที่ 1 ลักษณะของอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร

สรุปผลการทดลอง

ปริมาณสารสกัดหยาบของพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน และ เอทานอล 95% มีร้อยละผลผลิต 14.28±0.08 และ 11.29±0.35 ของน้ำหนักแห้งของสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีความหนืดและค่าความเป็นกรดมากกว่าสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% เท่ากับ 81.50±9.75 และ 478.14±28.19 mg GAE/g ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH รายงานผลในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 108.07±3.73 และ 23.41±1.18 ug/ml ตามลำดับ และค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยวิธี FRAP เท่ากับ 91.35±10.32 และ 230.87±2.63 mg TEAC /g ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไกลเคชัน รายงาน

Mae Fah Luang University

ผลในรูปค่า IC_{50} เท่ากับ 317.19±11.14 และ 320.99±11.65 ug/ml ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส พบว่า สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำไม่พบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ในขณะที่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส เท่ากับ 129.97±5.57 mg KE/g

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า มีฤทธิ์สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ดีกว่าสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จึงนำมาเป็นส่วนประกอบของสูตรตำรับเครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชัน เพื่อทดสอบความคงตัวโดยใส่สารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่ความเข้มข้น 0.05%, 0.1% และ 0.2% ทำการทดสอบความคงตัวก่อนและหลังการเก็บที่สภาวะเร่ง ทั้ง 3 สภาวะ คือ อุณหภูมิร้อนสลับเย็น จำนวน 7 รอบ ที่อุณหภูมิ 50°C และ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบค่าความคงตัว การแยกชั้น ความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี ความหนืด และกลิ่นของตำรับอิมัลชัน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของทุกตำรับอิมัลชันในทุกสภาวะ

ข้อเสนอแนะ

1. หากมีเวลาในการทดสอบความคงตัวของสารสกัดพิกัดเบญจเกสรที่เพิ่มมากขึ้น จะทำให้ได้ผลความเปลี่ยนแปลงที่ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

2. หากมีการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดในตำรับอิมัลชันที่มีสารสกัดพิกัดเบญจเกสร จะทำให้ได้ผลการศึกษาเพื่อนำไปพัฒนาสูตรตำรับได้ดีขึ้น

รายการอ้างอิง

กนกพร อะทะวงษา. (2559). ดอกไม้ในพิกัดเกสร. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 34(1) ตุลาคม 2559, 3.

ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556. (2556, 30 กันยายน) *ราชกิจจานุเบกษา*, เล่ม 130, ตอนพิเศษ 126 ง, หน้า 196-197.

พัชราภรณ์ นนทสวัสดิ์ศรี และอริสรา วันชัย. (2552). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของยาหอม. โครงการพิเศษเภสัชศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหิดล, นครปฐม.

มูลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์แผนไทยเดิมฯ, (2548) ตำราเภสัชกรรมไทย. (หน้า 105-112) กรุงเทพฯ: โรงเรียนอายุรเวท (ชีวกโกมารภัจจ์).

Mae Fah Luang University

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. (2555, มิถุนายน). จะเลือกใช้ยาหอม อย่างไรจึงจะดี. สืบค้นเมื่อ 1 ตุลาคม 2561, จาก https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/103

สรินยา จุลศรีไกวัล. (2559). ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของดอกสารภี ใน ผลงานนำเสนอประชุมวิชาการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 24 สืบค้นเมื่อ 1 ตุลาคม 2561, จาก http://e-library.dmsc.moph.go.th/view.asp?id=389

สุชาดา มานอก. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมานสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตารับยาหอมเทพจิตร. Advanced Science. 15(1), 106-110.

Liyanaarachchi, G. D., Samarasekera, J. K. R. R., Mahanama, K. R. R., & Hemalal, K. D. P. (2018). Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Industrial crops and products*, *111*, 597-605.

Narayanaswamy, N., Rohini, S., Duraisamy, A., & Balakrishnan, K. P. (2011). Antityrosinase and antioxidant activities of various parts of Mimusops elengi: a comparative study. *International Journal of Research in Cosmetic Science*, *1*(1), 17-22.

Shekhar, S., & Prasad, M. P. (2015). Comparative analysis of antioxidant properties of jasmine species by hydrogen peroxide assay. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, *3*(2), 26-29.

Srichayanurak, C., & Phadungkit, M. (2008). Antityrosinase and antioxidant activities of selected Thai herbal extracts. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, *13*(6), 673-676.

Wu, Q., Chen, H., Lv, Z., Li, S., Hu, B., Guan, Y., ... & Sun, Z. (2013). Oligomeric procyanidins of lotus seedpod inhibits the formation of advanced glycation end-products by scavenging reactive carbonyls. *Food chemistry*, *138*(2-3), 1493-1502.

Mae Fah Luang University