

การเตรียมและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อยเพื่อใช้ในเครื่องสำอาง

**Preparation and Study on Antioxidant Activities of
Acacia concinna Extract for Cosmetic Use**

ดวงแก้ว ชีรศิลป์

อีเมล d.theerasin@gmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ภัทวดี ไชยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล puxvadee@mfu.ac.th

ผศ. ดร.ณัฐยา เหล่าฤทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อีเมล nattayal@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การเตรียมสารสกัดส้มป่อยด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ ในอัตราส่วนต่างๆ และเวลาในการสกัด 2 สภาวะ คือ 24 และ 48 ชั่วโมง ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ตลอดจนความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ การเตรียมเครื่องสำอางที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ และการทดสอบความคงตัว การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และการระคายเคืองในอาสาสมัคร ผลการศึกษาพบว่า การเตรียมสารสกัดส้มป่อยด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 55 ต่อ 45 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้สารสกัดร้อยละ 59.00 ± 2.82 ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 150.64 ± 5.49 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ปริมาณแทนนินรวมเท่ากับ 218.10 ± 6.41 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด มีความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ร้อยละ 50 เท่ากับ 506.52 ± 20.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าเพอร์ริคิริดีวซึ่งแอนติออกซิแดนซ์เพาเวอร์ เท่ากับ 4.93 ± 0.09 ไมโครโมลเพอร์ริสซัลเฟตต่อมิลลิกรัมสารสกัด การทดสอบความปลอดภัยในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบ

ความเป็นพิษในเซลล์ เครื่องสำอางรูปแบบครีมที่มีสารสกัดสั้มป่อยเป็นส่วนประกอบ มีความคงตัวดีเมื่อทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต้องห้ามในตำรับ และตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในอาสาสมัคร

คำสำคัญ: สั้มป่อย/ปริมาณฟีนอลิกรวม/ปริมาณแทนนินรวม/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objectives of this study were to prepare the *Acacia concinna* extracts, which were extracted with different ratios of ethanol and water at 2 different extraction times, 24 and 48 hours, and to evaluate for the total phenolic content, total tannin content, antioxidant activity, and cytotoxicity in fibroblasts. The preparation of cosmetics containing *Acacia concinna* extract was also performed and investigated for physical stability, microbial contamination and skin irritation in volunteers. The preparation of extract by using 55% ethanol and 45% water, volume by volume, was shown the extraction yield of $59.00 \pm 2.82\%$. Total phenolic content of extract was 150.64 ± 5.49 mg gallic acid/g extract, whereas total tannin content was 218.10 ± 6.41 mg tannic acid/g extract. The concentration of extract that inhibited the DPPH radicals by 50% (IC_{50}) was 506.52 ± 20.82 $\mu\text{g/ml}$ and the ferric reducing antioxidant power value (FRAP) was 4.93 ± 0.09 $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mg}$ extract. The cytotoxicity of extract at 100 $\mu\text{g/ml}$ in fibroblasts was shown the non-cytotoxicity. The preparation of cream containing extract was appeared the stable product under accelerated condition and the evaluation of microorganism contamination was not detected the prohibited microorganisms. The skin irritation test of product in volunteers was shown as the non-irritating preparation.

Keywords: *Acacia concinna*/Total phenolic content/Total tannin content/Antioxidant activities

บทนำ

สั้มป่อย (*Acacia concinna*) เป็นพืชวงศ์ Leguminosae เป็นไม้เถาเนื้อแข็ง ไม้พุ่มรอเลื้อย มีช่อดอกเป็นกระจุกรูปทรงกลม ผลเป็นฝักรูปขอบขนาน ผิวขุ่นเมื่อแห้ง และมีเมล็ดเป็นรูปวงรีแบน (เต็มสมิทินันท์, 2544) สั้มป่อยเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของไทยที่มีประวัติการใช้มายาวนาน โดยยอดอ่อนนำมาปรุงเป็นอาหาร ใบนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของลูกประคบ ฝักนำมาใช้สำหรับการชำระล้าง ทำความสะอาดผมและ ผิวหนัง ในตำรายาแพทย์แผนไทย มีรายงานการใช้ประโยชน์จากใบและฝัก

เพื่อรักษาโรคและอาการต่างๆ เช่น ขับเสมหะ ระบาย ทำให้อาเจียน แก้ไอ แก้รังแค แก้โรคผิวหนัง ช่วยให้เจริญอาหาร และเป็นยาปลูกผม การใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางของส้มป่อย นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผมและหนังศีรษะ โดยใช้เป็นส่วนประกอบของแชมพูทำความสะอาดเส้นผมและขจัดรังแค (Snehal, Nitin & Buchke, 2014) และกระตุ้นการงอกของเส้นผมด้วยการยับยั้งเอนไซม์ 5 α -reductase (Lourith & Kanlayavattanakul, 2013) แต่การประยุกต์ใช้สารสกัดส้มป่อยในเครื่องสำอางสำหรับดูแลผิวยังไม่แพร่หลายนัก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดสารสำคัญจากส้มป่อยด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ และเวลาในการสกัด 2 สภาวะ
2. เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อย ตลอดจนความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์เพาะเลี้ยง
3. เพื่อเตรียมเครื่องสำอางรูปแบบครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ ตลอดจนประเมินความคงตัว และความปลอดภัยของตำรับ

ขอบเขตการวิจัย

สกัดสารสำคัญจากส้มป่อยด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำในอัตราส่วนต่างๆ และเวลาในการสกัด 2 สภาวะ คือ 24 และ 48 ชั่วโมง ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อย ศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์เพาะเลี้ยงศึกษา และเตรียมเครื่องสำอางรูปแบบครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ ประเมินความคงตัว และความปลอดภัยของตำรับในอาสาสมัคร

การทบทวนวรรณกรรม

การศึกษาวิจัยสารทุติยภูมิของส้มป่อยด้วยวิธีทดสอบทางพฤกษเคมี (Phytochemical screening) ของสารสกัดใบส้มป่อย พบว่ามีสารในกลุ่มฟีนอล แทนนิน ไขมันและน้ำมัน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และควินิน ไม่พบสารในกลุ่มสเตียรอยด์ เซลลูโลส เทอร์ปีนอยด์ และ ไกลโคไซด์ (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543) พบรายงานฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของฝักส้มป่อย จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging (Poomanee et al., 2015)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สกัดสารสำคัญจากส้มป่อย (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543) โดยสกัดฝักส้มป่อย ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ จำนวน 3 อัตราส่วน คือ 95 ต่อ 5 (95%) 75 ต่อ 25 (75%) และ 55 ต่อ 45 (55%) เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง (hr) แล้วระเหยตัวทำละลายออก และทำให้แห้งด้วยความเย็น (lyophilization) ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณค่าร้อยละการสกัด
2. ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและแทนนินรวมในสารสกัด (Kähkönen et al., 1999; Son et al., 2013) โดยรายงานค่าในรูปปริมาณเทียบเท่ากรดแกลลิก (Gallic Acid Equivalent; GAE) และกรดแทนนิก (Tannic Acid Equivalent; TAE) ต่อกรัมสารสกัด ในการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม และแทนนินรวม ตามลำดับ ทำการทดสอบทั้งหมด จำนวน 3 ครั้ง
3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วย DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (Brand-Williams et al., 1995) ทดสอบจำนวน 3 ครั้ง
4. คัดเลือกสารสกัด โดยพิจารณาสารสกัดที่มีค่าร้อยละการสกัด ปริมาณฟีนอลิกรวมและแทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เพื่อทดสอบความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์เพาะเลี้ยง และเตรียมตำรับเครื่องสำอาง
5. ศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์ Human skin fibroblast ด้วย Resazurin microplate assay (Palomino et al., 2002)
6. เตรียมเครื่องสำอางพื้นฐานแบบครีมและเครื่องสำอางที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบตามตารางที่ 1 สูตรตำรับครีมพื้นและครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ โดยปริมาณสารสกัดส้มป่อยที่เติมในตำรับ พิจารณาจากความเข้มข้นที่ปลอดภัยในเซลล์เพาะเลี้ยงและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
7. ประเมินเครื่องสำอางที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ โดยประเมินความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle ที่ 4 และ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 7 รอบ (Shukla & Patel, 2010) การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 5 ชนิด คือ Aerobic mesophilic, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. และทดสอบความปลอดภัยในอาสาสมัครด้วยวิธี Single closed patch test (York, Griffiths, Whittle & Basketter, 1996; Draiz, Woodard & Calvery, 1994)
8. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยแสดงผลการศึกษา ในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและประเมินความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ one way analysis of variance (ANOVA) และ LSD test โดยค่า *P*-value น้อยกว่า 0.05 แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 1 สูตรตำรับครีมพื้นและครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ

Ingredient	ครีมพื้น	ครีมที่มีสารสกัด
	% (w/w)	ส้มป่อยเป็น ส่วนประกอบ % (w/w)
Part A		
1. Glyceryl monostearate	1.0	1.0
2. Isopropyl myristate	6.0	6.0
3. Cetyl alcohol	1.0	1.0
4. Stearyl alcohol	1.0	1.0
5. Avocado oil	0.2	0.2
6. Grape seed oil	0.2	0.2
7. Safflower oil	0.2	0.2
8. Steareth-2	1.0	1.0
9. Stereeth-21	2.0	2.0
Part B		
1. DI water	q.s.to 100	q.s.to 100
2. Sorbitol	0.2	0.2
3. Allantoin	0.2	0.2
4. Aloe vera gel	0.05	0.05
5. Sodium hyaluronic acid	0.005	0.005
6. Glyceryl Betaine/Polyacrylic acid esters	22.0	22.0
7. <i>Acacia concinna</i> extract	-	0.1
8. Phenoxy ethanol	1.0	1.0
Part C		
1. Ascorbyl dipalmitate	0.1	0.1
2. Vitamin E acetate	0.2	0.2
3. Alpha bisabolol	0.1	0.1
4. Dimethicone/Vinyldimethicone crosspolymer (and) C12-14 Pareth-12	2.0	2.0
5. Sodium polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone	1.0	1.0
6. Perfume	0.2	0.2
Total	100.00	100.00

ผลการวิจัยและอภิปราย

1. การสกัดสารสำคัญจากส้มป่อย

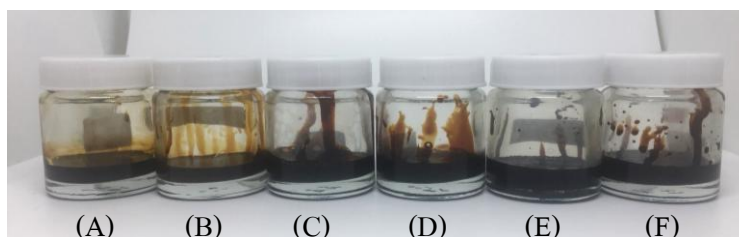
การสกัดสารสำคัญจากส้มป่อย ทำการศึกษา 2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด ได้แก่ อัตราส่วนของเอทานอลต่อน้ำในการสกัด คือ อัตราส่วน 95 ต่อ 5 75 ต่อ 25 และ 55 ต่อ 45 เวลาในการสกัด คือ 24 และ 48 ชั่วโมง (hr) โดยสารสกัดที่ได้ทั้งหมด 6 สารสกัด คือ 95%EtOH 24hr, 95%EtOH 48hr, 75% EtOH 24hr, 75%EtOH 48hr, 55%EtOH 24hr และ 55%EtOH 48hr ซึ่งสารสกัดที่ได้แสดงในภาพที่ 1 และค่าร้อยละการสกัด แสดงในตารางที่ 1 โดยผลการสกัดส้มป่อยด้วยเอทานอลต่อน้ำ ร้อยละ 55 ต่อ 45 เป็นเวลา 48 hr (55%EtOH 48hr) ให้สารสกัดที่มีค่าร้อยละการสกัดสูงสุด คือ 59.00 ± 2.82 ขณะที่การศึกษาโดย Poomanee et al.(2015) พบว่า ค่าร้อยละการสกัดสูงสุด ของสารสกัดด้วยอัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำ 95 ต่อ 5 คือ 42.36 ± 1.70 อาจเนื่องจากสารสำคัญที่สกัดได้จากการทดลองดังกล่าว เป็นกลุ่มสารที่มีขั้วน้อยกว่าสารสำคัญที่ได้ในการศึกษารั้งนี้ ซึ่งมีกลุ่มของสารที่มีขั้วมากกว่า นอกจากนี้ ความแตกต่างของแหล่งปลูก อายุของต้นและฝักส้มป่อย การเก็บเกี่ยวฝัก ส้มป่อย เพื่อสกัดสารสำคัญ รวมไปถึงความแตกต่างของการเตรียมสารสกัด เช่น ขนาดอนุภาคของ ส้มป่อยที่ใช้ในการสกัด ความชื้นของส้มป่อยที่แตกต่างกัน ล้วนส่งผลต่อค่าร้อยละการสกัด และ ปริมาณสารสำคัญในสารสกัด (Hostettmann, 2014)

2. การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและแทนนินรวมในสารสกัด

ปริมาณฟีนอลิกรวม และแทนนินรวมในสารสกัดส้มป่อย แสดงในตารางที่ 1 โดยสารสกัด 55%EtOH 48hr มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและแทนนินรวมสูงสุด คือ 150.64 ± 5.49 mg GAE/g extract และ 218.10 ± 6.41 mg TAE/g extract โดยปริมาณสารสำคัญสูงสุดในสารสกัด 55%EtOH 48hr อาจ เนื่องจากขั้วของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสามารถสกัดปริมาณสารสำคัญจากส้มป่อยออกมา ได้ในปริมาณมาก (Kislik, 2011)

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

ความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ร้อยละ 50 (Inhibitory concentration at 50%; IC_{50}) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย FRAP ของสารสกัดส้มป่อย แสดงในตารางที่ 1 โดยสารสกัด 75% EtOH 48hr มีค่า IC_{50} 506.52 ± 20.82 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ขณะที่สารสกัด 55% EtOH 48hr มีค่า FRAP 4.93 ± 0.09 $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{mg extract}$ ซึ่งเป็นค่าสูงที่สุด ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของสารสกัด 75%EtOH 48hr กับสารสกัด 55%EtOH 48hr พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด พบว่า มีความสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวมและแทนนินรวมในสารสกัด



ภาพที่ 1 สารสกัดส้มป่อย (A) 95%EtOH 24hr (B) 95%EtOH 48hr (C) 75%EtOH 24hr (D) 75%EtOH 48hr (E) 55%EtOH 24hr และ (F) 55%EtOH 48hr

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการสกัด ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส้มป่อย

สารสกัด	ร้อยละ สารสกัด (%)	TPC mg GAE/ g extract	TTC mg TAE/ g extract	ค่า DPPH IC ₅₀ µg/ml	ค่า FRAP µmol FeSO ₄ / mg extract
95%EtOH 24hr	42.87±0.78	105.58±2.69	167.22±2.24	690.25±16.68	2.45±0.15
95%EtOH 48hr	45.50±0.79	99.24±6.86	159.66±9.42	692.67±20.14	2.56±0.13
75%EtOH 24hr	57.38±1.73*	126.89±3.42	178.10±11.59	511.42±7.47*	3.70±0.12
75%EtOH 48hr	58.68±3.04*	139.91±5.38	199.30±5.14	506.52±20.82*	3.94±0.13
55%EtOH 24hr	58.52±0.71*	140.23±2.94	211.65±6.55	511.00±6.21*	4.71±0.28*
55%EtOH 48hr	59.00±2.82*	150.64±5.49*	218.10±6.41*	520.47±11.48*	4.93±0.09*

หมายเหตุ *ค่าที่มีผลการทดสอบที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสถิติ ANOVA และ LSD test ที่ P -value < 0.05

4. การคัดเลือกสารสกัด

สารสกัดส้มป่อยที่ได้จากสภาวะการสกัดต่างๆ มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน จึงคัดเลือกสารสกัดตามเกณฑ์ ดังนี้ มีค่าร้อยละการสกัด ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ซึ่งสารสกัด 55%EtOH 48hr มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ จึงคัดเลือกไปทำการทดสอบความปลอดภัยในเซลล์เพาะเลี้ยงและเตรียมตำรับเครื่องสำอางต่อไป

5. การศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดในเซลล์ Human skin fibroblast

ความปลอดภัยของสารสกัดส้มป่อย 55%EtOH 48hr ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดส้มป่อย 55% EtOH 48hr ที่ทดสอบ คือ 100 µg/ml เป็นความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดที่เติมในตำรับ จำเป็นต้องคำนึงถึงการแพร่ของสารผ่าน

ผิวหนังชั้นต่างๆ (Walters, 2002) ดังนั้น ความเข้มข้นของสารสกัดส้มป่อย 55% EtOH 48hr ที่เติมในเครื่องสำอาง จึงเพิ่มขึ้นเป็นความเข้มข้นร้อยละ 0.1

6. การเตรียมเครื่องสำอางพื้นฐานแบบครีมและเครื่องสำอางที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ ลักษณะภายนอกของตำรับครีมพื้นฐานและครีมที่มีสารสกัดส้มป่อย แสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 (A) ครีมพื้นฐาน และ (B) ครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ

7. การประเมินเครื่องสำอางที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ

ความคงตัวของครีมพื้นฐานและครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ ทดสอบภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle จำนวน 7 รอบ และแสดงผลในตารางที่ 2 โดยทั้งครีมพื้นฐานและครีมที่มีสารสกัดส้มป่อย มีความคงตัวทางกายภาพ ไม่พบการแยกชั้น ค่าต่างๆเปลี่ยนแปลงจากค่าเริ่มต้นเล็กน้อย และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของตำรับครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตำรับเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง ส่วนการทดสอบความปลอดภัยในอาสาสมัคร พบว่า สารละลายโซเดียมลอริลซัลเฟตร้อยละ 2 ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวก มีค่า Mean irritation index (MII) 0.58 แสดงถึง การก่อให้เกิดการระคายเคืองปานกลาง ส่วนสารละลายส้มป่อยในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีค่า MII 0.28 แสดงถึง สารก่อให้เกิดการระคายเคืองเล็กน้อย ส่วนน้ำกลั่น ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงลบ ครีมพื้นฐาน และครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ มีค่า MII 0.00 แสดงถึง สารไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง เมื่อเปรียบเทียบการทดสอบความปลอดภัยในอาสาสมัคร พบว่า มีความสอดคล้องกับการทดสอบความปลอดภัยในเซลล์ ซึ่งแสดงถึงความปลอดภัยในการใช้ครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบในมนุษย์

ตารางที่ 3 การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเมื่อทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง จำนวน 7 รอบ

ตำรับ	ค่า pH	ความหนืด (cp)*
ครีมพื้นฐาน		
1. ค่าเริ่มต้น	5.63±0.01	43,500.00±241.29
2. หลังการเก็บสภาวะ Heating cooling cycle จำนวน 7 รอบ	5.53±0.01	42,916.67±812.92

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ตำรับ	ค่า pH	ความหนืด (cp)*
ครีมที่มีสารสกัดส้มป่อย		
1. ค่าเริ่มต้น	5.52±0.01	45,516.67±175.59
2. หลังการเก็บสภาวะ Heating cooling cycle จำนวน 7 รอบ	5.44±0.01	43,833.33±321.46

หมายเหตุ *ทำการทดสอบการวัดค่าความหนืดโดยใช้หัวเข็มเบอร์ 4 ความเร็ว (Speed) เท่ากับ 20 และ %Torque เท่ากับ 87-90

สรุปผลการวิจัย

สารสำคัญจากส้มป่อย สกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำในอัตราส่วนอัตราส่วน 55 ต่อ 45 เป็นเวลา 48 hr (55%EtOH 48hr) จะได้สารสกัดที่มีค่าร้อยละการสกัด 59.00 ± 2.82 และสารสกัดมีปริมาณฟีนอลิกรวม 150.64 ± 5.49 mg GAE/g extract ปริมาณแทนนินรวม 218.10 ± 6.41 mg TAE/g extract มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วย DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing antioxidant power มีความปลอดภัยในการทดสอบในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ การเตรียมครีมที่มีสารสกัดส้มป่อยเป็นส่วนประกอบ พบว่า ครีมมีความคงตัวดีภายใต้การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นไปตามกฎหมาย และไม่เกินค่าที่กฎหมายกำหนด และมีความปลอดภัยจากการทดสอบความปลอดภัยในอาสาสมัคร

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ทราบถึงตัวบ่งชี้ (Marker) ของสารสำคัญในสารสกัด และปริมาณของสารสำคัญนั้น ตลอดจนการตรวจเอกลักษณ์ของสารสำคัญในสารสกัด เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารสกัดได้
2. การเก็บสารสกัด ควรเก็บในตู้เย็น เพื่อป้องกันการดูดความชื้นของสารสกัดที่เตรียม
3. ควรศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์และการประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์เพิ่มเติม

รายการอ้างอิง

- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2543). *สมุนไพรพื้นบ้าน* (เล่ม 4, หน้า 455-458). กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- เต็ม สมิตินันท์. (2544). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

- Hostettmann, K. (2014). Handbook of Chemical and Biological Plant Analytical Methods, 3 Volume Set. John Wiley & Sons.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., . . . Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Kislik, V. S. (2011). *Solvent extraction: classical and novel approaches*. Elsevier.
- Lourith, N. & Kanlayavattanakul, M. (2013). Hair loss and herbs for treatment. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 12(3), 210-222
- Palomino, J. C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., . . . Portaels, F. (2002). Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2720-2722.
- Poomanee, W., Chaiyana, W., Intasai, N. & Leelapornpisid, P. (2015). Biological activities and characterization of the pod extracts from sompoi (*Acacia concinna* linn) grown in northern Thailand. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(5), 237-241.
- Raja, V. X. & Sivaraj, R. (2012) . Antibacterial activity of bark extract of *Acacia Concinna* (L). *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 3(10), 487
- Shukla, J. B. & Patel, S. J. (2010). Formulation and evaluation of self micro emulsifying system of candesartan cilexetil. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 143-146.
- Snehal, W., Nitin, K. & Buchke Vaibhav, V. (2014). Preparation & evaluation of antidandruff polyherbal powder shampoo. *Pharmacophore*, 5(1), 77-84.
- Son, D. H., Nam, M. H., Hong, C. O., Seol, H. M., . . . Lee, K. W. (2013). 5- α reductase inhibitory effect and astringent activity of green apple rind extract on human keratinocytes and fibroblast cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(4), 714-721.
- York, M., Griffiths, H. A., Whittle, E., & Basketter, D. A. (1996). Evaluation of a human patch test for the identification and classification of skin irritation potential. *Contact Dermatitis*, 34(3), 204-212