

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง
Biological Activities of *Feroniella lucida* Fruit Residue Extracts
for Cosmetic Utilization

จุไรรัตน์ มรัตน์

อีเมล: 6151701260@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภัทวดี ไชยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล: puxvadee@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ภายภาพ ความคงตัวของยาใต้สภาวะเร่ง และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส สารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วนร้อยละ 95, 70 และ 50 ด้วยวิธีหมักแช่ ค่าร้อยละสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 มีค่าเท่ากับ 0.77 ± 0.21 , 1.38 ± 0.20 และ 2.35 ± 0.17 ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยว ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 มีค่าเท่ากับ 89.46 ± 2.47 , 108.57 ± 2.36 ; 94.10 ± 1.99 , 71.68 ± 0.62 และ 88.48 ± 2.35 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด, 67.46 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลเคอเวอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ การทดสอบความคงตัวของยาใต้สภาวะเร่งด้วยการเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกับที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีความคงตัวทางกายภาพ และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น ขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างของสารสกัดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นโดยสารสกัดสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีค่าไม่แตกต่างกับค่าเริ่มต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธีดีพีพีเอช พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 ในการยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 680.29 ± 5.52 , 593.81 ± 13.09 และ 665.91 ± 4.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดด้วย

เอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 9.79 ± 2.21 , 38.45 ± 2.23 และ 13.13 ± 1.38 ตามลำดับ ผลการศึกษาอาจนำไปใช้เตรียมกากผลไม้แห้งเป็นสารออกฤทธิ์สำหรับใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: กากผลไม้แห้ง, ปริมาณฟีนอลิกรวม, ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

Abstract

The objectives of this study were to prepare the *Feroniella lucida* fruit residue extracts as well as to evaluate the physicochemical properties, the stability under the accelerated condition, and the biological activities, including antioxidant and anti-tyrosinase activities. The *F. lucida* fruit residue extracts were extracted by maceration using the mixture of ethanol and water at 95, 70 and 50% as solvents. The extraction yields of extracts prepared by 95, 70, and 50% were 0.77 ± 0.21 , 1.38 ± 0.20 , and $2.35 \pm 0.17\%$, respectively. The physical characteristics of three extracts were the semi-solid compounds, viscous, brown to dark brown color with acidic odor. Total phenolic and flavonoid contents of *F. lucida* fruit residue extracts prepared by 95, 70 and 50% were 89.46 ± 2.47 , 108.57 ± 2.36 ; 94.10 ± 1.99 , 71.68 ± 0.62 and 88.48 ± 2.35 mg gallic acid equivalent/g extract, 67.46 ± 0.14 mg quercetin equivalent/g extract, respectively. The stability testing, conducted at the accelerated condition by keep at 45°C , 24 h and 4°C , 24 h for 5 cycles, was shown the stable physical characteristics of three extracts with the non-significant change of total phenolic contents compared to the initial values. The pH value of extracts was more acid, in which pH of extract prepared by 95% was not different compared to initial value. For antioxidant activity performed by DPPH assay, the concentrations of extracts that scavenged half maximal of free radicals were 680.29 ± 5.52 , 593.81 ± 13.09 and 665.91 ± 4.39 mg/ml for extracts prepared with 95, 70 and 50%, respectively. The anti-tyrosinase activities of 95, 70 and 50% *F. lucida* fruit residue extracts, tested at 2,000 mg/ml, were 9.79 ± 2.21 , 38.45 ± 2.23 and $13.13 \pm 1.38\%$, respectively. The study results may be used for preparation of *F. lucida* fruit residues as active ingredients for cosmetic utilization.

Keywords: *Feroniella lucida* Fruit Residues, Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Antioxidant Activity, Anti-Tyrosinase Activity

บทนำ ความสำคัญและที่มาของปัญหา

มะสัง (*Feroniella lucida*; *Citrus lucida*) (Medthai, 2557) เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae ที่มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Houdkova et al., 2018) ฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านมาเลเรีย (Phuwanpraisiran et al., 2007; Sripisut et al., 2011; Sripisut et al., 2012) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity, วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) และ วิธี b-carotene bleaching activity (Somdee et al., 2016) แต่ทั้งนี้ ยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของผลมะสังเพื่อการใช้ประโยชน์ภายหลังการสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกจากผล

ผลมะสัง มีน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ มีกลิ่นหอม ซึ่งอุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหยนำผลมะสังมาใช้เตรียมน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ โดยการเตรียมน้ำมันหอมระเหยจะมีกากผลมะสังเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมปริมาณมาก ในการศึกษาครั้งนี้ จึงนำกากผลมะสังเหลือทิ้งจากโรงงานมาเตรียมเป็นสารสกัดกากผลมะสัง ศึกษาปริมาณสารสำคัญทั้งปริมาณสารสำคัญ ทั้งปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ศึกษาลักษณะทางเคมีกายภาพ ความคงตัว และฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สำหรับการใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องกับการปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดการอักเสบและภาวะชราของผิวหนัง ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เกี่ยวข้องกับการลดการสร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนังที่ทำให้เกิดฝ้า กระ และภาวะผิวคล้ำ

วัตถุประสงค์

1. เตรียมสารสกัดกากผลมะสัง ประเมินสารสำคัญในสารสกัด คือ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ตลอดจนความคงตัวของสารสกัด
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

ขอบเขตการวิจัย

เตรียมสารสกัดกากผลมะสังสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วนร้อยละ 95, 70 และ 50 ด้วยวิธีหมักแช่ ประเมินปริมาณสารสำคัญในสารสกัด คือ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัด คือ ลักษณะภายนอก ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ความสามารถในการละลายในตัวทำละลาย คือ น้ำกลั่น เอทานอล กลีเซอริน

โพรพิลีนไกลคอล ทดสอบความคงตัวของสารสกัดด้วยวิธี heating-cooling cycle และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทบทวนวรรณกรรม

มะสัง เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีชื่อท้องถิ่นอื่นๆ คือ ผักสัง (มุกดาหาร), หมากกะสัง มะสัง (ภาคกลาง), กะสัง (ภาคใต้), หมากสังและกระสัง มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ ฤทธิ์ลดไข้ ฤทธิ์บรรเทาอาการท้องอืดเฟ้อ ฤทธิ์สมานแผล และบำรุงร่างกาย เป็นต้น นำมาใช้เป็นอาหารและส่วนประกอบในตำรับยาไทยและตำรับยาพื้นบ้าน (Mabberley, 2010) รายงานการศึกษาโดย Tangkanakul, Trakoontivakorn & Jariyavattanavijit (2005) และ Somdee et al. (2016) เตรียมสารสกัดจากดอกมะสังสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดดอกมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 34.51 ± 1.14 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมดอกสด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่าเท่ากับ 25.34 ± 0.34 มิลลิกรัมสมมูล *t*-butylated hydroxyanisole ต่อกรัมดอกสด ส่วนสารสกัดใบมะสัง ปริมาตร 0.2 ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $8.35 \pm 2.15\%$ ทดสอบด้วย DPPH radical scavenging assay

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง

เก็บจากผลมะสังที่สกัดน้ำมันหอมระเหยแล้วจากโรงงาน ตากแดดให้แห้ง และนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง บดกากแห้งให้เป็นผงด้วยเครื่องบด ชั่งตัวอย่างพืชใน Erlenmeyer flask เติมตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วนต่างๆ จำนวน 3 อัตราส่วน คือ เอทานอลกับน้ำ 50 ต่อ 50 (50%), 70 ต่อ 30 (70%) และ 95 ต่อ 5 (95%) โดยสัดส่วนน้ำหนักพืชต่อตัวทำละลาย คือ 1 ต่อ 10 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นด้วยการระเหยตัวทำละลายออกโดยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ และคำนวณค่าร้อยละการสกัด (Ullah et al., 2012)

2. การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

ประเมินลักษณะภายนอก ค่าการละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอล (Absolute ethanol) โพรพิลีนไกลคอล กลีเซอริน และ 10% เอทานอล ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของสารสกัด (United States Pharmacopeial Convention, 2011)

3. การทดสอบปริมาณสารสำคัญ

ปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและรายงานในรูปแบบ mgGAE/g extract (Kanlayavattanakul et al., 2018) และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ทดสอบด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay โดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานเคอควิซิทินและรายงานในรูปแบบ mgQE/g extract (Zhishen et al., 1999) ซึ่งทดสอบปริมาณสารสำคัญในสารสกัดในสถานะสารละลาย ด้วยการละลายในตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วน 90 ต่อ 10 (10% ethanol)

4. การทดสอบความคงตัวของสารสกัด

ความคงตัวของสารสกัดทดสอบด้วยวิธี Heating-Cooling cycle โดย ณ ค่าเริ่มต้น ประเมินลักษณะภายนอก ค่า pH ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด แล้วจึงนำสารสกัดไปทดสอบความคงตัว โดยเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสลับมาเก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ จำนวนทั้งหมด 5 รอบ เมื่อครบเวลา ประเมินสารสกัดเปรียบเทียบกับค่า ณ เวลาเริ่มต้น (อรัญญา มโนสร้อย, 2540)

5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

1) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay โดยทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวก และรายงานผลการทดสอบในรูปความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC₅₀) (Kanlayavattanakul et al., 2018) ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดในการทดสอบใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกับที่ใช้เตรียมสารสกัด

2) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวก และรายงานผลการทดสอบในรูปร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Kanlayavattanakul et al., 2018) ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดในการทดสอบใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วน 90 ต่อ 10 (10% ethanol)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

ข้อมูลการทดลอง นำเสนอในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างข้อมูลแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) และ Tukey's test โดยค่า p น้อยกว่า 0.05 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง

สารสกัดจากผลมะสัง เตรียมด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วน 95, 70 และ 50% ได้เป็น สารสกัด FLF_95%, FLF_70% และ FLF_50% ตามลำดับ โดยค่าร้อยละการสกัด แสดงในตารางที่ 1 FLF_50% มีค่าร้อยละการสกัดสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับค่าร้อยละการสกัดของ FLF_95% และ FLF_70% โดยความแตกต่างของร้อยละการสกัดอาจเป็นผลจากการละลายของ สารสำคัญในกากผลมะสังสามารถละลายในตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่างกัน (Albuquerque et al., 2017)

ตารางที่ 1 ร้อยละการสกัดสารสกัดจากผลมะสังด้วยตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ

สารสกัด	อัตราส่วนของเอทานอลกับน้ำ	ร้อยละการสกัด
FLF_95%	95 กับ 5	0.77 ± 0.21 ^b
FLF_70%	70 กับ 30	1.38 ± 0.20 ^b
FLF_50%	50 กับ 50	2.35 ± 0.17 ^a

หมายเหตุ a,b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

2. การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

สารสกัดทั้ง 3 ชนิด เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยวจากกรดที่เป็นองค์ประกอบในผลมะสัง ผลการทดสอบการละลายในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอล (Absolute ethanol) โพรพิลีนไกลคอล กลีเซอริน และ 10% เอทานอล แสดงในตารางที่ 2 ซึ่งความสามารถในการละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย ขึ้นกับลักษณะของตัวทำละลายแต่ละ ชนิด โดยตัวทำละลายที่มีสภาวะเหมาะสมใกล้เคียงกับสภาวะของสารสำคัญในสารสกัดตามธรรมชาติ จะสามารถละลายสารสกัดได้ดี (Schein, 1990)

ตารางที่ 2 การละลายสารสกัดจากผลมะสัง

ความเข้มข้น/ สาร	ปริมาตรตัวทำละลาย (ml) และการแปลผลการละลาย				
	น้ำ	เอทานอล	โพรพิลีน- ไกลคอล	กลีเซอริน	10% เอทานอล
1 mg/mL	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
FLF_95%	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก
FLF_70%	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก	ละลายได้ดีมาก

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ความเข้มข้น/ สาร	ปริมาตรตัวทำละลาย (ml) และการแปรผลการละลาย				
	น้ำ	เอทานอล	โพรพิลีน- ไกลคอล	กลีเซอริน	10% เอทานอล
FLF_50%	1.00 ละลายได้ดีมาก	1.00 ละลายได้ดีมาก	1.00 ละลายได้ดีมาก	1.00 ละลายได้ดีมาก	1.00 ละลายได้ดีมาก
5 mg/mL	4.00	3.00	4.00	3.00	6.00
FLF_95%	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี	ละลายได้ดี
FLF_70%	2.00 ละลายได้ดี	3.00 ละลายได้ดี	2.00 ละลายได้ดี	6.00 ละลายได้ดี	1.00 ละลายได้ดีมาก
FLF_50%	2.00 ละลายได้ดี	1.00 ละลายได้ดีมาก	2.00 ละลายได้ดี	3.00 ละลายได้ดี	1.00 ละลายได้ดีมาก

3. การทดสอบปริมาณสารสำคัญ

ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 88.48 - 94.10 mg GAE/g extract ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดมีค่าไม่แตกต่างกัน ขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของ FLF_95% มีปริมาณสูงกว่า FLF_70% ($p < 0.001$) และ FLF_50% ($p < 0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) โดยปริมาณ ฟลาโวนอยด์ที่ต่างกัน อาจเป็นผลจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วสามารถละลายในเอทานอลได้มากกว่าน้ำ ดังนั้น ในตัวทำละลายที่มีเอทานอลปริมาณมาก (95%) จึงละลายสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ในปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายที่มีเอทานอลเป็นส่วนประกอบปริมาณน้อยกว่า (รวีวรรณ แก้วอมวงค์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

ตารางที่ 3 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดจากของผลมะสัง

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/g)
FLF_95%	89.46 ± 2.47	108.57 ± 2.36 ^a
FLF_70%	94.10 ± 1.99	71.68 ± 0.62 ^b
FLF_50%	88.48 ± 2.35	67.46 ± 0.14 ^c

หมายเหตุ a,b,c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

4. การทดสอบความคงตัวของสารสกัด

ตารางที่ 4 แสดงความคงตัวของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด โดยสารสกัดมีความคงตัวของสารสกัดซึ่งลักษณะภายนอก สี และกลิ่นของสารสกัดหลังการทดสอบในสภาวะเร่งไม่แตกต่างจากค่าตอน

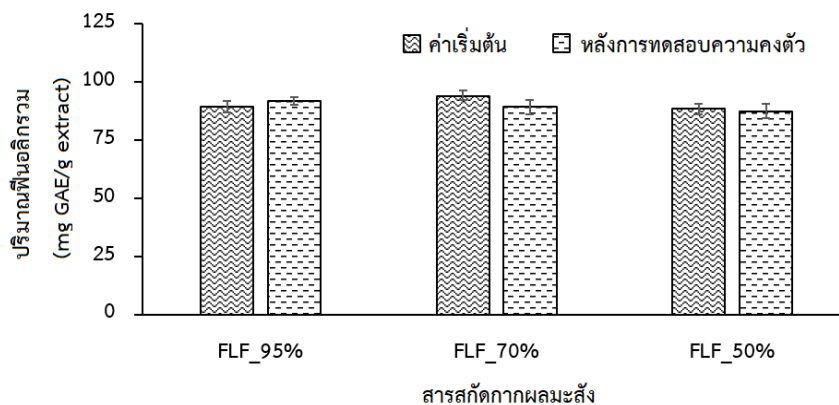
เริ่มต้น ค่า pH ของ FLF_95% มีค่าลดลง แต่ไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ FLF_70% และ FLF_50% มีค่าลดลงและแตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ส่วนปริมาณ ฟีนอลิกรวมของสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด แสดงในภาพที่ 1 โดยปริมาณฟีนอลิกรวมหลังการทดสอบในสภาวะเร่งมีค่าไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีปริมาณลดลง ซึ่งอาจเป็นผลจากการสลายตัวของสารสำคัญโดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดภายใต้สภาวะเร่ง (De Beer et al., 2018)

ตารางที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง

สารสกัด	ลักษณะทางกายภาพ	สี	กลิ่น	ค่า pH ¹
ค่าเริ่มต้น				
FLF_95%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.52 ± 0.01
FLF_70%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.64 ± 0.03
FLF_50%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.77 ± 0.03
หลังการทดสอบความคงตัว				
FLF_95%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.49 ± 0.02
FLF_70%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.46 ± 0.03**
FLF_50%	กึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.21 ± 0.03**

หมายเหตุ ¹ ความเข้มข้นของสารละลาย มีค่าเท่ากับ 1 mg/mL

** แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบค่าของสารสกัด ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัว



ภาพที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง

5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

1) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วย DPPH assay แสดงในตารางที่ 5 โดย FLF_70% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และแตกต่างจาก FLF_95% ($p < 0.001$) และ FLF_50% ($p < 0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาโดย Somdee et al. (2016) ที่รายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกและใบมะสัง โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากผลมะสัง อาจเป็นผลจากปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดรายงานการศึกษาที่ก่อนหน้าระบุความสัมพันธ์ของสารกลุ่มฟีนอลิกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชหลายชนิด ตลอดจนฤทธิ์ของสารในการป้องกันโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น (Chatatikun & Chiabchalard, 2017)

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากผลมะสังและวิตามินซี

สารสกัด	ความเข้มข้นของสารทดสอบในการ
	ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 50 (IC ₅₀) (µg/ml)
FLF_95%	680.29 ± 5.52 ^c
FLF_70%	593.81 ± 13.09 ^b
FLF_50%	665.91 ± 4.39 ^c
วิตามินซี	5.21 ± 0.48 ^a

หมายเหตุ a,b,c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

2) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส แสดงในตารางที่ 6 โดยกรดโคจิก ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวกในการศึกษา มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์สูงกว่าสารสกัดกากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ โดยกรดโคจิกความเข้มข้น 0.02 mg/ml มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ ร้อยละ 48.06 ± 1.56 ขณะที่ สารสกัดความเข้มข้น 2 mg/ml มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ร้อยละ 9.79 - 38.45 โดยสารสกัด FLF_70% มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์สูงกว่า FLF_50% ($p < 0.001$) และ FLF_95% ($p < 0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ เนื่องจากค่าการละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย (10% เอทานอล) แตกต่างกัน สารสกัดจึงทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุดต่างกัน โดยความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัด มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่ 2 mg/ml ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ของสารสกัดอาจเป็นผลจากสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกร่วมกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยสารกลุ่มฟีนอลิก เป็นสารที่พบปริมาณสูงในพืชและสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายในสิ่งมีชีวิต ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารทุติยภูมิที่พบในพืช และมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านรังสีอัลตราไวโอเล็ต ฤทธิ์ต้านอักเสบ และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น (Chatatikun & Chiabchalard, 2017)

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะสัง

สาร	ความเข้มข้น (mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ไทโรลีนเนส
FLF_95%	2.00	9.79 ± 2.21 ^b
	2.50	14.51 ± 1.19
FLF_70%	2.00	38.45 ± 2.23 ^a
	5.00	35.91 ± 2.83 ^a
FLF_50%	2.00	13.13 ± 1.38 ^b
	5.00	15.52 ± 2.25 ^b
กรดโคจิก	0.02	48.06 ± 1.56
	0.05	65.16 ± 1.75

หมายเหตุ a,b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ระหว่างกลุ่มทดสอบ เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นเท่ากัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาชนิดของสารสำคัญในสารสกัดจากผลมะสัง เพื่อใช้เป็นสารสำคัญในการเตรียมและการควบคุมคุณภาพสารสกัดสำหรับใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง
2. อาจทำการศึกษาสารที่เหลือจากการกลั่นน้ำมันหอมระเหย เช่น Hydrolat ซึ่งเป็น by-product เพิ่มเติม เพื่อการใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ทางเครื่องสำอาง

การอ้างอิง

- อรัญญา มโนสร้อย. (2540). เครื่องสำอาง (เล่มที่ 1). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Rodrigues, A., Curran, T. P., Barros, L., . . . Ferreira, I. C. (2017). Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, 95, 404-415.
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2017). Thai plants with high antioxidant levels, free radical scavenging activity, anti-tyrosinase and anti-collagenase activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1-9.

- De Beer, D., Pauck, C. E., Aucamp, M., Liebenberg, W., Stieger, N., van der Rijst, M., . . . Joubert, E. (2018). Phenolic and physicochemical stability of a functional beverage powder mixture during storage: effect of the microencapsulant inulin and food ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*, 2925-2934.
- He, C., Li, Z., Liu, H., Zhang, H., Wang, L., & Chen, H. (2020). Chemical compositions and antioxidant activity of adlay seed (*Coixlachryma jobi* L.) oil extracted from four main producing areas in China. *Journal of Food Science*, *85*, 123-131.
- Houdkova, M., Urbanova, K., Duskocil, I., Rondevaldova, J., Novy, P., Nguon, S., . . . Kokoska, L. (2018). *In vitro* growth-inhibitory effect of Cambodian essential oils against pneumonia causing bacteria in liquid and vapour phase and their toxicity to lung fibroblasts. *South African Journal of Botany*, *118*, 85-97.
- Kanlayavattanakul, M., Lourith, N., & Chaikul, P. (2018). Biological activity and phytochemical profiles of *Dendrobium*: A new source for specialty cosmetic materials. *Industrial Crops and Products*, *120*, 61-70.
- Mabberley, D. J. (2010). The species of *Citrus* (Rutaceae) with pinnate leaves. *Blumea- Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, *55*, 73-74.
- Medthai. (2557). มะลิ่ง สรรพคุณและประโยชน์ของต้นมะลิ่ง 9 ข้อ. <https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%AA%E0%B8%B1%E0%B8%87/>
- Phuwapraisirisan, P., Surapinit, S., Jeenapongsa, R., S Tip-Pyang, S., & Kokpol, U. (2007). Feroniellin B, a new highly potent human platelet aggregation inhibitor from *Feroniella lucida*. *Phytotherapy Research*, *21*, 485-487.
- Schein, C. H. (1990). Solubility as a function of protein structure and solvent components. *Biotechnology (NY)*, *8*, 308-317.
- Somdee, T., Mahaweerawat, U., Phadungkit, M., Yangyuen, S., Laowachirasuwan, P., Sungthong, B., . . . Khumphuwiang, J. (2016). Antioxidant compounds and activities in selected fresh and blanched vegetables from Northeastern Thailand. *Chiang Mai Journal of Science*, *43*, 834-844.

- Sripisut, T., Cheenpracha, S., & Laphookhieo, S. (2011). Chemical constituents from the roots of *Feroniella lucida*. *Journal of Asian Natural Products Research*, *13*, 556-560.
- Sripisut, T., Phakhodee, W., Ritthiwigrom, T., Cheenpracha, S., & Laphookhieo, S. (2012). Lucidafuranocoumarins B and C from the twigs of *Feroniella lucida*: Absolute configurations of lucidafuranocoumarin C. *Phytochemistry Letters*, *5*, 309-312.
- Tangkanakul, P., Trakoontivakorn, G., & Jariyavattanavijit, C. (2005). Extracts of Thai Indigenous Vegetables as Rancid Inhibitor in a Model System. *Agriculture and Natural Resources*, *39*, 274-283.
- United States Pharmacopeial Convention. (2011). *The United States Pharmacopeia; The National Formulary: Official from May 1, 2011*. Rockville.
- Ullah, M. O., Urmi, K. F., Howlader, M. D., Hossain, M., Ahmed, M. T., & Hamid, K. (2012). Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of leaves methanolic extract of *Baccaurea ramiflora*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*, 266-269.
- Zhishen J., Mengcheng T., & Jianning, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*, 555-559.

