

การพัฒนาตำรับกันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาต
DEVELOPMENT OF SUNSCREEN FORMULATIONS
OF *CISSUS QUADRANGULARIS* EXTRACT

กันติศ ธิชากรณ์

อีเมล: 6251701254@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร.มยุรมาศ วิไล

อีเมล: mayuramas@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับกันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L.) ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Cold Maceration โดยใช้เอทานอล 80% เป็นตัวทำละลาย ทำให้ได้ร้อยละผลได้ของสารสกัด เท่ากับ 11.63 โดยพบว่าสารสกัดหยาบมีค่าการดูดกลืนสเปกตรัมสูงสุดอยู่ที่ 272 และ 331 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงการดูดกลืนแสงของสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ และมีค่า Sun protection factor (SPF) เท่ากับ 1.32 ± 0.01 จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบมีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 65.22 ± 0.34 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 32.30 ± 1.48 ไมโครกรัมสมมูลเคอซีทินต่อมิลลิกรัมสารสกัด และยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 54.98% หรือมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 12.27 ± 0.32 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ด้านการนำมาประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์กันแดด พบว่า ผลิตภัณฑ์กันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาตมีสีเขียวยอมเหลืองและมีความคงตัวที่สูง หลังผ่านสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์ไม่เกิดการแยกชั้น โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างและค่าความหนืดที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญด้านประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด พบว่า สารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้น 1% จะสามารถเพิ่มค่า SPF ในผลิตภัณฑ์กันแดดได้สูงถึง 10.50% ดังนั้น สารสกัดเพชรสังฆาตมีคุณสมบัติเป็น Sunscreen Booster ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: เพชรสังฆาต, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด

Abstract

The research aims to develop sunscreen formula containing *Cissus quadrangularis* L. extract by cold maceration using 80% ethanol as a solvent. The percentage yield of the crude extract was 11.63. The absorption spectra of the crude extract were found at 272 and 331 nm, which were in the absorption range of flavonoids. The Sun protection factor (SPF) value is equal to 1.32 ± 0.01 . The study found that the Total Phenolic Content (TPC) of crude extract was 65.22 ± 0.34 μg GAE/mg Extract, the Total Flavonoid Content (TFC) was 32.30 ± 1.48 μg QE/mg Extract. For antioxidant activity which tested by DPPH method, it was found that the %inhibition was 54.98% and the antioxidant capacity was 12.27 ± 0.32 μg Ascorbic Acid/mg Extract. In terms of application as a sunscreen, the products had a yellowish green color and maintained high stability after the accelerated conditions. There were observed about phase separation with significantly change in pH and viscosity. The 1% *Cissus quadrangularis* L. extract exhibited increasing the 10.50% SPF in sunscreen products. It can be concluded that *Cissus quadrangularis* L. extract possess as a Sunscreen Booster in the cosmetic product.

Keywords: *Cissus Quadrangularis*, Antioxidant Activities, Sun Protection Factor

บทนำ/หลักการและเหตุผล

ผลิตภัณฑ์กันแดด เป็นวิธีปกป้องผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet, UV) ซึ่งผลิตภัณฑ์กันแดดส่วนใหญ่ มักจะใช้สารกันแดดสังเคราะห์ ทั้งแบบเคมีและกายภาพ (Garvita & Jay, 2018) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันเริ่มมีการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในทางเครื่องสำอางมากขึ้น รวมถึงผลิตภัณฑ์กันแดดด้วย โดยพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากพืชนั้นก็มีความสามารถในการป้องกันแสงแดดได้เช่นกัน เนื่องจากมีฤทธิ์ในการกำจัด Reactive oxygen species (ROS) ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของรังสี UV ซึ่งเป็นสาเหตุของความผิดปกติต่าง ๆ ของผิว เช่น ความแก่ กระบวนการ लिพิดเปอร์ออกซิเดชัน กระบวนการอักเสบ และการเกิดมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น โดยพบว่า ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีความสามารถป้องกันแสงแดดที่น่าสนใจ เนื่องด้วยฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถปกป้องผิวจากรังสี UV ได้ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation) และฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) เป็นต้น (Jucá et al., 2018) จากงานวิจัยของ Choquenot et al. (2008) และ Velasco et al. (2008) พบว่า เคอร์ซีติน และรูทีนซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทำให้

ค่า Sun protection factor (SPF) สูงขึ้นได้ เมื่อใช้ร่วมกับสารกันแดดแบบเคมีและกายภาพ จึงอาจสรุปได้ว่าเคอร์ซีติน และรูทีนมีคุณสมบัติในการเป็น SPF booster ในสูตรผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

เพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L.) เป็นพืชประเภทไม้เถาเลื้อย ที่มีสรรพคุณเป็นสมุนไพรพื้นบ้าน และมีฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางได้ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น (Shah, 2011; Mishra et al., 2010) โดยงานวิจัยของ จุฑามาศ (2546) พบว่า สารสกัดเพชรสังฆาตนั้นมีองค์ประกอบของฟลาโวนอยด์ซึ่งคือเคอร์ซีติน และพบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยงานวิจัยของ Dhanasekaran (2020) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดเพชรสังฆาตจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ งานวิจัยของ Vijayalakshmi et al. (2013) ได้ทำการแยกส่วนของฟลาโวนอยด์จากสารสกัดเพชรสังฆาต พบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดีกว่ากรดคอร์บิกซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานถึง 2 เท่า

จากข้อมูลที่ได้กล่าวไปในข้างต้น พบว่า เพชรสังฆาตนั้นมีการนำมาใช้ในทางยาเนื่องด้วยคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาประกอบกับมีความปลอดภัยสูง โดยไม่พบความเป็นพิษหรือความผิดปกติจากการใช้ (Kothari et al., 2011) แต่ก็ยังไม่เป็นที่นิยมที่จะนำใช้เป็นส่วนประกอบทางเครื่องสำอางมากนัก ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าเพชรสังฆาตมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีจากองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ที่ได้กล่าวไป อย่างเช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็น UV filter หรือ SPF booster จึงต้องการที่จะพัฒนาตำรับกันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาต เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชเพชรสังฆาตและเป็นประโยชน์ในทางเครื่องสำอางต่อไป

ระเบียบวิธีวิจัย

1. วิธีการเตรียมวัตถุดิบและการเตรียมสารสกัดหยาบ (Extraction)

ต้นเพชรสังฆาตเก็บจากสวนในพื้นที่จังหวัดสงขลา (ประเทศไทย) ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 และเตรียมตามวิธีของ จุฑามาศ เทียงธรรม (2546) โดยนำส่วนลำต้นและใบของเพชรสังฆาตมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นท่อน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเสร็จแล้วนำมาบดให้ขนาดเล็กลง จากนั้นนำมาสกัดด้วยวิธี Cold Maceration ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ จุฑามาศ เทียงธรรม (2546) โดยนำผงเพชรสังฆาตอบแห้งมาแช่ในตัวทำละลาย 80% เอทานอล ในอัตราส่วนพืชอบแห้ง : เอทานอล เท่ากับ 1 : 5 ทำเช่นนี้ 3 รอบ รอบละ 24 ชั่วโมง โดยคนเป็นระยะ เมื่อสกัดเสร็จแต่ละรอบให้นำมากรองเอาสารสกัด นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ที่ 45°C โดยคำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัดตามสูตร

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{\text{Mass of extract}}{\text{Mass of plant material used}} \times 100$$

2. วัดการดูดกลืนรังสี UV ของสารสกัด (UV Absorption)

เตรียมสารสกัดเพชรสังฆาตในเอทานอลด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ และนำตัวอย่างที่เตรียมมา วัดการดูดกลืนของสเปกตรัมในช่วง 200-800 นาโนเมตรโดยใช้เครื่อง UV spectrophotometer, GENESYS™ 10S UV-Visible Spectrophotometers, Thermo Scientific, USA เพื่อวัดหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (Maximum absorption) ของสารสกัด (Yarovaya & Khunkitti, 2019) และคำนวณหาค่า SPF (Sun protection factor) โดยใช้สมการของ Mansur et al. (1986)

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

โดยที่	CF	คือ Correction factor (= 10)
	EE	คือ Erythematous effect spectrum
	I	คือ Solar intensity spectrum
	Abs	คือ Absorbance of sunscreen product

3. การวัดความสามารถในการละลายของสารสกัด (Solubility Test)

ตามวิธีของ Ahmad et al. (2017) นำสารสกัดเพชรสังฆาต 10 มิลลิกรัม มาทดสอบละลายในตัวทำละลาย 4 ตัว ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล กลีเซอรอล และโพรพิลีน ไกลคอล โดยทำการทดสอบที่ปริมาตร 5, 10, 25 และ 100 มิลลิลิตร และทดสอบในตัวทำละลายรวม คือ เอทานอลต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:3 และ 1:4 และจะบันทึกผลเป็น (-) สำหรับไม่ละลาย (-+) สำหรับละลายบางส่วน และ (++) สำหรับละลายสมบูรณ์

4. การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Contents) ในสารสกัดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu

เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid (2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และเติม 10% Folin-ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้น 5 นาที เติม 20% Sodium carbonate (Na_2CO_3) 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรเทียบกับสาร Blank คือน้ำกลั่น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะแสดงออกมาในหน่วย ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด (μg GAE/mg Extract) (John et al., 2014)

5. การหาปริมาณรวมของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Contents)

เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (10, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จากนั้นเติม 5% Sodium nitrite (NaNO_2) 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% Aluminium chloride (AlCl_3) 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อีก 5 นาที แล้วเติม 1M Sodium hydroxide (NaOH) 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเท่ากับ 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติเป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เทียบกับสาร Blank คือน้ำกลั่น ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดแสดงออกมาในหน่วย ไมโครกรัมสมมูล เคอร์ซีตินต่อมิลลิกรัมสารสกัด ($\mu\text{g QE/mg Extract}$) (John et al., 2014)

6. วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เตรียมสารละลาย DPPH ในเอทานอลให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และนำสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ประมาณ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการคำนวณหา % DPPH radical scavenging และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) (จุฬามาศ เทียงธรรม 2546; ศุภรัตน์ ดวนใหญ่ และคณะ, 2560)

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = \left[\frac{(A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}})}{(A_{\text{Control}})} \right] \times 100$$

โดยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระคำนวณได้จากการสร้างกราฟระหว่างค่า %DPPH Radical scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด นำเสนอในหน่วยไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ($\mu\text{g Ascorbic acid/mg Extract}$)

$$\text{AA } (\mu\text{g AAE / mg Extract}) = \frac{\% \text{ Radical scavenging} \times \text{Dilution factor} \times \text{Total volume of rxn (mL)}}{\text{Slope} \times \text{Volume of sample (mL)} \times \text{Conc. of sample (mg/mL)}}$$

7. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

7.1 การพัฒนาสูตรต้นแบบ

ทำการเตรียมตำรับสูตร F1-F9 เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด โดยมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 1 และมีสัดส่วนสารกันแดด (Sunscreen Agents) อ้างอิงจากการทดลองของ Smaoui et al. (2017) เตรียมอิมัลชันชนิด Oil-in-Water โดยเริ่มจากเตรียมเฟสน้ำ และเฟสน้ำมันแยกจากกันคนละบีกเกอร์ โดยเฟสน้ำ ให้ความร้อนส่วน A ที่อุณหภูมิ 75°C โดยค่อย ๆ โปยส่วน B ลงไปที่ละตัว คนจนก่อตัวเป็นเจลใส จากนั้นเติมส่วน C และ D ตามลำดับ ส่วนเฟส

น้ำมัน หรือส่วน E ให้ทำการให้ความร้อนจนถึง 70°C จนส่วนผสมกลายเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อทั้ง 2 เฟสถูกให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่กำหนด ให้เทเฟสน้ำลงในเฟสน้ำมัน และคนจนกว่าจะเกิดเนื้ออิมัลชัน รอจนอุณหภูมิเย็นลงที่ 45°C จึงค่อยเติมส่วน F และ G ตามลำดับ (Abucafay et al., 2016; Yarovaya et al., 2020)

7.2 การทดสอบความคงตัวด้วยสถานะเร่ง (Stability Test)

นำตัวอย่างไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C (อุณหภูมิต่ำสุด) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 40°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน นับเป็น 1 รอบ โดยทำเช่นนี้จนครบ 6 รอบ (Smaoui et al., 2017; Restu et al., 2015) จากนั้นทำการสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของอิมัลชันหลังทำการทดสอบด้วยภาวะเร่งแต่ละรอบ โดยสังเกตสีด้วยเครื่อง Colorimeter ตามวิธีของ Akhtar et al. (2011) วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter วัดความหนืดด้วยเครื่อง Viscometer และทำการทดสอบการหมุนเหวี่ยงเพื่อดูการแยกชั้น (Phase separation) ตามวิธีของ Smaoui et al. (2017)

7.3 การทดสอบหาประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด SPF (Sun protection factor)

ทำการวัดค่า SPF (Sun protection factor) ด้วยเครื่อง UV Transmittance Analyzer UV2000S, Labsphere, North Sutton, USA ของตำรับสูตร F1-F9 โดยอ้างอิงวิธีจาก ISO 24443:2012 เริ่มจากเตรียมแผ่น Blank โดยใช้ช้อนตักสารหยาบวาสลีนให้ทั่วแผ่น PMMA (5 x 5 cm²) จนได้น้ำหนักของวาสลีนเท่ากับ 0.015 กรัม และเตรียมแผ่นตัวอย่างโดยใช้ช้อนตักสารหยาบครีมหรือโลชั่นให้ทั่วแผ่น PMMA (5 x 5 cm²) จนได้น้ำหนักของตัวอย่างเท่ากับ 0.0287 ± 0.005 กรัม จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วทั้งแผ่น PMMA โดยใช้ปลายนิ้วสวมถุงมือนิ้ว เริ่มจากเกลี่ยหมุนวนจากซ้ายไปขวาทิศทางจากด้านบนลงด้านล่าง ทำซ้ำจนครบทั้ง 4 ด้าน จากนั้นเกลี่ยเป็นเส้นตรงจากซ้ายไปขวาทิศทางจากด้านบนลงด้านล่าง ทำซ้ำจนครบทั้ง 4 ด้าน แล้วนำไปทำการสแกนด้วยเครื่อง UV Transmittance Analyzer ด้วยวิธีแบบ User Defined SPF Method ทำการสแกนทั้งหมด 9 จุด/ตัวอย่าง จะได้ผลประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดในค่า SPF, UVAPF, SPF/UVAPF และ UVA/UVB โดยค่าความแตกต่างเฉลี่ยของการวัด (Coefficient of variation, COV) ต้องไม่เกินร้อยละ 20

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบ หน้าที่ และสัดส่วนที่ใช้ในแต่ละสูตร (สูตรตำรับกันแดด)

Part	Ingredients	Function	%w/w								
			F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
A	Water	Solvent	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
			to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100
	Disodium EDTA	Chelating agent	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
B	Xanthan gum	Thickener	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
C	Propylene glycol	Humectant	5	5	5	5	5	5	5	5	5
D	Triethanolamine	pH adjuster	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
	Titanium Dioxide	Physical Sunscreen	-	-	-	-	-	-	-	-	5
E	C 12-15 Alkyl benzoate	Emollient	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Dimethicone	Emollient	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Glyceryl Stearate	Emollient	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Behenyl alcohol	Emollient	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Cetyl alcohol	Emollient	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Tween 80	Emulsifier	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Span 80	Emulsifier	3	3	3	3	3	3	3	3	3
F	2-Ethyl-Hexyl Methoxycinnamate	Chemical Sunscreen	-	5	-	-	-	5	5	5	5
	<i>Cissus quadrangularis</i> L.	Natural sunscreen	-	-	0.25	0.5	1	0.25	0.5	1	1
G	Phenoxyethanol	Preservative	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

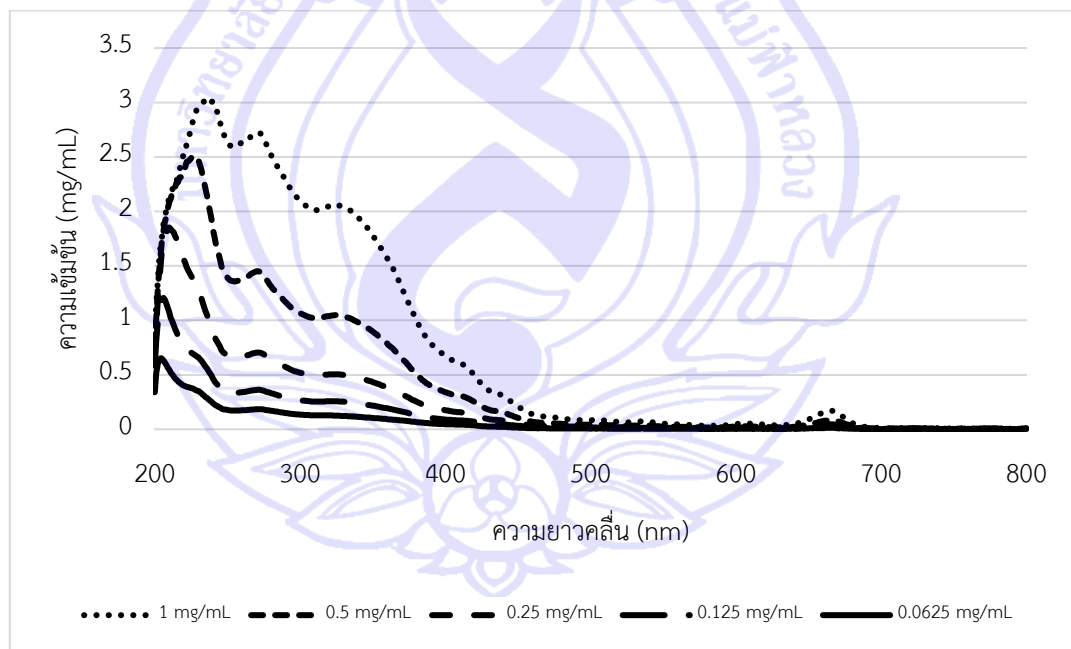
ผลวิจัยและอภิปราย

1. วิธีการเตรียมวัตถุดิบและการเตรียมสารสกัดหยาบ (Extraction)

จากการสกัดเพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L.) ด้วยวิธี Cold Maceration ในเอทานอล 80% ที่อัตราส่วน พืชแห้ง : เอทานอล เท่ากับ 1 : 5 จำนวน 3 รอบ รอบละ 24 ชั่วโมง จะทำให้ได้สารสกัดหยาบเพชรสังฆาต มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืดสีน้ำตาลเข้ม จำนวน 93.04 กรัม คิดเป็นร้อยละผลได้ของสารสกัด เท่ากับ 11.63

2. การวัดการดูดกลืนรังสี UV ของสารสกัด (UV Absorption)

นำสารสกัดเพชรสังฆาตมาวัดค่าดูดกลืนของสเปกตรัมในช่วง 200 - 800 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV spectrophotometer พบว่า มีค่าดูดกลืนสเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 1 โดยมี Peak ที่ 272 และ 331 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงการดูดกลืนแสงของฟลาโวนอยด์ คือ Band I ในช่วง 300-400 นาโนเมตร และ Band II ในช่วง 240-280 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งอาจมีส่วนประกอบของสารกลุ่ม Flavones, Flavonols (3-OH is substituted), Isoflavones, Flavanones หรือ Flavanonols เป็นต้น (Markham, 1982)



ภาพที่ 1 การดูดกลืนสเปกตรัมของสารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วงความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร

นอกจากนี้เมื่อนำ Peak ที่ 272 และ 331 นาโนเมตร มาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.0625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดลดลง จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มที่จะลดลงเช่นเดียวกัน

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนสเปกตรัมของสารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้น 0.0625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในช่วงคลื่นของรังสี UVB คือ 290 - 320 นาโนเมตร มาทำการคำนวณค่า SPF (Sun protection factor) โดยใช้สมการของ Mansur et al. (1986) ได้เท่ากับ 1.32 ± 0.01 ซึ่ง $EE \times I$ เป็นค่าคงที่ โดย Sayre et al. (1979) ได้มีการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าคงที่ $EE \times I$ ที่ใช้ในการคำนวณค่า SPF และค่าการดูดกลืน (A) ที่วัดได้

Wavelength (λ nm)	$EE \times I$ (normalized)	Absorbance (A)
290	0.0150	0.1516 \pm 0.01
295	0.0817	0.1415 \pm 0.01
300	0.2874	0.1358 \pm 0.01
305	0.3278	0.1310 \pm 0.01
310	0.1864	0.1278 \pm 0.01
315	0.0839	0.1260 \pm 0.01
320	0.0180	0.1249 \pm 0.01
Total	1	-

3. การวัดความสามารถในการละลายของสารสกัด

พบว่าสารสกัดเพชรสังฆาตสามารถละลายได้สมบูรณ์ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดและทุกปริมาตรที่ทำการทดสอบ โดยสังเกตเห็นสีของสารละลายจากสีเหลืองเข้มเป็นสีเหลืองอ่อนตามปริมาตรของตัวทำละลายที่เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้สารสกัดเพชรสังฆาตยังละลายได้สมบูรณ์ทุกอัตราส่วนในตัวทำละลายร่วม (เอทานอล : น้ำกลั่น) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า น้ำกลั่น เอทานอล กลีเซอริน โพรพิลีน ไกลคอล และตัวทำละลายร่วม (เอทานอล : น้ำกลั่น) เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารสกัดเพชรสังฆาต เนื่องจากสามารถทำให้เกิดการละลายได้อย่างสมบูรณ์ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การทดสอบการละลายของสารสกัดเพชรสังฆาต

ปริมาณของตัวทำละลาย	5	10	25	100
	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)
น้ำกลั่น	++	++	++	++
เอทานอล	++	++	++	++
กลีเซอริน	++	++	++	++
โพรพิลีน ไกลคอล	++	++	++	++

ตารางที่ 3 การทดสอบการละลายของสารสกัดเพชรสังฆาต (ต่อ)

ปริมาณของตัวทำละลาย	5	10	25	100
	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)	(มิลลิลิตร)
อัตราส่วนตัวทำละลายรวม	1 : 1	1 : 2	1 : 3	1 : 4
เอทานอล : น้ำกลั่น	++	++	++	++

หมายเหตุ (-) สำหรับไม่ละลาย (-+) สำหรับละลายบางส่วน และ (++) สำหรับละลายสมบูรณ์

4. การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

โดยมีกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และนำเสนอในหน่วย Gallic Acid Equivalent (GAE) หรือ $\mu\text{g GAE/mg Extract}$ พบว่าสารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เท่ากับ 0.282 เมื่อนำมาคำนวณตามสมการด้านล่าง จะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ $65.22 \pm 0.34 \mu\text{g GAE / mg Extract}$

5. การหาปริมาณรวมของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium Chloride

โดยมีเคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน และนำเสนอในหน่วย Quercetin Equivalent (QE) หรือ $\mu\text{g QE/mg Extract}$ พบว่า สารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เท่ากับ 0.185 เมื่อนำมาคำนวณตามสมการด้านล่าง จะทำให้ได้ปริมาณรวมของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เท่ากับ $32.30 \pm 1.48 \mu\text{g QE / mg Extract}$

6. การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

โดยมีวิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน และนำเสนอในหน่วย Ascorbic acid equivalent (AAE) หรือ $\mu\text{g AAE/mg Extract}$ พบว่าสารสกัดเพชรสังฆาตที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.446 จากนั้นนำมาคำนวณ % DPPH radical scavenging พบว่ามีค่าเท่ากับ 54.98% เมื่อนำ % DPPH radical scavenging ที่ได้มาคำนวณหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity, AA) ของสารสกัดเพชรสังฆาตพบว่า มีค่าเท่ากับ $12.27 \pm 0.32 \mu\text{g AAE /mg Extract}$

7. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

7.1 การพัฒนาสูตรต้นแบบ

หลังเตรียมอิมัลชันเสร็จ พบว่าไม่มีการแยกชั้นในสูตร F1-F9 โดยมีค่า pH อยู่ที่ 4-5 ซึ่งค่อนข้างเป็นกรด และพบว่าในสูตรที่มีการใส่ 2-Ethyl-Hexyl Methoxycinnamate จะมีความหนืดน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่ได้ใส่ ได้แก่ สูตร F2 มีความหนืดน้อยกว่าสูตร F1 และสูตร F6, F7 และ F8 มีความหนืดน้อยกว่าสูตร F3, F4 และ F5 ตามลำดับ

7.2 การทดสอบความคงตัวด้วยสภาวะเร่ง (Stability test)

พบว่าหลังผ่านสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์ทุกสูตรไม่มีการแยกชั้น (Phase separation) อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า pH โดยมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่า *p-value* เท่ากับ 0.00004 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) มีการเปลี่ยนแปลงของความหนืดโดยมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่า *p-value* เท่ากับ 0.001 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) ในส่วนของสีของผลิตภัณฑ์พบว่าสูตร F1-F2 มีลักษณะเป็นสีขาว ในขณะที่สูตร F3-F9 มีลักษณะเป็นสีเขียวมเหลือง เนื่องจากการใส่สกัดเพชรสังฆาต โดยพบว่าเมื่อใส่ความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ผลิตภัณฑ์จะมีสีที่เข้มขึ้น และมีค่าสีเขียวและเหลืองที่เพิ่มขึ้น ซึ่งพิจารณาจากค่า L^* ที่ลดลง ค่า a^* ที่ติดลบมากขึ้น และค่า b^* ที่เป็นบวกมากขึ้น

7.3 การทดสอบหาประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด SPF (Sun Protection Factor)

จากการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีด้วยเครื่อง UV Transmittance Analyzer UV2000S ที่ความยาวคลื่นรังสี UV 290 – 400 นาโนเมตร ของตัวรับครีมกันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาตในสูตร F1 – F9 โดยประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV-A จะประเมินจากค่า Protection grade of UVA (PA) และประสิทธิภาพป้องกันรังสี UV-B จะประเมินจากค่า Sun Protection Factor (SPF) (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2560) พบว่าสูตร F1-F9 มีค่า UVAPF น้อยกว่า 2 ทั้งหมด ตามประกาศคณะกรรมการเครื่องสำอาง จึงไม่สามารถระบุค่า PA ของผลิตภัณฑ์ได้ และมีค่า Sun Protection Factor (SPF) เท่ากับ 0.99 ± 0.00 , 2.77 ± 0.01 , 1.01 ± 0.00 , 1.02 ± 0.00 , 1.05 ± 0.00 , 2.77 ± 0.02 , 3.01 ± 0.02 , 3.06 ± 0.02 , 3.14 ± 0.03 ตามลำดับ โดยเมื่อเทียบสูตร F2 ซึ่งใส่สารกันแดดแบบเคมี (Ethylhexyl methoxycinnamate 5%) กับสูตร F8 ซึ่งมีการใส่สารกันแดดแบบเคมี (Ethylhexyl methoxycinnamate 5%) และสารสกัดเพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L. 1%) พบว่ามีสารสกัดเพชรสังฆาตสามารถทำให้ค่า SPF ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจาก 2.77 ± 0.01 เป็น 3.06 ± 0.02 ในอัตราเพิ่มขึ้นเท่ากับ 10.5%

อย่างไรก็ตามจากการทดสอบ พบว่าสูตรตัวรับกันแดด F2 – F9 มีค่าความสามารถในการป้องกันรังสียูวีบี (SPF) และรังสียูวีเอ (UVAPF) ที่ต่ำกว่าเกณฑ์ข้อกำหนดเรื่องการแสดงค่าความสามารถในการป้องกันแสงแดดของเครื่องสำอางที่มีสารป้องกันแสงแดด (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2560) จำเป็นจะต้องมีการพัฒนาสูตรต่อไป เช่น การเพิ่มสารในกลุ่ม Antioxidant เช่น Tocopherol และสารกลุ่ม Film former เพื่อเพิ่มกลไกการสะท้อนแสงให้กับสูตรพื้น รวมถึงการเพิ่มสารกันเสียที่มีฤทธิ์ครอบคลุมการต้านเชื้อรา เช่น Methylparaben เพื่อคงประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดที่ดียิ่งขึ้น

สรุปผลการวิจัย

การนำเอาส่วนลำต้นและใบของเพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L.) ซึ่งถูกใช้เป็นยาแผนโบราณมาพัฒนาต่อเพื่อใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอาง ด้วยการสกัดแบบวิธี Cold Maceration ในเอทานอล 80% จะทำให้มีร้อยละผลได้ของสารสกัด เท่ากับ 11.63 พบว่าสารสกัดมีค่าการดูดกลืนสเปกตรัมอยู่ในช่วงการดูดกลืนเดียวกับฟลาโวนอยด์ (Markham, 1982) โดยมีค่า SPF (Sun protection factor) เท่ากับ 1.32 ± 0.01 และสามารถละลายได้อย่างสมบูรณ์ในตัวทำละลายที่มีการใช้ในทางเครื่องสำอางและการแพทย์ (Ahmad et al., 2017) ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล กลีเซอริน และโพรพิลีน ไกลคอล โดยพบว่าสารสกัดมีองค์ประกอบเคมีของสารกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic content) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoid content) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมี %DPPH radical scavenging เท่ากับ 54.98% และมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ $12.27 \pm 0.32 \mu\text{g AAE/mg Extract}$

ในด้านการนำมาประยุกต์ใช้เป็นตำรับกันแดด พบว่าผลิตภัณฑ์กันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาตมีสีเขียวยอมเหลืองและมีความคงตัวที่สูง หลังผ่านสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์ไม่เกิดการแยกชั้น โดยพบค่าความเป็นกรด-ด่างและค่าความหนืดที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ด้านประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด พบว่าที่ความเข้มข้น 1% จะสามารถเพิ่มค่า SPF ในผลิตภัณฑ์กันแดดได้สูงถึง 10.50% จึงสรุปได้ว่าสารสกัดเพชรสังฆาตมีฤทธิ์ Sunscreen Booster อย่างไรก็ตาม สูตรตำรับกันแดด F2 – F9 ที่พัฒนาขึ้นมา มีความสามารถในการป้องกันแสงแดดที่ต่ำกว่าเกณฑ์ข้อกำหนดตามประกาศคณะกรรมการเครื่องสำอาง เรื่อง การแสดงค่าความสามารถในการป้องกันแสงแดดของเครื่องสำอางที่มีสารป้องกันแสงแดด พ.ศ. 2560 จึงสรุปได้ว่าสูตรผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นนั้นยังไม่เหมาะสมที่จะใช้ในเป็นผลิตภัณฑ์กันแดดและจะต้องมีการพัฒนาสูตรต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาส่วนประกอบและปริมาณของส่วนประกอบแต่ละชนิดในสารสกัดเพชรสังฆาต
2. พัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์กันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาตโดยอ้างอิงส่วนประกอบจากผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีจำหน่ายในท้องตลาด
3. ศึกษาผลความเข้มข้นของสารสกัดเพชรสังฆาตต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดในความเข้มข้นอื่น
4. ศึกษาการระคายเคืองและประสิทธิภาพในอาสาสมัครของผลิตภัณฑ์กันแดดจากสารสกัดเพชรสังฆาต

รายการอ้างอิง

- จุฑามาศ เทียงธรรม. (2546). *การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ต้านออกซิแดนจากสารสกัดเพชรสังฆาต* (วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
<http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/2048>
- ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, สุชาติดา มานอก, บัลกีส มามะ, และนุริชัน นิสัน (2560). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากใบมะรุมที่พบในชุมชนศรีภูมิในพื้นที่ฝั่งธนบุรี. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 13(2), 80-9.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2560). *การแสดงค่าความสามารถในการป้องกันแสงแดดของเครื่องสำอางที่มีสารป้องกันแสงแดด พ.ศ. ๒๕๖๐*. สำนักพิมพ์คณะกรรมการรัฐมนตรีและราชกิจจานุเบกษา.
- Abucafıy, M. P., Manaia, E. B., Kaminski, R. C. K., Sarmento, V. H. V., & Chiavacci, L. A. (2016). Gel based sunscreen containing surface modified tio₂obtained by sol-gel process: Proposal for a transparent UV inorganic filter. *Journal of Nanomaterials*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/8659240>
- Ahmad, R., Borowiec, P., Falck-Ytter, A. B., & Strætkevørn, K. O. (2017). Extraction, solubility and antimicrobial activity of (-) USnic acid in ethanol, a pharmaceutically relevant solvent. *Natural Product Communications*, 12(7), 1934578X1701200. <https://doi.org/10.1177/1934578x1701200725>
- Akhtar, N. (2011). Evaluation of various functional skin parameters using a topical cream of *Calendula officinalis* extract. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(2), 199–206. <https://doi.org/10.5897/ajmr10.368>
- Choquenot, B., Couteau, C., Papis, E., & Coiffard, L. (2008). Quercetin and Rutin as potential sunscreen agents: Determination of efficacy by an in vitro method. *Journal of Natural Products*, 71(6), 1117–1118.
<https://doi.org/10.1021/np7007297>
- Dhanasekaran, S. (2020). Phytochemical characteristics of aerial part of *Cissus quadrangularis* (L) and its in-vitro inhibitory activity against leukemic cells and antioxidant properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(5), 1302–1309. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.01.005>

- Garvita, S., & Jay, K. (2018). Artificial and natural photoprotective compounds. In Rajesh P. R. (Ed.), *Sunscreens: Source, Formulations, Efficacy and Recommendations* (pp. 153-200). NOVA Science.
- International Organization for Standardization. (2012). Determination of sunscreen UVA photoprotection *in vitro* (ISO 24443: 2012).
<https://www.iso.org/standard/46522.html>
- John, B., George, S., & Reddy, V. R. K. (2014). Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 406-408.
<http://www.ijppsjournal.com/Vol6Issue1/8156.pdf>
- Jucá, M. M., Filho, F. S. S. L., De Almeida, J. C., Da Silva Mesquita, D., De Moraes Barriga, J. R., & Vasconcelos, S. M. M. (2018). Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural Product Research*, 34(5), 692–705.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1493588>
- Kothari, S. C., Shivarudraiah, P., Venkataramaiah, S. B., Koppolu, K. P., Gavara, S., Jairam, R. K., . . . Soni, M. G. (2011). Safety assessment of *Cissus quadrangularis* extract (CQR-300): Subchronic toxicity and mutagenicity studies. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3343–3357.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.029>
- Mansur, J. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. A. & Azulay, R. D. (1986) Determinação Do Fator De Proteção Solar Por Espectrofotometria. *Anais Brasileiros De Dermatologia*, 61, 121-124.
- Markham, K. R. (1982). *Techniques of flavonoid identification*.
<https://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=US201300358126>
- Mishra, G., Srivastava, S., & Nagori, B. P. (2010). Pharmacological and therapeutic activity of *Cissus quadrangularis*: An overview. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1298–1310.
<https://www.cabdirect.org/abstracts/20103155908.html>

- Shah, U. (2011). *Cissus quadrangularis* L.: Phytochemicals, Traditional Uses and Pharmacological Activities - a review article. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 41-44.
<http://www.ijppsjournal.com/Vol3Suppl4/2439.pdf>
- Smaoui, S., Hlima, H. B., Chobba, I. B., & Kadri, A. (2017). Development and stability studies of sunscreen cream formulations containing three photo-protective filters. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1216–S1222.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.020>
- Velasco, M. V. R., Balogh, T. S., Pedriali, C. A., Sarruf, F. D., Pinto, C. A., Kaneko, T. M., . . . Baby, A. R. (2008). Associação da rotina com p-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: avaliação In vitro da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(1), 23-27. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7576>
- Vijayalakshmi, A., Kumar, P., Priyadarsini, S., & Meenaxshi, C. (2013). In vitro antioxidant and anticancer activity of flavonoid fraction from the aerial parts of *Cissus quadrangularis* Linn. against human breast carcinoma cell lines. *Journal of Chemistry*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/150675>
- Yarovaya, L., & Khunkitti, W. (2019). Effect of grape seed extract as a sunscreen booster. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 41(3), 708-715. <https://doi.org/10.14456/sjst-psu.2019.71>
- Yarovaya, L., Waranuch, N., Wisutiprot, W., & Khunkitti, W. (2020). Effect of grape seed extract on skin fibroblasts exposed to UVA light and its photostability in sunscreen formulation. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(4), 1271–1282. <https://doi.org/10.1111/jocd.13711>