

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดกระถ่อน
เพื่อประยุกต์ในเครื่องสำอาง

Antioxidant and Antityrosinase Activities from *Sandoricum koetjape* (Burm.F.)
Merr. Extracts for Application in Cosmetics

สิริกัญ ปากิจพงษ์

อีเมล: 6551701280@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริตา สังข์ทอง

อีเมล: sarita.san@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบศักยภาพของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกระถ่อน (*Sandoricum koetjape*) ได้แก่ ใบอ่อน ใบแก่ กิ่ง และเปลือก ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ธรรมชาติสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยทำการสกัดตัวอย่างพืชด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ 95% เอทานอล, 50% เอทานอล และอะซิโตน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (TPC) ปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ (TFC) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการวิจัยพบว่า ชนิดของตัวทำละลายและส่วนของพืชมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารสกัดใบอ่อนที่สกัดด้วย 50% เอทานอล แสดงศักยภาพสูงสุดในภาพรวม โดยมีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (TPC) ในระดับสูง (41.71 mgGAE/g) และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดทั้งในการทดสอบ DPPH ($IC_{50}=78.55 \mu\text{g/mL}$) และ ABTS ($IC_{50}=76.91 \mu\text{g/mL}$) นอกจากนี้ ยังเป็นกลุ่มสารสกัดเพียงกลุ่มเดียวที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($IC_{50}=355.62 \mu\text{g/mL}$) สารสกัดดังกล่าวจึงถูกนำมาพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์หลักในความเข้มข้น 1.60% (w/w) ในตำรับเครื่องสำอางต้นแบบ 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 (Serum เนื้อเหลว) และ สูตรที่ 2 (Gel-cream เนื้อกึ่งครีมเจล) ผลการทดสอบความคงตัวสถานะเร่งพบว่า ทั้งสองสูตรมีค่า pH เหมาะสมต่อผิวและไม่เกิดการแยกชั้น แต่พบว่าสีของผลิตภัณฑ์เข้มข้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น สรุปได้ว่า สารสกัดใบอ่อนกระถ่อนที่

สกัดด้วย 50% เอทานอล มีศักยภาพสูง และตำรับ Gel-cream (สูตร 2) มีความคงตัวที่ดี เหมาะ
สำหรับเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางกลุ่มชะลอวัยและไวท์เทนนิ่งต่อไป

คำสำคัญ: กระท้อน, *Sandoricum koetjape*,ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส,
ความคงตัวของผลิตภัณฑ์

Abstract

This research evaluated the biological potential of crude extracts from different parts of santol (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) including young leaves, old leaves, branch, and bark for cosmetic applications. Plant samples were extracted using 95% ethanol, 50% ethanol, and acetone. Extracts were analyzed for Total Phenolic Content (TPC), Total Flavonoid Content (TFC), antioxidant activity (DPPH, ABTS assays), and tyrosinase inhibitory activity. Results revealed that solvent type and plant part significantly ($p < 0.05$) influenced chemical composition and biological activities. The 50% ethanol young leaf extract showed the highest potential, possessing high TPC (41.71 mg GAE/g) and the strongest antioxidant activity against DPPH radicals ($IC_{50}=78.55 \mu\text{g/mL}$) and ABTS radicals ($IC_{50}=76.91 \mu\text{g/mL}$). It was also the only group with significant tyrosinase inhibitory activity ($IC_{50}=355.62 \mu\text{g/mL}$). This extract was therefore developed as the main active ingredient at a concentration of 1.60% (w/w) in two prototype cosmetic formulations: Formula 1 (Liquid serum) and Formula 2 (Gel-cream). Accelerated stability test results revealed that both formulations had a skin-appropriate pH and no phase separation but were slight darkening. In conclusion, the 50% ethanol extract of young santol leaves has high potential, and Formula 2 demonstrated good stability, making it a suitable guideline for the future development of anti-aging and whitening cosmetic products.

Keywords: Santol, *Sandoricum koetjape*, Antioxidant Activity, Tyrosinase Inhibition,
Product Stability

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

ปัจจุบันปัญหาความเสื่อมสภาพของผิวพรรณ เช่น ริ้วรอยก่อนวัยและความหมองคล้ำ เป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อความมั่นใจของผู้บริโภค สาเหตุหลักเกิดจากความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ที่ถูกกระตุ้นจากปัจจัยภายนอก เช่น รังสียูวีและมลภาวะ ก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ที่ทำลายโครงสร้างผิว (Valko et al., 2007) ควบคู่ไปกับการทำงานที่มากเกินไปของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ในกระบวนการสร้างเม็ดสี (Melanogenesis) ซึ่งนำไปสู่การเกิดฝ้า กระ และจุดด่างดำ (Panzella & Napolitano, 2019; Wijaya, 2022) ด้วยเหตุนี้ การค้นหาสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อชะลอวัยและปรับสีผิวให้กระจ่างใส

ในขณะเดียวกัน อุตสาหกรรมเครื่องสำอางโลกกำลังมุ่งสู่แนวโน้ม "Green Cosmetics" ที่เน้นความปลอดภัยและความยั่งยืน ผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญกับผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติ (Natural Ingredients) ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีผลข้างเคียง (Herayati & Elianasari, 2024) ประเทศไทยในฐานะแหล่งความหลากหลายทางชีวภาพ มีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีศักยภาพสูง กระท่อน (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) เป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจและสมุนไพรพื้นบ้านที่น่าสนใจ (Lim, 2012) โดยมีรายงานการศึกษาพบว่า ส่วนต่าง ๆ ของกระท่อน เช่น ใบ เปลือกต้น และผล ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญหลายกลุ่ม อาทิ koetjapic acid, sentulic acid, flavonoids และ phenolic compounds ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Armaghan et al., 2024; Bailly, 2022)

อย่างไรก็ตาม แม้จะมีข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีพื้นฐาน แต่สำหรับกระท่อนสายพันธุ์ไทย ยังขาดการศึกษาอย่างเป็นระบบที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่าง "ส่วนของพืช" (ใบอ่อน, ใบแก่, กิ่ง, เปลือก) (Starkevič et al., 2020) และ "ชนิดของตัวทำละลาย" (Hajji Nabih et al., 2023) ต่อฤทธิ์ทางชีวภาพและการเชื่อมโยงข้อมูลระหว่างปริมาณสารสำคัญกับประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส การขาดองค์ความรู้นี้เป็นข้อจำกัดในการนำวัตถุดิบไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์อย่างเต็มประสิทธิภาพ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยดังกล่าว เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีศักยภาพสูงสุดมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้นแบบ ซึ่งจะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับพืชท้องถิ่นและส่งเสริมการใช้ทรัพยากรในประเทศอย่างยั่งยืน

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัด (Plant Materials and Extraction)

การศึกษานี้ใช้วัสดุจากพืชกระท่อน (*Sandoricum koetjape*) สายพันธุ์ปุ๋ยฝ้าย จากต้นกระท่อนอายุประมาณ 10 ปี ปลูกในพื้นที่กรุงเทพมหานคร จำนวน 4 ส่วน ได้แก่ ใบอ่อน ใบแก่ กิ่ง

(ยอดกิ่งก้าน) และเปลือก (เปลือกนอกลำต้น) ตัวอย่างทุกชิ้นเก็บในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง มิถุนายน ซึ่งเป็นฤดูผลิดอกและใบใหม่ โดยเลือกเก็บจากต้นที่แข็งแรง ปราศจากโรคและแมลง ไม่มีการใช้สารเคมีป้องกันศัตรูพืชล่วงหน้า อย่างน้อย 30 วัน ก่อนการเก็บตัวอย่าง ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hajji Nabih et al. (2023) โดยนำมาล้างทำความสะอาด ผึ่งแห้ง และบดละเอียด มาชั่งน้ำหนักส่วนละ 6 กรัม จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ 95% เอทานอล, 50% เอทานอล และอะซิโตน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการสกัดโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิคบาธ (Ultrasonic Bath) ที่ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 60 °C เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 2 รอบ (cycles) โดยหลังจากครบการสกัดรอบแรก จะมีการนำสารละลายมาผสมแบบหมุนวน (vortex) เป็นเวลา 1 นาที กรองสารสกัดและระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบสำหรับนำไปทดสอบต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (TPC) ดำเนินการทดลองตามวิธีของ Ladeska et al. (2022) โดยเริ่มต้นปีเตสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน Gallic acid (0–250 µg/mL) ปริมาตร 20 µL ลงในหลุมของ 96-well microplate จากนั้นเติม Folin–Ciocalteu reagent (เจือจาง 1:10) ปริมาตร 100 µL ลงในแต่ละหลุม เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 4 นาที ต่อมา เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% Na₂CO₃) ปริมาตร 80 µL ลงไป เขย่าผสมอีกครั้ง และนำไปบ่ม (incubate) ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ในการคำนวณผลจะสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิก ความเข้มข้น (0–250 µg/mL) เพื่อหาสมการเชิงเส้น จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของกรดแกลลิกสมมูล (C, µg GAE/mL) ที่ได้จากกราฟมาตรฐานไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ผลการวิเคราะห์ทั้งหมดจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SD) จากการทดสอบ 3 ซ้ำ โดยค่าที่ได้แสดงเป็นหน่วย mg GAE/g extract

3. การวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ (TFC) ดำเนินการทดลองตามวิธีของ Ladeska et al. (2022) โดยเริ่มต้นปีเตสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน Quercetin (0–250 µg/mL) ปริมาตร 20 µL ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท จากนั้น เติมสารละลาย Aluminium chloride 10% ปริมาตร 20 µL และสารละลาย Potassium acetate 1 M ปริมาตร 20 µL ตามลำดับ ต่อมาจึงเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water) 160 µL เพื่อปรับปริมาตรรวมในแต่ละหลุมให้เป็น 220 µL ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ สุดท้าย นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ในการคำนวณผลจะสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของ Quercetin ความเข้มข้น (0–250 µg/mL) เพื่อหาสมการเชิงเส้น จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของ Quercetin สมมูล (C, µg QE/mL) ที่ได้จาก

กราฟมาตรฐานไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ผลการวิเคราะห์ทั้งหมดจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดสอบ 3 ซ้ำ โดยค่าที่ได้แสดงเป็นหน่วย mg QE/g extract

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assays ดำเนินการทดลองตามวิธีของ Ghadigaonkar et al., 2021 โดยเริ่มต้นด้วยการปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน Ascorbic acid (0–250 μ g/mL) ปริมาตร 20 μ L ลงในหลุมของ 96-well microplate จากนั้นเติมสารละลาย DPPH (0.147 mM) ปริมาตร 180 μ L ลงในแต่ละหลุม ผสมสารให้เข้ากันโดยใช้ vortex เบา ๆ และนำไปบ่ม (incubate) ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ เมื่อครบกำหนดเวลา จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยในการทดลองนี้ได้ใช้เอทานอลเป็น blank และกรดแอสคอร์บิกเป็น positive control ในการคำนวณผลจะคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งใช้เป็นตัวชี้วัดศักยภาพในการยับยั้ง ผลการวิเคราะห์จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สารสกัดที่มีค่า %Inhibition สูง และค่า IC_{50} ต่ำ แสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging assays ดำเนินการตามวิธีของ Leakaya et al., 2018 เตรียมสารละลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ โดยผสมสารละลาย ABTS (7.4 mM) และสารละลาย Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$, 2.6 mM) ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) บ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12–16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางด้วยเมทานอลจนได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.100 ± 0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 nm ปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน Trolox (0–250 μ g/mL) ปริมาตร 10 μ L ลงในหลุมของ 96-well microplate จากนั้นเติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ที่เตรียมไว้ 200 μ L ลงในแต่ละหลุม ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าเบา ๆ และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank และ Trolox เป็น positive control ในการคำนวณผลจะคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (ABTS radical scavenging activity) จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งใช้เป็นตัวชี้วัดศักยภาพในการยับยั้ง ผลการวิเคราะห์จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สารสกัดที่มีค่า %Inhibition สูง และค่า IC_{50} ต่ำ แสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า

6. การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibition Activity) ดำเนินการตามวิธีของ Cui et al. (2018) โดยปีเปตสารละลาย L-DOPA ปริมาตร 40 μ L ลงในหลุมของ 96-well microplate ตามด้วย phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) ปริมาตร 80 μ L และสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน kojic acid ปริมาตร 40 μ L จากนั้นจึงเติมเอนไซม์ mushroom tyrosinase (250 U/mL) ปริมาตร 40 μ L เพื่อเริ่มปฏิกิริยา ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันโดยการเขย่าเบา ๆ และนำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยาเมื่อครบกำหนดเวลา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate Reader ในการคำนวณผลจะคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ซึ่งใช้เป็นตัวชี้วัดศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ ผลการวิเคราะห์จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สารสกัดที่มีค่า %Inhibition สูง และค่า IC_{50} ต่ำ ศักยภาพสูงในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Statistical Analysis)

การทดลองทั้งหมดดำเนินการซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (Triplicate) ข้อมูลที่ได้แสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ด้วยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ นอกจากนี้ วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างตัวแปร (เช่น TPC กับค่า IC_{50}) โดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient)

8. การวิเคราะห์เพื่อจัดลำดับศักยภาพของสารสกัด (Ranking of Extract Potential)

เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ ข้อมูลจากการทดสอบทั้ง 4 ด้าน (TPC, TFC, DPPH, ABTS) จะถูกนำมาคำนวณเพื่อจัดลำดับคะแนนรวม (Composite Scoring) เพื่อประเมินศักยภาพของสารสกัดแบบองค์รวม (Holistic evaluation) และลดข้อจำกัดด้านความแตกต่างของหน่วยและทิศทางของข้อมูล (Hall et al., 2022) โดยใช้การแปลงค่ามาตรฐาน Z-score เป็นเครื่องมือหลักในการปรับสเกลข้อมูล (Ćirović et al., 2019; Gite et al., 2015; Andrade, 2021) โดยเริ่มจากการแปลงข้อมูล (Data Transformation) ของค่า IC_{50} ให้เป็นค่าศักยภาพ ($1/IC_{50}$) เพื่อปรับทิศทางข้อมูลให้สอดคล้องกับปริมาณสารออกฤทธิ์ (ค่ายิ่งสูงยิ่งดี) จากนั้นแปลงข้อมูลดิบทั้งหมดให้เป็นคะแนนมาตรฐาน (Z-score) เพื่อขจัดความแตกต่างของหน่วยวัด (Andrade, 2021) โดย Z-score จะคำนวณแยกกันในแต่ละการทดสอบ โดยใช้สูตร:

$$Z = \frac{(x - \mu)}{\sigma}$$

โดยที่ z คือ ค่ามาตรฐาน Z-score ของตัวอย่างนั้น

x คือ ค่าจริงของตัวอย่าง (ที่ผ่านการแปลงค่าในขั้นตอนที่ 1 แล้ว)

μ คือ ค่าเฉลี่ย (Mean) ของตัวอย่างทั้งหมดในการทดสอบนั้น

σ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของตัวอย่างทั้งหมดในค่า Z-score ทั้ง 4 ค่าของสารสกัดแต่ละชนิด จะถูกนำมาหาค่าเฉลี่ย (Average) เพื่อคำนวณเป็นคะแนนรวมสุดท้าย โดยให้ความสำคัญ (Weighting) กับทุกการทดสอบเท่ากัน (Andrade, 2021; Gite et al., 2015) ตามสมการ:

$$\text{Composite Score} = \frac{Z_{\text{TPC}} + Z_{\text{TFC}} + Z_{\text{DPPH}} + Z_{\text{ABTS}}}{n}$$

โดยที่ n คือจำนวนการทดสอบทั้งหมด (ในที่นี้คือ 4)

ในการแปลผลคะแนน Composite Score จะมีจุดอ้างอิง (Benchmark) คือ "คะแนน 0 (ศูนย์)" ซึ่งหมายถึง "ค่าเฉลี่ย" ของประสิทธิภาพโดยรวมของสารสกัดทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษานี้ ดังนั้น หากสารสกัดใดมี Composite Score > 0 (ค่าเป็นบวก) หมายความว่าสารสกัดนั้นมีประสิทธิภาพโดยรวมสูงกว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่ม (ยังมีค่าเป็นบวกสูง แสดงว่าเป็นสารสกัดที่มีศักยภาพโดดเด่น) ในทางกลับกัน หากมี Composite Score < 0 (ค่าเป็นลบ) หมายความว่าประสิทธิภาพโดยรวมต่ำกว่าค่าเฉลี่ย และหากมี Composite Score ~ 0 หมายความว่าประสิทธิภาพโดยรวมใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของกลุ่มจากนั้น จึงทำการจัดอันดับ (Ranking) โดยนำค่า Composite Score ที่คำนวณได้ของสารสกัดแต่ละชนิด มาจัดเรียงลำดับจากค่าสูงสุด (บวกมากที่สุด) ไปยังค่าต่ำสุด (ลบมากที่สุด) (Gite et al., 2015) เพื่อระบุว่าสารสกัดจากส่วนใดและตัวทำละลายใด มีศักยภาพทางชีวภาพโดยรวมดีที่สุด สารสกัดที่มีค่า Composite Score สูงที่สุด (Rank 1) จะถูกจัดเป็นสารสกัดที่มีศักยภาพดีที่สุดและจะถูกคัดเลือกเป็นตัวแทนในการพัฒนาตำรับ

9. การพัฒนาผลิตภัณฑ์และการทดสอบความคงตัว (Product Development and Stability Test)

คัดเลือกสารสกัดที่มีศักยภาพสูงสุดและคำนวณความเข้มข้นที่ใช้ในตำรับจากการคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ของการทดสอบ เพื่อนำไปพัฒนาเครื่องสำอางต้นแบบ 2 สูตร ได้แก่ เซรัมไฮโดรเจล (water-gel serum) และ เจลครีมชนิด O/W (brightening gel-cream) เพื่อเปรียบเทียบความเหมาะสมด้านเนื้อสัมผัสและความคงตัวของตำรับ จากนั้นทำการทดสอบความคงตัว (Stability Testing) ด้วยสภาวะเร่งแบบร้อนสลับเย็น (Heating–Cooling Cycle) ในตู้ทดสอบอุณหภูมิ (Stability Chamber) เป็นจำนวน 6 รอบ โดย 1 รอบการทดสอบ ประกอบด้วย

การเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ $45 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ $4 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รวม 48 ชั่วโมงต่อรอบ) หลังจากสิ้นสุดการทดสอบในแต่ละรอบ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จะถูกนำมาประเมินคุณลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ การสังเกตลักษณะภายนอก (เช่น การแยกชั้น สี กลิ่น) เปรียบเทียบกับวันเริ่มต้น, การวัดค่าสีด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Colorimeter ในระบบ CIE Lab* ซึ่งถือว่าไม่เปลี่ยนแปลงหากค่าความแตกต่าง (ΔE) น้อยกว่า 1.0, การวัดค่า pH โดยมีเกณฑ์ยอมรับที่ 5.5–6.5, และการประเมินความหนืดโดยการให้คะแนน

9.1 Prototype 1 (Water-Gel Serum): เตรียมส่วนของน้ำ (water phase) โดยละลาย Disodium EDTA, Glycerin, 1,3-Propanediol และ Panthenol ใน DI Water จากนั้นค่อยๆ โปริย Carbomer 980 (หรือ Xanthan gum) ลงไป กวนจนกระทั่งพองตัวสม่ำเสมอเป็นเนื้อเจลใส ทำการปรับค่า pH (neutralize) ด้วย NaOH 10% จนได้ความหนืดที่ต้องการ จากนั้นจึงเติมสารสกัดกระเทียม 1.60% และสารกันเสีย (Phenoxyethanol (and) Ethylhexylglycerin) กวนผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว

9.2 Prototype 2 (Gel-Cream): เตรียมตัวรับด้วยวิธี O/W emulsification โดยแบ่งส่วนผสมออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ (A) ส่วนของน้ำ (Water phase) และ (B) ส่วนของน้ำมัน (Oil phase) (A) ส่วนของน้ำ: ผสม DI Water, Disodium EDTA, Glycerin และ 1,3-Propanediol เข้าด้วยกัน ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ $75\text{--}80^\circ\text{C}$ (B) ส่วนของน้ำมัน: ผสม C12-15 Alkyl Benzoate, Caprylic/Capric Triglyceride, Glyceryl Stearate Citrate, Polysorbate-60 และ Cetearyl Alcohol (สารสร้างเนื้อและอิมัลซิไฟเออร์) เข้าด้วยกัน ให้ความร้อนจนละลายเป็นเนื้อเดียวที่อุณหภูมิประมาณ $75\text{--}80^\circ\text{C}$ จากนั้น ค่อยๆ เทส่วน (B) ลงในส่วน (A) ขณะปั่นกวนด้วยเครื่องกวนผสม (Homogenizer) ที่ความเร็วสูงเพื่อให้เกิดอิมัลชัน (emulsification) ปั่นกวนต่อจนเนื้อครีมเข้ากันดี แล้วเปลี่ยนเป็นเครื่องกวนผสมแบบใบพัด (Overhead Stirrer) กวนต่อจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 40°C จึงเติมสารสกัดกระเทียม 1.60% และสารกันเสีย กวนให้เข้ากัน และปรับค่า pH สุดท้ายด้วย NaOH (ถ้าจำเป็น)

ผลวิจัย (Results)

1. ผลของตัวทำละลายและส่วนของพืชต่อปริมาณสารสำคัญ

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-Way ANOVA) ในตารางที่ 1 พบปฏิกริยาสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยส่วนของพืชและชนิดตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ต่อทั้งปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (TPC) และปริมาณรวมของฟลาโวนอยด์ (TFC) ผลการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของตัวทำละลายภายในแต่ละส่วนของพืช พบว่า สารสกัดจากใบอ่อนที่สกัดด้วย 95% Ethanol ให้ค่า TPC สูงที่สุด ($43.80 \pm 4.12 \text{ mg GAE/g}$) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่าง

มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จากกลุ่มสารสกัดใบอ่อน ใบแก่ และกิ่งก้านที่สกัดด้วย 50% Ethanol ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกด้วย Acetone ให้ค่า TPC ต่ำที่สุด ในทางตรงกันข้าม ผลการวิเคราะห์ TFC พบว่า สารสกัดจากเปลือกที่สกัดด้วย Acetone ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญอยู่ที่ 57.09 ± 2.79 mg QE/g รองลงมาคือ กลุ่มสารสกัดที่ใช้ Acetone และ 95% Ethanol จากส่วนอื่น ๆ ในขณะที่กลุ่มสารสกัดที่ใช้ 50% Ethanol ให้ค่า TFC ต่ำที่สุดในทุกส่วนของพืช

ตารางที่ 1 ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ของสารสกัดกระถ่อน

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	TPC (mg QAE/g extract)	TFC (mg QE/g extract)
ใบอ่อน	95%Ethanol	43.80 ± 4.12^{aA}	11.40 ± 0.85^{fB}
ใบอ่อน	50%Ethanol	41.71 ± 7.16^{abA}	3.01 ± 0.25^{gC}
ใบอ่อน	Acetone	7.57 ± 1.12^{deB}	47.28 ± 4.20^{bA}
ใบแก่	95%Ethanol	21.71 ± 0.89^{cB}	20.01 ± 0.31^{eB}
ใบแก่	50%Ethanol	37.22 ± 3.30^{abA}	3.28 ± 0.36^{gC}
ใบแก่	Acetone	16.49 ± 1.41^{cdB}	39.22 ± 2.53^{cA}
กิ่งก้าน	95%Ethanol	32.26 ± 6.46^{bA}	30.06 ± 3.19^{dB}
กิ่งก้าน	50%Ethanol	36.17 ± 4.11^{abA}	3.39 ± 0.71^{gC}
กิ่งก้าน	Acetone	15.57 ± 2.63^{cdB}	40.98 ± 3.50^{bcA}
เปลือก	95%Ethanol	6.03 ± 1.56^{eB}	44.38 ± 1.35^{bB}
เปลือก	50%Ethanol	17.40 ± 3.06^{cdA}	7.66 ± 1.11^{fgC}
เปลือก	Acetone	1.52 ± 0.72^{eB}	57.09 ± 2.79^{aA}

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n = 3$) ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a, b, c...) ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ในขณะที่ ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ (A, B, C...) ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของตัวทำละลายภายในส่วนสกัดเดียวกัน

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากตารางที่ 2 ที่แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างปัจจัยการสกัดเช่นเดียวกัน โดย สารสกัดใบอ่อนใน 50% Ethanol แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด โดยให้ค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ต่ำที่สุดในการทดสอบ DPPH (78.55 ± 4.48 $\mu\text{g/mL}$) และ ABTS (76.91 ± 1.61 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสารสกัดใบอ่อนใน 95% Ethanol สำหรับสารสกัดจากเปลือกและกิ่ง

ก้านที่สกัดด้วย Acetone พบว่ามีค่า IC_{50} สูงกว่า 3,000 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำที่สุดในกลุ่มการทดลอง

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่ามีเพียงสารสกัดที่ใช้ ตัวทำละลาย 50% Ethanol เท่านั้นที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ ในขณะที่สารสกัดจาก 95% Ethanol และ Acetone ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งในทุกส่วนของพืช โดย สารสกัดใบอ่อนใน 50% Ethanol ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ $355.06 \pm 13.83 \mu\text{g/mL}$ ตามด้วยสารสกัดจากกิ่งก้านและใบแก่ในตัวทำละลายเดียวกันตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS และ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดกระถ่อน

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	DPPH	ABTS	Tyrosinase inhibition
		IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
สารมาตรฐาน	DI Water/ Phosphate Buffer	Ascorbic: 67.64 ± 5.01	Trolox: 67.56 ± 6.15	Kojic acid: 42.78 ± 6.27
ใบอ่อน	95%Ethanol	98.93 ± 3.84^{aA}	147.56 ± 17.22^{abA}	ND
ใบอ่อน	50%Ethanol	78.55 ± 4.48^{aA}	76.91 ± 1.61^{aA}	355.06 ± 13.83^{aA}
ใบอ่อน	Acetone	302.82 ± 26.28^{abcB}	689.42 ± 86.63^{deB}	ND
ใบแก่	95%Ethanol	203.34 ± 6.69^{abA}	205.83 ± 29.81^{bA}	ND
ใบแก่	50%Ethanol	145.03 ± 11.81^{abA}	151.86 ± 2.67^{abA}	642.94 ± 42.37^{cA}
ใบแก่	Acetone	624.89 ± 70.79^{dB}	640.49 ± 48.58^{dB}	ND
กิ่งก้าน	95%Ethanol	189.58 ± 4.94^{abA}	161.12 ± 3.94^{abA}	ND
กิ่งก้าน	50%Ethanol	170.73 ± 7.53^{abA}	171.59 ± 9.69^{abA}	522.62 ± 19.10^{bA}
กิ่งก้าน	Acetone	542.49 ± 64.86^{cdB}	648.47 ± 20.82^{dB}	ND
เปลือก	95%Ethanol	1032.62 ± 225.01^{eB}	778.99 ± 58.86^{eB}	ND
เปลือก	50%Ethanol	379.85 ± 38.09^{bcA}	312.21 ± 7.52^{cA}	ND
เปลือก	Acetone	3856.13 ± 354.55^{fC}	ND	ND

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n = 3$) “ND” หมายถึง ค่า IC_{50} สูงกว่าเพดานความเข้มข้นที่ทดสอบ ($>3,000 \mu\text{g/mL}$) ซึ่งไม่สามารถวัดได้ภายในช่วงการทดสอบ ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a, b, c...) ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ในขณะที่ ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ (A, B, C...) ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของตัวทำละลายภายในส่วนสกัดเดียวกัน

3. ความสัมพันธ์ของตัวแปรและผลการการจัดลำดับศักยภาพ

ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson's correlation) พบความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ระหว่างค่า TPC กับค่า IC_{50} ของทั้ง DPPH และ ABTS ซึ่งแสดงว่าปริมาณสารฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างค่า TFC กับค่า IC_{50} แสดงว่า ปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่มีความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากค่า IC_{50} ยิ่งสูง ประสิทธิภาพยิ่งต่ำ ซึ่งบ่งชี้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่น่าจะเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ หรือสารฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดนี้อาจมีโครงสร้างที่ไม่เอื้อต่อการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดีเท่ากับสารกลุ่มอื่น

เมื่อนำข้อมูลจากการทดสอบทั้ง 4 ด้าน (TPC, TFC, DPPH, ABTS) มาวิเคราะห์คะแนนรวม (Composite Score) เพื่อจัดลำดับศักยภาพ พบว่า สารสกัดใบอ่อนที่สกัดด้วย 50% Ethanol มีคะแนนรวมสูงสุด (0.698) จึงถูกคัดเลือกเป็นสารสกัดต้นแบบสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 3 การจัดอันดับศักยภาพของสารสกัดจากกระท้อน (Composite Ranking; Penalized Model)

ลำดับ	ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	คะแนนรวม (Composite Score)
1	ใบอ่อน	50%Ethanol	0.698
2	ใบอ่อน	95%Ethanol	0.652
3	กิ่งก้าน	95%Ethanol	0.519
4	ใบแก่	50%Ethanol	0.331
5	กิ่งก้าน	50%Ethanol	0.248
6	ใบแก่	95%Ethanol	0.129
7	ใบอ่อน	Acetone	-0.115
8	กิ่งก้าน	Acetone	-0.181
9	ใบแก่	Acetone	-0.219
10	เปลือก	50%Ethanol	-0.348
11	เปลือก	95%Ethanol	-0.499
12	เปลือก	Acetone	-1.215

หมายเหตุ คะแนนรวม (Composite Score) คำนวณจากการรวมค่าคะแนนมาตรฐาน (Z-score) ของตัวแปร 4 รายการ โดยค่า IC_{50} (DPPH, ABTS) ถูกแปลงเป็นค่าส่วนกลับ ($1/IC_{50}$) ก่อนการคำนวณเพื่อให้ทิศทางข้อมูลเป็น "ค่ายิ่งสูงยิ่งดี" เช่นเดียวกับปริมาณสาร (TPC, TFC) คะแนนรวมที่สูงกว่า 0 แสดงถึงประสิทธิภาพที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

4. ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์และความคงตัว

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาตำรับเครื่องสำอางต้นแบบผสมสารสกัดใบอ่อน 50% Ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 1.60 (w/w) จำนวน 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 (Serum) และสูตรที่ 2 (Gel-cream) มีลักษณะทางกายภาพที่ดีเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ หลังผ่านการทดสอบความคงตัวสภาวะเร่ง (Heating–Cooling Cycle) จำนวน 6 รอบ จากตารางที่ 4 พบว่าตำรับทั้งสองสูตรไม่มีการแยกชั้นหรือตกตะกอน ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยแต่อยู่ในช่วงที่เหมาะสม โดยสูตรที่ 2 (Gel-cream) มีความคงตัวของค่า pH ต่ำกว่าสูตรที่ 1 และพบการเปลี่ยนแปลงของสีผลิตภัณฑ์ (ΔE^*_{ab}) เล็กน้อย โดยมีค่าความแตกต่างของสีเท่ากับ 3.08 และ 4.08 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความคงตัวของตำรับที่ผสมสารสกัดกระท้อน

พารามิเตอร์	สูตร 1 Serum		สูตร 2 Gel-cream	
	เริ่มต้น	หลัง 6 cycle	เริ่มต้น	หลัง 6 cycle
รูปภาพ				
สี (L*a*b*)	53.07, 1.4, 7.77	48.8, 6.63, 13.48 dL* = -4.27 da* = 5.23 db* = 5.72 $\Delta E^*_{ab} = 8.85$	92.7, 0.51, 5.36	85.95, 2.96, 9.69 dL* = -6.75 da* = 2.46 db* = 4.33 $\Delta E^*_{ab} = 8.39$
pH	6.33	6.08	6.20	5.80
ความหนืด	2	1	4	4

ตารางที่ 4 (ต่อ)

พารามิเตอร์	สูตร 1 Serum		สูตร 2 Gel-cream	
	เริ่มต้น	หลัง 6 cycle	เริ่มต้น	หลัง 6 cycle
การแยกชั้น/ ตกตะกอน	ไม่เกิดการแยกชั้น และไม่ตกตะกอน	ไม่เกิดการแยกชั้น และไม่ตกตะกอน	ไม่เกิดการแยกชั้น และไม่ตกตะกอน	ไม่เกิดการแยกชั้น และไม่ตกตะกอน

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงผลการทดสอบความคงตัวด้วยวิธีสภาวะเร่ง (Heating-Cooling Cycle) จำนวน 6 รอบ (1 รอบประกอบด้วย 45°C 24 ชม. สลับกับ 4°C 24 ชม.) ΔE^*_{ab} คือ ค่าความแตกต่างของสีรวม (Total Color Difference) เมื่อเปรียบเทียบกับวันเริ่มต้น ความหนืด แสดงเป็นระดับคะแนน 1-5 โดย: 1 = เหลวมากเหมือนน้ำ, 2 = เหลวหนืดเล็กน้อย, 3 = เนื่อครีมปานกลาง, 4 = เนื่อครีมข้น, 5 = เนื่อครีมแข็งตัว การแยกชั้น: สังเกตด้วยตาเปล่า (Visual observation)

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ (Discussion and Suggestion)

1. อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาศักยภาพของสารสกัดกระถ่อนเพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง พบประเด็นสำคัญที่บ่งชี้ถึงศักยภาพทางชีวภาพที่โดดเด่นของ “ใบอ่อน” ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุดในทุกการทดสอบ ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานการสกัดสารสำคัญจากใบกระถ่อนก่อนหน้านี้ (Hamzah et al., 2024) และสอดคล้องกับทฤษฎีการป้องกันตัวของพืช (Optimal Defense Hypothesis) ที่ระบุว่าพืชจะสะสมสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิในปริมาณเข้มข้นบริเวณเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตเพื่อป้องกันอันตรายจากสิ่งแวดล้อม (Starkevicius et al., 2020) นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของตัวทำละลายที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการดึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Hajji Nabih et al., 2023) โดยพบว่า 50% เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีขั้วสูง (High polarity compounds) เช่น กรดฟีนอลิกและแทนนิน ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Valko et al., 2007) และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Panzella & Napolitano, 2019) ในขณะที่สารสกัดจากอะซีโตนแม้จะสกัดสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (TFC) ได้มากแต่กลับมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำ ซึ่งยืนยันได้ว่าสารกลุ่มฟีนอลิกคือสารออกฤทธิ์หลักที่มีความสำคัญกว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในพืชชนิดนี้ (Bailly, 2022; Wijaya, 2022) อีกทั้งในด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์ พบว่าตำรับ Gel-cream ที่ผสมสารสกัดใบอ่อนมีความคงตัวทางกายภาพและเคมีที่ดีกว่าสูตร Serum แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของเนื้อครีมกึ่งเจลมีคุณสมบัติในการโอบอุ้มและรักษาสภาพของสารสกัดธรรมชาติได้ดี ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการพัฒนาในเชิงพาณิชย์

2. ข้อเสนอแนะ

จากข้อค้นพบดังกล่าว ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่า สารสกัดจากใบอ่อนกระถ่อนที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นสารออกฤทธิ์หลัก (Active Ingredient) สำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางกลุ่มไวท์เทนนิ่งและชะลอวัย เนื่องจากมีคุณสมบัติครบถ้วนทั้งในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสี อย่างไรก็ตาม เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับหลอดทดลอง (In vitro) จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับเซลล์เพาะเลี้ยง (Cell line) เพื่อดูลำดับขั้นการแสดงออกของยีน และทำการทดสอบทางคลินิกในอาสาสมัคร (In vivo) เพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยก่อนการใช้งานจริง นอกจากนี้ ควรมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงลึกด้วยเทคนิคขั้นสูง (เช่น LC-MS/MS) เพื่อระบุชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ นอกเหนือจาก Rutin และ Ferulic acid เพื่อใช้เป็นสารกำหนดปริมาณมาตรฐาน (Marker) และควรศึกษาหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุด (Optimization) เพื่อเพิ่มร้อยละผลผลิตให้มีความคุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

รายการอ้างอิง

- Andrade, C. (2021). Z scores, standard scores, and composite test scores explained. *Indian Journal of Psychological Medicine*, 43(6), 555–557.
<https://doi.org/10.1177/02537176211046525>
- Armaghan, M., Khan, K., Irfan, M., Hafeez, A., Zafar, S., Javed, Z., ... Bagi, R. V. (2024). Koetjapic acid: Unveiling its potential as a saviour in the realm of biological and medicinal properties, with a focus on anticancer mechanism of action. *European Journal of Medical Research*, 29(1), Article 106.
<https://doi.org/10.1186/s40001-024-01699-6>
- Bailly, C. (2022). The health benefits of santol fruits and bioactive products isolated from *Sandoricum koetjape* Merr.: A scoping review. *Journal of Food Biochemistry*, 46(7). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14152>
- Cui, H.-X., Duan, F.-F., Jia, S.-S., Cheng, F.-R., & Yuan, K. (2018). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of seed oils from *Torreya grandis* Fort. ex Lindl. *BioMed Research International*, 2018, 5314320.
<https://doi.org/10.1155/2018/5314320>

- Ćirović, T., Barjaktarević, A., Cupara, S., Mitić, V., Nikolić, J., & Stankov Jovanović, V. (2019). Antioxidant and antimicrobial activity of *Sanguisorba minor* L. extracts. *Advanced Technologies*, 8(2), 20-28.
- Ghadigaonkar, S., Reddy, A. G., Kalakumar, B., Lakshman, M., & Rajkumar, U. (2021). Quantification of total phenolic content, total flavonoid content and evaluation of in vitro free radical scavenging activities in *Ficus religiosa* Linn. *The Pharma Innovation Journal*, 10(3), 84–88.
- Gite, S. S., Yadav, S. A., Nilegaonkar, S. S., & Apte, V. V. (2015). Antioxidant quality ranking of some plant materials based on multiple in vitro radical scavenging assays. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7), 152-159.
- Hall, B., Rapinski, M., Spoor, D., Eid, H., Saleem, A., Arnason, J. T., Foster, B., Cuerrier, A., Haddad, P. S., & Harris, C. S. (2022). A Multivariate approach to Ethnopharmacology: Antidiabetic plants of Eeyou Istchee. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.511078>
- Hajji Nabih, M., Bouluka, H., El Hajam, M., Alghonaim, M. I., Kandri, N. I., Alsalamah, S. A., & Boufahja, F. (2023). Successive solvent extraction, characterization and antioxidant activities of cardoon waste (leaves and stems) extracts: Comparative study. *Molecules*, 28(3), 1129. <https://doi.org/10.3390/molecules28031129>
- Hamzah, F. N., Ahmad, A., Subandi, S., Septama, A. W., Sujarwo, W., Choudhry, H., . . . Moze, T. (2024). Investigating Sandoricum koetjape leaf extracts for tyrosinase inhibition: Flavonoid profiles and mechanisms. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 577, p. 02008). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202457702008>
- Herayati, H., & Elianasari, E. (2024). Natural-Based Cosmetics: trends, challenges, and scientific innovations. *Indonesian Journal of Cosmetics*, 2(2), 55–81. <https://doi.org/10.35472/ijcos.v2i2.1992>
- Ladeska, V., Elya, B., Hanafi, M., & Kusmardi. (2022). Antioxidants, total phenolic and flavonoid content and toxicity assay of Ampelas (*Tetracera macrophylla* Wall.Ex Hook.F.& Thoms) From Kalimantan-Indonesia. *Pharmacognosy Journal*, 14(5), 642–648. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.147>

- Leakaya, N., Sato, V. H., & Chewchinda, S. (2018). Antioxidant activity, total phenolic, total flavonoid content and HPTLC analysis of morin in *Maclura cochinchinensis* heartwood extract. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(Supplement Issue), 27–31.
- Lim, T. K. (2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (Vol. 3). Springer Netherlands.
- Panzella, L., & Napolitano, A. (2019). Natural Phenolic Compounds as Tyrosinase Inhibitors: A Review. In *Phenolic Compounds - Biological Activity* (pp. 1–25). IntechOpen.
- Starkevič, P., Kviklys, D., Laužikė, K., Valiuškaitė, A., & Račelis, A. (2020). Production of defense phenolics in tomato leaves of different age. *Plants*, 9(10), 1311. <https://doi.org/10.3390/plants9101311>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Wijaya, M. D. (2022). Ethnomedicinal, Phytochemicals, and Pharmacological Aspects of Sentul (*Sandoricum koetjape*). *Biology Medicine & Natural Product Chemistry*, 11(1), 65–73.

