

การเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นเครื่องสำอาง



ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2563

การเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นเครื่องสำอาง



ลีนินาฏ ภูระยัรบ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

สำนักบริหารและพัฒนาระบบราชการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นเครื่องสำอาง

สินีนานฎ ภูระยัับ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.ลภัสสรดา มุ่งหมาย)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นเครื่องสำอาง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวสินีนานา ภูระยับ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

บทคัดย่อ

เก๊กฮวย (*Chrysanthemum indicum* L.) เป็นพืชในวงศ์ทานตะวันพบมากในประเทศไทย แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี และมีการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ส่วนใหญ่นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร งานวิจัยนี้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่รับซื้อจากฟาร์มของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จำนวน 3 ชนิดประกอบด้วย เก๊กฮวยดอกบาน ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง และดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือนเพื่อประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอาง โดยนำดอกเก๊กฮวยอบแห้งแต่ละชนิดมาทำการสกัดด้วยน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง จากนั้นทำการตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปียีไอเอส (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6sulfonic acid) จากนั้นทำการคัดเลือกสารสกัดดอกเก๊กฮวยที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดมาทำการตรวจวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณเคอร์ซีตินด้วยวิธี LC-MS จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลดีพีพีเอช (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และซูเปอร์ออกไซด์ และศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีผลต่อการผลิตเม็ดสีเมลานิน และเอนไซม์คอลลาจิเนสที่มีผลก่อให้เกิดริ้วรอย จากนั้นทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกเก๊กฮวย ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์และความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว และทำการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 คน

ผลการวิจัยพบว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดเก๊กฮวยดอกบาน ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง และดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือนมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เท่ากับ $36.68 \pm 1.15\%$, $33.66 \pm 9.17\%$ และ $44.80 \pm 9.81\%$ ตามลำดับ ส่วนปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าดอกเก๊กฮวยดอกบานมีปริมาณสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รองลงมาคือดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง และดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือนซึ่งมีค่าเท่ากับ 72.28 ± 2.02 , 69.21 ± 3.31 และ 54.38 ± 0.67 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปียีไอเอสพบว่า เก๊กฮวยดอกบานมีประสิทธิภาพสูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.22 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดสอบเบื้องต้นนี้จึงคัดเลือกสารสกัดเก๊กฮวย

ดอกบานมาทำการศึกษาในขั้นต่อไป นอกจากนี้สารสกัดแก้กฮวยดอกบานพบว่ามีปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 16.54 ± 0.12 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ส่วนการวิเคราะห์ด้วย LC-MS ตรวจพบสารเคอร์ซีตินซึ่งมีรายงานว่า เป็นสารสำคัญที่พบในดอกแก้กฮวย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแก้กฮวยดอกบานยังมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลตีพีพีเอชและอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ และสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและคอลลาจีเนส เมื่อทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดแก้กฮวยดอกบานและทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่าอาสาสมัครพอใจในผลิตภัณฑ์จัดอยู่ในเกณฑ์ที่ดี ดังนั้นดอกแก้กฮวยสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าขึ้นไปอีกขั้นโดยนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว

คำสำคัญ : แก้กฮวย, สารประกอบฟีนอลิก, สารต้านอนุมูลอิสระ, การเพิ่มมูลค่า, ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



Title	VALUE ADDED OF ORGANIC <i>CHRYSANTHIMUM INDICUM</i> L. AS A COSMETIC PRODUCT
Author	Miss Sineenad Poorayab
Degree	Master of Science in Agricultural Interdisciplinary
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Doungporn Amornlerdpison

ABSTRACT

Chrysanthemum indicum L. is a plant of the Asteraceae family that is widely grown in the East Asia region including China, Japan, and Korea and is widely cultivated in Thailand as an herbal drink products. This study aims to compare 3 types of organic *C. indicum* flower which were purchased from Maejo University farm and included blooming flower, outdoor flower and indoor flower for cosmetic application. Of each *C. indicum* flower was extracted by water and dried via freeze-drying to obtain aqueous extracts. The extracts were evaluated for total phenolic content using Folin-Ciocalteu reagent method and antioxidant activity by ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging assay, In comparing the highest content of both assays. The suitable type of *C. indicum* flower extract was examined for total flavonoid content and quercetin content using LC-MS. The extract was evaluated for its antioxidant and superoxide radical scavenging by assay of DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The possible skin benefits of *C. indicum* extract were evaluated for its tyrosinase and collagenase inhibition, after which, a *C. indicum* extract was formulated as skin cosmetic products. The cosmetic product was evaluated for its physical properties and accelerated stability test under various conditions. Eventually, the satisfaction of cosmetic product was hence evaluated among 30 healthy volunteers.

The result showed that the extraction yield of blooming flower, outdoor flower and indoor flower showed no significant difference ($p > 0.05$) being $36.68 \pm$

1.15%, $33.66 \pm 9.17\%$ and $44.80 \pm 9.81\%$, respectively. The total phenolic content showed blooming flower extract had a significant highest value when compared to outdoor flower and indoor flower ($p < 0.05$) and values were found to be 72.28 ± 2.02 , 69.21 ± 3.31 and 54.38 ± 0.67 mg GAE/g extract, respectively. In the ABTS assay, the blooming flower extract also presented the highest which showed IC_{50} value of 0.22 ± 0.00 mg/mL, therefore blooming flower extract was used for further processes. The total flavonoid content of *C. indicum* extract was found to be 16.54 ± 0.12 mg QE/g extract. The LC-MS chromatogram presented quercetin which is reported as a bioactive compound in *C. indicum* flower. The antioxidant exhibited *C. indicum* extract can act as a radical-scavenging agent as well as it showed skin benefits via inhibiting tyrosinase and collagenase activities. Additionally, approximately 80% of the volunteers were satisfied using cosmetic product containing *C. indicum* blooming flower extract ranging from very good to good. Therefore, *C. indicum* flower can be value-added as cosmetic ingredient for skin care cosmetics.

Keywords : Chrysanthemum indicum L., Phenolic compound, Antioxidant, Value-added, Cosmetic product

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลงด้วยดีด้วยความกรุณาจากบุคลากรหลายท่าน ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอย่างยิ่งสำหรับ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงพร อมรเลิศพิศาล ซึ่งกรุณาได้รับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ให้แก่ข้าพเจ้า ผู้ซึ่งมอบความรู้ คำแนะนำในการวางแผนดำเนินงานวิจัย ช่วยสนับสนุนทุนวิจัย วัสดุและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการดำเนินงานจนกระทั่งงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงด้วยดีตลอดจนให้กำลังใจตลอดเวลาที่ดำเนินการวิจัยจนถึงการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ อาจารย์ ดร.ลภัสรดา มุ่งหมาย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยสนับสนุน ให้คำปรึกษารวมถึงคำแนะนำตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไฉไลศ ที่กรุณาได้รับเป็นประธานการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงมอบความรู้ คำแนะนำ และแก้ไขตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่กรุณามอบทุนพัฒนาผลิตภัณฑ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณณัฐวุฒิ หวังสมนึก คุณรัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ คุณอุเทน จำใจ และคุณธีระวัฒน์ รัตนพจน์ ที่คอยให้คำแนะนำ ช่วยตรวจสอบเอกสาร คอยแก้ไขและปรับปรุงให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนให้ข้อคิด กำลังใจตลอดการดำเนินงานและเขียนวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบคุณ คุณนิชชีมา บุญอยู่ คุณมณิสร์ ปัญญาดา คุณสุกัลยา จันทพงษ์ คุณภคธิดา ยาวิชัย คุณเมธราณี อินคำ คุณภัทรศยา ทองแถว คุณมีรันตี จันทะวัน และรวมถึงเพื่อนทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือให้คำแนะนำ สนับสนุนและคอยให้กำลังใจที่ดีเสมอมาจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อมานูช ภูระยับ คุณแม่ศรีนวล ศรีวิชัย และ คุณป้าวิลาวรรณ ศรีวิชัย ที่สนับสนุนทุนการศึกษา ตลอดจนคอยให้กำลังใจ และสนับสนุนเสมอมา

สินีนานู ภูระยับ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....ค	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....ช	ช
สารบัญ.....ซ	ซ
สารบัญตาราง.....ฅ	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....ฉ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....1	1
1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....3	3
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3	3
1.3 แบบแผนการวิจัย.....3	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร.....4	4
2.1 ความรู้ทั่วไปของดอกเก๊กฮวย.....4	4
2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....4	4
2.3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับดอกเก๊กฮวยที่ใช้ในงานวิจัย.....5	5
2.4 การเพาะปลูกดอกเก๊กฮวยอินทรีย์.....7	7
2.4.1 การเพาะปลูกพ่อแม่พันธุ์.....7	7
2.4.2 การดูแลต้นแม่พันธุ์.....7	7
2.4.3 การปักชำ.....7	7
2.4.4 การปลูกลงแปลง.....7	7
2.4.5 การดูแลรักษาต้นเก๊กฮวย.....8	8
2.4.6 การเก็บเกี่ยวและการอบแห้ง.....8	8

2.5 สารสกัดจากพืชสมุนไพร.....	8
2.6 รูปแบบสารสกัดจากสมุนไพร.....	9
2.7 อนุมูลิสรระ.....	9
2.8 สารต้านอนุมูลิสรระ.....	11
2.9 สารต้านอนุมูลิสรระในธรรมชาติ.....	13
2.10 เอนไซม์ไทโรซิเนส.....	14
2.10.1 กลไกการขจัดสีผิว.....	17
2.11 เอนไซม์คอลลาจิเนส.....	17
2.12 เครื่องสำอางจากธรรมชาติ.....	18
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย.....	20
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย.....	20
3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	21
3.3 วัสดุดิบที่ใช้ในงานวิจัย.....	22
3.4 วิธีวิจัย.....	23
3.4.1 การสกัดแก๊กฮวยอินทรีย์.....	23
3.4.2 ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด.....	23
3.4.3 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลิเอบีทีเอส.....	24
3.4.4 ปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....	24
3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์ซีติน.....	25
3.4.6 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลิตีพีพีเอส.....	25
3.4.7 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลิซูปเปอร์ออกไซด์.....	26
3.4.8 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์.....	27
3.4.8.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส.....	27
3.4.8.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนส.....	27

3.4.9 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง.....	28
3.4.8.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง.....	28
3.4.8.2 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์.....	28
3.4.8.3 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร.....	29
3.4.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	29
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง.....	30
4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดดอกเก๊กฮวย.....	30
4.3 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปียีเอส.....	32
4.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....	33
4.5 การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์ซีติน.....	34
4.5 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลซีพีไอเอส.....	36
4.6 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์.....	36
4.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์.....	38
4.7.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส.....	38
4.7.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส.....	39
4.8 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวย.....	41
4.9 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์.....	42
4.10 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร.....	42
4.11 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ.....	43
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	45
บรรณานุกรม.....	46
ภาคผนวก.....	53
ภาคผนวก ก แบบประเมินความพึงพอใจ.....	54
ภาคผนวก ข การเผยแพร่ผลงาน.....	55

ประวัติผู้วิจัย..... 74



สารบัญตาราง

	หน้า
Table 1 ผลผลิตของสารสกัดดอกเก๊กฮวย	30
Table 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	32
Table 3 ฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอสของสารสกัดดอกเก๊กฮวย	33
Table 4 ฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกเก๊กฮวย.....	38
Table 5 ลักษณะทางกายภาพของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย	41
Table 6 ความคงตัวของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย	42



สารบัญรูปภาพ

หน้า

Figure 1 รูปแบบของผลิตภัณฑ์ของเก๊กฮวยที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด; (A) ดอกเก๊กฮวยแห้ง และ (B) ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรพร้อมดื่ม (Doikham, 2019; Royal Project Foundation, 2019)5	
Figure 2 ใบรับรองผลิตภัณฑ์เก๊กฮวยอินทรีย์ร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นๆของมหาวิทยาลัยแม่โจ้.....6	6
Figure 3 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี (Green and Shuaib, 2006)..... 12	12
Figure 4 โครงสร้างของฟลาแวน (flavan) (โอภา และคณะ, 2550)..... 14	14
Figure 5 กลไกการเกิดสีผิวตามธรรมชาติ (Kim and Uyama, 2005)..... 16	16
Figure 6 ลักษณะของดอกเก๊กฮวย A) ดอกเก๊กฮวยสด B) ดอกเก๊กฮวยดอกบานอบแห้ง C) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง D) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน..... 22	22
Figure 7 ลักษณะทางกายภาพของ (A) สารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบาน (B) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง และ(C) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน..... 31	31
Figure 8 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลเอปทีเอสของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์..... 33	33
Figure 9 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดดอกเก๊กฮวย..... 34	34
Figure 10 ผลการตรวจวัดปริมาณสารเคอร์ซีดินของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์..... 35	35
Figure 11 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลฟิฟิเอซของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์..... 36	36
Figure 12 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์..... 37	37
Figure 13 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกเก๊กฮวย..... 39	39
Figure 14 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนสของสารสกัดดอกเก๊กฮวย..... 40	40
Figure 15 ลักษณะของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย..... 41	41
Figure 16 ความพึงพอใจของเครื่องสำอางบำรุงผิวจากเก๊กฮวยของอาสาสมัครจำนวน 30 คน..... 43	43
Figure 17 บรรจุภัณฑ์ต้นแบบของเครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกเก๊กฮวย..... 44	44

บทที่ 1

บทนำ

กิจวัตรประจำวันของมนุษย์มีความจำเป็นต้องสัมผัสกับมลภาวะต่างๆ เช่น แสงแดด ควัน บุหรี่ ความเครียด และสารเคมีเป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุของภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งภาวะที่ไม่สมดุลระหว่างการเกิดและการป้องกันอนุมูลอิสระ ส่งผลให้ร่างกายมีอนุมูลอิสระมากเกินไปจนเกิดความสมดุล สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย (2555) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังส่งผลให้กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์กลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinases; MMPs) ซึ่งทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือส่วนที่เกี่ยวกับความยืดหยุ่นของผิวที่เรียกว่า อีซีเอ็ม (extracellular matrix; ECM) ซึ่งได้แก่ คอลลาเจน (collagen) อีลาสติน (elastin) เป็นต้น ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆ ของผิวหนังชั้นนอกเกิดริ้วรอย ผิวแห้ง ขาดความชุ่มชื้น นอกจากนี้ที่บริเวณผิวหนังชั้นนอกยังส่งผลให้เมลานินไซโตผลิตเม็ดสีเมลานินมากเกินไปซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ผิวเข้มขึ้น หรืออาจเกิดกระ ฝ้า จุดด่างดำ เป็นต้น (มยุรี, 2559)

สังคมในยุคปัจจุบันผู้คนนิยมหันมาใส่ใจสุขภาพร่างกายและผิวพรรณมากยิ่งขึ้น การมีผิวพรรณที่กระจ่างใสดูมีสุขภาพดีกำลังเป็นที่ต้องการโดยเฉพาะชาวเอเชีย ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสและช่วยลดเลือนริ้วรอยจึงตอบโจทย์และเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ซึ่งทำให้อุตสาหกรรมเครื่องสำอางเติบโตอย่างรวดเร็ว (Lorz *et al.*, 2019; Whangsomnuek *et al.*, 2019) นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้รับจากพืชพรรณธรรมชาติได้รับความนิยมในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางร่วมสมัยเนื่องจากประกอบด้วย วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น ซึ่งมีประสิทธิภาพในทางเครื่องสำอางเนื่องจากสารต่างๆ เหล่านี้มีรายงานว่าช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ รวมถึงช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและคอลลาจิเนส เป็นต้น (Li *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2015) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติยังมีความอ่อนโยน ปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Soto *et al.*, 2015)

เก๊กฮวย (*Chrysanthemum indicum* L.) เป็นดอกไม้ในตระกูลเดียวกับดอกเบญจมาศมีการนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรในประเทศแถบเอเชียตะวันออก ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี และไทย เนื่องจากมีฤทธิ์ทางยาหลายอย่างได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดไข้ และแก้ปวด (Matsuda *et al.*,

2002) ด้านเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส (Ren *et al.*, 1999) ลดภาวะความดันโลหิตสูง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน รักษาโรคระบบทางเดินหายใจ โดยมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) และสารกลุ่มฟีโนลิก (phenolic compounds) เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ชีวภาพ (Cheng *et al.*, 2005; K. T. Choi *et al.*, 2016) นอกจากนี้ในน้ำมันที่สกัดได้จากดอกเก๊กฮวยยังพบ สารโคเรแซนทีมีน (chrysanthemin) ที่ออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรีย ยีสต์รวม 15 ชนิด (Shunying *et al.*, 2005) มีรายงานการวิจัยของ K. T. Choi และคณะ (2016) พบว่า สารสกัดน้ำของดอกเก๊กฮวยมีฤทธิ์ชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ในหลอดทดลอง ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีผลกระตุ้นการสร้างเม็ดสีผิวให้เข้มข้น โดยสารสำคัญในดอกเก๊กฮวยที่พบในปริมาณมาก คือ luteolin และ acacetin-7-o-rutinoside ซึ่งจัดเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในพืช (Wu *et al.*, 2010) โดยส่วนมากเก๊กฮวยมักนำส่วนดอกมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ซึ่งพบได้ทั่วไปตามท้องตลาด อย่างไรก็ตามการนำดอกเก๊กฮวยมาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางยังพบอยู่น้อยมาก การศึกษาครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวจากดอกเก๊กฮวยโดยเลือกใช้ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์จากแปลงเพาะปลูกที่ได้รับมาตรฐานระดับสากล ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ภายใต้โครงการส่งเสริมการผลิตดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่ปลูกด้วยระบบอินทรีย์ซึ่งได้รับการรับรองผลิตภัณฑ์ชาเก๊กฮวยอินทรีย์มาตรฐานอินทรีย์จาก USDA (United States Department of Agriculture) ซึ่งจำหน่ายในรูปแบบดอกเก๊กฮวยอินทรีย์อบแห้ง และส่วนที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งคือดอกเก๊กฮวยอบแห้งที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด (เรียกว่า ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ดอกบาน) เนื่องจากมีสีเข้มหรืออ่อนไป ขนาดและรูปร่างของดอกไม่สมบูรณ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำดอกเก๊กฮวยจำนวน 3 รูปแบบที่แตกต่างกันคือ 1) ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ดอกบาน 2) ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกในโรงเรือน และ 3) ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกกลางแจ้งมาทำการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ในทางเครื่องสำอางบำรุงผิวได้แก่ ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านเอนไซม์คอลลาจีเนส และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอบแห้งอินทรีย์เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.1.1 เพื่อวิเคราะห์สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในเครื่องสำอาง

1.1.2 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์

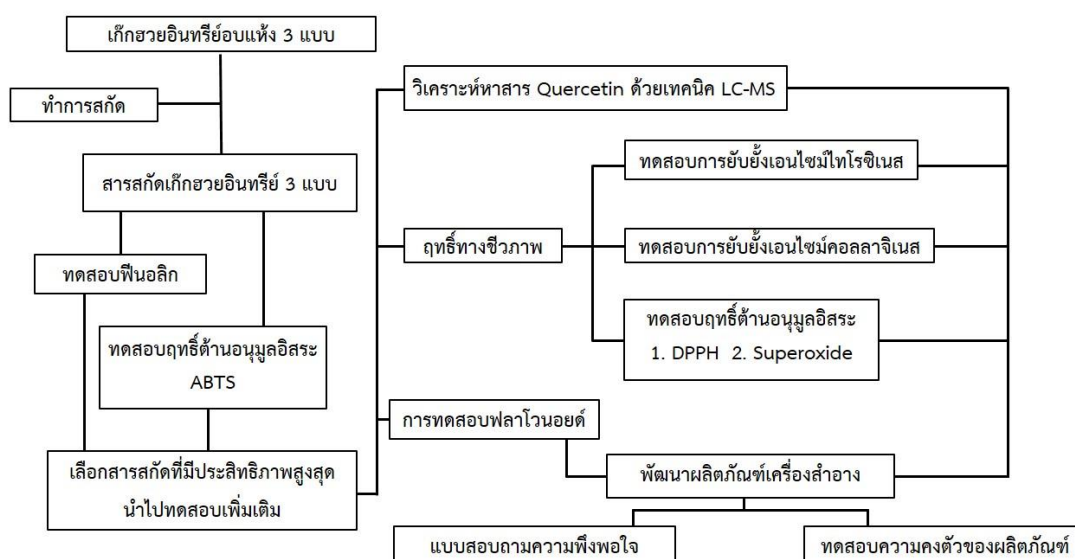
1.1.3 เพื่อทดสอบการยอมรับและความพึงพอใจและการยอมรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ ในอาสาสมัครจำนวน 30 คน

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.2.1 สามารถเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่คุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว

1.2.2 สามารถช่วยลดปริมาณวัตถุดิบเศษเหลือทางการเกษตร

1.3 แบบแผนการวิจัย



บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 ความรู้ทั่วไปของดอกเก๊กฮวย

ดอกเบญจมาศหนูหรือดอกเบญจมาศสวนเป็นพืชสมุนไพรที่มีดอกชนิดหนึ่ง คนส่วนใหญ่มักเรียกดอกไม้ชนิดนี้ว่า “เก๊กฮวย” ซึ่งมาจากภาษาจีนแต้จิ๋ว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chrysanthemum indicum* L. เก๊กฮวยเป็นพืชที่พบได้อย่างแพร่หลายในประเทศจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี แต่พบว่าภายหลังมีการแพร่กระจายในประเทศกัมพูชา ลาว รวมถึงประเทศไทย ซึ่งการเพาะปลูกเก๊กฮวยนั้นจะสามารถเพาะปลูกและมีผลผลิตสูงในบริเวณพื้นที่สูง ซึ่งมักเพาะปลูกเพื่อการจำหน่ายทั้งในรูปแบบของดอกสดและดอกแห้งที่อาจมีสีขาหรือสีเหลือง การศึกษาสารองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของเก๊กฮวยพบว่าเป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารโครแซนทีมิน (chrysanthemine) สารอะดีนีน (adenine) สตาไคดรีน (stachydrine) โคลีน (choline) กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีรายงานว่ามีส่วนช่วยในการช่วยลดการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ลดไข้ บรรเทาอาการปวด ช่วยขยายหลอดเลือด ลดการเกิดภาวะหัวใจล้มเหลว ลดภาวะความดันโลหิตสูง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน รักษาโรกระบบทางเดินหายใจ (Luyen *et al.*, 2015; Matsuda *et al.*, 2002; Ren *et al.*, 1999) โดยในประเทศไทยพบว่านิยมทำการเพาะปลูกเก๊กฮวยเพื่อใช้เป็นชาสมุนไพรซึ่งมักจัดจำหน่ายในรูปแบบของดอกเก๊กฮวยแห้ง หรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรพร้อมรับประทาน (Figure 1)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เก๊กฮวยจัดเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เจริญเติบโตเป็นพุ่มแผ่ไปตามพื้นดิน ใบเดี่ยวรูปรี ขอบใบเว้าเป็นหยักลึก มีช่อดอกแบบ head ประกอบด้วยหลอดเล็กๆ (florets) เป็นจำนวนมาก ดอกที่อยู่รอบนอกมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า มองเห็นกลีบดอกได้ชัดเจนกว่าเรียกว่า ray florets (ดอกชั้นนอก) เป็นดอกไม้สมบูรณ์เพศมีแต่เกสรตัวเมียไม่มีเกสรตัวผู้ ส่วนดอกที่อยู่วงในเข้าไปและมีการเจริญเติบโตช้ามองเห็นกลีบดอกไม่ชัดเพราะมีกลีบดอกสั้น เรียกว่า disc florets (ดอกชั้นใน) รวมกันเป็นกระจุกรวมอยู่ตรงกลางดอก ดอกชั้นในนี้เป็นดอกสมบูรณ์เพศคือมีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย เก๊กฮวยได้รับความนิยมนำส่วนดอกมาใช้ประโยชน์มากกว่าส่วนของใบและยอดอ่อน นิยมนำมาอบแห้งทำเป็น

เครื่องดื่มนั้นมีตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยเฉพาะประเทศจีนมีประวัติศาสตร์ยาวนานกว่า 2,000 ปี จึงทำให้พูดถึงเก๊กฮวยก็จะทำให้นักถึงเครื่องดื่มนั้นเป็นอันดับแรก (ธนวัฒน์, 2560)



Figure 1 รูปแบบของผลิตภัณฑ์ของเก๊กฮวยที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด; (A) ดอกเก๊กฮวยแห้ง และ (B) ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรพร้อมดื่ม (Doikham, 2019; Royal Project Foundation, 2019)

2.3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับดอกเก๊กฮวยที่ใช้ในงานวิจัย

เก๊กฮวยเป็นพืชที่เหมาะสมกับภูมิประเทศทางเขตภาคเหนือและเป็นพืชที่มีศักยภาพในการเป็นพืชอุตสาหกรรม เนื่องจากปัจจุบันกระแสการใส่ใจทางด้านสุขภาพในการเลือกวัตถุดิบและอาหารที่ปลอดภัย มีมาตรฐานรองรับ จึงทำให้พืชสมุนไพรหลายชนิดรวมถึงเก๊กฮวยเป็นที่ต้องการของตลาดมากยิ่งขึ้น ขณะเดียวกันพื้นที่สำหรับการผลิตเก๊กฮวยนั้นค่อนข้างจำกัด เนื่องจากเก๊กฮวยเป็นพืชที่ชอบอากาศหนาวเย็น ทำให้จำนวนการผลิตต่อปีไม่มากนัก อีกทั้งการนำไปใช้ประโยชน์มีใช้เพียงส่วนดอกเท่านั้น จึงทำให้การผลิตดอกเก๊กฮวยอาจมีการใช้สารเคมีเพื่อเร่งการเจริญและผลผลิตซึ่งอาจมีสารเคมีตกค้างและอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ ดังนั้นกระบวนการผลิตที่ไม่มีการใช้สารเคมีจึงมีความสำคัญมากในการเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยและเป็นที่ต้องการของตลาด (ธนวัฒน์, 2560) ทั้งนี้ทางมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ได้มีการจัดโครงการส่งเสริมการผลิตเก๊กฮวยอินทรีย์ภายใต้โครงการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารอินทรีย์ จังหวัดเชียงใหม่ ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาเก๊กฮวยอินทรีย์ซึ่งโครงการดังกล่าวได้รับการรับรองมาตรฐานอินทรีย์จาก United States Department of Agriculture (USDA) ซึ่งเป็นระบบการตรวจรับรองเกษตรอินทรีย์โดย

กระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกา และ Canadian Food Inspection Agency (CFIA) ของประเทศ
แคนาดา (Figure 2)

OC-012 (04 Feb 2013-skw) Certificate Number: ONE-1957-170601-H-NOP

 **Certified Organic by OneCert** 

Maejo University
63 Moo. 4 Nonghan
Sansai, Chiangmai 50290
Thailand

Certified Organic under the US National Organic Program 7 CFR Part 205

Type of operation: **Handling**

Certified products:

Product	Category
Banana Blossom Tea	100% Organic
Black Galingale Tea	100% Organic
Chrysanthemum Tea	100% Organic
Glutinous Aromatic Rice RD-2	100% Organic
Glutinous Aromatic Rice RD-2 - Rice Seed	100% Organic
Gymnema Tea	100% Organic
Jasmine Rice Tea	100% Organic
Lemon Grass Tea	100% Organic
Longan	100% Organic
Mango	100% Organic
Okra	100% Organic
Red Brown Rice Tea	100% Organic
Riceberry Tea	100% Organic
Turmeric Tea	100% Organic

Initial Effective Date: **01 June 2017**
Once certified, a production or handling operation's organic certification continues in effect until surrendered, suspended or revoked.

Update Issued: **01 June 2017**
Anniversary Date: (Due date of annual update)
Last Annual Inspection Date: 6 September 2017



OneCert[®], Inc.
2219 C Street - Lincoln, NE 68502 USA
Phone: (402) 420-6080 Fax: (888) 475-6044
Email: info@onecert.com Web site: www.onecert.com

Figure 2 ใบรับรองผลิตภัณฑ์แก๊กฮวยอินทรีย์ร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นๆของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

2.4 การเพาะปลูกดอกเก๊กฮวยอินทรีย์

ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่ทำการรับซื้อจากโครงการเพาะปลูกเก๊กฮวยอินทรีย์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เลือกใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีขั้นตอนการเพาะปลูกจนถึงกระบวนการเก็บเกี่ยวจนกระทั่งเป็นดอกเก๊กฮวยอบแห้งอินทรีย์มีรายละเอียดดังนี้ (ธนวัฒน์, 2560)

2.4.1 การเพาะปลูกพ่อแม่พันธุ์

การเตรียมดินโดยการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยหมัก แกลบดิบหมัก ขึ้นแปลงขนาดกว้าง 1 เมตร นำต้นแม่พันธุ์ลงปลูกในระยะปลูก 20x15 เมตร เมื่ออายุ 15 วัน เด็ดยอดเพื่อให้ยอดแตกกิ่งแขนงหลังจากเด็ดยอด 20 วันสามารถเด็ดกิ่งพันธุ์ไปปักชำได้

2.4.2 การดูแลต้นแม่พันธุ์

ทำการรดน้ำให้ดินเปียกชุ่มวันละครั้ง ทำการใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักร่วมกับปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพทุก 15 วัน เพิ่มแสงในเวลากลางวัน 3 ชั่วโมงช่วงเวลา 19.00 - 22.00 น. ตลอดอายุของแม่พันธุ์ประมาณ 3 - 4 เดือน

2.4.3 การปักชำ

ใช้ส่วนยอดของกิ่ง ความยาว 2.5 นิ้ว จุ่มลงในน้ำหมักชีวภาพที่มีอะมิโนเปปไทด์จากถั่วเหลืองเพื่อทำการเร่งราก ใช้วัสดุปักชำในโรงเรือนที่ควบคุมการให้น้ำในระบบพ่นฝอย ฉีดพ่นเชื้อจุลินทรีย์ป้องกันโรคโคนเน่า เพิ่มแสงในเวลากลางวัน มีอายุ 30 วัน จะได้กิ่งพันธุ์จะมีรากสมบูรณ์ซึ่งสามารถทำการถอนไปปลูกเพื่อเพิ่มผลผลิตได้

2.4.4 การปลูกลงแปลง

การเพาะปลูกเก๊กฮวยจะทำการเพาะปลูกในช่วงเดือน มิถุนายน - สิงหาคม โดยทำการปรับปรุงและบำรุงดินด้วยปุ๋ยหมัก และขึ้นแปลงขนาดกว้าง 1 เมตร คลุมด้วยพลาสติกคลุมแปลง นำต้นพันธุ์ ปลูกในระยะปลูก 30 x 30 เซนติเมตร เมื่ออายุ 5 วัน เด็ดยอดเพื่อให้ยอดแตกกิ่งแขนง

2.4.5 การดูแลรักษาต้นแก้วฮวย

ทำการรดน้ำให้ดินเปียกชุ่มวันละหนึ่งครั้ง เมื่อต้นแก้วฮวยมีอายุ 7 และ 15 วัน ทำการฉีดพ่นด้วยฉีไส้เดือนผสมน้ำหมักชีวภาพ และใส่ปุ๋ยหมักเพิ่มอีกครั้งทุกๆ 15 วัน

2.4.6 การเก็บเกี่ยวและการอบแห้ง

การเก็บเกี่ยวดอกแก้วฮวยอินทรีย์จะทำการเก็บในเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม โดยดอกแก้วฮวยควรเป็นดอกที่บ้านสมบูรณ์ดี และทำเก็บเฉพาะส่วนดอกเท่านั้น เมื่อได้ดอกแก้วฮวยสดแล้วนำไปล้าง และทำการนึ่งโดยนำดอกใส่ในรังหม้อนึ่ง ทำการนึ่งในน้ำเดือดนาน 3 นาที จากนั้นทำการเทใส่ในตะแกรงเกลี่ยบางๆ แล้วจึงนำไปอบแห้ง ในโรงอบพลังงานแสงอาทิตย์นาน 10 ชั่วโมง หรือที่เตาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

2.5 สารสกัดจากพืชสมุนไพร

สืบเนื่องจากกระแสในปัจจุบันที่ผู้คนหันมาดูแลสุขภาพ โดยเลือกอาหารที่มีประโยชน์ ปลอดภัย ออกกำลังกาย รวมถึงผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ เช่นเดียวกันผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารที่ได้รับจากธรรมชาติหรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติกำลังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ด้วยสาเหตุดังกล่าวสมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการดูแลสุขภาพ เนื่องจากมีความปลอดภัยจากอาการข้างเคียงหรือความเป็นพิษจากการใช้ยาจากสารเคมี นอกจากนี้ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของพืชสมุนไพรซึ่งเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนมากที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ สุขภาพ และความงาม ปัจจุบันผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืชพรรณธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สมุนไพรจะมีคุณภาพที่ดีได้นั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น คุณภาพของวัตถุดิบ กระบวนการสกัด สูตรตำรับ การควบคุมคุณภาพ และการตรวจสอบประสิทธิผลในการรักษาหรือป้องกันโรค โดยตัวอย่างของการใช้สารสกัดจากพืชพรรณธรรมชาติในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและความงามเช่น สารสกัดเมล็ดองุ่น จาก *Vitis species* มี proanthocyanidin และฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถปกป้องคอลลาเจน

(collagen) และอีลาสติน (elastin) จากการถูกทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้กลุ่มสารสกัดจากสมุนไพรมันช่วยลดจุดต่างดำนบนใบหน้า ทำให้ผิวหน้าใสขึ้น ได้รับความนิยมมาก เช่น สารสกัดจากรากหม่อน (*Morus alba* L.) พบว่ามีกลไกยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (anti-tyrosinase activity) ทำให้ลดอัตราการผลิตเม็ดสีเมลานินซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ผิวเข้มขึ้น และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงไฮโดรควิโนนแต่ปลอดภัยกว่า (รัตนา, 2553)

2.6 รูปแบบสารสกัดจากสมุนไพรมัน

สารสกัดสมุนไพรมันส่วนใหญ่มักเป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ มีส่วนผสมซับซ้อนของสารประกอบหลายชนิด ถ้ามีการแยกสารเฉื่อย (inert substances) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหรือสารรบกวน (interfering substances) ออกไป ทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์มากขึ้น เรียกว่าสารสกัดแยกส่วน (fraction) ในกรณีที่แยกเอาเฉพาะสารออกฤทธิ์ออกมา เรียกว่า สารบริสุทธิ์ (pure compound) การนำสมุนไพรมันมาใช้ในรูปแบบสารสกัดหยาบเนื่องจากสมุนไพรมันส่วนใหญ่ยังไม่ทราบหรืออยู่ในระหว่างการศึกษาว่า สารชนิดใดเป็นสารออกฤทธิ์อีกทั้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรมันบางชนิด มาจากการออกฤทธิ์ของสารหลายชนิดประกอบกันหรือเสริมฤทธิ์กัน ถ้าทำการสกัดออกไปแล้วอยู่ในสภาพสารเดี่ยวหรือสารบริสุทธิ์อาจจะไม่มีฤทธิ์หรือฤทธิ์อ่อน นอกจากนี้การเตรียมสารสกัดหยาบยังใช้เวลาในการเตรียมสั้นกว่า ต้นทุนการผลิตจะถูกกว่าสารบริสุทธิ์ หากเป็นผลิตภัณฑ์ทางเครื่องสำอางจะใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าทางยา (รัตนา, 2553)

2.7 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึงสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละวงโคจรหรือออร์บิทัล อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้าโดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็น

อนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก โดยสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่ อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (สมการ 1 และ 2) (โอบา และคณะ, 2550)



อนุมูลอิสระ กลุ่มที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจนได้แก่ oxygen radical เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical, hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน), carbonate radical ($CO_3^{\bullet-}$), nitrate radical (NO_3^{\bullet}), methyl radical (CH_3^{\bullet}), superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$), peroxy radical (ROO^{\bullet}), reactive oxygen species (ROS) เป็นต้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายสารชีวโมเลกุลทุกชนิดทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ไขมัน (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) คอลลาเจน (collagen) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น (Ames *et al.*, 1993)

อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อมได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น คาร์บอนหรือแก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนโตรสออกไซด์ ไนโตรเจน ไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การ

ยางเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆ กลับมาใช้อีก การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียมไหม้หรือเกิดจากการปิ้งย่าง จากยาบางชนิดเช่น โดโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนนิซิลลามิ (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol) (สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย, 2555)

2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า anti-radical ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้ถูกบัญญัติใหม่เป็นสารกำจัดหรือขจัดอนุมูล (radical scavenging) เพื่อให้ถูกต้องตรงกับการทำงาน และอาจใช้คำว่าสารแอนติออกซิแดนซ์แทน แต่ในภาษาไทยยังคงเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระดั้งเดิม ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระนี้ถือว่ามีมีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิเดชันอนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเป็นต้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ 3 และ 4



โดยที่ R^{\bullet} และ RO^{\bullet} คือ อนุมูลอิสระ และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจาก

การกระบวนกรสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Pokorny *et al.*, 2001)

ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามิน และสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไฮโดรพลาสซึม) มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีจึงทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์และอวัยวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก โดยวิตามินมีความสัมพันธ์กับวิตามินอี โดยการทำหน้าที่เป็นวิตามินอีในรูปอนุมูลให้กลับเป็นวิตามินอี วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (AscH_2) มีหมู่ไฮดร็อกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ วิตามินซีของร่างกายมี pH 7.4 จะอยู่ในรูปของ AscH^- 99.9% AscH_2 0.05% และ Asc^{2-} 0.04% ดังนั้นกลไกในการต้านอนุมูลของวิตามินซี (Figure 3) คือ วิตามินซีที่อยู่ในรูปของ AscH^- จะให้อิเล็กตรอน 1 ตัวเมื่อให้อิเล็กตรอนไปแล้วจะอยู่ในรูปอนุมูลวิตามินซี หรืออนุมูลแอสคอร์เบท (AscH^\cdot) ซึ่งมีค่า pK เท่ากับ -0.86 ซึ่งต่ำกว่า pH ของร่างกายจึงไม่ถูกโปรโตเนต แต่จะให้ไฮโดรเจนและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอนุมูลเคมีดีไฮโดรแอสคอร์เบท ปฏิกิริยาโดยรวมคือการให้อิเล็กตรอน 1 ตัว ร่วมกับอะตอมไฮโดรเจน แก่อนุมูลอิสระ เป็นการกำจัดหรือสลายอนุมูลอิสระคือ R^\cdot ให้เป็น RH จากการกำจัดนี้จะได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความไวต่ำคือ อนุมูลเคมีดีไฮโดรแอสคอร์เบท (Asc^\cdot) (โอภา และคณะ, 2550)

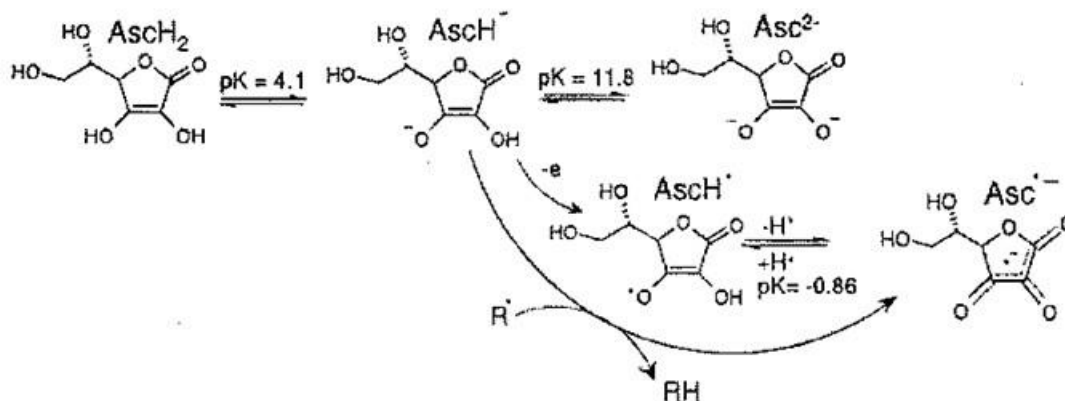


Figure 3 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี (Green and Shuaib, 2006)

2.9 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติมีมากมายโดยเฉพาะจากผัก ผลไม้ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ซึ่งในปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มของโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2550) นอกจากนี้ K. T. Choi และคณะ (2016) รายงานว่าสารสกัดแก้กษวยมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด โดยที่พบมากที่สุดมี 2 ชนิด คือ luteolin และ acacetin-7-o-rutinoside ซึ่งจัดเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป พบได้มากในธรรมชาติ ปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด เป็นสารอินทรีย์มีสูตรโครงสร้างเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ ละลายน้ำได้ดี มักพบอยู่ทั่วไปร่วมกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) สารกลุ่มที่สำคัญที่สุดคือ ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอื่นๆ เช่น ลิกนิน และ เทนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูล peroxy โดยสารประกอบฟีนอลิกจะช่วงหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเปลี่ยนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาให้เป็นสารที่มีความเสถียร และสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล นอกจากนี้บางชนิดยังเป็นตัวให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปที่ไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยาจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญมากอีกชนิดหนึ่ง (อัญชญา, 2544) สารประกอบฟีนอลิกประเภทโพลีฟีนอลมีประโยชน์หลายประการ เช่น มีส่วนช่วยป้องกันมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดสมอง เนื่องจากช่วยลดโคเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอลและไตรกลีเซอไรด์ และช่วยเพิ่มระดับโคเลสเตอรอลชนิดเอชดีแอล ลดความดันโลหิตและระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น (จารณีย์ และคณะ, 2550)

ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอล มีสูตรโครงสร้างเป็นฟลาแวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน 2 วง จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งอาจจัดเรียงเกิดเป็นวงที่ 3 ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้เหมือนโครงสร้างหลักของวิตามินอี ที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (chroman) หรือเบนโซไพแรน (benzopyran) (Figure 4)

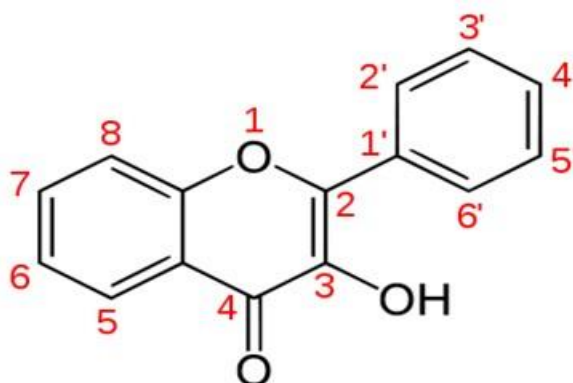


Figure 4 โครงสร้างของฟลาเวอน (flavan) (โองา และคณะ, 2550)

2.10 เอนไซม์ไทโรซิเนส

ในผิวหนังของทุกคนจะมีปริมาณเม็ดสีเมลานิน (melanin pigment) อยู่ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันผิวหนังจากสิ่งแวดล้อม เช่น ปกป้องผิวหนังจากแสงแดดไม่ให้เกิดการเผาไหม้หรือบวมแดง โดยเม็ดสีเมลานินจะทำหน้าที่ดูดซับรังสี UV ในแสงแดดไว้ กระบวนการเกิดสีผิวอาจเกี่ยวข้องในระบบสารพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณเม็ดสีผิวที่กระจายอยู่ตามผิวหนังบริเวณต่างๆ ของร่างกายจะมีปริมาณที่ไม่เท่ากัน บริเวณที่มีปริมาณเม็ดสีผิวมากเกินไปบริเวณนั้นจะมีสีเข้ม เช่น บริเวณที่สัมผัสแดดมากเป็นเวลานาน บริเวณที่มีเม็ดสีน้อยก็จะจางลง จึงทำให้เกิดผิวที่ไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ อาจมีจุดดำ ตกกระ เป็นฝ้า ปრაกฏขึ้น การรักษาหรือควบคุมสีผิวนั้นโดยทั่วไปจะใช้สารที่มีกลไกการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส และลดการผลิตเม็ดสีเมลานินในผิวหนัง ปัจจุบันเรามักจะพบเห็นในรูปแบบผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางดูแลผิวทำให้ผิวกระจ่างใสให้เลือกใช้มากมายทั้งเป็นสมุนไพรและสารเคมี (T. S. Chang, 2009; Kim and Uyama, 2005; ทิมพร, 2551; มัณฑนา, 2552)

โดยปกติในคนไทยนิยมผิวขาวซึ่งผู้ที่มีผิวขาวจะดูสะอาดตาและสดใสกว่าคนผิวเข้มกว่า หรือในโรคบางชนิดที่มีการผลิตเม็ดสีมากเกินไป ต้องรักษาด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์ขจัดสีผิวด้วยในการรักษาหรือควบคุมการเกิดสีผิวนั้นโดยทั่วไปจะใช้สารที่มีกลไกในการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อเป็นการลดเม็ดสีเมลานินในผิวหนัง ดัง Figure 5 แสดง กลไกการเกิดสีผิวหรือ เมลานิน (melanin pigments) เพื่อทำหน้าที่ป้องกันผิวหนังจากสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากแสงแดดมิให้เกิดการเผาไหม้หรือบวมแดง (sunburn) โดยเมลานินนี้ จะดูดซับรังสีอุลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) ใน

แสงแดดเอาไว้ กระบวนการสร้างเมลานินเกิดในชั้นของหนังกำพร้าชั้นล่างสุด (stratum basale) มีกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าเซลล์สร้างสีผิว (melanocytes) ทำหน้าที่สร้างและหลั่งเมลานิน (melanosomes) ซึ่งเป็นเม็ดสีน้ำตาล (brown organelles) ที่ภายในประกอบด้วย copper containing enzyme เรียกว่าไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งมีความสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีน (tyrosine) ที่เป็นเอมีน (amine) ที่มีอยู่ในผิวหนังเปลี่ยนเป็น indole 5,6 quinone และสารตัวกลาง (intermediates) อื่นๆอีกหลายชนิดจะทำให้เกิดปฏิกิริยา polymerization ไปเป็น highly insoluble substance โดยสามารถรวมตัวเข้ากับโปรตีนในลักษณะเมลานินโปรตีน (melanoprotein) อย่างหนาแน่นด้วยพันธะซัลไฟด์ (sulfhydryl linkage) เกิดเป็นเมลานิน (epidermal melanin unit) ปรากฏเป็นสีผิวเกิดขึ้น ดังนั้นเมลานินจึงเป็นควินอยด์โพลีเมอร์ (quinoid polymers) สามารถแบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆคือ ฟีโอเมลานิน (phaeomelanins) ซึ่งมีสีแดงหรือสีเหลือง และยูเมลานิน (eumelanins) ที่ประกอบด้วย indole-5,6-quinone และ intermediates ทำให้เกิดสารสีดำหรือน้ำตาล โดยคนต่างเชื้อชาติกันจะมีรายละเอียดส่วนประกอบของเมลานินเหล่านี้ต่างกัน ทำให้เกิดสีผิวต่างๆกันได้หลายระดับ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกรรมพันธุ์ และฮอร์โมน MSH (melanocyte stimulating hormone) และการสัมผัสกับแสงอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งกลไกการสังเคราะห์เมลานินแสดงใน Figure 5 ดังนั้นเมื่อผิวหนังยังถูกกระตุ้นจากภายนอก โดยเฉพาะแสงแดด กระบวนการสร้างเม็ดสีผิวเหล่านี้จะเกิดมากขึ้น ทำให้ปรากฏผิวสีเข้มขึ้นกว่าปกติ โดยจะเห็นได้จากผู้ประกอบอาชีพหรือต้องอยู่กลางแจ้งเป็นประจำ เช่น ชาวประมง นักกีฬากลางแจ้ง และชาวนา เป็นต้น ซึ่งบุคคลเหล่านี้จะมีผิวสีคล้ำกว่าผู้คนที่ทั่วไปเพราะระบบการสร้างเมลานินถูกกระตุ้นอยู่บ่อยๆ นอกจากนี้ในบางสภาวะเช่นในหญิงตั้งครรภ์ อาจมีการหลั่งฮอร์โมน MSH มากกว่าปกติหรือฮอร์โมนเพศที่เกิดจากการกินยาคุมกำเนิด อาจมีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเมลานินมากขึ้นอีกด้วย ทำให้ปรากฏเป็นฝ้าเกิดขึ้นได้ เมลานินนอกจากจะป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตแล้ว ยังช่วยป้องกันการทำลายของเซลล์โดย phototoxic substance จึงเป็นการลดอัตราการเกิดมะเร็งของผิวหนังได้ด้วย จึงจัดว่าเป็นสิ่งที่มีประโยชน์ต่อผิวหนัง สำหรับคนที่ขาวผิดปกติ (คนผิวเผือก) เกิดจากกลไกการสร้างสีผิวบกพร่องทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์เม็ดสีได้ (พิมพ์, 2551)

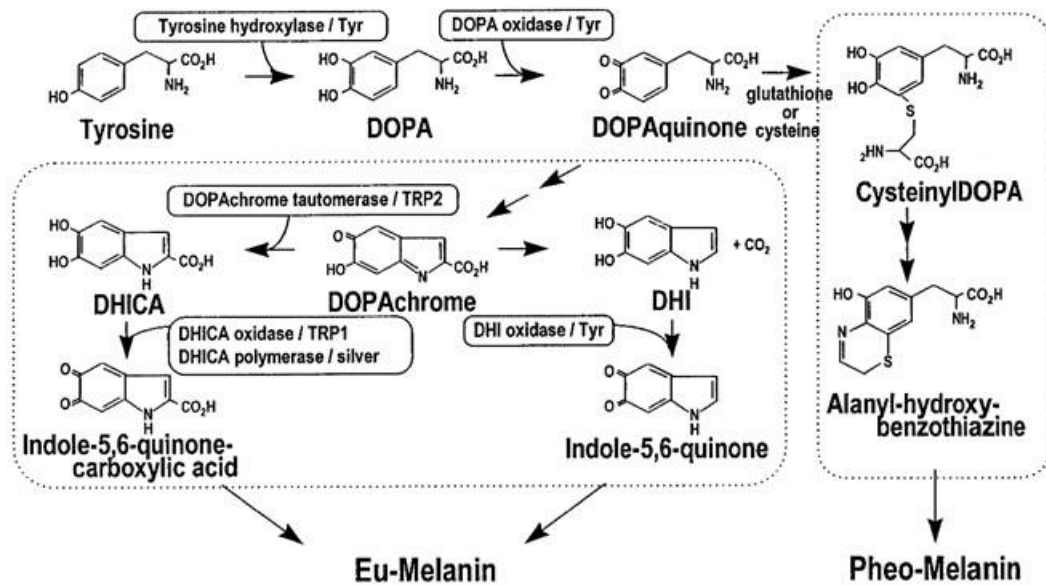


Figure 5 กลไกการเกิดสีผิวตามธรรมชาติ (Kim and Uyama, 2005)

จากกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่ผลิตจากกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1) ยูเมลานิน มีลักษณะ กลม เรียบ ไม่ละลายน้ำ จำแนกได้เป็นสองชนิดคือ ยูเมลานินสีดำ (black eumelanin) และยูเมลานินสีน้ำตาล (brown eumelanin) พบในชาวเอเชียและผู้มีสีคล้ำ

2) พีโอเมลานิน รูปร่าง ไม่เรียบ ละลายได้ในต่าง ประกอบไปด้วย พีโอเมลานินสีแดง (oxyhemoglobin) พีโอเมลานินสีเหลือง (carotent) พบได้ในคนผิวขาว คนที่มีผมสีแดง

3) เมลานินผสม เป็นผิวที่มีทั้งยูเมลานินและพีโอเมลานินผสมกัน

ในมนุษย์ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนไทโรซิเนสมีผลให้เกิดการผลิตเอนไซม์ไทโรซิเนสบกพร่องทำงานไม่ได้จะเกิดเป็นสภาวะผิวเผือก (oculocutaneous) ไม่มีเม็ดสีเมลานิน ไม่มีสีผิว ผม และตา ทนแสงแดดไม่ได้เมื่อถูกแดดผิวจะไหม้

2.10.1 กลไกการขจัดสีผิว

การขจัดสีผิวโดยส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นที่การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งสามารถทำได้หลายขั้นตอนดังนี้

- การทำลายเซลล์สร้างเม็ดสี
- ควบคุมกระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานินและสารเริ่มต้น
- ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนส
- ควบคุมการส่งเมลานินไปยัง malpighian cell โดยระงับ ป้องกันการเกิด phagocytosis ของ melanocytic dendrite หรือทำให้เกิด intercellular edema
- เปลี่ยนแปลงเมลานินที่สร้างแล้วในเมลานินโซม (melanosome) จากสีเข้ม ไปเป็น สีจาง (กัญญาลักษณ์, 2557)

โดยวิธีที่นิยมมากที่สุดคือวิธีที่การยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนส เพราะขจัดสีผิวได้ผลดีกว่าชนิดอื่น ใช้ได้ผลดีในเวลาที่นานกว่า ส่วนสารป้องกันแสงแดดนิยมใช้ร่วมกันเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการสร้างสีผิวใหม่ขึ้นมาอีก ในประเทศแถบเอเชียแปซิฟิกโดยเริ่มให้นิยามในผลิตภัณฑ์ความงามที่ทำให้ผิวขาวขึ้น เป็นเวลากว่า 30 ปี ปัจจุบันค่านิยมนี้ยิ่งเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะในกลุ่มผู้หญิง โดยจะเห็นว่าผู้หญิงควรจะมีผิวที่ขาวและดูสุขภาพดีจึงจะดูสวยงาม ผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้มักผสมสารที่เรียกว่า skin whitening agent (พิมพร, 2551)

2.11 เอนไซม์คอลลาจีเนส

เอนไซม์คอลลาจีเนส เป็นเอนไซม์โปรติเอสชนิดหนึ่งในกลุ่มเอนไซม์โปรติเนสที่สามารถย่อยสลาย native collagen ได้ เอนไซม์คอลลาจีเนสที่รู้จักในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน หรือจากพืช คือ ปาเปน เอนไซม์คอลลาจีเนสสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ เช่น *Bacillus subtilis*, *Clostridium histolyticum*, *Bacillus* sp. โดยทั่วไปเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ย่อยคอลลาเจนจะมี Zn^{2+} เป็นโคแฟกเตอร์ตรงบริเวณเร่ง ซึ่งจัดเป็นเมทัลโลโปรติเนส ซึ่งเอนไซม์คอลลาจีเนสชนิดเมทัลโลโปรติเนสย่อยสลายสายคอลลาเจนที่พันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโนชนิดอื่น กับ ไกลซีน-โพรลีน เอนไซม์คอลลาจีเนสนี้มีหลายแบบ บางชนิดจัดเป็นซีรีนโปรติเนสและโปรติเอสอื่นๆ รองลงมา วริญดา (2552) ได้อ้างถึง Kawahara และคณะ (1993) ในการศึกษาการคัดแยกและจำแนกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์คอลลาจีเนสจากดิน พบว่าเป็นเชื้อ *Bacillus alvei* DC-1 เมื่อทำให้บริสุทธิ์

แล้วทำการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 80 วิเคราะห์เอนไซม์คอลลาจิเนสพบว่า เอนไซม์คอลลาจิเนสทำงานได้ดีที่พีเอช 4.5 6.0 และ 7.0 สรุปได้ว่าเชื้อ *Bacillus alvei* DC-1 ผลิตเอนไซม์คอลลาจิเนสที่มีกิจกรรมที่พีเอชเป็นกรด อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานและความคงตัวของเอนไซม์คอลลาจิเนส วริญดา (2552) ยังได้อ้างถึงการศึกษาศึกษาของ Kanayama และ Sakai (2005) ที่ทำการศึกษาค้นคว้าของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Microbacterium liquefaciens* โดยเลี้ยงในอาหารที่มีเจลาตินเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 37-42 องศาเซลเซียส และผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Microbacterium liquefaciens* พบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรติเอสมีความคงตัวมากกว่าร้อยละ 60 ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรติเอสจะสูญเสียกิจกรรมทั้งหมด แต่เมื่อเก็บเอนไซม์ไว้ที่ -80 ถึง 0 องศาเซลเซียส ไม่มีการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

2.12 เครื่องสำอางจากธรรมชาติ

การใช้เครื่องสำอางและเครื่องหอมต่างๆ เริ่มจากชาวอียิปต์ โรมัน ในส่วนแถบตะวันออกมีการใช้เครื่องสำอางตั้งแต่โบราณเช่นเดียวกัน เช่น ชาวไทยโบราณใช้ผลมะคาคีควายและเปลือกขี้หนอนในการสระผมและซักเสื้อผ้า ใช้ดินสอพองผัดหน้า ขมิ้นทาผิวให้เหลือง ชาวพม่าใช้กระแจะหรือ ทะนาคา นำมาฝนเพื่อทาหน้าและผิวกายให้ขาวนวล ชาวอินเดียใช้เครื่องเทศของหอมจากดอกไม้ เป็นต้น ภายหลังมีการค้นพบสารสังเคราะห์มากมายโดยเฉพาะกลุ่มสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ จึงมีการผลิตเครื่องสำอางจากสารสังเคราะห์มากขึ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์บางประเภทผู้ผลิตไม่มีความรับผิดชอบต่อผู้บริโภคมีการผสมสารบางชนิดที่ทำให้ผิวขาวไวขึ้นจนทำให้เกิดความอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งในปัจจุบันห้ามใช้สารเคมีพวกนี้ในการผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น สารไฮโดรควิโนน กรดเรติโนอิก และปรอทแอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งเมื่อได้รับบ่อยๆ จะเกิดการระคายเคืองหรือการแพ้ได้ สารบางชนิดมีสารก่อมะเร็ง (พิมพร, 2551) เพื่อลดความอันตรายดังกล่าว

สาร skin whitening agent อาจหมายถึงความรวมไปถึงสารเคลือบคลุมผิว เช่น titanium dioxide, talcum, kaolin เป็นต้น สารป้องกันแสงแดดซึ่งลดตัวกระตุ้นการสร้างเม็ดสีจากแสงยูวี สารลอกเซลล์ผิว (keratolytic) ซึ่งลอกผิวสีคล้ำออกไปและสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันได้แก่ arbutin, kojic acid, licorice extracts, vitamin C derivatives ซึ่งมีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ขจัดฝ้าและทำให้ผิวขาว เช่น

- กรดโคจิก (kojic acid) เป็นสารที่เกิดจากขบวนการเมตาโบลิซึมของเชื้อรา Aspergillus, Penicillium และ Acetobacter สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยจับกับ copper ทำให้ลดการสร้างเม็ดสี eumelanin

- อาร์บูติน (arbutin) เป็น hydroquinone glycoside ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่ากรดโคจิก โดยใช้ในความเข้มข้น 3-7% มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ (Frank, 1999; Charles, 1987)

การศึกษาในครั้งนี้ต้องการเพิ่มมูลค่าแก๊กฮวยอินทรีย์เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง ซึ่งใช้ประโยชน์ให้มากกว่าการนำไปอบแห้งแล้วทำเป็นเครื่องดื่มแบบชาที่มีจำหน่ายทั่วไป ด้วยคุณสมบัติหลายอย่างของแก๊กฮวยตามที่ได้กล่าวไปข้างต้น พบสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดซึ่งเป็นสารกลุ่มที่ละลายน้ำได้ดีและมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลองได้จากข้อมูลเหล่านี้สนับสนุนว่าแก๊กฮวยมีศักยภาพสามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องสำอางดูแลผิวได้อย่างมาก



บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 ปีกเกอร์

3.1.2 หลอดทดลอง

3.1.3 กระจุกพลาสติกทึบแสง

3.1.4 หม้อต้มสมุนไพร 2 ชั้น

3.1.5 ผ้ากรองตาถี่

3.1.6 ชุดกรองสารระบบสุญญากาศ

3.1.7 กระดาษกรอง Whatman No.1

3.1.8 โกร่งบดสาร (mortar and pastel)

3.1.9 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3.1.10 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.11 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

3.1.12 ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ 4°C

3.1.13 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -20°C

3.1.14 ปีเป็ดดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติ พร้อมทึบ

3.1.15 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge) รุ่น Universal 320R

3.1.16 เครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator)

3.1.17 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)

3.1.18 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

- Folin-Ciocalteu reagent
- Sodium carbonate
- Gallic acid

3.2.2 การทดสอบ Flavonoids

- Methanol
- Aluminium nitrate
- Quercetin

3.2.3 การทดสอบ ABTS radical scavenging

- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)
- ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))
- Potassium persulfate

3.2.4 การทดสอบ DPPH radical scavenging

- DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- Methanol
- Gallic acid

3.2.5 การทดสอบ Superoxide radical scavenging

- Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4)
- Sodium di-hydrogen phosphate (NaH_2PO_4)
- Nitrotetrazolium blue chloride (NBT)

- Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)

- Phenazine methoulfate (PMS)

3.2.6 การทดสอบ Tyrosinase inhibition activity

- Kojic acid

- L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine)

- Posphate buffer

- Tyrosinase from mushroom

3.2.7 การทดสอบ Collagenase

- EGCG ((-)-Epigallocatechin gallate)

- tricine buffer solution (pH 7.5)

- Collagenase type I, *Clostridium histolyticum*

- FALGPA (N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala)

3.3 วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย



Figure 6 ลักษณะของดอกเก๊กฮวย A) ดอกเก๊กฮวยสด B) ดอกเก๊กฮวยดอกบานอบแห้ง C) ดอกเก๊กฮวยที่ปลุกกลางแจ้ง D) ดอกเก๊กฮวยที่ปลุกในโรงเรือน

ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ 3 แบบ (Figure 6) จากแปลงเพาะปลูกด้วยระบบอินทรีย์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ดอกเก๊กฮวยอบแห้งที่นำมาใช้มี 3 แบบได้แก่ 1.ดอกเก๊กฮวยดอกบาน คือดอกเก๊กฮวยที่มีสีเหลืองคล้ำและขนาดไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นดอกเก๊กฮวยดอกบานจึงเป็นดอกเก๊กฮวยที่สีเข้มที่สุด ซึ่งเก๊กฮวยดอกบานนี้ได้มาจากดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้งและโรงเรือนที่ลักษณะไม่ตรงตามมาตรฐานที่ต้องการของทั้งสองแบบ ราคา 500 บาท/กิโลกรัม 2.ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง คือดอกเก๊กฮวยที่มีสีเหลืองสวยและขนาดที่เท่ากัน ราคา 1300 บาท/กิโลกรัม 3.ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน คือดอกเก๊กฮวยที่มีสีเหลืองสวยและขนาดที่เท่ากันเช่นเดียวกันกับดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง ราคา 1300 บาท/กิโลกรัม

3.4 วิธีวิจัย

3.4.1 การสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์

นำดอกเก๊กฮวยอินทรีย์อบแห้งที่ป่นให้ละเอียดปริมาณ 100 กรัม นำมาต้มในน้ำปราศจากประจุ (Deionizer water) ปริมาตร 4 ลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มสมุนไพร จากนั้นนำมากรองแยกกากด้วยผ้ากรองตาถี่ จากนั้นทำการกรองซ้ำอีกครั้งด้วยชุดกรองสารสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ทำการแยกตะกอนโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง จากนั้นแยกตัวทำละลายออกบางส่วนด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) และทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) จากนั้นคำนวณร้อยละของผลผลิต (%yield) ต่อไปดังสมการ

$$\text{ร้อยละของผลผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักดอกเก๊กฮวยอินทรีย์แห้งที่นำมาสกัด (กรัม)}}$$

3.4.2 ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด

ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีการดัดแปลงจาก Hammerschmidt และ Pratt (1978) โดยนำตัวอย่างสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ทั้ง 3 แบบ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันปริมาตร 200 ไมโครลิตร ทำการเติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu's

reagent ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และสารละลาย 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน gallic acid และทำการรายงานผลในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalent/g extract; mg GAE/g extract)

3.4.3 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอบีทีเอส

ทำการทดสอบตามวิธีการดัดแปลงจาก Re และคณะ (1999) เตรียมสารละลายอนุมูลเอบีทีเอส (ABTS⁺) โดยผสม ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์กับสารละลาย $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ในอัตราส่วน 1:0.5 โดยปริมาตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 12-16 ชั่วโมง ขณะใช้งานทำการเจือจาง ABTS⁺ ด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรเท่ากับ 0.7 ± 0.5 ก่อนนำไปใช้งาน จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ปริมาตร 200 ไมโครลิตร (ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทน) เติมนลงในสารละลายอนุมูล ABTS⁺ ปริมาตร 1,800 ไมโครลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 6 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับสารละลายมาตรฐาน trolox โดยรายงานผลให้อยู่ในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg trolox equivalent antioxidant capacity/g extract; mg TEAC/g extract)

จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณร้อยละผลผลิต ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอบีทีเอส ของสารสกัดเก๊กฮวยทั้ง 3 ชนิด คือ ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ดอกบาน ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกในโรงเรือน และดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกกลางแจ้ง เพื่อคัดเลือกเพียงชนิดเดียวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการทดลองขั้นต่อไป

3.4.4 ปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ทำการตรวจวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีการของ Stanković (2011) โดยทำการเตรียมสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์ทั้ง 3 แบบที่ความเข้มข้นแตกต่างกันด้วยเมทานอล ทำการเติม

สารละลายแก๊กฮวย 1,000 ไมโครลิตร ร่วมกับสารละลาย 2% $AlCl_3$ ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นนำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน และทำการรายงานผลในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalent/g extract; mg QE/g extract)

3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์ซีติน

ทำการตรวจวัดสารเคอร์ซีตินโดยการส่งตรวจ ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด โดยทำการตรวจด้วย Liquid chromatography–mass spectrometry (LC/MS) ตามวิธีการอ้างอิงของ Peñarrieta และคณะ (2007) โดยใช้ Liquid Chromatography (LC; Agilent technologies 1100 series, Germany) มีส่วนประกอบดังนี้ คอลัมน์ LiChroCART RP-18e 150x4.5 mm (5 μ m) Purospher STAR Merck, USA ทำการตรวจวัดด้วย diode array ที่ความยาวคลื่น 270, 330, 350 และ 370 nm และ MS detector (Agilent technologies LC/MSD SL, USA) โดยใช้ mobile phase เป็น acetonitrile (A) และ 10 mM ammonium formate buffer (pH 4) กับ formic acid โดยสภาวะดังนี้ 5 นาทีแรกคือ B 100% คงที่; เวลา 5-10 นาทีคือ A ความเข้มข้น 0-20%; เวลา 10-20 นาทีคือ A 20% คงที่ และเวลา 20-60 นาทีคือ A 20-40% ปริมาณเคอร์ซีตินรายงานในรูปของมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง

3.4.6 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลตีพีพีเอช

ทำการทดสอบตามวิธีการดัดแปลงจาก Mensor และคณะ (2001) ทำการเตรียมสารละลายอนุมูลตีพีพีเอช (DPPH \cdot) โดยเตรียม 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ด้วยเมทานอลและทำการเก็บให้พ้นแสง ทำการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างสารสกัดดอกแก๊กฮวยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันปริมาตร 500 ไมโครลิตร (ชุดควบคุมใช้เมทานอลแทน) และสารละลาย DPPH \cdot ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตรเติมลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันและบ่มไว้ในที่มืดนาน 20 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการเปรียบเทียบผล

การทดลองกับสารละลายมาตรฐาน gallic acid โดยรายงานผลให้อยู่ในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (gallic acid equivalent antioxidant capacity; mg GEAC/g extract)

3.4.7 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์

ทำการทดสอบตามวิธีการดัดแปลงจาก Nishikimi และคณะ (1972) ทำการเตรียมสารละลายทั้งหมดใน 100 mM phosphate buffer (pH 8) การวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันปริมาตร 100 ไมโครลิตร (ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer แทน) ร่วมกับ 156 μ M NBT ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร 468 μ M NADH ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และ 60 μ M phenazine methosulphate (PMS) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันและบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับสารละลายมาตรฐาน gallic acid โดยรายงานผลให้อยู่ในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (gallic acid equivalent antioxidant capacity; mg GEAC/g extract)

ประสิทธิภาพของสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) ทำการคำนวณโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{Inhibition (\%)} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) / (Abs_{\text{control}})] \times 100$$

โดยที่ Abs_{control} คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมที่ปราศจากสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์ และ Abs_{sample} คือค่าการดูดกลืนแสงชุดทดลองที่เติมสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์

3.4.8 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์

3.4.8.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทำการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยใช้ dopachrome method ตามวิธีการของ Masuda และคณะ (2005) ทำการเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 200 U/mL และ สารละลาย 2.5 mM of L-DOPA (3, 4-dihydroxy-L-phenylalanine) ใน 20 mM phosphate buffer (pH 6.8) จากนั้นทำการทดสอบโดยใช้ไมโครเพลทชนิด 96 หลุม โดยแต่ละหลุมทำการเติมสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันปริมาตร 20 ไมโครลิตร ร่วมกับ สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนสปริมาตร 40 ไมโครลิตร และ phosphate buffer ปริมาตร 140 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเขย่าเบาๆให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และทำการเติม L-DOPA ปริมาตร 40 ไมโครลิตร (ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer แทน) จากนั้นทำการบ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทที่ ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยแต่ละชุดการทดลองทำการลบด้วยชุดควบคุมเปล่าโดยทำการเติม สารเช่นเดียวกับชุดทดลองและทำการเติม phosphate buffer แทนที่เอนไซม์ไทโรซิเนส ทำการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารละลายมาตรฐาน kojic acid

3.4.8.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

ทำการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสตามวิธีการของ Zakiah และ คณะ (2018) การทดสอบโดยใช้ไมโครเพลทชนิด 96 หลุม โดยแต่ละหลุมทำการเติมสารสกัดดอก เก๊กฮวยอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันปริมาตร 50 ไมโครลิตร ร่วมกับ 50 mM tricine buffer (pH 7.5) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ 125 U/mL *Clostridium histolyticum* collagenase (type I) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเขย่าเบาๆให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และเติม 0.5 mM FALGPA ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความ ยาวคลื่น 340 นาโนเมตร นาน 20 นาที (ชุดควบคุมใช้ tricine buffer แทน) ทำการเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพกับสารละลายมาตรฐาน EGCG

ประสิทธิภาพของสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์ในการยับยั้ง (%inhibition) เอนไซม์ไทโรซิเนสและคอลลา จิเนสทำการคำนวณดังสมการ

$$\text{Inhibition (\%)} = [1 - (\text{Os} / \text{Oc})] \times 100$$

โดยที่ Os คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดลองที่ทำการเติมสารสกัดเห็กฮวยอินทรีรี่ และ Oc คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดเห็กฮวยอินทรีรี่

3.4.9 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

3.4.8.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

เลือกสารสกัดเห็กฮวยอินทรีรี่ที่มีความเหมาะสมที่สุดมาพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางซึ่งมี 2 เฟสคือ 1. วัฏภาคน้ำประกอบด้วย Aqua, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Butylene Glycol, Glycerin, Disodium EDTA, Dipotassium glycyrrhizate และสารสกัดเห็กฮวยที่ความเข้มข้น 1% 2. วัฏภาคน้ำมันประกอบด้วย Glycerin (and) Hydrogenated lecithin (and) Hydroxypropyl methylcellulose stearoxy Ether (and) Squalane (and) Sodium methyl stearyl taurate, Dimethicone, Squalane, Cetyl alcohol, Stearyl alcohol, Tocopheryl acetate โดยนำแต่ละวัฏภาคไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และทำการเติมวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำ (O/W) จากนั้นทำการผสมให้เข้ากัน เมื่ออุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียสทำการเติม Caprylhydroxamic Acid and 1,2-Hexanediol and Butylene Glycol จากนั้นพักไว้ให้เย็นแล้วนำบรรจุใส่บรรจุภัณฑ์

3.4.8.2 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

ทำการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ตามวิธีการของ Censi และคณะ, (2018); Leelapornpisid และคณะ (2014) โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพจากสี และความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งด้วยอุณหภูมิร้อนและเย็นจำนวน 6 cycle (ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมงสลับกับที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1 cycle) และ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

3.4.8.3 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร

ทำการทดสอบความพึงพอใจและการตัดสินใจซื้อหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัคร โดยใช้แบบสอบถามในอาสาสมัครจำนวน 30 คน (ภาคผนวก ก) แบบสอบถามประกอบด้วย ข้อมูลส่วนตัว ความคิดเห็น ความตั้งใจซื้อ ความพึงพอใจ และการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ เพื่อประเมินศักยภาพทางการตลาดและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค

3.4.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองทั้งหมดแสดงอยู่ในรูปของ ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean \pm S.D.) ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA analyze) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistic Package for Social Science) เวอร์ชัน 17.0 for Windows วิเคราะห์ปริมาณร้อยละผลผลิต วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS⁺ scavenging activity assay) ของสารสกัดเก๊กฮวย และศึกษาความแตกต่างของสารสกัดเก๊กฮวยแต่ละแบบ โดยใช้การเปรียบเทียบของ Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

จากการทดลองพบว่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดคือ ดอกเก๊กฮวยดอกบาน ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงแจ้ง และดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือนที่ทำการสกัดด้วยน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง มีปริมาณผลผลิตของสารสกัดเก๊กฮวยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีความอยู่ในช่วง 33.00 – 45.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดเก๊กฮวยทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองทอง สามารถละลายน้ำได้ง่าย (Figure 7) งานวิจัยก่อนหน้านี้นิยมทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกเก๊กฮวยเพื่อนำไปใช้ในการช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุน (K. M. Chang *et al.*, 2010) ยับยั้งแบคทีเรียในช่องปาก (Jung, 2009) และทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อใช้ในการเป็นเชิงหน้าที่ในทางเภสัชวิทยา เช่น ช่วยลดโรคอ้วนหรือยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เป็นต้น (Cha *et al.*, 2018; Pitinidhipat and Yasurin, 2012; Wu *et al.*, 2010) นอกเหนือจากนี้ยังพบว่ามี การนำสารสกัดจากเก๊กฮวยไปใช้ประโยชน์ในด้านเครื่องสำอางยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควร

Table 1 ผลผลิตของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

ชนิดของสารสกัดดอกเก๊กฮวย	ผลผลิตของสารสกัด (เปอร์เซ็นต์)
ดอกเก๊กฮวยดอกบาน	36.68 ± 1.54 ^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงแจ้ง	33.66 ± 9.17 ^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน	44.80 ± 9.81 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

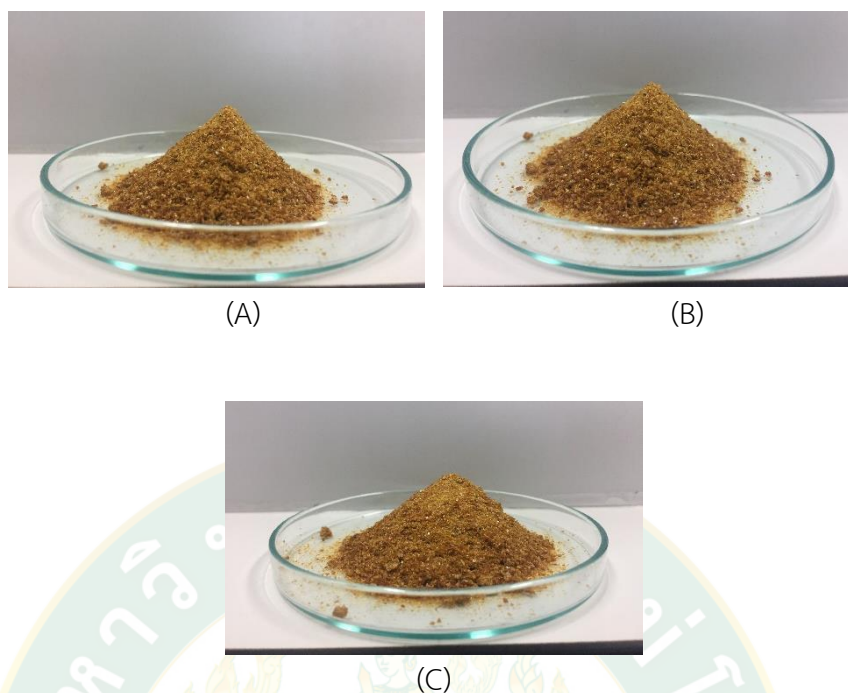


Figure 7 ลักษณะทางกายภาพของ (A) สารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบาน (B) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงกลางแจ้ง และ(C) ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงในโรงเรือน

4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกถือได้ว่าเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่พบในพืชพรรณธรรมชาติเนื่องจากมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใส (Barbulova *et al.*, 2015; Jin *et al.*, 2013) เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเก๊กฮวยทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent โดยคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ($y = 9.5093x + 0.0686$, $R^2 = 0.9993$) พบว่าสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงกลางแจ้ง และสารสกัดดอกเก๊กฮวยที่ปลูกลงในโรงเรือน (Table 2) นอกจากนี้พบว่าดอกเก๊กฮวยที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 144.87 ± 0.05 mg/100 g (Mircea *et al.*, 2015) โดยทั่วไปแล้วสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ การสลายตัวของอนุมูลเปอร์ออกไซด์ การยับยั้งสารกลุ่มโลหะ หรือกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (Oberoi and Sandhu, 2015) แต่ประสิทธิภาพดังกล่าวจะ

ขึ้นกับสูตรโครงสร้างโมเลกุล และตำแหน่งของปฏิกิริยาไฮดรอกซิลบนโครงสร้างของวงแหวนเบนซีน (Baydar *et al.*, 2011)

Table 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารสกัดดอกเก๊กฮวย	mg GAE/g extract
ดอกเก๊กฮวยดอกบาน	72.28 ± 2.02 ^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลุกกลางแจ้ง	69.21 ± 3.31 ^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลุกในโรงเรือน	54.38 ± 0.67 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.3 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอส

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของสารสกัดเก๊กฮวยทั้ง 3 ชนิดเพื่อคัดเลือกชนิดของดอกเก๊กฮวยที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดร่วมกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพื่อใช้เป็นสารผสมในเครื่องสำอางบำรุงผิว โดยทำการทดสอบฤทธิ์ในการขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอส (ABTS radical scavenging) โดยผลการทดลองทำการตรวจการจางลงของอนุมูลเอปี้ทีเอสซึ่งสัมพันธ์กับสีฟ้าอมเขียวที่ความยาวคลื่น 734 nm (Shalaby and Shanab, 2013) ผลการทดลองพบว่าดอกเก๊กฮวยดอกบานมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอสสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับดอกเก๊กฮวยอินทรีย์อีกสองชนิด (Figure 8) เมื่อพิจารณาค่า IC₅₀ และค่า TEAC (Table 3) พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบานมีประสิทธิภาพสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับดอกเก๊กฮวยอีก 2 ชนิด ($p < 0.05$)

จากผลการหาปริมาณร้อยละผลผลิตของดอกเก๊กฮวยทั้งสามชนิด การทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และการทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอสพบว่าดอกเก๊กฮวยดอกบานมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่สุด ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยดอกบานเพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

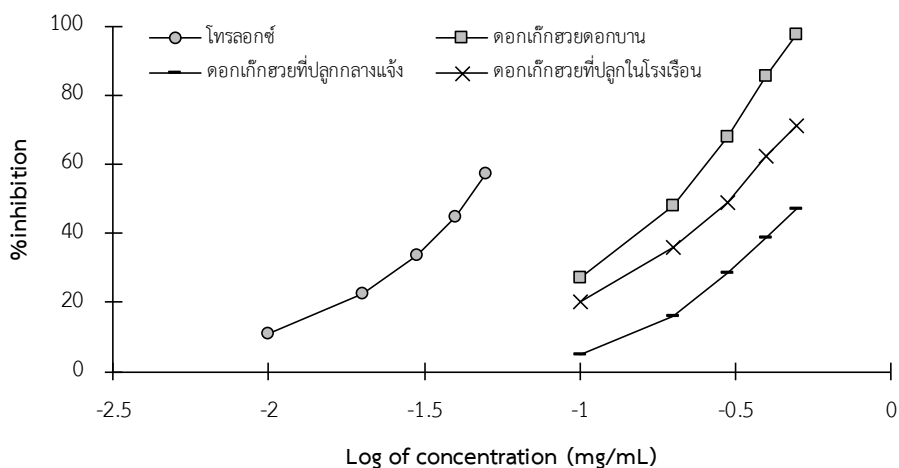


Figure 8 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลเอปี้ทีเอสของสารสกัดดอกเก็กฮวยอินทรีย์

Table 3 ฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปี้ทีเอสของสารสกัดดอกเก็กฮวย

สารสกัดดอกเก็กฮวย	IC ₅₀ (mg/mL)	TEAC (mg/g extract)
ดอกเก็กฮวยดอกบาน	0.22 ± 0.00 ^a	156.41 ± 1.95 ^a
ดอกเก็กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง	0.52 ± 0.00 ^c	93.50 ± 3.12 ^c
ดอกเก็กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน	0.29 ± .043 ^b	118.16 ± 1.85 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มใหญ่ในสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารกลุ่มทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พบในพืชโดยในโครงสร้างจะพบวงแหวนเบนซีนและหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ภายในโครงสร้าง ทำให้โครงสร้างสามารถบริจาคอิเล็กตรอนได้ง่ายซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระ (Aryal *et al.*, 2019) สามารถช่วยป้องกันไขมันและวิตามิน ซี จากกระบวนการออกซิเดชัน (Hernandez Zarate *et al.*, 2018) โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ลดการอักเสบ และช่วยป้องกันรังสียูวี (Tungmunnithum *et al.*, 2018) ผลการทดลอง

Figure 9 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยพบสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์กับสารมาตรฐานเคอร์ซีติน ($y = 0.0277x + 0.0277$, $R^2 = 0.9993$) พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบานมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 16.54 ± 0.12 mg QE/g extract จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดหนึ่งที่สำคัญในสารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบานซึ่งมีประสิทธิภาพในการเป็นสารอนุมูลอิสระในเครื่องสำอางได้ทางหนึ่ง

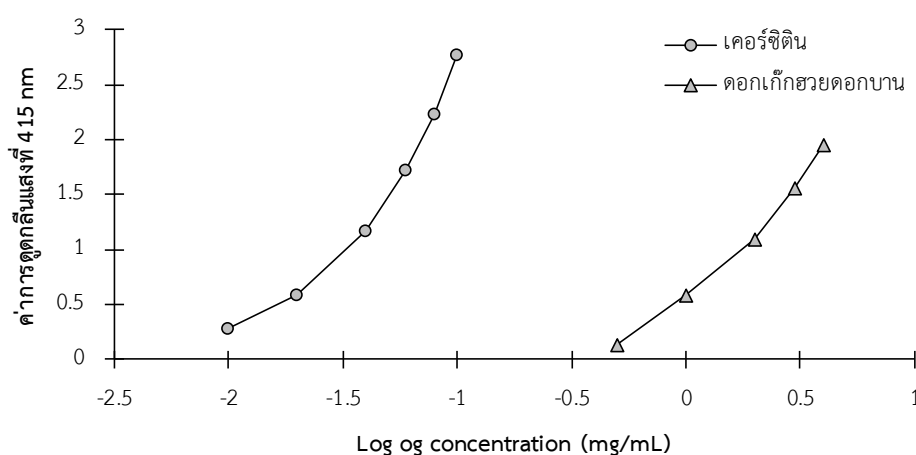


Figure 9 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์ซีติน

เคอร์ซีตินเป็นสารประกอบฟีนอลิกจัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในทางเครื่องสำอางเนื่องจากมีรายงานอย่างแพร่หลายว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (Choi and Shin, 2015) นอกจากนี้ Kim (2012) พบว่าเคอร์ซีตินความเข้มข้น 5-50 μM สามารถยับยั้งกระบวนการเม็ดสีเมลานินในเซลล์ B16F10 melanoma cells ได้และยังมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Mihaylova and Schalow, 2013) จากการตรวจวัดด้วย LC-MS (Figure 10) พบว่าสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานปริมาณเคอร์ซีตินเท่ากับ 402.47 mg/kg (ภาคผนวก ข) ดังนั้นสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานจึงถือได้ว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการช่วยบำรุงผิวในเครื่องสำอางได้



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
 สาขาเชียงใหม่ : 164/86 หมู่ที่ 3 ต.ดอนแก้ว อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ 50180
 Chiangmai Branch : 164/86 Moo 3 Donkaew, Maeim, Chiangmai 50180 Thailand
 Tel : (66) 0 5389 6131, (66) 0 5389 6133 Fax : (66) 0 5389 6052, (66) 0 5389 6131 ต่อ 705
 http://www.centralabthai.com

Central Lab
 One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 15 พฤษภาคม 2561

เลขที่รายงาน : TRCM61/08765

หน้า : 1/1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	สินีนานู ภูระชัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 63 หมู่ 4 ต. นองหาร อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ 50290
รายละเอียดตัวอย่าง	Flower
รหัสตัวอย่าง	CM61/00906-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากพืช ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติก (ถุงซิปล็อค), จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนัก/ปริมาตร : 20 กรัม อุณหภูมิขณะรับ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	29 มกราคม 2561
วันที่ทดสอบ	02 มีนาคม 2561 - 14 พฤษภาคม 2561

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Quercetin	402.47	mg/kg	-	In-house method based on Bolivian journal of chemistry, vol 24, 2007 (By LC/DAD/MSD)



อนุมัติผลโดย

(นางสาวศิวรรณา พิทักษ์น้อย)

ลงนามแทนผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขา เชียงใหม่

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
 FM-QP-24-01-001-R03(14/09/52)P1/1 - CM



Figure 10 ผลการตรวจวัดปริมาณสารเคอร์ซีตินของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์

4.5 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลตีพีพีเอช

อนุมูลตีพีพีเอชเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรที่สังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาเคมีโดยอนุมูลดังกล่าวจะมีสีม่วงซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm (Shalaby and Shanab, 2013) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเก็กฮวยดอกบานสามารถยับยั้งอนุมูลตีพีพีเอชได้ (Figure 11 และ Table 4) โดยพบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 mg/mL มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ $68.40 \pm 1.22\%$ นอกจากนี้จากการรายงานของ Han และคณะ (2019) พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรชาเก็กฮวยสามารถยับยั้งอนุมูลตีพีพีเอชได้ดีเช่นเดียวกัน โดยพบว่าชาเก็กฮวยที่ทำการแช่ในน้ำอุณหภูมิ 100°C นาน 2 และ 4 นาทีมีประสิทธิภาพเท่ากับ $47.18 \pm 1.40\%$ และ $43.40 \pm 4.81\%$ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกพบว่าสารสกัดดอกเก็กฮวยดอกบานมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.32 ± 0.00 mg/mL ในขณะที่สารมาตรฐานแกลลิกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.05 ± 0.00 mg/mL

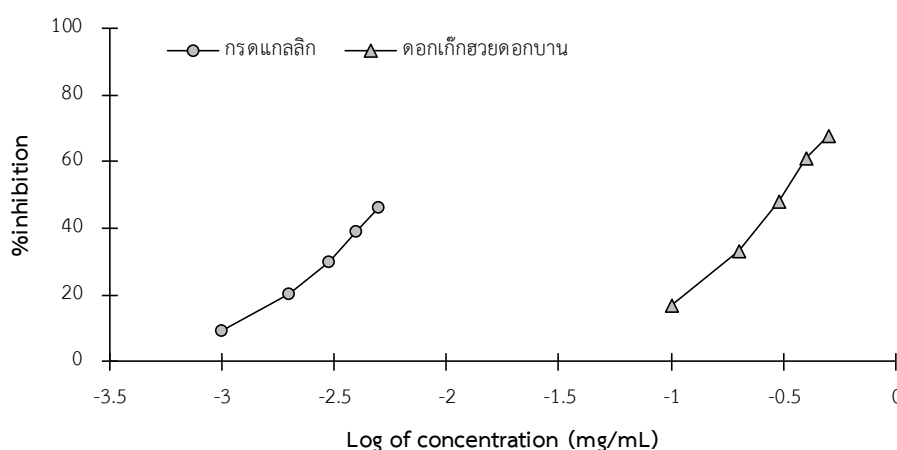


Figure 11 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลตีพีพีเอชของสารสกัดดอกเก็กฮวยอินทรีย์

4.6 การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์

อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลเริ่มต้นหรืออนุมูลตัวแรกที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ต่างๆ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดที่เป็นอันตรายอื่นๆ เช่น singlet oxygen และ hydroxyl radical (Sasikumar and Kalaisezhiyen, 2014) จากผลการทดลอง (Figure 12 และ Table 4) พบว่าสารสกัดดอกเก็กฮวยดอกบานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ได้เช่นเดียวกับอนุมูลเอปิตีเอสและอนุมูลตีพีพีเอช โดยพบว่าที่ความเข้มข้น

เท่ากับ 9.0 mg/mL มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 45.99 ± 2.65 mg/mL โดยทั่วไปแล้วอนุมูลอิสระมีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของผิว โดยในสภาวะที่ร่างกายเกิดอนุมูลอิสระมากจนสามารถจัดการได้จึงทำให้เกิดภาวะที่ไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยภาวะดังกล่าวมักเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระในกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบจนทำให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของผิวผ่านการทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆเช่น ไขมัน ดีเอ็นเอ รวมไปถึงไมโทคอนเดรีย (Mukherjee *et al.*, 2011) ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นสิ่งสำคัญในการช่วยป้องกันและบรรเทาความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับผิวหนัง โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีรายงานว่าทำหน้าที่ในการช่วยยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ ควบคุมกระบวนการปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ หรือป้องกันเซลล์จากกระบวนการออกซิเดชันเป็นต้น (Soto *et al.*, 2015)

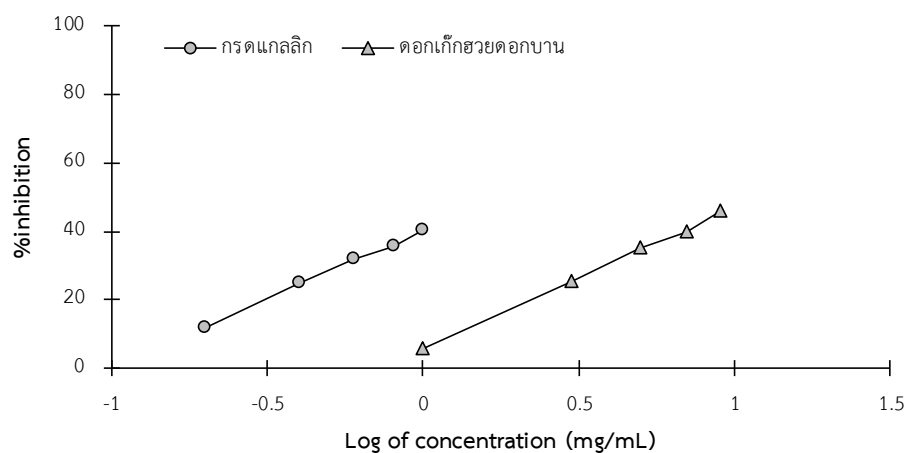


Figure 12 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์

Table 4 ฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

ตัวอย่าง	DPPH assay		Superoxide assay	
	IC ₅₀	GEAC	IC ₅₀	GEAC
	(mg/mL)	mg/g extract	(mg/mL)	mg/g extract
ดอกเก๊กฮวยดอกบาน	0.32 ± 0.00	15.97 ± 0.22	9.39 ± 0.98	138.28 ± 15.08
กรดแกลลิก	0.05 ± 0.00	-	1.37 ± 0.05	-

4.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์

4.7.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่มีอะตอมของคอปเปอร์อยู่ตรงกลางภายในโครงสร้างซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างเม็ดสีเมลานิน โดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน L-tyrosine ให้กลายเป็น L-DOPA (3,4-Dihydroxy-l-Phenylalanine) และออกซิเดชัน L-DOPA ให้กลายเป็น DOPA quinone จนกระทั่งกลายเป็นเม็ดสีเมลานินในที่สุด (Vidyalakshmi and Sahithya, 2016) ในขณะเดียวกันการผลิตเม็ดสีเมลานินมากเกินไปถึงมีการสะสมของเม็ดสีเมลานินในผิวหนังก็จะส่งผลให้ผิวมีสีเข้มขึ้น หรืออาจเกิด กระ ฝ้า ในที่สุด (Ortonne and Bissett, 2008) ดังนั้นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงมีความสำคัญในการช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Couteau and Coiffard, 2016; Whangsomnuek *et al.*, 2019) ในการทดลองครั้งนี้ทำการทดลองโดยใช้วิธี dopachrome โดยใช้ L-DOPA เป็นซับสเตรท ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานความเข้มข้น 80 และ 100 mg/mL มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Figure 13) และเมื่อพิจารณาค่า IC₅₀ พบว่าสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานและสารมาตรฐานกรดโคจิกมีค่าเท่ากับ 102.107 ± 0.05 และ 0.05±0.00 mg/mL จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยมีประสิทธิภาพในการเป็นสารช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

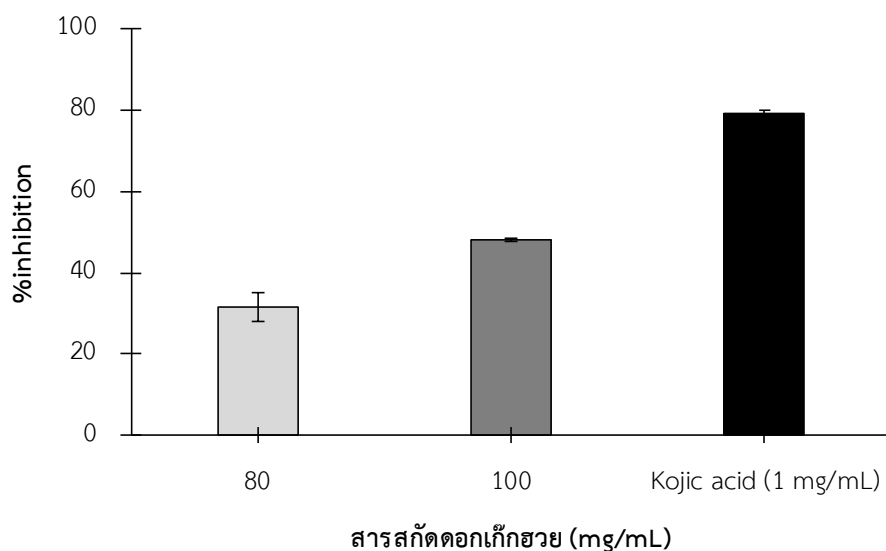


Figure 13 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

4.7.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

เอนไซม์คอลลาจีเนสเป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของ metalloproteinases (MMPs) ที่สามารถย่อยสลายคอลลาเจนซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผิวหนังขาดความยืดหยุ่นและเกิดริ้วรอยได้ (Ghimeray *et al.*, 2015) ดังนั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนสได้จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยลดการเกิดริ้วรอย หรือรอยเหี่ยวย่นบนผิวหนังได้ (Shoko *et al.*, 2018) เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบานโดยทำการบ่มร่วมกับเอนไซม์คอลลาจีเนส ซึ่งใช้ FALGPA เป็นซับสเตรทผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยสามารถยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสได้ (Figure 14) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.33 ± 0.45 mg/mL

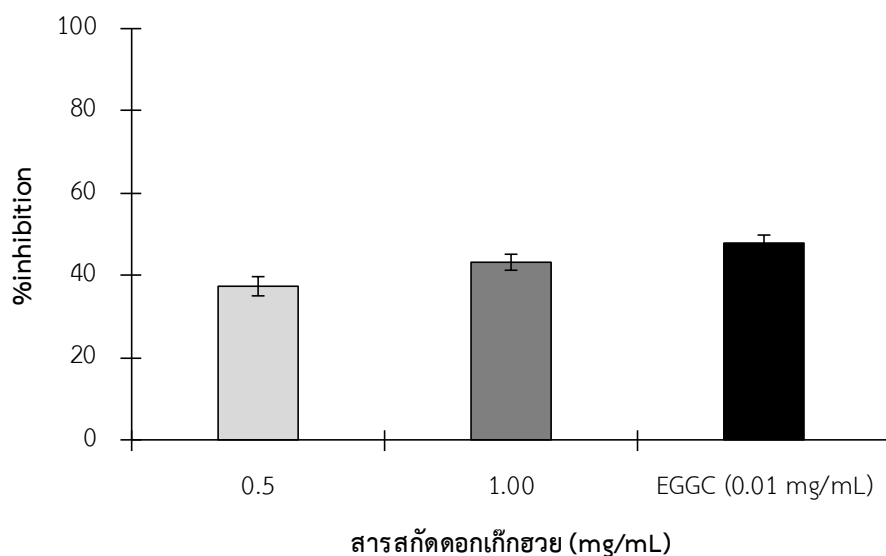


Figure 14 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของสารสกัดดอกเก๊กฮวย

จากผลการทดลองข้างต้นทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยมีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นเครื่องสำอางบำรุงผิวจากธรรมชาติเนื่องจากสารฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญคือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านเอนไซม์คอลลาจีเนส โดยปัจจัยที่มักพบว่าเป็นสาเหตุของผิวหนังเสื่อมสภาพคือการสัมผัสกับมลภาวะต่างๆ รวมถึงการสัมผัสกับรังสียูวีซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ในกลุ่มของ MMPs เช่น collagenase (MMP-1) และ gelatinase (MMP-9) ที่ทำให้ผิวหนังขาดความยืดหยุ่นและเกิดริ้วรอยได้ (Mukherjee *et al.*, 2011) ขณะเดียวกันอนุมูลอิสระได้เกิดจากการสัมผัสรังสียูวีก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินเพื่อตอบสนองและป้องกันอันตรายจากรังสียูวี และเมื่อมีการสร้างเม็ดสีเมลานินมากเกินไปจะทำให้ผิวเข้มขึ้นหรือเกิดกระ ฝ้า ในที่สุด นอกจากนี้เมื่อผิวหนังเสื่อมสภาพก็จะทำให้การทำงานต่างๆ ในการต้านอันตรายจากอนุมูลอิสระมีประสิทธิภาพลดลงผิวหนังมีความแก่ ขาดความชุ่มชื้น เกิดรอยเหี่ยวย่น (D'Orazio *et al.*, 2013) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวจากธรรมชาติมีความน่าสนใจในยุคปัจจุบันเนื่องจากมีความอ่อนโยน ปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Soto *et al.*, 2015)

4.8 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวย

ทำการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีสารสกัดเก๊กฮวยดอกบานเป็นส่วนผสม (Figure 15) จากนั้นทำการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์มีสีครีม เมื่อทำการปั่นเหยียงด้วยความเร็ว 4,000 rpm นาน 30 นาทีพบว่าไม่เกิดการแยกชั้นของเนื้อครีม เนื้อครีมมีความนุ่ม สามารถกระจายตัวได้ดี และมีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.5 (Table 5)



Figure 15 ลักษณะของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย

Table 5 ลักษณะทางกายภาพของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย

ผลิตภัณฑ์	ค่าสี		เนื้อครีม	การกระจายตัว
	L	a*		
ครีมบำรุงผิวหน้า				
จากสารสกัดดอกเก๊กฮวย	52.12 ± 0.55	-0.58 ± 0.13	4.03 ± 0.11	นุ่ม ดี

4.9 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่อุณหภูมิแตกต่างกันคือ อุณหภูมิห้อง 4°C และ 45°C นาน 60 วัน และสภาวะร้อนสลับกับเย็นจำนวน 6 รอบ ผลการทดลอง (Table 6) พบว่าค่าความเป็นกรดต่างในทุกรัฐการทดลองมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้พบว่า เนื้อครีมไม่แยกชั้นหรือตกตะกอน เมื่อทำการพิจารณาค่าความหนืดพบว่ามีความคงตัวและมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นในสภาวะที่อุณหภูมิ 45°C พบว่าความหนืดมีค่าลดลง นอกจากนี้พบว่าสีและกลิ่นของครีมไม่เปลี่ยนแปลงในทุกรัฐของการทดลอง ดังนั้นเครื่องสำอางบำรุงผิวที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความคงตัวโดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงหลังจากเก็บไว้นาน 60 วันแต่ควรหลีกเลี่ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งมีผลต่อความหนืดของครีม

Table 6 ความคงตัวของเครื่องสำอางบำรุงผิวผสมสารสกัดดอกเก๊กฮวย

สภาวะ	pH	สี	ความหนืด (Pa.s)	การแยกชั้นและการตกตะกอน
สภาวะตั้งต้น	5.5	ครีม	20.23 ± 0.07 ^a	x
RT	5.5	ครีม	20.10 ± 0.10 ^a	x
4°C	5.5	ครีม	20.20 ± 0.09 ^a	x
45°C	5.5	ครีม	18.68 ± 0.45 ^b	x
H/C	5.5	ครีม	20.07 ± 0.13 ^a	x

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; RT = อุณหภูมิห้อง; H/C = อุณหภูมิร้อนสลับเย็น

4.10 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร

การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดเก๊กฮวยโดยใช้แบบสอบถาม (ภาคผนวก ก) หลังการทดลองใช้ผลิตภัณฑ์นาน 1 สัปดาห์ในอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีสุขภาพดี จำนวน 30 คน โดยคะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1

โดยในการทดลองครั้งนี้เป็นอาสาสมัครเพศชายคิดเป็น 20% และอาสาสมัครเพศหญิงคิดเป็น 80% ซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 24.17 ปี โดยอาสาสมัครส่วนใหญ่มากกว่า 80% มีความพึงพอใจอยู่

ในช่วงดีและดีมากในทุกด้าน นอกจากนี้ยังพบว่าอาสาสมัครมากกว่า 50% พอใจสีของผลิตภัณฑ์ในเกณฑ์ดีมาก และอาสาสมัครมากกว่า 80% พึงพอใจกลิ่นน้อยที่สุดซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงดีมาก (Figure 16) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีอาสาสมัครท่านใดประสบปัญหาหรือมีการแพ้ระหว่างการใช้ผลิตภัณฑ์นาน 1 สัปดาห์ ส่วนการตัดสินใจซื้อเมื่อมีการจัดจำหน่ายพบว่ามีอาสาสมัครมีความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์

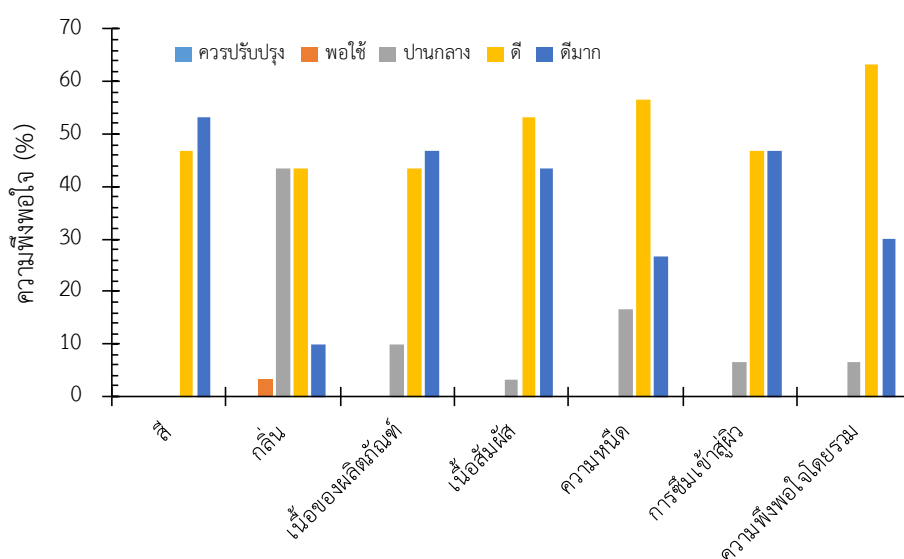


Figure 16 ความพึงพอใจของเครื่องสำอางบำรุงผิวจากเก๊กฮวยของอาสาสมัครจำนวน 30 คน

4.11 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมจากสารสกัดดอกเก๊กฮวยดอกบานทำการพัฒนาโดยใช้ชื่อผลิตภัณฑ์ในนามของ Chrys โดยทำการบรรจุในขวดอะคริลิกทรงสูงขนาด 30 กรัม ดังแสดงใน Figure 17



Figure 17 บรรจุภัณฑ์ต้นแบบของเครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกเก๊กฮวย



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่เลือกทำการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอาง โดยจากการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยดอกบานมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกในโรงเรือน และดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ปลูกกลางแจ้ง เนื่องจากมีประกอบด้วยสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลเอปี้ทีเอสสูงที่สุด นอกจากนี้ดอกเก๊กฮวยดอกบานอินทรีย์ยังถือได้ว่าเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เนื่องจากดอกเก๊กฮวยชนิดดังกล่าวมีสีเข้มหรืออ่อนจนเกินไป หรืออาจมีขนาดและรูปร่างของดอกที่ไม่สมบูรณ์ซึ่งยังไม่ได้รับการพัฒนาในการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับอีกสองชนิดที่นำไปพัฒนาเป็นดอกเก๊กฮวยอบแห้งในการเป็นเครื่องสำอางสมุนไพรชาเก๊กฮวยอินทรีย์ จากการวิจัยพบว่าสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยดอกบานยังมีสารเคอร์ซีตินเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีส่วนช่วยในการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน ส่วนฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งสามารถช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสได้ และยับยั้งเอนไซม์คอลลา-จินเนสซึ่งมีส่วนช่วยในการลดการเกิดริ้วรอย เมื่อทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดเก๊กฮวยอินทรีย์ 1 ผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดี และเมื่อทำการทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่าผลิตภัณฑ์มีความพึงพอใจอยู่ในช่วงดีถึงดีมาก และอาสาสมัครส่วนใหญ่ตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์วางจำหน่าย

โดยส่วนใหญ่แล้วผู้คนมักจะนำเก๊กฮวยมาทำเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อดับร้อน แก้กระหายน้ำซึ่งมีมูลค่าน้อยจึงทำให้การพัฒนาดอกเก๊กฮวยเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหน้านี้เป็นการยกระดับเพิ่มมูลค่าให้กับดอกเก๊กฮวยมากขึ้นอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยหรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่พัฒนาขึ้นในการศึกษาครั้งนี้ในสัตว์ทดลองหรืออาสาสมัครในการศึกษาต่อไป

บรรณานุกรม

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. และ Hagen, T. M. . 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proc Natl Acad Sci USA**, 90(17), 7915-7922.
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. และ Koirala, N. 2019. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. **Plants**, 8:96.
- Barbulova, A., Colucci, G. และ Apone, F. 2015. New trends in cosmetics: by-products of plant origin and their potential use as cosmetic active ingredients. **Cosmetics**, 2, 82-92.
- Baydar, N. G., Babalik, Z., Turk, F. H. และ Cetin, E. S. 2011. Phenolic composition and antioxidant activities of wines and extracts of some grape varieties grown in Turkey. **JAS**, 17(67-76).
- Censi, R., Peregrina, D. V., Lacava, G., Agas, D., Lupidi, G., Sabbieti, M. และ Di Martino, P. 2018. Cosmetic formulation based on an açai extract. **Cosmetics**, 5(3), 11.
- Cha, J. Y., Nepali, S., Lee, H. Y., Hwang, S. W., Choi, S. Y., Yeon, J. M., Song, B. J., Kim, D. K. และ Lee, Y. M. 2018. *Chrysanthemum indicum* L. ethanol extract reduces high-fat diet-induced obesity in mice. **Exp Ther Med.**, 15(6), 5070–5076.
- Chang, K. M., Choi, E. M. และ Kim, G. H. 2010. Chemical constituents of *Chrysanthemum indicum* L. flower oil and effect on osteoblastic MC3T3-E1 cells. **Food Sci. Biotechnol.**, 19(3), 815-819.
- Chang, T. S. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. **Int J Mol Sci**, 10(2440-2475), 6.
- Cheng, W., Li, J., You, T. และ Hu, C. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linné. **J Ethnopharmacol**, 101(1-3), 334-337.
- Choi, K. T., Kim, J. H., Cho, H. T., Lim, S. S., Kwak, S. S. และ Kim, Y. J. 2016. Dermatologic evaluation of cosmetic formulations containing *Chrysanthemum indicum* extract. **J Cosmet Dermatol**, 15(2), 162-168.

- Choi, M. H. และ Shin, H. J. 2015. Anti-melanogenesis effect of quercetin. **Cosmetics**, 3,18.
- Couteau, C. และ Coiffard, L. 2016. Overview of skin whitening agents: drugs and cosmetic products. **Cosmetics**, 3, 27.
- D'Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A. และ Scott, T. 2013. UV radiation and the skin. **Int. J. Mol. Sci.**, 14(6), 12222-12248.
- Doikham. 2019. **Doikham Products**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.doikham.co.th/Products/page/2/?orderby=price>
- Ghimeray, A. K., Jung, U. S., Lee, H. Y., Kim, Y. H., Ryu, E. K. และ Chang, M. S. 2015. *In vitro* antioxidant, collagenase inhibition, and *in vivo* anti-wrinkle effects of combined formulation containing *Punica granatum*, *Ginkgo biloba*, *Ficus carica*, and *Morus alba* fruits extract. **Clin Cosmet Investig Dermatol**, 8(389-396).
- Green, A. R. และ Shuaib, A. 2006. Therapeutic strategies for the treatment of stroke. **Drug Discov Today**, 11(15-16), 681-693.
- Hammerschmidt, P. A. และ Pratt, D. E. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **J. Food Sci.**, 43(2), 556-559.
- Han, A. R., Nam, B., Kim, B. R., Lee, K. C., Song, B. S., Kim, S. H., Kim, J. B. และ Jin, C. H. 2019. Phytochemical composition and antioxidant activities of two different color *Chrysanthemum* flower teas. **Molecules**, 24(329).
- Hernandez Zarate, M. S., Abraham Juarez, M. D. R., Ceron Garcia, A., Ozuna Lopez, C., Gutierrez Chavez, A. J., Segoviano Garfias, J. D. J. N. และ Avila Ramos, F. 2018. Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico. **Food Sci. Technol**, 32(8), 210-215.
- Jin, W., Wang, W. Y., Zhang, Y. L., Yang, Y. J., Chu, Q. C. และ Ye, J. N. 2013. Determination of phenolic whitening agents in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with amperometric detection. **Chin. Chem. Lett.**, 24(7), 636-638.
- Jung, E. K. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Chrysanthemum indicum* against oral bacteria. **J Bacteriol Virol.**, 39(2), 61-69.

- Kim, Y. J. 2012. Hyperin and quercetin modulate oxidative stress-induced melanogenesis. **Biol. Pharm. Bull**, 35(2023–2027).
- Kim, Y. J. และ Uyama, H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. **Cell Mol Life Sci**, 62(15), 1707-1723.
- Leelapornpisid, P., Mungmai, L., Sirithunyalug, B., Jiranusornkul, S. และ Peerapornpisal, Y. 2014. A Novel moisturizer extracted from freshwater macroalga [Rhizoclonium hieroglyphicum (C.Agardh) Kützing] for skin care cosmetic. **Chiang Mai J. Sci.** , 41(5.2), 1195-1207.
- Li, F. X., Li, F. H., Yang, Y. X., Yin, R. และ Ming, J. 2019. Comparison of phenolic profiles and antioxidant activities in skins and pulps of eleven grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). **J. Integr. Agric**, 18(1148–1158).
- Lorz, L. R., Yoo, B. C., Kim, M. Y. และ Cho, J. Y. 2019. Anti-wrinkling and anti-melanogenic effect of *Pradosia mutisii* methanol extract. **Int J Mol Sci**, 20(5).
- Luyen, B. T. T., Tai, B. H., Thao, N. P., Cha, J. Y., Lee, H. Y., Lee, Y. M. และ Kim, Y. H. 2015. Anti-inflammatory components of *Chrysanthemum indicum* flowers. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 25(2), 266-269.
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y. และ Yonemori, S. 2005. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. **Biosci. Biotechnol. Biochem**, 69(1), 197-201.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S. และ Yoshikawa, M. 2002. Medicinal flowers. VI. absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. **Chem Pharm Bull**, 20(7), 972-975.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S. และ Leitão, S. G. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**, 15(2), 127-130.
- Mihaylova, D. และ Schalow, S. 2013. Antioxidant and stabilization activity of a quercetin-containing flavonoid extract obtained from Bulgarian *Sophora japonica* L. **Braz. arch. biol. technol.**, 56(3), 431-438.

- Mircea, C. C., Cioanca, O., Draghia, L. และ Hancianu, M. 2015. Morphological characteristics, phenolic and terpenoid profiles in garden *Chrysanthemum* grown in different nutritional conditions. **Not Bot Horti Agrobo**, 43(2), 371-379.
- Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K. และ Sarkar, B. K. 2011. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. **Phytomedicines**, 19(1), 64-73.
- Nishikimi, M., Appaji, N. และ Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 46(2), 849-854.
- Oberoi, H. S. และ Sandhu, S. K. 2015. Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues AU—Babbar, Neha. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr**, 55(319–337).
- Ortonne, J. P. และ Bissett, D. L. 2008. Latest insights into skin hyperpigmentation. **JIDSP**, 13, 10-14.
- Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., Akesson, B. และ Bergenståhl, B. 2007. Separation of phenolic compounds from foods by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Revista Boliviana de Química**, 24(1), 1-4.
- Pitinidhipat, N. และ Yasurin, P. 2012. Antibacterial activity of *Chrysanthemum indicum*, *Centella asiatica* and *Andrographis paniculata* against *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* under osmotic stress. **AU J.T.**, 15(4), 239-245
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. และ Gordon, M. 2001. **Antioxidants in Food: Practical Applications**. New York, USA: CRC Press.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. และ Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**, 26(9-10), 1231-1237.
- Ren, A. N., Wang, Z. G., Lu, Z. C., Wang, L. W. และ Wu, Y. L. 1999. Study on bacteriostasis and antiviral of flowers *Chrysanthemum indicum*. **Pharm Biotechnol**, 6, 241-244.
- Ribeiro, A. S., Estanqueiro, M., Oliveira, M. B. และ Lobo, J. M. S. 2015. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. **Cosmetics**, 2, 48-65.

- Royal Project Foundation. 2019 **Dried Chrysanthemum**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.royalprojectmarket.com/productDetail.php?pid=253> (31 July 2019).
- Sasikumar, V. และ Kalaisezhiyen, P. 2014. Evaluation of free radical scavenging activity of various leaf extracts from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. **Biochem Anal Biochem**, 3(2), 7.
- Shalaby, E. A. และ Shanab, S. M. M. 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian J Geo-Mar Sci** 42(5), 556-564.
- Shoko, T., Maharaj, V.J., Naidoo, D., Tselanyane, M., Nthambeleni, R., Khorombi, E. และ Apostolides, Z. 2018. Anti-aging potential of extracts from *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst and its chemical profiling by UPLC-Q-TOF-MS. **BMC Complement Altern Med**, 18(54).
- Shunying, Z., Yang, Y. J., Huaidong, Y., Yue, Y. และ Guolin, Z. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. **J. Ethnopharmacol.**, 96(1-2), 151-158.
- Soto, M., Falqué, E. และ Domínguez, H. 2015. Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. **Cosmetics**, 2(3), 259-276.
- Stanković, M. S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. **Kragujevac J. Sci.**, 33, 63-72.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A. และ Yangsabai, A. 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. **Medicines**, 5, 93.
- Vidyalakshmi, S. และ Sahithya, D. 2016. Preliminary screening of selected plant extracts for anti-tyrosinase activity. **JNR**, 16(1), 18-21.
- Whangsomnuek, N., Mungmai, L., Mengamphan, K. และ Amornlerdpison, D. 2019. Efficiency of skin whitening cream containing *Etilingera elatior* flower and leaf extracts in volunteers. **Cosmetics**, 6, 3.

- Wu, L. Y., Gao, H. Z., Wang, X. L., Ye, J. H., Lu, J. L. และ Liang, Y. R. 2010. Analysis of chemical composition of *Chrysanthemum indicum* flowers by GC/MS and HPLC. **J Med Plants Res**, 4(5), 421-426.
- Zakiah, K., Anwar, E. และ Nurhayati, T. 2018. In-vitro evaluation of antioxidant activity and anti-collagenase activity of *Thalassia hempricii* as a potent ingredients for anti-wrinkle cosmetics. **Pharmacog J**, 10(4), 778-782.
- เจนจิรา, จิรัมย์ และประสงค์, สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. ว.วิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1), 59-70.
- โอภา, วัชรศุภต์, ปรีชา, บุญจุง, จันทนา, บุญยะรัตน์ และมลธิ์รักษ์, อัดต์สินทอง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ: **Radical Scavenging Agent**. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.
- กัญญาลักษณ์, จันทะกี. 2557. ประสิทธิภาพของน้ำผึ้งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบริเวณผิวหนังและการยับยั้งอนุมูลอิสระ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จารนัย, พณิชยกุล, วิเชียร, สิวาวัชรมาศ, เพ็ญพร, พงษ์พรรณเจริญ, รัตน์ันท์, พรรณนารุโณทัย, นฤมล, วิมลเกษม และวิมลรัตน์, สุกกิกกาญจนา. 2550. สารพันความรู้เกี่ยวกับอาหารเพื่อสุขภาพและความงาม ตอนที่ 1 โพลีฟินอล: สารต่อต้านออกซิเดชัน. วารสารจารย์พา.
- ชนวัฒน์, รอดขาว. (2560). โครงการส่งเสริมการผลิตแก๊สไฮโดรเจนภายใต้โครงการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารอินทรีย์ จังหวัดเชียงใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560. เชียงใหม่: สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- พิมพ์, สิวาพรพิสิฐ. 2551. เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร.
- มยุรี, กัลยาวัฒนกุล. 2559. สมุนไพรทางเครื่องสำอาง: ต่อด้านรีวิรอย. กรุงเทพฯ: แดเน็กซ์ อินเตอร์คอร์ดเซอร์เช่น.
- มณฑนา, มาภรณ์. 2552. เครื่องสำอางเพื่อความงามและสุขภาพ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กรุงเทพเวชสาร.
- รัตนา, อินทรานุกรณ์. 2553. สารสกัดจากสมุนไพร : การเตรียมและการแยกสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี. สมุทรปราการ: โครงการส นักพิมพ์มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- วริญดา, สุภัทรประทีป. 2552. การคัดแยกและจำแนกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์คอลลาจิเนสและการประยุกต์ใช้เอนไซม์คอลลาจิเนสในการสกัดคอลลาเจนจากหนังปลา (Doctoral dissertation). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. 2555. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. เชียงใหม่: สมาร์ทโคตรตั้ง แอนด์ เซอร์วิส.

อัษฎนา, เจนวีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพร
ไทย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ข

การเผยแพร่ผลงาน



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561
ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่



องค์ประกอบพื้นอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเก็กฮวยอินทรีย์ เพื่อการประยุกต์ใช้เป็น สารประกอบเชิงหน้าที่

Total phenolic contents and antioxidant activity of organic *Chrysanthemum indicum* L. extract for application as functional ingredients

สินีนามู ปูระยัย¹ ลภัสตรา มุ่งหมาย² เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน³ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล^{3,*}

Sineenad Poorayab¹, Lapatrada Mungmai², Kriangsak Mangumphan³ and Doungporn Amornlerdpison^{3,*}

¹สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

¹Agricultural Interdisciplinary Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา ประเทศไทย 56000

²Program in Cosmetic Science, School of Pharmaceutical Science, University of Phayao, Phayao, Thailand 56000

³คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

³Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author, e-mail: doungpornfishtech@gmail.com

บทคัดย่อ

เก็กฮวย (*Chrysanthemum indicum* L.) เป็นพืชมีดอกในตระกูลเดียวกับเบญจมาศ พบมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี รวมถึงประเทศไทยนิยมนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรเนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ช่วยลดไข้ และบรรเทาอาการปวด สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเก็กฮวย ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของดอกเก็กฮวยที่รับซื้อจากบริษัทเอกชนจำนวน 1 ชนิดและฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ จำนวน 3 ชนิด ประกอบด้วย เก็กฮวยดอกบาน ดอกเก็กฮวยที่ปลูกลงกลางแจ้ง และดอกเก็กฮวยที่ปลูกลงในโรงเรือน เพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยนำดอกเก็กฮวยอบแห้งแต่ละชนิดมาทำการสกัดสารสำคัญด้วยน้ำ จากนั้นทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งเพื่อทำการตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการกำจัดอนุมูล ABTS ผลการทดลองพบว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดเก็กฮวยจากบริษัทเอกชน เก็กฮวยดอกบาน ดอกเก็กฮวยที่ปลูกลงกลางแจ้งและดอกเก็กฮวยที่ปลูกลงในโรงเรือนมีค่าเท่ากับ 34.97 ± 2.52, 36.68 ± 1.15, 33.66 ± 9.17 และ 44.80 ± 9.81% ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับกรดแกลลิกเท่ากับ 48.45 ± 3.38, 72.28±2.02, 69.21±3.31 และ 54.38±0.67 mg GAE/g extract ตามลำดับ ส่วนการทดสอบการขจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS^{•+} scavenging activity assay) พบว่าสารสกัดเก็กฮวยจากบริษัทเอกชน และดอกบานมีประสิทธิภาพสูงที่สุดโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.15±0.01 และ 0.22±0.00 mg/mL ตามลำดับ จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกสารสกัดเก็กฮวยดอกบานที่มีประสิทธิภาพโดยมีปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกสูงที่สุดและมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดอกเก็กฮวย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

Abstract

Chrysanthemum indicum L. is flowering plants in the family Asteraceae as well as *Dendranthemum grandiflora* (Benjamad in Thai) and widely used as a traditional herb in East Asian countries, including China, Japan, Korea and Thailand. The beneficial properties of *C. indicum* flower comprising anti-inflammatory, antipyretic, analgesic effects,



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561



GRADUATE
SCHOOL

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่

antibacterial and antiviral activities. The main of bioactive compounds of *C. indicum* flower are phenolic compounds, especially flavonoids and terpenoids. This study aimed to compare the performance of *C. indicum* extracts that were purchased from private company (1 type) and organic *C. indicum* (3 types) flower from Maejo University farm including blooming flower, outdoor flower and indoor flower for application in cosmetic products. The dried materials of each *C. indicum* flowers were extracted by boiling water and freeze dry to obtain the aqueous extracts. These flower extracts were screened for total phenolic content using Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity by ABTS radical scavenging assay. The results showed that the percentages of extraction yield of *C. indicum* flower extracts from private company, blooming flowers, outdoor flowers and indoor flowers were 34.97 ± 2.52 , 36.68 ± 1.15 , 33.66 ± 9.17 and $44.80 \pm 9.81\%$, respectively. Furthermore, the total phenolic content of the extracts were 48.45 ± 3.38 , 72.28 ± 2.02 , 69.21 ± 3.31 and 54.38 ± 0.67 mg GAE/g extract. The antioxidant activity, private company and blooming flower extract exhibited the highest activity with the IC_{50} values of 0.15 ± 0.01 and 0.22 ± 0.00 mg/mL, respectively. The finding of this study indicated that blooming flowers showed the highest activity and great potential for cosmetic applications.

Keyword: antioxidant activity, *Chrysanthemum indicum* L., cosmetic product, phenolic content

บทนำ

เก๊กฮวย (*Chrysanthemum indicum* L.) เป็นดอกไม้ในตระกูลเดียวกับดอกเบญจมาศ มีการนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรในประเทศแถบเอเชียตะวันออก ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี ต่อมาได้แพร่กระจายไปทั่วในประเทศกัมพูชา ลาว รวมถึงประเทศไทยอีกด้วย ซึ่งจะเพาะปลูกได้ดีในพื้นที่สูงของประเทศ โดยมีการจำหน่ายทั้งดอกสดและดอกแห้ง สีของดอกเป็นดอกสีขาวหรือดอกสีเหลือง ประเทศไทยนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรเนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดไข้ และแก้ปวด (Matsuda *et al.*, 2002; Luyen *et al.*, 2015) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเก๊กฮวย ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีฤทธิ์เพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Ghasemzadeh *et al.*, 2010) จากงานวิจัยของ Choi *et al.* (2016) พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ชีวภาพในการยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ในหลอดทดลอง ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีผลกระตุ้นการสร้างเม็ดสีผิวให้เข้มขึ้น โดยสารสำคัญในดอกเก๊กฮวยที่พบในปริมาณมากคือ luteolin, quercetin-3-glucoside และ acacetin-7-O-rutinoside ซึ่งจัดเป็นสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น (Cheng *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2016) นอกจากนี้ในน้ำมันที่สกัดได้จากดอกเก๊กฮวยยังพบสารโครแซนทีมิน (chrysanthemins) ที่ออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรีย ไวรัส และยีสต์ รวม 15 ชนิด (Ren *et al.*, 1999; Shunying *et al.*, 2005)

ดอกเก๊กฮวยถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีขายมากมายทั่วไปตามท้องตลาด อย่างไรก็ตามการนำดอกเก๊กฮวยมาสกัดเพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางยังพบอยู่น้อยมาก ซึ่งในยุคปัจจุบันผู้คนหันมาสนใจในการดูแลผิวและสุขภาพมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของดอกเก๊กฮวยที่รับซื้อจากบริษัทเอกชนจำนวน 1 ชนิด และฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จำนวน 3 ชนิด ประกอบด้วย เก๊กฮวยดอกบาน ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง และดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน ซึ่งดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 แบบ ได้ผ่านการรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของดอกเก๊กฮวยทั้ง 4 แบบ ด้วยการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และการทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เพื่อเลือกสารสกัดเก๊กฮวยที่เหมาะสมและสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวต่อไป



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561



GRADUATE
SCHOOL

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่

อุปกรณ์และวิธีการ / วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดแก๊กฮวยอินทรีย์

เตรียมสารสกัดน้ำของดอกแก๊กฮวยอินทรีย์ โดยการนำดอกแก๊กฮวยอินทรีย์อบแห้ง 100 กรัม มาบดให้ละเอียด ต้มด้วยน้ำปราศจากประจุ (Deionized water) 4 ลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มสุญญากาศ เป็นเวลา 90 นาที เมื่อครบเวลาพักสารละลายน้ำทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำมากรองแยกกากด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำไปตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ตกตะกอน (centrifuge) นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยชุดกรองสาร จากนั้นนำสารละลายน้ำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer) เมื่อได้สารสกัดแก๊กฮวยอินทรีย์แห้งนำมาคำนวณร้อยละของผลผลิต (%yield) ต่อไป ดังสมการ

$$\text{ร้อยละของผลผลิต (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักดอกแก๊กฮวยอินทรีย์แห้งที่นำมาสกัด (กรัม)}}$$

เปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากวัตถุดิบที่ต่างกันทั้งสี่แบบ

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic contents) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu รายละเอียดตามวิธีการของ Hammerschmidt *et al.* (1978) โดยใช้สารสกัดดอกแก๊กฮวยอินทรีย์ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมน้ำในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมให้สารเข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na₂CO₃) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยผลที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid)

3. การทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS

การทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS^{•+} scavenging activity assay) รายละเอียดตามวิธีการของ Re *et al.* (1999) โดยเติมสารสกัดดอกแก๊กฮวยอินทรีย์ 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองผสมกับสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 1,800 ไมโครลิตร เขย่าสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ผลที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน Trolox แล้วนำไปคำนวณหาค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ดังนี้

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(A_{734} \text{control} - A_{734} \text{sample}) \times 100}{(A_{734} \text{control})}$$

โดย A₇₃₄control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมไม่มีสารสกัด

A₇₃₄sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดและสารละลาย ABTS



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ

ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่



GRADUATE
SCHOOL

จากนั้นคำนวณหาค่า IC₅₀ จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดเก๊กฮวยทั้งสี่แบบ ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน แต่ละครึ่งทำ 3 ซ้ำ

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA analyze) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistic Package for Social Science) เวอร์ชัน 17.0 for Windows วิเคราะห์ปริมาณร้อยละผลผลิต วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolic content) และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS^{•+} scavenging activity assay) ของสารสกัดเก๊กฮวย และศึกษาความแตกต่างของสารสกัดเก๊กฮวยแต่ละแบบ โดยใช้การเปรียบเทียบของ Turkey test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ผลการวิจัย

1. ร้อยละผลผลิตของสารสกัดเก๊กฮวย

จากการสกัดสารสกัดเก๊กฮวยทั้งสี่แบบเมื่อทำให้แห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งแล้ว พบว่าเก๊กฮวยดอกบานและเก๊กฮวยปลูกในโรงเรือนได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ เท่ากับ 36.677 และ 44.795 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าดอกเก๊กฮวยจากบริษัท และเก๊กฮวยปลูกกลางแจ้ง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดเก๊กฮวย (Percentage yield)

สารสกัดเก๊กฮวย	ร้อยละผลผลิต
ดอกเก๊กฮวยจากบริษัท	34.972
ดอกเก๊กฮวยบาน	36.677
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง	33.663
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน	44.795

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

การทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัดเก๊กฮวยดอกบานและเก๊กฮวยปลูกกลางแจ้งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 72.282 ± 2.022 และ 69.210 ± 3.313 mg GAE/g extract ซึ่งสูงกว่าดอกเก๊กฮวยจากบริษัทและปลูกในโรงเรือน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

สารสกัดเก๊กฮวย	TPC (mg GAE/g extract)
ดอกเก๊กฮวยจากบริษัท	48.449 ± 3.382^b
ดอกเก๊กฮวยบาน	72.282 ± 2.022^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง	69.210 ± 3.313^a
ดอกเก๊กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน	54.376 ± 0.665^b

หมายเหตุ: *ค่าที่แสดงในตารางอยู่ในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร a และ b แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี turkey test



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561



GRADUATE
SCHOOL

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่

3. การทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS^{•+} scavenging activity assay รายงานเป็น ค่า IC₅₀ ความเข้มข้นของสารกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดเก็กฮวยที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล ABTS ลดลงร้อยละ 50 พบว่า สารสกัดเก็กฮวยจากบริษัทและสารสกัดเก็กฮวยดอกบานมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.15 ± 0.01 และ 0.22 ± 0.00 mg/mL ดังแสดงในตารางที่ 3 ในขณะที่สารมาตรฐานโทรลอคซมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.04±0.00 mg/mL

ตารางที่ 3 ค่า IC₅₀ ของสารสกัดเก็กฮวย

สารสกัดเก็กฮวย	IC ₅₀ (mg/mL)
ดอกเก็กฮวยจากบริษัท	0.15 ± 0.01
ดอกเก็กฮวยบาน	0.22 ± 0.00
ดอกเก็กฮวยที่ปลูกกลางแจ้ง	0.52 ± 0.00
ดอกเก็กฮวยที่ปลูกในโรงเรือน	0.28 ± 0.04

หมายเหตุ: *ค่าที่แสดงในตารางอยู่ในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการวิจัยนี้ใช้สารสกัดเก็กฮวยที่นำมาวิเคราะห์อยู่ในรูปแบบสารสกัดหยาบ โดย รัตนา (2553) กล่าวว่า การนำมาใช้ในรูปแบบสารสกัดหยาบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรบางชนิด มาจากการออกฤทธิ์ของสารหลายชนิดประกอบกัน หรือเสริมฤทธิ์กัน ถ้าทำการสกัดออกไปแล้วอยู่ในสภาพสารเดี่ยวหรือสารบริสุทธิ์อาจจะไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์อ่อน นอกจากนี้ การเตรียมสารสกัดหยาบยังใช้เวลาในการเตรียมสั้นกว่า ต้นทุนการผลิตจะถูกกว่าสารบริสุทธิ์ ซึ่งหากเป็นผลิตภัณฑ์ทางเครื่องสำอางจะใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าทางยา ในการสกัดเก็กฮวยทั้งสี่แบบนี้พบว่าร้อยละผลผลิตไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ตารางที่ 1)

การทดสอบปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกโดยพิจารณาจากการเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกได้สมการคือ $y = 9.5093x - 0.0686$ ($R^2 = 0.999$) พบว่าสารสกัดเก็กฮวยดอกบานมีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกรวมสูงโดยไม่มี ความแตกต่างกับสารสกัดเก็กฮวยปลูกกลางแจ้ง แต่มีความแตกต่างกับดอกเก็กฮวยจากบริษัทและดอกเก็กฮวยในโรงเรือนที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกัน (Pourmorad *et al.*, 2006) นอกจากนี้ Choi *et al.*, 2016 กล่าวว่าสารสกัดเก็กฮวยมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่สามารถช่วยเรื่องลดริ้วรอยได้ซึ่งสารที่พบในสารสกัดเก็กฮวยส่วนใหญ่แล้วจะเป็นกลุ่มฟีนอลิก จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดดอกเก็กฮวยจากบริษัทมีค่า IC₅₀ ที่ดีกว่า สารสกัดเก็กฮวยดอกบาน (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารสกัดดอกเก็กฮวยจากบริษัทอาจมีสารตัวอื่นในกลุ่มอื่นที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติมีมากมาย เช่น วิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ชนิดอื่น นอกจากนี้สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่มีรายงานว่ามีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการทำงานของอนุมูลอิสระคือ โพลีฟีนอลิก (polyphenolic) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น (โอภา และคณะ,



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561



GRADUATE
SCHOOL

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่

2550) สารกลุ่มฟีนอลิกที่พบในเก็กฮวย ได้แก่ quercetin-3-glucoside มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ luteolin มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase acacetin-7-O-rutinoside มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ apigenin มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และ rutin มีฤทธิ์มีฤทธิ์ต่อต้านไวรัสหวัด เป็นต้น (Lin *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2016) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสารสกัดทั้ง 4 ชนิด พบว่า สารสกัด เก็กฮวยดอกบาน มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับที่ดี ในขณะที่ร้อยละผลผลิตของสารสกัด ทั้ง 4 ชนิด ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยสามารถคัดเลือกสารสกัดเก็กฮวยดอกบานที่มีประสิทธิภาพโดยมีปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกสูง และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เป็นเครื่องสำอางบำรุงผิวที่มีประสิทธิภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ที่มอบทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2553. **สารสกัดจากสมุนไพโร :** การเตรียมและการแยกสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี. สมุทรปราการ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 305 น.
- โอภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจุง จันทนา บุญยะรัตน์ และ มลธิรัญ อัดดีสินทอง. 2550. **สารต้านอนุมูลอิสระ Radical Scavenging Agent.** กรุงเทพฯ: นิเวศมิตรการพิมพ์. 190 น.
- Cheng, W., Li, J., You, T. and Hu, C. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne. *Journal of Ethnopharmacol*, 101(1-3), 334-337.
- Choi, K. T., Kim, J. H., Cho, H. T., Lim, S. S., Kwak, S. S. and Kim, Y. J. 2016. Dermatologic evaluation of cosmetic formulations containing *Chrysanthemum indicum* extract. *Journal of Cosmet Dermatol*, 15(2), 162-168.
- Ghosemzadeh, A., Jaafar, H. Z., and Rahmat, A. 2010. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*. 15: 4324-4333.
- Hammerschmidt, P. A., and Pratt, D. E. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *Journal of Food Science*, 43(2), 556-559.
- Lin, L. Z., and Harnly, J. M. 2010. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Food Chemistry*, 120(1), 319-326.
- Luyen, B. T. T., Tai, B. H., Thao, N. P., Cha, J. Y., Lee, H. Y., Lee, Y. M., and Kim, Y. H. 2015. Anti-inflammatory components of *Chrysanthemum indicum* flowers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(2), 266-269.



การประชุมวิชาการ และการประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ
ระหว่างวันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561



GRADUATE
SCHOOL OF SCIENCE
& TECHNOLOGY

ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่

- Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S. and Yoshikawa, M. 2002. Medicinal flowers. VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. **Chem Pharm Bull (Tokyo)**, 50(7), 972-975.
- Pourmorad, F., Hosseini-mehr, S. J., and Shahbimajid, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, 5(11).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26(9-10), 1231-1237.
- Ren, A., Wang, Z. and Lu ZC. 1999. Study on bacteriostasis and antiviral activity of flowers *Chrysanthemum indicum*. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 6(241-244).
- Shunying, Z., Yang, Y., Huaidong, Y., Yue, Y., and Guolin, Z. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. **Journal of Ethnopharmacology**, 96(1-2), 151-158.
- Wu, L. Y., Gao, H. Z., Wang, X. L., Ye, J. H., Lu, J. L., and Liang, Y. R. 2010. Analysis of chemical composition of *Chrysanthemum indicum* flowers by GC/MS and HPLC. **Journal of Medicinal Plants Research**, 4(5), 421-426.

NGRC01010132

ประสิทธิผลของการขยายรูม่านตาโดยใช้ยา 1% Mydriacyl : 10% Phenylephrine ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน
Effectiveness of Pupillary Dilatation by 1% Mydriacyl : 10%Phenylephrine at Duration Difference



บันทึกข้อความ

ส่วนงาน สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร กองบริหารงานบริการวิชาการ งานสารสนเทศฯ โทร. ๓๔๑๑

ที่ อว ๖๙.๑๙.๓.๓/๑๗๐

วันที่ ๙ ธันวาคม ๒๕๖๒

เรื่อง รับรองการพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวิชาการลงในวารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร

เรียน นางสาวลิณีนาฎ ภูระยับ

ตามที่ท่านได้ส่งผลงานวิจัย เรื่อง ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เพื่อใช้ในเครื่องสำอาง เพื่อพิมพ์เผยแพร่ลงในวารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ นั้น ทางฝ่ายดำเนินการได้จัดส่งผลงานของท่าน ให้ผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาตรวจสอบประเมินเรียบร้อยแล้ว และได้รับอนุญาตให้นำผลงานเรื่องเต็ม (Full paper) ดังกล่าวลงเผยแพร่ในวารสารวิจัยฯ ปีที่ ๓๘ ฉบับที่ ๒ ประจำเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ. ๒๕๖๔ การนี้ ฝ่ายดำเนินการจัดทำวารสารจึงออกหนังสือรับรองการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการให้ท่านก่อนเพื่อจะได้นำไปใช้เป็นประโยชน์ต่อไป และหากจัดทำรูปเล่มวารสารในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์เรียบร้อยแล้วจะพิมพ์เผยแพร่ในรูปแบบออนไลน์ ซึ่งท่านสามารถดาวน์โหลดข้อมูลวารสารได้จากเว็บไซต์ <http://www.jare.mju.ac.th>

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ศรีเงินยวง)

บรรณาธิการวารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เพื่อใช้ในเครื่องสำอาง
Biological Activity of Organic Flower Extract from *Chrysanthemum indicum* L.
For Cosmetic Application

สินีนาดู ภูระยัย¹ ลภัสตรา มุ่งหมาย² เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน³ ณัฐวุฒิ หวังสมนึก¹ และดวงพร อมรเลิศพิศาล^{3*}
 Sineenad Poorayab¹ Lapatrada Mungmai² Kriangsak Mengamphan^{3,4} Nattawut
 Whangsomnuek¹ and Doungporn Amornlerdpison^{3,4}

¹หลักสูตรสหวิทยาการเกษตร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

²วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา ประเทศไทย 56000

³ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

⁴คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

¹Interdisciplinary Agriculture Program, Faculty of Engineering and Agro-Industry Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²Cosmetic Science, School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, Phayao, Thailand 56000

³Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneur, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

⁴Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: doungpornfishtech@gmail.com

บทคัดย่อ

ดอกเก๊กฮวยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงได้รับความนิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องสำอางในแถบเอเชีย ส่วนการนำดอกเก๊กฮวยมาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางยังพบอยู่น้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินสารชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการชะลอวัย โดยทำการสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์แห้งด้วยน้ำและตรวจหาสารสำคัญ จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ชะลอวัย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส และไทโรซิเนส ผลการทดลองพบว่า สารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์มีองค์ประกอบสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และเคอร์ซีติน เท่ากับ 72.28 mgGAE, 16.54 mgQE และ 402.47 mg/kg ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ดีพีพีเอช และซูเปอร์ออกไซด์ โดยมีค่าการยับยั้งอนุมูลตั้งกล่าวได้ 50% (IC₅₀) เท่ากับ 0.22, 0.32 และ 9.39 mg/ml ตามลำดับ รวมทั้งยังสามารถยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสและไทโรซิเนสได้มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.33 และ 102.11 mg/ml ตามลำดับ ผลการศึกษาดังนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดด้วยน้ำจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพช่วยต้านอนุมูลอิสระและช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของผิวหนังได้ โดยการเพิ่มมูลค่าให้กับดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นสารประกอบเชิงหน้าที่หรือใช้เป็นสารผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจะช่วยเพิ่มทางเลือกและรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะปลูก รวมทั้งผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอางอีกทางหนึ่ง

คำสำคัญ: เก๊กฮวย สารชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบในเครื่องสำอาง

Abstract

Chrysanthemum indicum L. contains bioactive compounds and widely produced as herbal drink in Asia. The value added of *C. indicum* flowers as cosmetic product is still rarely studies. This research aimed to evaluate the bioactive compound of organic *C. indicum* flower and their biological activities for anti-aging. The dried *C. indicum* flower were extracted with water and examined for content of biological compounds. The extract was evaluated anti-aging properties such as anti-oxidant, collagenase and tyrosinase inhibition activities. The aqueous extract of *C. indicum* consisted of total phenolic, flavonoid and quercetin contents which found to be 72.28 mgGAE, 16.54 mgQE and 402.47 mg/kg, respectively. The antioxidant activities showed that *C. indicum* can be used as a potent antioxidant via ABTS, DPPH and superoxide scavenging activities. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) were 0.22, 0.32 and 9.39 mg/ml, respectively. Furthermore, the extract inhibited collagenase and tyrosinase activities which presented 2.33 and 102.11mg/ml, respectively. From this study shows that aqueous extract of organic *Chrysanthemum* flowers are bioactive substances as antioxidants and protection of skin damage. In addition, value added of *C. indicum* flowers as a functional ingredient or cosmetic ingredient are alternative products and income for farmers and cosmetics entrepreneurs.

Keywords: *Chrysanthemum indicum*, Bioactive compound, Antioxidant, Cosmetic ingredient

คำนำ

เก๊กฮวย (*Chrysanthemum indicum* L.) เป็นดอกไม้ตระกูลเดียวกับเบญจมาศที่มีรายงานว่ามีสรรพคุณในการต้านการอักเสบ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นต้น โดยสารสำคัญที่พบในดอกเก๊กฮวยมักเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ และเทอร์พีนอยด์ เป็นต้น (Choi *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2005) นอกจากนี้ทางมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ จัดตั้งโครงการส่งเสริมการผลิตเก๊กฮวยอินทรีย์ โดยการเก็บเกี่ยวผลผลิตดอกเก๊กฮวยมักนำเฉพาะส่วนดอกมาอบแห้งและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพร (Rawdkhao, 2017) ซึ่งพบได้ทั่วไปตามท้องตลาด ส่วนการนำดอกเก๊กฮวยมาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางยังพบน้อยมาก อีกทั้งกระแสนิยมของชาวเอเชียเรื่องการมีผิวกระจ่างใส ดูอ่อนกว่าวัย มีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ตอบโจทย์ดังกล่าวจึงเป็นที่ต้องการของตลาด สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มียุทธวิธีทางชีวภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส อิลาสเทส และไทโรซิเนส เป็นต้น (Ribeiro *et al.*, 2015) จึงถูกนำมาพัฒนาในตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นจำนวนมาก

การแก่ของผิวหนัง (Skin aging) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่มีผลมาจากทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน เช่น อายุ การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน หรือการสัมผัสรังสียูวี เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลทำให้เกิดภาวะความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (Matrix metalloproteinases, MMPs) เช่น คอลลาจีเนส (Collagenase, MMP-1) หรือ เจลาติเนส

(Gelatinase, MMP-9) ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือส่วนที่ทำให้ความยืดหยุ่นกับผิวที่เรียกว่าอีซีเอ็ม (Extracellular matrix, ECM) ซึ่งได้แก่คอลลาเจน และอีลาสติน เป็นต้น (Limtrakul *et al.*, 2016; Zakiah *et al.*, 2018) ส่งผลเกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆ เกิดริ้วรอย ผิวแห้ง และขาดความชุ่มชื้น (Kanlayavattanukul, 2016) นอกจากนี้การสัมผัสรังสียูวียังเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสียูวี อีกนัยหนึ่งสภาวะที่มีการผลิตเม็ดสีเมลานินเป็นจำนวนมากมักส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีผิว หรืออาจเกิดกระฝ้า (D'Orazio *et al.*, 2013) โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์เมลานินคือ เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ทำหน้าที่เปลี่ยน L-tyrosine ให้กลายเป็น L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) จากนั้นออกซิเดชัน L-DOPA เป็น DOPA-quinone จนกระทั่งกลายเป็นเมลานิน (Zolghadri *et al.*, 2019) ดังนั้นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของกระบวนการดังกล่าวจึงมีความสำคัญในการเป็นสารผสมในเครื่องสำอางบำรุงผิวเพื่อช่วยลดเลือนริ้วรอย ปรับสภาพผิวให้กระจ่างใส รวมถึงลดภาวะการแก่ของผิวหรือผิวแห้งเสื่อมสภาพก่อนวัยอันควรได้

ด้วยสาเหตุดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์มาใช้เป็นสารชีวภาพในเครื่องสำอางบำรุงผิว โดยทำการประเมินปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพผิวของสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้จะช่วยเพิ่มมูลค่าดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ที่มีผลผลิตเกินความต้องการของตลาดหรือคุณภาพตกเกรดให้มีมูลค่าเพิ่มจากการแปรรูปเป็นสารสกัดที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางบำรุงผิว

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดตัวอย่างดอกเก๊กฮวยอินทรีย์

ตัวอย่างดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ทำการรับซื้อจากโครงการส่งเสริมการผลิตเก๊กฮวยอินทรีย์ของ ม.แม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำดอกเก๊กฮวยอินทรีย์แห้งปริมาณ 100 g มาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำกลั่นปริมาตร 4,000 ml ที่อุณหภูมิ 90°C นาน 60 min จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm นาน 5 min และกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ทำการแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน และทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง

การทดสอบฟอกซ์เคมี

1) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Hammerschmidt and Pratt, 1978)

วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยนำตัวอย่างสารสกัด 200 μ L ผสมร่วมกับ 10% Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 1,000 μ L และ 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 800 μ L จากนั้นเขย่าและตั้งทิ้งไว้ 60 นาที เมื่อครบระยะเวลาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ 765 nm ผลการทดลองทำการเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน กรดแกลลิก และรายงานในรูปของ mg gallic acid equivalent/g extract (mg GAE/g extract)

2) สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Stanković, 2011)

นำตัวอย่างสารสกัดที่ละลายด้วยเมทานอลปริมาตร 1,000 μL ผสมร่วมกับ 2% AlCl_3 ปริมาตร 1,000 μL จากนั้นเขย่าและตั้งทิ้งไว้ 60 min และวัดค่า OD ที่ 415 nm ผลการทดลองทำการเปรียบเทียบกับค่า OD ของสารมาตรฐานเคอร์ซิตินและรายงานในรูปของ mg quercetin equivalent/g extract (mg QE/g extract)

3) สารเคอร์ซิติน

ทำการตรวจวัดเคอร์ซิตินโดยการส่งตรวจวิเคราะห์ ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ ด้วย Liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) ตามวิธีการอ้างอิงของ Peñarrieta *et al.* (2007) โดยผลปริมาณเคอร์ซิตินรายงานในค่าของ mg/kg ของน้ำหนักสารสกัดแห้ง

การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระ

1) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปิตีเอส (Re *et al.*, 1999)

วิเคราะห์ฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปิตีเอส โดยเตรียมสารละลายอนุมูลด้วยการผสม ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) ความเข้มข้น 7 mM กับ 2.45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ในอัตราส่วน 1:0.5 โดยปริมาตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มีเวลานาน 12 hr และเจือจางให้มีค่า OD ที่ 734 nm เท่ากับ 0.7 ± 0.5 ก่อนนำไปใช้งานในการทดลองนำตัวอย่างสารสกัด 200 μL (ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่น) ผสมกับสารละลายอนุมูลเอปิตีเอส 1,800 μL และตั้งทิ้งไว้ 6 min ทำการวัดค่า OD ที่ 743 nm ทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับสารมาตรฐานโทรลอคซ์โดยรายงานในรูปของ mg trolox equivalent antioxidant capacity/g extract (mg TEAC/g extract)

2) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลดีพีพีเอช (Mensor *et al.*, 2001)

ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์การขจัดอนุมูลดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH \cdot) โดยนำตัวอย่างสารสกัด 400 μL (ชุดควบคุมใช้เมทานอลแทน) ผสมร่วมกับสารละลายดีพีพีเอช (ความเข้มข้น 0.3 mM ในเมทานอล) ปริมาตร 2,000 μL จากนั้นเขย่าและตั้งทิ้งไว้ในที่มีเวลานาน 20 min ทำการวัดค่า OD ที่ 517 nm และทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกโดยรายงานในรูปของ mg gallic acid equivalent antioxidant capacity (mg GEAC/g extract)

3) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (Nishikimi *et al.*, 1972)

วิเคราะห์ฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ โดยทำการเตรียมสารละลายทั้งหมดใน 100 mM phosphate buffer (pH 8) โดยนำตัวอย่างสารสกัด 100 μL (ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer) ผสมร่วมกับ 156 μM nitrotetrazolium blue chloride (NBT) ปริมาตร 1,000 μL สารละลาย 468 μM NADH ปริมาตร 1,000 μL และ 60 μM phenazine methosulphate (PMS) ปริมาตร 100 μL จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 min ทำการวัดค่า OD ที่ 560 nm ผลการทดลองเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกเช่นเดียวกับอนุมูลดีพีพีเอช

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์

1) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนส (Zakiah *et al.*, 2018)

ทำการวิเคราะห์ใน 96-well plate โดยเติมตัวอย่างสารสกัดที่ 50 μL (ชุดควบคุมใช้ tricine buffer แทน) ร่วมกับ 50 mM tricine buffer (pH 7.5) และเอนไซม์คอลลาจิเนสจาก *Clostridium histolyticum* (type I) ความ

เข้มข้น 125 U/mL จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 15 min และเติมซบัสเตรท 0.5 mM FALGPA (N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-L-Leu-Gly-L-Pro-L-Ala) ปริมาตร 50 μ L จากนั้นทำการวัดค่า OD ที่ 340 nm นาน 20 min และใช้ Epigallocatechin gallate (EGCG) เป็นสารมาตรฐาน

2) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Masuda *et al.*, 2005)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome โดยเตรียมเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเห็ด 200 U/mL และซบัสเตรท L-DOPA (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine) ความเข้มข้น 2.5 mM ใน 20 mM phosphate buffer (pH 6.8) ทำการทดสอบใน 96-well plate โดยแต่ละหลุมประกอบด้วยตัวอย่างสารสกัด 20 μ L (ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer) ผสมกับสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 40 μ L และ phosphate buffer 140 μ L จากนั้นบ่มไว้ 10 min และเติมซบัสเตรท L-DOPA ปริมาตร 40 μ L เพื่อเริ่มปฏิกิริยา จากนั้นบ่มอีกครั้งนาน 20 ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองทำการวัดค่า OD ที่ 492 nm ด้วยเครื่อง microplate reader และใช้กรดโคจิกเป็นสารมาตรฐาน

ประสิทธิภาพการขจัดอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ (% inhibition) ทำการคำนวณดังสมการ

$$\text{Inhibition activity (\%)} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) / (Abs_{\text{control}})] \times 100$$

โดยที่ Abs_{control} คือค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมที่ปราศจากสารสกัด และ Abs_{sample} คือค่าการดูดกลืนแสงชุดทดลองที่เติมสารสกัด

ผลการวิจัย

การทดสอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเก๊กฮวย

ดอกเก๊กฮวยอินทรีย์อบแห้งถูกนำมาสกัดด้วยน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง พบว่าให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดเก๊กฮวยมีค่าอยู่ในช่วง 33.00 – 45.00 % เมื่อนำมาวิเคราะห์สารพฤกษเคมีในสารสกัดดอกเก๊กฮวยพบว่า สารสกัดดอกเก๊กฮวย 1 กรัม มีสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 72.28 mg GAE และ 16.54 mg QE ตามลำดับ โดยมีปริมาณเคอร์ซีตินเท่ากับ 402.47 mg/kg (Table 1)

Table 1 Phytochemical contents of organic *C. indicum* extract

Content	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Total flavonoid content (mg QE/g extract)	Quercetin (mg/kg)
<i>C. indicum</i>	72.28 \pm 2.00	16.54 \pm 0.12	402.47

Values are expressed as means \pm standard deviation (n = 3).

ฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระ

1) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอบีทีเอส

การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอบีทีเอสอาศัยหลักการของสารสกัดที่มีการรีดักชันอนุมูลผ่านการให้อิเล็กตรอนทำให้อนุมูลที่มีสีเขียวปนน้ำเงินจางลง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดดอกเก๊กฮวยความเข้มข้น 0.10 – 0.50 มก./มล. สามารถขจัดอนุมูลโดยมีค่า %inhibition อยู่ในช่วง 26.92 - 97.61% (Figure 1A) เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับโทรลอคซ์ (อนุพันธ์ของวิตามิน E) พบว่ามีค่าเท่ากับ 156.41 mg TEAC/g extract และเมื่อพิจารณาค่า IC₅₀ (ปริมาณสารสกัดดอกเก๊กฮวยในการยับยั้งอนุมูลดังกล่าวได้ 50%) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.22 mg/ml (Table 2)

2) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลดีพีพีเอช

การทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลดีพีพีเอชอาศัยหลักการของสารสกัดมีการให้อะตอมของไฮโดรเจน ซึ่งจะทำให้อนุมูลดังกล่าวเปลี่ยนสีจากสีม่วงกลายเป็นสีเหลือง พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยสามารถขจัดอนุมูลดีพีพีเอช โดยสารสกัดดอกเก๊กฮวยความเข้มข้น 0.10 – 0.50 มก./มล. มีค่า %inhibition อยู่ในช่วง 17.16 - 68.04 % (Figure 1B) เมื่อเปรียบเทียบกับกรดแกลลิกพบว่ามีค่าเท่ากับ 15.97 mg GEAC/g extract และเมื่อพิจารณาค่า IC₅₀ พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.32 mg/ml (Table 2)

3) ฤทธิ์การขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระในกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive Oxygen Species; ROS) มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของผิวผ่านการทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆชนิดนี้ โดยพบว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้น 1.00 – 9.00 mg/ml มีค่า %inhibition เท่ากับ 5.82 - 45.99 (Figure 1C) เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกพบว่ามีค่าเท่ากับ 138.28 mg GEAC/g extract และพบว่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 9.39 mg/ml (Table 2)

Table 2 Antioxidant capacities of organic *C. indicum* extract

Substance	ABTS assay		DPPH assay		Superoxide assay	
	IC ₅₀ (mg/mL)	mg TEAC/g extract	IC ₅₀ (mg/mL)	mg GEAC/g extract	IC ₅₀ (mg/mL)	mg GEAC/g extract
<i>C. indicum</i>	0.22 ± 0.00	156.41 ± 1.95	0.32 ± 0.00	15.97 ± 0.22	9.39 ± 0.98	138.28 ± 15.08
Trolox	0.04 ± 0.00	-	-	-	-	-
Gallic acid	-	-	0.05 ± 0.00	-	1.37 ± 0.05	-

Values are expressed as means ± standard deviation (n = 3).

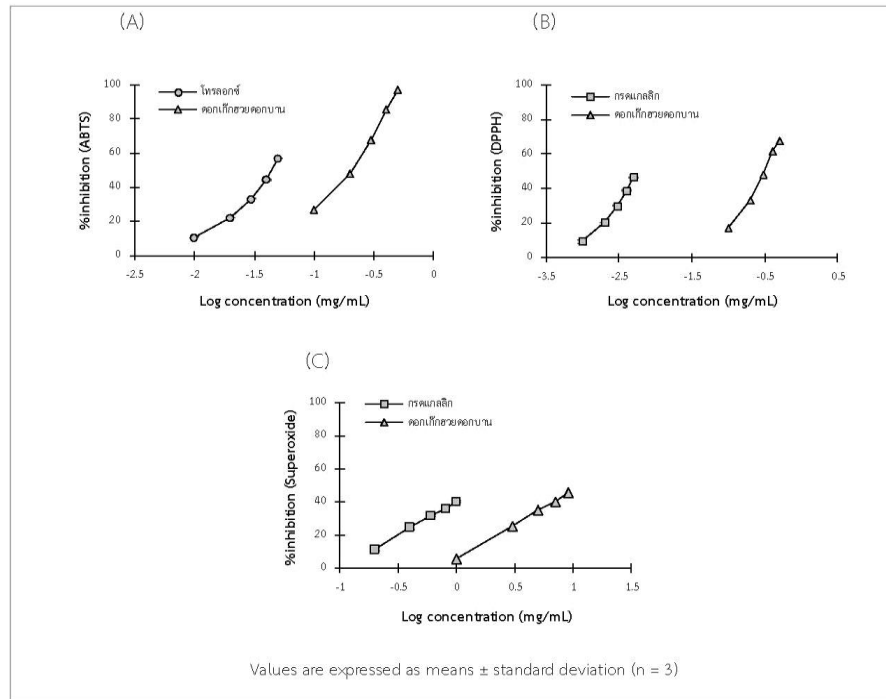


Figure 1 Antioxidant activity: ABTS (A), DPPH (B), and superoxide (C) radical scavenging activities organic flower *C. indicum* extract

ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์

1) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนส

สารสกัดดอกเก๊กฮวยมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนส โดยสารสกัดดอกเก๊กฮวยความเข้มข้น 1.00 มก./มล. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้เท่ากับ $43.27 \pm 2.05\%$ ส่วนสารมาตรฐาน EGCG ความเข้มข้น 0.01 mg/ml สามารถยับยั้งได้เท่ากับ $48.00 \pm 1.73\%$ (Figure 2A) ส่วนค่า IC_{50} ของสารสกัดดอกเก๊กฮวยพบว่า มีค่าเท่ากับ 2.33 ± 0.45 mg/ml

2) ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

สารสกัดดอกเก๊กฮวยสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้โดยที่ความเข้มข้น 100.00 มก./มล. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ $48.23 \pm 0.37\%$ ส่วนสารมาตรฐานกรดโคจิกที่ความเข้มข้น 1.00 สามารถยับยั้งได้ $79.33 \pm 0.69\%$ (Figure 2B) และเมื่อพิจารณาว่า IC_{50} ของสารสกัดดอกเก๊กฮวยพบว่า มีค่าเท่ากับ 102.11 ± 0.05 mg/ml

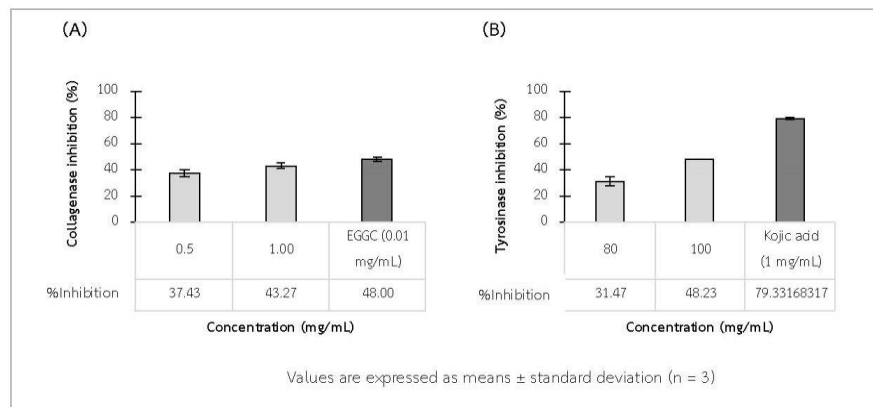


Figure 2 Effect of organic flower *C. indicum* on collagenase (A), and tyrosinase inhibition activities

วิจารณ์ผลการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้รับจากพืชธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิโดยเฉพาะสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการใช้เป็นสารช่วยบำรุงผิวในเครื่องสำอาง เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยป้องกันผิวหนังจากอันตรายของรังสียูวี เป็นต้น (Ribeiro *et al.*, 2015; Anitha, 2012) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์ตรวจพบสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกโดยและฟลาโวนอยด์ซึ่งมีรายงานว่ามียุทธศาสตร์ทางด้านเภสัชวิทยาในการต้านการอักเสบ ป้องกันผิวจากรังสียูวี (Tungmunthum *et al.*, 2018) ป้องกันการเกิด lipid oxidation ป้องกันการย่อยสลายของคอลลาเจน เป็นต้น (Malinowska, 2013) นอกจากนี้ยังตรวจพบเคอร์ซีตินในสารสกัดดอกเก๊กฮวยซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสโดยยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (Choi and Shin, 2015) โดยพบว่าความเข้มข้น 5 – 50 μ M สามารถยับยั้งการสังเคราะห์เมลานินได้ดีในเซลล์ B16F10 melanoma cells (Kim, 2012)

จากการศึกษาด้านฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อผิวในครั้งนี้พบว่า สารสกัดดอกเก๊กฮวยอินทรีย์มีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบฤทธิ์การขจัดอนุมูลเอปิตีเอส ดีพีพีเอช และซูเปอร์ออกไซด์ โดยที่อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์จัดเป็นอนุมูลชนิดแรกในร่างกายที่มีบทบาทสำคัญในการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ อย่างรุนแรงโดยการสร้างอนุมูลในกลุ่ม ROS ชนิดอื่นๆ เช่น singlet oxygen และอนุมูลไฮดรอกซิล (Sasikumar and Kalaisezhiyen, 2014) ซึ่งมีเกี่ยวข้องกับการแก่ของผิวหนังที่มีสาเหตุหลักมาจากภาวะความเครียดออกซิเดชันซึ่งเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการช่วยป้องกันเซลล์จากภาวะดังกล่าวเช่นยังป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ชัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ของออกซิเดชัน ซึ่งทำให้ช่วยชะลอหรือป้องกันการแก่ของผิวหนังหรือการเสื่อมสภาพของผิวหนังได้ (Costa and Santos, 2017) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์พบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยมียุทธศาสตร์การยับยั้งเอนไซม์คอลลาเจเนสที่จัดอยู่ในกลุ่ม

MMPs ที่สามารถย่อยสลายคอลลาเจนทำให้ผิวหนังขาดความยืดหยุ่นและเกิดริ้วรอยได้และพบว่าสารสกัดดอกเก๊กฮวยมีประสิทธิภาพสูงในยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับ Kim (2016) ที่พบว่าดอกเก๊กฮวยที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลสามารถลดการแสดงออกของยีน *MMP1* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสลายของคอลลาเจนที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะความเครียดออกซิเดชัน และยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นเอนไซม์สำคัญในการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งสอดคล้องกับ Choi *et al.* (2016) ที่พบว่าเครื่องสำอางที่ผสมสารสกัดจากเก๊กฮวยที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถลดเมลานินในอาสาสมัครได้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรกำลังได้รับความนิยมในการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางบำรุงผิวเพื่อช่วยลดเลือนริ้วรอย และปรับสภาพผิวให้กระจ่างใส เช่น ดอกและใบตาทลา (Whangsomnuek *et al.*, 2019) หนูก้าทะเล *Thalassia hempricii* (Zakiah *et al.*, 2018) ดอกดาวเรือง (Leelapompisid *et al.*, 2014) ดอกราชพฤกษ์ (Limtrakul *et al.*, 2016) เป็นต้น และยังพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรยังมีความอ่อนโยนปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Soto *et al.*, 2015) จากผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่า สารสกัดจากดอกเก๊กฮวยด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อผิว ช่วยลดเลือนริ้วรอย และเพิ่มความกระจ่างใสให้ผิว อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมด้านประสิทธิภาพการชะลอวัยของสารสกัดดอกเก๊กฮวยในเซลล์เพาะเลี้ยงของผิวหนัง หรือในอาสาสมัครเพิ่มเติมเพื่อยืนยันประสิทธิภาพดังกล่าว

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดด้วยน้ำจากดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในการเป็นสารช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนสที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ผิวเสื่อมสภาพหรือเกิดริ้วรอย นอกจากนี้ยังสามารถปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ผลจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับดอกเก๊กฮวยอินทรีย์เป็นสารประกอบเชิงหน้าที่นำไปเป็นสารผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (cosmetic ingredient) ซึ่งจะช่วยให้ทางเลือกและรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะปลูกเก๊กฮวย รวมทั้งผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอางอีกทางหนึ่ง นอกเหนือจากการนำไปทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบเดิมๆ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาหน่วยวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาเพื่อการสร้างนวัตกรรมด้านการเกษตร ประจำปีงบประมาณ 2561 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับทุนสนับสนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ และศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Anitha, T. 2012. Medicinal plants used in skin protection. *Asian J Pharm Clin Res.* 5(2): 35-38.
- Cheng, W., J. Li, T. You and C. Hu. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linné. *J Ethnopharmacol.* 101(1-3): 334-337.
- Choi, K.T., J.H. Kim, H.T. Cho, S.S. Lim, S.S. Kwak and Y.J. Kim. 2016. Dermatologic evaluation of cosmetic formulations containing *Chrysanthemum indicum* extract. *J Cosmet Dermatol.* 15(2): 162-168.
- Choi, M.H. and H.J. Shin. 2015. Anti-melanogenesis effect of quercetin. *Cosmetics.* 3(2): 18.
- Costa, R. and L. Santos. 2017. Delivery systems for cosmetics - from manufacturing to the skin of natural antioxidants. *Powder Technol.* 322: 402-416.
- D’Orazio, J., S. Jarrett, A. Amaro-Ortiz and T. Scott. 2013. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci* 14: 12222-12248.
- Hammerschmidt, P.A. and D.E. Pratt. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J Food Sci* 43(2): 556-559.
- Kanlayavattanakul, M. 2016. *Herbs for Cosmetics: Anti-Wrinkle*. Bangkok: Protex Press. 118 p. [in Thai]
- Kim, Y.J. 2012. Hyperin and quercetin modulate oxidative stress-induced melanogenesis. *Biol Pharm Bull.* 35(11): 2023-2027.
- Kim, Y.J. 2016. Extracts of *Chrysanthemum indicum* Linne mediated regulation of *MMP1* via JNK-AP1 pathway. *Asian J Beauty Cosmetol.* 14(4): 399-405.
- Leelapornpisid, P., S. Chansakaow, S. Na-Boonlong and P. Jantrawut. 2014. Development of cream containing nanostructured lipid carriers loaded marigold (*Tagetes erecta* Linn) flowers extract for anti-wrinkles application. *Int J Pharm Pharm Sci.* 6(5): 309-313.
- Limtrakul, P., S. Yodkeeree, P. Thippraphan, W. Punfa and J. Srisomboon. 2016. Anti-aging and tyrosinase inhibition effects of *Cassia fistula* flower butanolic extract. *BMC Complement Altern Med.* 16: 497.
- Malinowska, P. 2013. Effect of flavonoids content on antioxidant activity of commercial cosmetic plant extracts. *Herba Pol.* 59(3): 63-75.
- Masuda, T., D. Yamashita, Y. Takeda and S. Yonemori. 2005. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69(1): 197-201.

- Mensor, L.L., F.S. Menezes, G.G. Leitão, A.S. Reis, T.C.D. Santos, C.S. Coube and S.G. Leitão. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res.** 15(2): 127-130.
- Nishikimi, M., N.A. Rao, K. Yagi. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. **Biochem Biophys. Res Commun.** 46(2): 849-854.
- Peñarrieta, J.M., J.A. Alvarado, B. Akesson and B. Bergenståhl. 2007. Separation of phenolic compounds from foods by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Revista Boliviana de Química.** 24(1): 1-4.
- Rawdkhao, T. 2017. **Production Promotion of organic *Chrysanthemum indicum* L.** in Research Report. Chiang Mai: Maejo University. [in Thai]
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med.** 26(9-10): 1231-1237.
- Ribeiro, A.S., M. Estanqueiro, M.B. Oliveira and J.M.S. Lobo. 2015. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. **Cosmetics.** 2(2): 48-65.
- Sasikumar, V. and P. Kalaisezhiyen. 2014. Evaluation of free radical scavenging activity of various leaf extracts from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. **Biochem Anal Biochem.** 3(2): 7.
- Soto, M., E. Falqué and H. Domínguez. 2015. Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. **Cosmetics.** 2(3): 259-276.
- Stanković, M.S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marubium peregrinum* L. extracts. **Kragujevac J. Sci.** 33: 63-72.
- Tungmunnithum, D., A. Thongboonyou, A. Pholboon and A. Yangsabai. 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. **Medicines.** 5(3): 93.
- Whangsomnuek, N., L. Mungmai, K. Mengamphan and D. Amornlerdpison. 2019. Efficiency of skin whitening cream containing *Etilingera elatior* flower and leaf extracts in volunteers. **Cosmetics.** 6(3): 39.
- Zakiah, K., E. Anwar and T. Nurhayat. 2018. *In-vitro* evaluation of antioxidant activity and anti-collagenase activity of *Thalassia hempricii* as a potent ingredients for anti-wrinkle cosmetics. **Pharmacogn J.** 10(4): 778-782.
- Zolghadri, S., A. Bahrami, M.T.H. Khan, J. Munoz-Munoz, F. Garcia-Molina, F. Garcia-Canovas and A.A. Saboury. 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. **J Enzyme Inhib Med. Chem.** 34(1): 279-309.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาว สินีนาฏ ภูระยับ
เกิดเมื่อ	11 ธันวาคม 2536
ประวัติการศึกษา	2555: มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 2559: วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 2562: วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	2556: นักศึกษาช่วยสอน วิชาการดำน้ำเพื่อการประมง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 2556: ผู้ช่วยวิทยากรฝึกอบรม เรื่องการปลูกหญ้าทะเลและการปล่อยสัตว์น้ำ ณ แผนก Scuba diving บริษัท เสมีด รีสอร์ท กรุป 2557: นักศึกษาฝึกงาน ณ สหมิตรฟาร์ม จังหวัดภูเก็ต 2560 - 2561: ผู้ช่วยนักวิจัย ภายใต้การดูแลของ ผศ.ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล