การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

ฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์

GRAD VRU

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
พ.ศ. 2558

DEVELOPMENT OF A LOTION MADE FROM CRUDE EXTRACTS OF *Carthamus tinctorius* Linn. FLOWERS AND *Psidium guajava* Linn. LEAVES AS A TYROSINASE INHIBITOR

THITAREE CHUMCHAIYAPURK

GRAD VRU

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN SCIENCE EDUCATION
GRADUATE SCHOOL
VALAYA ALONGKORN RAJABHAT UNIVERSITY
UNDER THE ROYAL PATRONAGE PATHUM THANI
2015

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

ชื่อนักศึกษา ฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์

รหัสประจำตัว 53B54670301

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตรศึกษา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(อาจารย์ ดร.เปรมจิตร บุญสาย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุพดี เส้นขาว)

..... กรรมการและเลขานุการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิ
(อาจารย์ ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 19 เดือน มกราคม พ.ศ. 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

GRAD VRU

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส
ชื่อนักศึกษา	ฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์
รหัสประจำตัว	53B54670301
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา
ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและตรวจหาฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง 2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง 3) หาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและสารสกัดหยาบใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส 4) พัฒนาโลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส 5) ถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษา ผู้วิจัยนำสารสกัดหยาบจากดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาสกัดด้วยวิธีการแช่ยุ่ยโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยใช้เทคนิครงคเลขผิวบาง จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส แล้วนำมาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาพัฒนาเป็นโลชัน ทดสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีบางประการของโลชัน และนำความรู้จากผลการวิจัยมาถ่ายทอดโดยพัฒนาเป็นชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษาจำนวน 30 คน เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หาค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหาของเครื่องมือก่อนนำไปใช้อบรม โดยการหาค่าดัชนีความสอดคล้อง สถิติที่ใช้ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความรู้ก่อนและหลังการอบรมโดยการทดสอบค่าที

ผลการวิจัยพบว่า

1) ปริมาณฟินอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเท่ากับ 0.11 และ 0.39 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 0.09 และ 0.37 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.15 และ 0.42 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบดอก

คำฝอยและใบฝรั่งเท่ากับ 5.70 และ 4.56 ตามลำดับ และตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยใช้เทคนิครงคเลขผิวบาง

2) สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.20 และ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิกซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3) อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส คือ อัตราส่วนที่ 3 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์

4) โลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีสีขาว มีความคงตัวและ ไม่แยกชั้น ทดสอบค่า pH ของโลชันมีค่าเท่ากับ 6.5

5) ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการที่พัฒนามีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 1.00 และนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า หลังการอบรม นักศึกษามีความรู้เพิ่มขึ้น และแตกต่างจากก่อนการอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และผลการประเมินความพึงพอใจในการอบรม พบว่า อยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ = 4.08, S.D. = 0.69)

GRAD VRU

Thesis Title	Development of a Lotion made from Crude Extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. Flowers and *Psidium guajava* Linn. Leaves as a Tyrosinase Inhibitor
Student	Thitaree Chumchaiyapurk
Student ID	53B54670301
Degree	Master of Science
Field of Study	Science Education
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr.Sasamol Phasuk
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Dr.Pannraphat Takolpuckdee

ABSTRACT

The aims of this research were 1) to study the chemical structures of crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves and identify their flavonoids, 2) to study the efficiency of crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves as a tyrosinase inhibitor, 3) to investigate the optimum ratio between crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves as a tyrosinase inhibitor, 4) to develop a tyrosinase inhibition lotion made from the mix of crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves, and 5) to transfer the research knowledge to undergraduate students under the title of "Lotion Development from Mixed Herbal Crude Extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. Leaves". The data concerning the crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves were obtained via a maceration process using ethanol as a solvent. The analysis of the total phenolic, tannin and flavonoid contents was done. The flavonoids found in the crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves were identified using the TLC Fingerprint technique. The efficiency of *Carthamus tinctorius* Linn. flower and *Psidium guajava* Linn. leave crude extracts as a tyrosinase inhibitor were analyzed. Then, the optimum ratio between the crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves as a tyrosinase inhibitor was determined. A cytotoxicity test of the extract of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves was performed. The physical properties and some chemical properties of the developed lotion using *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves were tested. Moreover, in order to transfer the

research knowledge, a practice training package was developed and entitled “Lotion Development from Mixed Herbal Crude Extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. Flowers and *Psidium guajava* Linn. Leaves as a Tyrosinase Inhibitor.” The practical training package was used with 30 undergraduate students. Education tools such as the practical training package, tool accuracy prior to use, and index of Congruence were chosen for this standard. Mean deviation and t-test were used, standard deviation and t-test were used to evaluate the knowledge prior and after the training program.

The results were as follows:

1) The total phenolic contents of the crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves were 0.11 and 0.39 mg of gallic / g of extract, respectively. The total contents of tannin were 0.09 and 0.37 mg of tannic acid / g of extract, respectively, while the total flavonoid contents were 0.15 and 0.42 mg of rutin / g of extract, respectively. The percentages of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves in the crude extracts were 5.70 % and 4.56 %, respectively. The flavonoids were also identified using the TLC fingerprint technique.

2) The crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves showed tyrosinase inhibition properties with IC_{50} of 6.20 and 6.89 mg/mL. compared to using Kojic acid (IC_{50} = 1.30 mg / mL).

3) The optimum ratio of the tyrosinase inhibitor from *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves was found to be “3” with IC_{50} = 4.07 mg/mL. No cytotoxicity was observed.

4) The development of the lotion from the crude extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. flowers and *Psidium guajava* Linn. leaves showed that the white lotion was homogeneous without any phase separations. The pH value of the lotion was 6.5.

5) The training program was set up, and the results showed that the Index of Congruence = 1.00. After the training program, the students were more knowledgeable than prior to the training program at a statistical level of 0.05. The training satisfaction was at a high level ($\overline{X}$ = 4.08, S.D. = 0.69).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ดีโดยได้รับความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง โดยเฉพาะผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำปรึกษา เสนอข้อคิดเห็น ชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัยมาตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณท่านคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และท่านผู้ทรงคุณวุฒิที่ตรวจเอกสารงานวิจัยและเอกสารประกอบการอบรมเพื่อให้งานวิจัยฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

คุณูปการจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบคุณงามความดีทั้งหลาย เพื่อตอบแทนแด่บิดา มารดา ครู อาจารย์ ทุกท่านที่ให้ความเมตตา อบรม สั่งสอนและให้ความรู้เป็นผลให้มีกำลังใจในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์

GRAD VRU

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญภาพ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย..... 3

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

2.1 การสกัดแยกสารสำคัญจากพืช..... 5

2.2 สารประกอบฟีนอลิก..... 8

2.3 กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส..... 13

2.4 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย..... 15

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโลชัน..... 19

2.6 ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ..... 21

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 22

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 30

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน..... 32

3.2 การวางแผนการทดลอง..... 32

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์..... 33

3.4 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัย..... 39

G-RAD VRU

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 41
4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเอทานอล..... 41
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง..... 45
4.3 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส..... 49
4.4 ผลการพัฒนาและศึกษาสมบัติบางประการของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง และผลการทดสอบผลิตภัณฑ์..... 54
4.5 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง”..... 55
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 57
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 57
5.2 อภิปรายผล..... 58
5.3 ข้อเสนอแนะ..... 59
บรรณานุกรม..... 60
ภาคผนวก..... 66
ภาคผนวก ก รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ..... 67
ภาคผนวก ข โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง..... 69
ภาคผนวก ค ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 3 ส่วน เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง..... 73
ภาคผนวก ง ผลการประเมินชุดฝึกอบรมจากผู้ทรงคุณวุฒิ..... 99
ภาคผนวก จ ภาพประกอบการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ..... 102
ภาคผนวก ฉ ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง..... 106
ประวัติผู้วิจัย..... 108

GRAD VRU

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก	41
4.2	ผลการหาปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก	42
4.3	ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานรูทิน	43
4.4	ร้อยละผลผลิตของการสกัดสารจากดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล	44
4.5	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก	48
4.6	ผลการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก	52
4.7	ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส (IC_{50}) ของสารมาตรฐานกรดโคจิก สารสกัดหยาบดอกคำฝอย สารสกัดหยาบใบฝรั่ง อัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 และอัตราส่วนที่ 3	53
4.8	ผลการทดสอบก่อนการฝึกอบรมและหลังการฝึกอบรม	55
4.9	แสดงความพึงพอใจในการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ของผู้เข้ารับการอบรม (N = 30)	56

GRAD VRU

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ภาพแสดงบริเวณ Binding Site ของเคอร์ซิทินที่จับกับไอออนของโลหะ.....	9
2.2	ภาพแสดงลักษณะการสร้างเม็ดสีผิวของเมลานิน.....	12
2.3	การเกิดเม็ดสี Eumelanins และ Pheomelanin จาก Tyrosine หรือ Dopa.....	13
2.4	กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน.....	14
2.5	โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญ Carthamin.....	16
2.6	ภาพแสดงลักษณะฝรั่งพันธุ์ขี้นก.....	17
2.7	ภาพแสดงโครงสร้างทางเคมีของ Quercetin.....	19
3.1	แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	31
4.1	กราฟสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก.....	42
4.2	กราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก.....	43
4.3	กราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน.....	44
4.4	TLC Fingerprints ขององค์ประกอบทางเคมีของดอกคำฝอยและใบฝรั่ง.....	45
4.5	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอย.....	46
4.6	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง.....	46
4.7	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของกรดโคจิก.....	47
4.8	เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอย ใบฝรั่งและสารมาตรฐานกรดโคจิก.....	49
4.9	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 1.....	49
4.10	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 2.....	50
4.11	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 3.....	50
4.12	กราฟแสดงค่า IC_{50} ของกรดโคจิก.....	51
4.13	เปรียบเทียบค่า IC_{50} อัตราส่วนของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งอัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 อัตราส่วนที่ 3 และสารมาตรฐานกรดโคจิก.....	53
4.14	แผนภูมิแสดงค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานกรดโคจิก สารสกัดหยาบดอกคำฝอย สารสกัดหยาบใบฝรั่ง อัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 และอัตราส่วนที่ 3.....	57

GRAD VRU

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สังคมไทยนิยมการมีผิวสีอ่อนมากกว่าผิวสีเข้ม เพราะดูสะอาดตาและสดใส โดยเฉพาะผิวบริเวณใบหน้า ซึ่งเป็นจุดเด่นในการเข้าสังคม ดังนั้นผู้ที่มีผิวสีเข้มจึงพยายามค้นหาวิธีการหรือสารต่างๆ เพื่อทำให้สีผิวจางลงและขาวขึ้น นอกจากนี้โรคผิวหนังบางโรคยังทำให้ผิวหนังสร้างเม็ดสีผิดปกติ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ผลิตภัณฑ์ช่วยให้ผิวขาวคือผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ความเข้มของสีผิวจางลง โดยมีส่วนผสมของสารที่ช่วยให้ผิวขาว ซึ่งอาจหมายถึงสารคลุมผิว (เช่น TiO_2 Talcum และ Kaolin เป็นต้น) สารป้องกันแสงแดดซึ่งช่วยลดการกระตุ้นการสร้างเม็ดสีในผิวหนัง สารลอกซึ่งลอกเซลล์ผิวที่คล้ำออก และสารที่ไปยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการสร้างเม็ดสี (อรัญญา มโนสร้อย, 2556) ซึ่งในปัจจุบันเครื่องสำอางจากสารสกัดพืชสมุนไพรกำลังเป็นที่นิยม สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสจึงถูกนำมาศึกษาเป็นลำดับแรกๆ เพื่อใช้คัดเลือกหาประโยชน์จากสารสกัดสมุนไพร แล้วนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (จันทิมา หอมกลบ และคนอื่นๆ, 2554) เช่น โลชัน (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำเพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูงวัฏภาคภายในมักไม่เกิน 35 % เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้างเพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบาย และล้างน้ำออกได้ง่าย เช่น โลชันทาผิว ซึ่งโลชันนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืดในวัฏภาคน้ำให้หนืดขึ้นได้แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้ (เสาวนีย์ กระสานติสุข และคนอื่นๆ, 2549)

ดอกคำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.) เป็นพืชที่นิยมเก็บเกี่ยวส่วนเมล็ดไปใช้สกัดน้ำมัน ดอกนำไปใช้ในการทำสีและประโยชน์ทางการแพทย์ ดอกคำฝอยเป็นพันธุ์พืชโบราณที่มีถิ่นกำเนิดจากแถบตะวันออกกลาง ในอินเดียใช้ดอกคำฝอยในการผลิตน้ำมันพืชเพื่อใช้ภายในประเทศ ส่วนในประเทศจีนนิยมนำดอกไปใช้ในการแพทย์แผนโบราณ (Ekin z, 2005) สีที่ได้จากดอกคำฝอยจะมีสีเหลืองแดง เรียกว่า คาร์ทามิน (Carthamin) ในกลีบดอกคำฝอยมีสารสีเหลืองคาร์ทามิน (Carthamin) ซึ่งเป็นสีธรรมชาติที่ปลอดภัยสำหรับรับประทานองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่พบในดอกคำฝอยคือสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ (Flavonoid Glycoside) เช่น คาร์ทามิน (Carthamin) ซาฟฟลอร์ เยลโล่ (Safflor Yellow) ทิงค์ทอมีน (Tinctormine) (Yoon H. R. & et al., 2007) และสารในกลุ่มฟลาโวน เช่น ลูทีโอลิน (Luteolin) (Asgarpanah & Kazemivash, 2013) และจากการศึกษางานวิจัยพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากกลีบดอกคำฝอยมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (Yaginuma S. & et al., 1999) ต้านอักเสบ โดยยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดินซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ (Wang C. C. & et al., 2011)

ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) เป็นไม้ต้นสูง 3-10 เมตร เปลือกต้นเรียบใบเดี่ยวขอบขนานกว้าง 3-8 เซนติเมตรยาว 6-14 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาวร่วงง่าย เกสรตัวผู้มีเป็นจำนวนมาก ผลคล้ายลูกแพร์หรือลูกสาลี่ ฝรั่งเป็นพืชพื้นเมืองในอเมริกาเขตร้อน อินเดียตะวันตก อเมริกาใต้

อินเดียและอียิปต์ ปัจจุบันมีการเพาะปลูกทั่วไปในเขตร้อน จากการศึกษางานวิจัยพบว่า ใบฝรั่งมีสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งคือสารเคอร์ซิทิน (Lutterodt & Maleque, 1988) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส (ศิริวรรณ วีระทวีพร และคนอื่นๆ, 2552)

จากการศึกษาค้นคว้าเบื้องต้น พบว่า ดอกคำฝอยมีสารฟลาโวนอยด์ (Beata W., 2010) เช่น คาร์ทามิน (Carthamin) และซาฟฟลอร์ เยลโล่ (Safflor Yellow) (Yoon H. R. & et al., 2007) ซึ่งให้สารสีเหลืองจนถึงสีเหลืองส้มสำหรับใช้ในอาหารและเครื่องสำอาง เช่น ลิปสติก (Vrijendra Singh & et al., 2013) และใบฝรั่งมีสารแทนนิน (Tannin) และเควอร์ซิติน (Quercetin) ที่เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (อัมพวัน อภิสริยะกุล, 2536) ซึ่งฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่จากการศึกษาวิจัย พบว่าสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส (สุพัตรา ฤกษ์สมโภชน์, 2550)

ไทโรสิเนส (Tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดเม็ดสีเมลานินในผิวหนัง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดสีที่ผิวหนัง และทำให้ผิวคล้ำ ดังนั้น สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงมีผลยับยั้งการสร้างเมลานิน สารเหล่านี้มีประโยชน์ในการรักษาโรคผิวหนังบางชนิด เช่น ฝ้า กระ นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาเป็นสารที่ช่วยทำให้ผิวขาว (Whitening Agent) ที่ใช้ในเครื่องสำอางอีกด้วย (นิสากร แซ่วัน, 2553)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาทำการสกัดเพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสและนำผลการศึกษาที่ได้ไปพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส และทำการเผยแพร่ผลงานการวิจัยโดยการนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษาเพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับสมุนไพรไทยและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

GRAD VRU

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและตรวจหาฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

1.2.3 เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

1.2.4 เพื่อพัฒนาโลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งและทดสอบสมบัติบางประการของโลชัน

1.2.5 เพื่อถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษา

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.3.1 ทำให้ทราบถึงวิธีการสกัดการแยกสารสำคัญ และฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

1.3.2 ข้อมูลจากการทดลองเป็นข้อมูลพื้นฐานสามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ในการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของพืชสมุนไพรแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ต่อไป

1.3.3 เป็นการพัฒนา ส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยที่มีในท้องถิ่นในการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ดอกคำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.) ที่ใช้ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ได้มาจากการนำดอกคำฝอยแห้งมาจากจังหวัดเชียงใหม่นำมาบดให้ละเอียดนำไปสกัดด้วยเอทานอล 95 %

1.4.2 ใบฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) ที่ใช้ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส เป็นใบฝรั่งพันธุ์ขี้นก นำมาจากอำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี ได้จากการนำใบแก่ของต้นฝรั่งมาทำให้แห้งโดยการอบ นำมาบดให้ละเอียด นำไปสกัดด้วยเอทานอล 95 %

1.4.3 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไทโรสิเนส ด้วยวิธีโดพาโครม (Dopachrome Method)

1.4.4 องค์ประกอบทางเคมีที่ศึกษา ได้แก่ การหาปริมาณสารสำคัญ โดยการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโตรสโกปี และตรวจหาฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง

1.4.5 ทดสอบสมบัติทางกายภาพบางประการของโลชันได้แก่ สีความคงตัว และการแยกชั้น ทดสอบสมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ค่า pH และทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์สัตว์

1.4.6 ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ประกอบด้วยชุดฝึกอบรม 3 ส่วน

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม

ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ (การทดลอง)

ส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผล

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 การแยกองค์ประกอบทางเคมี หมายถึง การใช้เทคนิคทางเคมี ได้แก่ เทคนิครงคเลขผิวบางแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

1.5.2 สารสกัดหยาบดอกคำฝอย หมายถึง สารสกัดที่ได้จากการนำดอกคำฝอยไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน และเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

1.5.3 สารสกัดหยาบใบฝรั่ง หมายถึง สารสกัดที่ได้จากการนำใบฝรั่งไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน และเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

1.5.4 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส หมายถึง ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสที่ได้จากสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งและดอกคำฝอย

1.5.5 IC_{50} (Inhibition Concentration) หมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสลดลงร้อยละ 50

1.5.6 โลชั่น หมายถึง อิมัลชันที่มีความหนืดต่ำที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งใช้สำหรับบำรุงผิว

1.5.7 ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หมายถึงเอกสารที่ใช้ประกอบการจัดการอบรมเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง”

GRAD VRU

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสเป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งผู้วิจัยขอนำเสนอเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานดังนี้

2.1 การสกัดแยกสารสำคัญจากพืช
2.2 สารประกอบฟีนอลิก
2.3 กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส
2.4 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย
2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโลชัน
2.6 ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การสกัดแยกสารสำคัญจากพืช

การสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด ก็จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดหยาบ (Crude Extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายสารสกัดอย่างหยาบเป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร ซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เรียกว่า สารสำคัญ (Active Constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย (Inert Substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด

2.1.1 วิธีการสกัด

วิธีการสกัดมีหลายวิธี 1) มาเซอเรชัน (Maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีการหมักสมุนไพรกับน้ำยาสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและน้ำยาสกัดสามารถซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบในผงสมุนไพรออกมาได้ 2) เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบออกจากผงสมุนไพรออกมา โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่าเพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) 3) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous Extraction) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรทำนองเดียวกับเพอร์โคเลชัน (Percolation) แต่ต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ซอกซ์เลตเอ็กซ์แทรกเตอร์ (Soxhlet Extractor) ซึ่งเป็นระบบปิดโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนจากฮิทติงแมนเทิล (Heating Mantle) หรือหม้ออังไอน้ำน้ำยาสกัดในภาชนะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบิล (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้น้ำยาสกัดจะผ่านผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆจนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมา เมื่อน้ำยาสกัดในเอ็กซ์แทรกติงแชมเบอร์

(Extracting Chamber) สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำสารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะวนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ผู้วิจัยเลือกใช้วิธีการสกัดแบบมาเซอเรชัน (Maceration) ในการสกัดดอกคำฝอยและใบฝรั่งวิธีการนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก เมล็ด ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีที่ใช้น้ำยาสกัดน้อยจึงประหยัดและเป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนจึงเหมาะสม (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.1.2 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัดได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้กรดหรือด่างเติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์มมีใช้บ้างเฉพาะกรณี เมื่อทำการสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วสารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธีแต่วิธีที่นิยมใช้กันมากคือ การระเหยการกลั่นในสุญญากาศ การแช่แข็ง เป็นต้น (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.1.3 การทำให้สารสกัดเข้มข้น (Concentration)

เมื่อทำการสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วสารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนซึ่งอาจทำได้หลายวิธีแต่วิธีที่นิยมใช้กันมากคือ

1. การระเหย (Free Evaporation) คือ การทำให้แห้งด้วยหม้ออังไอน้ำบางครั้งอาจเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วยเพื่อให้ระเหยได้เร็วขึ้น

2. การกลั่นในสุญญากาศ (Distillation in Vacuum) เป็นวิธีระเหยแห้งโดยการระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศใช้เครื่องสูบสุญญากาศ (Vacuum Pump) เครื่องมือนี้เรียกว่าโรตารีอีวาโพเรเตอร์ (Rotary Evaporator) ประกอบด้วยสามส่วนคือภาชนะบรรจุสารอย่างหยาบที่จะกลั่นส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (Condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (Receiving Flask) โดยสารสกัดหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (Rotate) ตลอดเวลาที่ทำงานเพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่นซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลาปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับโดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศสารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

3. การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำใช้ Lyophizer ทำให้แห้ง (Freeze Dryer) แต่ถ้าเป็นตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็งซึ่งเราจะแยกจากความเข้มข้น (Concentrate) โดยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

2.1.4 โครมาโทกราฟี (Chromatography)

เป็นวิธีการแยกองค์ประกอบต่างๆ ออกจากกันที่ได้ผลดีมากและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัวของสารตัวอย่างระหว่าง 2 เฟสที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันคือเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ซึ่งอาจเป็นแก๊สหรือของเหลว กับอีกเฟสหนึ่งซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ (Stationary Phase) อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ล้อมรอบวัสดุช่วยพยุง (Supporting Material) ซึ่งทำหน้าที่ในการแยกสารหรือองค์ประกอบของสารตัวอย่างออกจากกันขึ้นอยู่กับความจำเพาะเจาะจงของสารตัวอย่างที่มีต่อเฟสอยู่กับที่ ประโยชน์ของการทำโครมาโทกราฟี คือ ใช้แยกสารแต่ละชนิดออกจากสารผสมตรวจความสม่ำเสมอ (Homogeneity) ของสารตัวอย่าง ทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification) ตรวจเอกลักษณ์ของสาร ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ และตรวจสารปนเปื้อน (Impurity)

1. ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography) เป็นเทคนิคที่ใช้แยกและตรวจสอบสารปริมาณน้อยๆ ในงานวิเคราะห์และใช้ในงานพรีแพเรทีฟ (Preparative) ซึ่งใช้กับสารปริมาณมากๆ ได้ด้วย โดยใช้เฟสอยู่กับที่แผ่บนแผ่นรองรับหรือซัพพอร์เทอร์ซึ่งทำด้วยแก้ว หรืออลูมิเนียมหรือพอลิเอทีลีน (Polyethylene) เมื่อหยดสารละลายตัวอย่างซึ่งเป็นสารผสมลงบนแอดซอร์เบนท์เรียบร้อยแล้ว จึงนำแผ่น TLC ใส่ลงในแท็งก์ TLC ซึ่งบรรจุเฟสเคลื่อนที่หรือระบบ ตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการที่เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ซึ่งเรียกว่า ดีวีลอปเมนท์ (Development) จะเกิดการแยกสารประกอบต่างๆ ออกจากกันโดยอาศัยกลไก ที่กล่าวมาข้างต้นแล้วว่าอาจมีกลไกมากกว่าหนึ่งกลไกก็ได้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติและคุณสมบัติของเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ แอดซอร์เบนท์ของทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีส่วนใหญ่จะใช้ซิลิกาเจล อลูมินา หรือเซลลูโลส

1) การเตรียมแผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) ก่อนอื่นต้องเตรียมน้ำยาแขวนตะกอน (Suspension) ของแอดซอร์เบนท์ซึ่งทำโดยนำซิลิกาเจลหรืออลูมินาผสมน้ำเขย่าในขวดซึ่งปิดจุกแน่นเป็นเวลา 30–45 วินาที สำหรับเซลลูโลสต้องใช้เครื่องคนแม่เหล็กช่วยการผสม จากนั้น นำสารละลายไปแผ่บนแผ่น TLC ให้มีลักษณะบางและหนาสม่ำเสมอกันทั่วทั้งแผ่น แล้วนำไปทำให้แห้งในอากาศก่อน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที

2) การจุดหรือสปอตสารละลายตัวอย่างบนแผ่น TLC โดยใช้แคบิลลารี (Capillaries) พยายามให้จุดเล็กไม่เกิน 2.5 มิลลิเมตร ถ้าสารละลายมีปริมาตรสูงให้หยดหลายๆ ครั้ง และทำให้แต่ละครั้งแห้งก่อนค่อยหยดซ้ำ นำแผ่น TLC ที่สปอตสารตัวอย่างและสารมาตรฐานแล้วไปดีวีลอปในแท็งก์ (Tank) ซึ่งทำให้อิ่มตัวก่อน (Prostrate) ด้วยระบบตัวทำละลายที่จะใช้ หลังจาก ดีวีลอปแผ่น TLC หากเป็นสารมีสีจะเห็นและรู้ตำแหน่งของสารที่แยกได้ทันที แต่สารส่วนใหญ่ไม่มีสีจึงต้องมีวิธีการที่จะบอกตำแหน่งของสารที่แยกได้หรือบอกว่าสารที่แยกได้เป็นสารกลุ่มใดโดยใช้น้ำยาตรวจสอบแบบทั่วไปหรือน้ำยาตรวจสอบแบบจำเพาะเจาะจง

2. คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้แยกสารให้ได้ปริมาณมาก โดยเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่พาสารเคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ซึ่งบรรจุ ในหลอดแก้วปลายเปิด (Open Column) จึงเกิดการกระจายตัวของสารระหว่างสองเฟสนี้

1) การเตรียมคอลัมน์ทำโดยเทตัวทำละลายลงในคอลัมน์ซึ่งส่วนปลายของคอลัมน์นี้อุดด้วยใยแก้วที่บริเวณเหนือก๊อกปิดเปิดในกรณีที่ปลายคอลัมน์ไม่ใช่ซินเทอร์ดิสก์ (Sinter Disk) จากนั้นโปรยทรายละเอียดที่ล้างด้วยกรดด่างและตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วเทลงบนใยแก้วประมาณ 1 เซนติเมตร ทำหน้าทรายให้เรียบ เปิดก๊อกให้ระบบตัวทำละลายไหลผ่านเพื่อให้ฟองอากาศออกเทแอดเซอร์เบนท์ซึ่งอยู่ในตัวทำละลายลงในคอลัมน์ หลังจากที่แอดเซอร์เบนท์นอนก้นแล้วให้ใส่แผ่นกระดาษกรองและทรายเพื่อที่จะหลีกเลี่ยงมิให้แอดเซอร์เบนท์ถูกรบกวน ในขณะที่เติมตัวทำละลายลงไปยังคอลัมน์ปล่อยตัวทำละลายที่อยู่เหนือแอดเซอร์เบนซ์ออกไปจนระดับตัวทำละลายเหลืออยู่เหนือแอดเซอร์เบนท์ประมาณ 1 เซนติเมตร ระดับของตัวทำละลายต้องไม่ต่ำกว่าระดับบนของแอดเซอร์เบนท์ ไม่เช่นนั้นแอดเซอร์เบนท์จะแตกทำให้ประสิทธิภาพการแยกไม่ดี เนื่องจากตัวทำละลายจะไหลผ่านรอยแตกมากกว่าอนุภาคแอดเซอร์เบนท์

2) เมื่อเตรียมคอลัมน์เรียบร้อยแล้วให้ใส่ (Load) สารละลายตัวอย่าง ซึ่งสารละลายในสารละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยที่สุดสามารถละลายสารตัวอย่างได้และต้องมีปริมาตรน้อยๆ อีกทั้งต้องระวังมิให้ผิวหน้าแอดเซอร์เบนท์ถูกรบกวน ปล่อยให้สารละลายตัวอย่างค่อยๆ เคลื่อนผ่านชั้นทรายและแอดเซอร์เบนท์ โดยค่อยๆ เปิดก๊อก เติมตัวทำละลายอีกเล็กน้อยเพื่อล้างสารตัวอย่าง จากนั้นค่อยๆ เพิ่มปริมาณตัวทำละลายมากขึ้น เพื่อให้เกิดการแยกสารเก็บสารละลายที่แยกออกมาจากคอลัมน์เป็นส่วนๆ ในภาชนะที่เหมาะสม การเปลี่ยนตัวทำละลายจากตัวหนึ่งไปเป็นตัวทำละลายอื่นๆ ควรค่อยๆ เปลี่ยน กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีส่วนใหญ่จะเป็นการดูดซับ ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน โทลีน คลอโรฟอร์ม เป็นต้น และสามารถใช้สารละลายเดี่ยวๆ ในการชะล้างสารสำคัญออกจากคอลัมน์

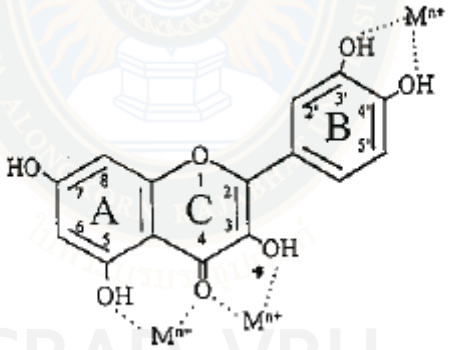
3) การเก็บแฟรกชันสำหรับสารตัวอย่างที่มีสีอาจดูด้วยตาได้ หากเป็นสารที่ ไม่มีสีสามารถตรวจหาด้วยตาได้ ถ้ามันเรืองแสงได้เช่น ควินิดีน (Quinidine) เป็นต้น หากเป็นสารที่ไม่มีสีเราต้องเก็บหลายๆ แฟรกชัน โดยแต่ละแฟรกชันมีปริมาตรน้อยๆ บางทีอาจใช้เครื่องเก็บแฟรกชันแบบอัตโนมัติ (Automatic Fraction Collectors) ซึ่งทำให้เก็บแฟรกชันได้มากมายและสามารถแยกแต่ละสารได้ดีกว่า สามารถปรับอัตราเร็วของสารไหล (Flow Rate) เพื่อเก็บสารที่ต้องการได้ และการตรวจดูสารในแต่ละแฟรกชันทำได้โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีจำนวน Hydroxyl Group อย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุล สามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกมักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่มและมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน กลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็น

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) นอกจากนั้นยังพบว่ามีสารประกอบต่างๆ เช่น Simple Monocyclic Phenol Phenyl Propanoid Phenolic Quinine และ Polyphenolic ซึ่งได้แก่ พวกลิกนิน (Lignin) เมลานิน (Melanin) และแทนนิน (Tannin) เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (Phenolic Unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น

หน้าที่ของสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้บางชนิดก็ทราบแน่ชัด เช่น ลิกนินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจากพวกถั่ว เป็นต้น นอกจากนี้พบว่า สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็น Chelating Agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (Quercetin) โดยโครงสร้างของเคอร์ซิทินมีตำแหน่ง (Binding Site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะ เช่น ทองแดงได้ 3 บริเวณ ดังภาพที่ 2.1 (Packer L. & et al., 1999)



ภาพที่ 2.1 ภาพแสดงบริเวณ Binding Site ของเคอร์ซิทินที่จับกับไอออนของโลหะ

2.2.1 ประเภทของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ (Ho C. T., 1992) คือ

2.2.1.1 สารประกอบฟีนอลิกอย่างง่ายและกรดฟีนอลิกแบ่งออกเป็น 3 ประเภท

1) Monocyclic Phenols พบทั่วไปในพืช ได้แก่ Phenol Catechol Hydroquinone และ P-hydroxycinnamic Acid

2) Dicyclic Phenols ได้แก่ Flavonoids และ Lignans

3) Triphenols พบในอนุพันธ์ของกรดแกลลิกเป็นส่วนใหญ่ เช่น Catechin ในชา

2.2.1.2 Hydrocinnaic Acid และอนุพันธ์ Hydrocinnaic Acid และอนุพันธ์ ได้แก่ Chlorogenic Acid และ Ferulic Acid ซึ่งฟีนอลิกกลุ่มนี้มักพบในรูปของ Conjugated มากกว่า

ในรูปของ Glycosides ซึ่ง Chlorogenic Acid มีความสำคัญที่สุดในกลุ่มนี้ เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ในพืช เช่น แอปเปิ้ล

2.2.1.3 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นฟีนอลิกในพืชที่มีความสำคัญมากที่สุด สูตรโครงสร้างทางเคมีพื้นฐานโดยทั่วไปคือ โครงสร้างไดฟีนิวโปรเปน (C_6-C_3-C_6) กับกลุ่มฟีนอลิกไฮดรอกซีในธรรมชาติพบมากกว่า 2000 ชนิด ซึ่งจะพบเคอร์ซิทินและรูทินมากที่สุด รองลงมาคือมีริซิทิน (Miean & Mohamed, 2001) โดยทั่วไปในใบ ดอก ผล และส่วนต่างๆ ของพืชประกอบด้วย Glycosides ของฟลาโวนอยด์ ส่วนเปลือกและเมล็ดทั้งหมดจะพบทั้ง Glycosides และ Aglycon ของฟลาโวนอยด์

2.2.1.4 แทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีโครงสร้างทางเคมี เป็นสารผสมของโพลีฟีนอล (Polyphenols) พบในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เปลือกต้น ใบ ลำต้น ราก เป็นต้น ละลายได้ดีในน้ำ มีคุณสมบัติสมานผิว (Astringent) มีรสขม ละลายได้บ้างในน้ำเย็น ไม่ละลายใน Organic Solvents จากโครงสร้างฟีนอลทำให้แทนนินมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนทนต่อการเกิดออกซิเดชัน (Oxidation) แทนนินที่มีหมู่ฟีนอลิกและน้ำหนักโมเลกุลมากจะสามารถรวมตัวกับโปรตีนในหนังสัตว์ป้องกันไม่ให้หนังเน่าเปื่อยและเปลี่ยนสภาพเป็นหนังฟอกใช้งานได้ ส่วนแทนนินที่มีหมู่ฟีนอลิกและน้ำหนักโมเลกุลน้อยไม่มีคุณสมบัติฟอกหนังแต่ยังคงมีคุณสมบัติฝาดสมาน (Astringent) นำมาใช้ทางยาและเครื่องสำอาง เช่น ใช้เป็นยาห้ามเลือด ฆ่าเชื้ออย่างอ่อน ล้างแผล และใช้ภายในสำหรับป้องกันการอักเสบที่เนื้อเยื่อผิวของปากและคอ ใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย เมื่อพืชมีอายุมากจะเกิดโพลิเมอไรเซชั่น (Polymerization) ทำให้คุณสมบัติของแทนนินลดลง แทนนินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ Hydrolysable Tannins และ Condensed Tannins

2.2.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก

2.5.2.1 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) อาจเรียกได้ว่าเป็น Free Radical Scavengers มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระให้กลายเป็นสารที่ไม่มีอันตราย สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายเซลล์ โดยการทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ และยังสามารถยับยั้งโลหะได้ เช่น เหล็ก ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้สามารถป้องกันโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ได้แก่

1) วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิค (Vitamin C) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จึงทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ

2) วิตามินอี (Vitamin E) ที่พบมาก คือ ในรูปของอัลฟา-โทโคฟีนอล (Alpha-Tocophenol) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีพิษน้อยที่สุด วิตามินอีถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและส่งต่อไปยังตับ เพื่อบรรจุใส่ในไลโปโปรตีนเพื่อขนส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ

3) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผักผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลตและไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน และแทนนิน เป็นต้น สารโพลีฟีนอลิก

เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด เป็นต้น ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (Flanvanes) ฟลาวาโนน (Flavanols) ฟลาวานอล (Favanols) ฟลาโวนอล (Flavonols) ฟลาโวน (Flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) เป็นต้น

2.2.2.2 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเม็ดสีเมลานินแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1) สารฟอกสี เช่น ไฮโดรควิโนน และปรอทแอมโมเนีย เป็นสารห้ามใช้ในเครื่องสำอาง

2) สารทำให้ผิวขาว ที่นิยมใช้กันมากในเครื่องสำอางในท้องตลาดเมืองไทย ได้แก่ อาร์บิวติน และกรดโคจิก สารดังกล่าวยังไม่มีประกาศควบคุม โดยเฉพาะอาร์บิวตินใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวมี 2 แบบ คือ ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และได้จากการสกัดจากพืช อาร์บิวตินไม่สลายเป็นไฮโดรควิโนนโดยเอนไซม์ในผิวหนังมนุษย์ อาร์บิวตินออกฤทธิ์โดยแย่งโดพาในการเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไทโรสิเนส มีผลต่อการยับยั้งการสร้างเมลานิน ไม่เป็นพิษต่อเซลล์สร้างเมลานิน ทำให้ผิวหน้าขาวขึ้นและมีความปลอดภัยสูง ไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคืองและอาการข้างเคียงใดๆ ทั้งยังคงสภาพต่อแสงแดดได้ดีกว่าไฮโดรควิโนน และได้ผลดีกว่ากรดโคจิก เป็นที่นิยมใช้กันมากในญี่ปุ่น โดยใช้อาร์บิวตินความเข้มข้นร้อยละ 3-7 และกรดโคจิกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวหน้าขาวได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี หรือได้จากการสกัดกรดโคจิกที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการหมักกลูโคสด้วยเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส โอริซี ช่วยลดการสร้างเมลานิน ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำให้หน้าขาวที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1-3

3) สารปกคลุมผิว ใช้พิกเมนต์ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติทึบแสงและมีสีขาวทันที แต่เมื่อล้างออกสีผิวหนังคงเดิมไม่ได้ขาวขึ้น สารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ ไททาเนียมไดออกไซด์ ส่วนสารอื่นที่ใช้ เช่น ซิงค์ออกไซด์ ทัลคัม สารเหล่านี้นอกจากทำให้ผิวขาวแล้วยังเป็นสารกันแดดด้วยเนื่องจากมีคุณสมบัติทึบแสง

4) เอเอชเอ หรืออัลฟาไฮดรอกซีแอซิด เรียกกันว่ากรดผลไม้ เป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร เอเอชเอช่วยละลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งยึดอยู่ระหว่างเซลล์ที่ตายแล้วลอกออกอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ทำให้รูขุมขนไม่อุดตันช่วยในการขับน้ำคัดหลั่งของต่อมเหงื่อ ลดรอยฝ้าและจุดด่างดำ และยังกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนอีกด้วยการเร่งหลุดออกของเซลล์ทำให้ริ้วรอยเล็กๆ และรอยเหี่ยวย่นหลังจากการใช้หลายครั้ง และสะท้อนแสงอย่างสม่ำเสมอทำให้ผิวดูอ่อนกว่าวัย

2.3 กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส

จากกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส มีองค์ประกอบและหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

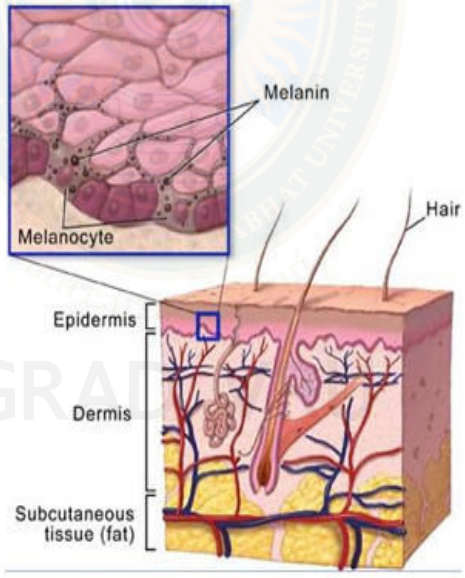
2.3.1 ผิวหนัง

ผิวหนังมี 3 ชั้น คือ หนังกำพร้า หนังแท้ และชั้นรองรับผิวหนัง ผิวหนังเป็นส่วนที่ปกคลุมร่างกาย ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายจากสิ่งต่างๆ เช่น ป้องกันอันตรายจากการสูญเสียน้ำ

ป้องกันอันตรายจากสิ่งแปลกปลอมและเชื้อโรคต่างๆ นอกจากนี้ยังเป็นที่อยู่ของรากขน ต่อมเหงื่อ เป็นต้น จากการที่ผิวหนังเป็นส่วนนอกสุดจึงมีโอกาสที่จะได้รับอันตรายจากรังสี โดยเฉพาะประชากรที่อยู่ในทวีปเอเชียซึ่งเป็นเขตที่มีแสงแดดจ้าตลอดปี อย่างไรก็ตามร่างกายมีกลไกป้องกันตนเองโดยการสร้างเม็ดสีเมลานินเพื่อประโยชน์ดังกล่าว (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2.3.2 เซลล์เมลาโนไซต์

เซลล์เมลาโนไซต์ (ภาพที่ 2.2) จะสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งทำหน้าที่ดูดซับแสงในช่วงแสงที่มองเห็น (Visible Light: 400-700 nm) และในช่วงแสงอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet: 281-400 nm) ปริมาณเมลานินที่ไม่เท่ากันในคนต่างเชื้อชาติเผ่าพันธุ์ทำให้เกิดความแตกต่างของสีผิว เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆ ของร่างกายของคนคนเดียวกันพบว่า จำนวนเมลาโนไซต์จะแตกต่างกันในส่วนต่างๆ ของร่างกาย พบว่าบริเวณใบหน้าจะพบเมลาโนไซต์หนาแน่นที่สุด ส่วนบริเวณลำตัวและแขนขาจะมีน้อยลงตามลำดับ ในคนผิวขาวและคนผิวดำจะมีจำนวนเมลาโนไซต์ต่อพื้นที่ของร่างกายไม่แตกต่างกัน แต่การทำงานของเมลาโนไซต์ในคนผิวดำจะทำงานมากกว่า ขนาดของเมลาโนไซต์โตกว่า มีเดนไดรต์ (Dendrite) มากกว่า (ดวงดาว ฉันทศาสตร์, 2540)



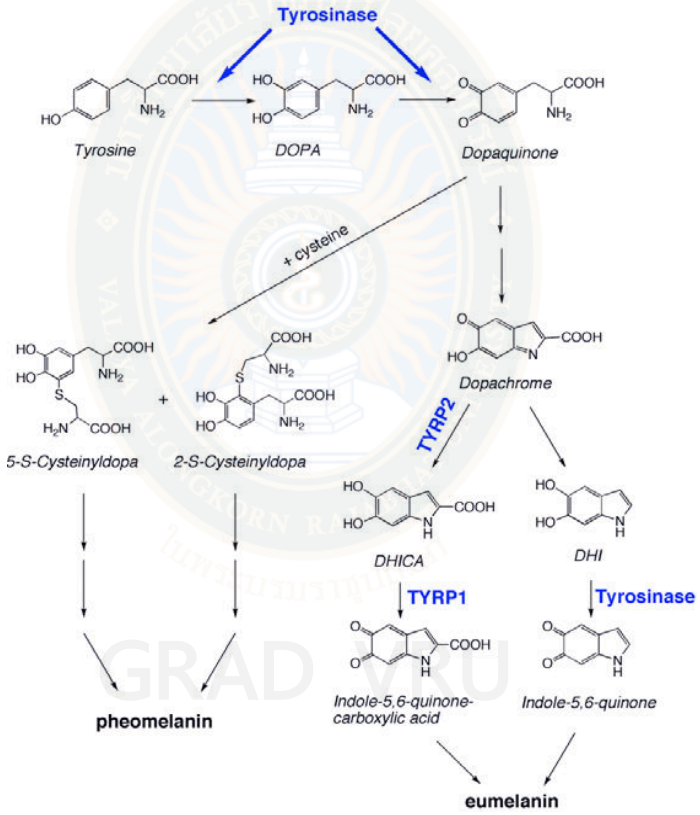
ภาพที่ 2.2 ภาพแสดงลักษณะการสร้างเม็ดสีผิวของเมลานิน
ที่มา: http://www.mayoclinic.org

2.3.3 เอนไซม์ไทโรสิเนส

เอนไซม์ไทโรสิเนส เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เป็น Rate Limiting Enzyme ของกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (บัวนัส วงษ์สุด และคนอื่นๆ, 2545) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเมลานินซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีบนผิวหนัง สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสจึงมีผลยับยั้งการสร้างเมลานิน เนื่องจากมีความสามารถเป็น Chelating Agent

เป็นสารกลุ่ม Phenolic Acid ซึ่งจะเข้าจับกับทองแดงในโมเลกุลของเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Tyrosine ที่เป็นเอมีนที่มีอยู่ตามผิวหนังมนุษย์ไปเป็น Dopa และต่อไปเป็น Dopaquinone จากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยา Polymerization จนเป็นเม็ดสีเมลานินทำให้ผิวหนังมีสีเข้มขึ้น (ภาพที่ 2.3)

กระบวนการสร้างเม็ดสีจะอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่อยู่ในผิวหนังไปเป็น DOPA แล้วเปลี่ยน DOPA เป็น Dopaquinone และเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันผ่านสารมัธยันต์อีกหลายขั้นตอนจนได้เม็ดสี 2 ชนิด คือ ยูเมลานิน (Eumelanin) ซึ่งมีสีน้ำตาลหรือดำ และฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) ซึ่งมีสีแดงหรือเหลือง (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2554) ปฏิกิริยากระบวนการสร้างเม็ดสีทั้ง 2 ชนิดนี้ แสดงดังภาพที่ 2.3

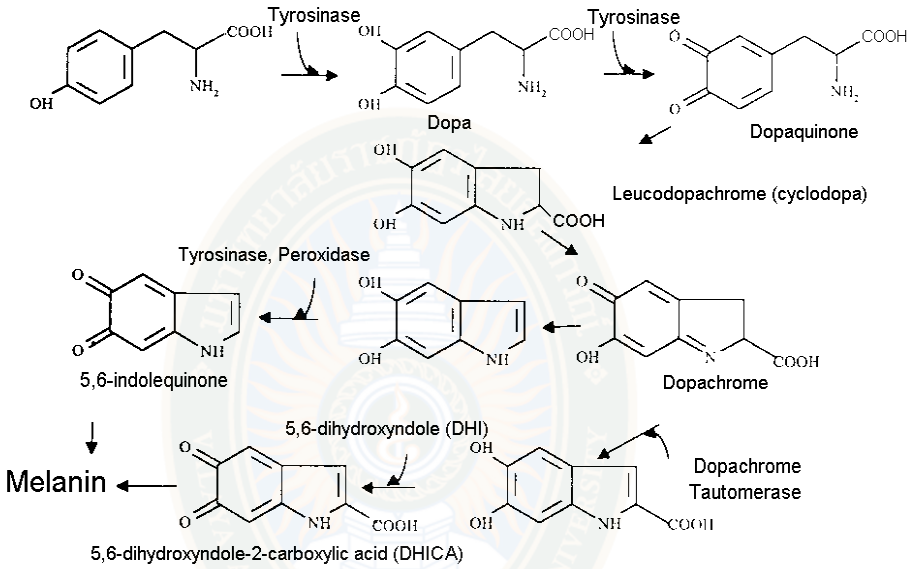


ภาพที่ 2.3 การเกิดเม็ดสี Eumelanins และ Pheomelanin จาก Tyrosine หรือ Dopa
ที่มา: นิสากร แซ่วัน (2553)

2.3.4 กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน

กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน มีขั้นตอนตามภาพที่ 2.4 ดังนี้ สารเริ่มต้นในการสร้างเมลานิน คือ L-tyrosine จะถูกเปลี่ยนเป็น L-DOPA โดยเอนไซม์ไทโรสิเนส จากนั้น L-DOPA จะถูกเปลี่ยนต่ออย่างรวดเร็วไปเป็น Dopaquinone โดยเอนไซม์ไทโรสิเนส จากนั้น Dopaquinone จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น Dopachrome ซึ่งมีสีแดง และถูกเปลี่ยนต่อไปอีกจนสุดท้าย

ได้เป็นเมลานินที่สำคัญ 2 ชนิด คือ Eumelanin และ Pheomelanin เซลล์จะสร้างเมลานินชนิดใดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับเชื้อชาติ และลักษณะทางพันธุกรรม กล่าวคือ ในคนผิวดำจะมี Eumelanin ปริมาณมาก ส่วนคนผิวขาวจะพบ Pheomelanin มาก สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการเป็น Chelating Agent และมีประโยชน์ในการพัฒนายาเพื่อรักษาโรคผิวหนังบางชนิด นอกจากนี้ยังอาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ช่วยให้ผิวขาวได้ (บุญชู ศรีตุลารักษ์ และคนอื่นๆ, 1998)



ภาพที่ 2.4 กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน
ที่มา: http://www.bio.davidson.edu

2.3.5 กลไกการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน

1) การป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต เช่น สารอนินทรีย์ หรือสารดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลตที่มีคุณสมบัติสะท้อนแสงปรือกระจายแสงได้ ซึ่งกลไกนี้เป็นการป้องกันปัจจัยที่กระตุ้นการสร้างเมลานิน คือ แสงแดด

2) การใช้สารที่ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรสิเนส

3) การใช้สารที่มีคุณสมบัติกำจัดอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับเมลานิน ซึ่งจะชะลอปริมาณเมลานินที่จะสร้างขึ้น เช่น วิตามินอี (ดวงดาว ฉันทศาสตร์, 2540)

4) การใช้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส โดยมีคุณสมบัติเป็น Copper-Chelating Agent เข้าจับกับอิออนของทองแดงในโมเลกุลของเอนไซม์ ซึ่งออกฤทธิ์โดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ จึงจัดเป็นสารกลุ่ม Suppressive Type เช่น Kojic Acid

5) การใช้สารที่เป็นพิษต่อเมลาโนไซต์ เช่น Hydroquinone ซึ่งให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส (บัวนัส วงษ์สุด และคนอื่นๆ, 2545)

2.4 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย

2.4.1 ดอกคำฝอย

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific Name): *Carthamus tinctorius* Linn.

ชื่อวงศ์ (Family): Asteraceae

ชื่อสามัญ (Common or English Name): Safflower

ชื่อไทย (Thai Name): คำฝอย คำ คำยอง ดอกคำ

ภาพที่ 2.4 ภาพแสดงลักษณะดอกคำฝอย
ที่มา: http://www.greenerald.com

1) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ดอกคำฝอยเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับเบญจมาศและทานตะวัน ลำต้นและกิ่งแตกเป็นพุ่มสูงประมาณ 40-130 เซนติเมตร มีใบเดี่ยวสีเขียวเข้มเรียงสลับดอกอ่อนสีเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีส้มเมื่อแก่ ขอบใบมีหนามแหลมคมและแข็ง ผลลักษณะเป็นผลแห้ง เมล็ดทรงรียาวและเล็กสีน้ำตาลอ่อน (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) คำฝอยเป็นพืชเพาะปลูกเก่าแก่ในอินเดียตะวันออกเป็นที่รู้จักตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณกรีซ โรม และอาฟกานิสถาน พบการปลูกดอกคำฝอยมากในแถบภาคเหนือ (จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ฯลฯ) ซึ่งในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาวเป็นเวลาที่เหมาะสำหรับการปลูก เนื่องจากความชื้นในดินยังคงอยู่เกษตรกรจึงนิยมปลูกราวๆ เดือนตุลาคมถึงธันวาคมด้วยการเพาะเมล็ดซึ่งสามารถปลูกเป็นพืชเดี่ยวหรือร่วมกับพืชอื่น (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

2) สรรพคุณ

2.1) ดอกใช้บำรุงโลหิต แก้แสบร้อน คันตามผิวหนัง บำรุงประสาท บำรุงหัวใจ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ ทำให้ประจำเดือนมาปกติ แก้โรคผิวหนัง แก้อ่อนเพลีย เป็นยาระบาย ใช้บรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย ย้อมสีอาหารและเครื่องสำอาง ใช้ย้อมสีเครื่องนุ่งห่ม เกสรบำรุงโลหิต บำรุงประสาท แก้แสบร้อนตามผิวหนัง

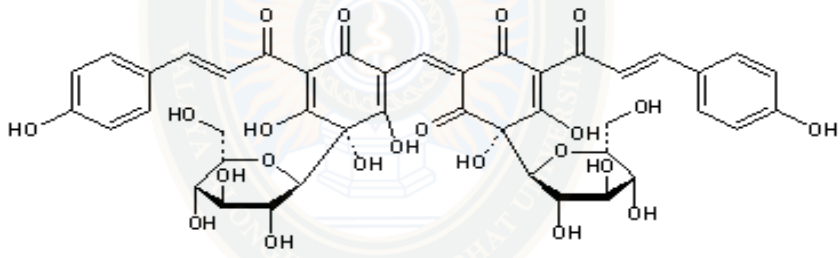
2.2) เมล็ดขับเสมหะ แก้โรคผิวหนัง แก้บวม เป็นยาถ่าย น้ำมันจากเมล็ดแก้โรคขัดข้อ ลดไขมันในเลือด น้ำมันจากเมล็ดคำฝอยใช้ปรุงอาหารสำหรับผู้ต้องการลดน้ำหนัก ลดไขมันในเลือด ใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันชักเงา น้ำมันหล่อลื่น

3) สารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ดอกหรือเกสรมีสาร Carthamin และ Isocarthamin เป็นสีแดงสด ไม่ละลายน้ำ และ Safflower Yellow ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง ละลายน้ำได้ สีจากดอกคำฝอยใช้บริโภคได้อย่างปลอดภัย ซึ่งในดอกคำฝอยมีโปรตีน เบต้าแคโรทีน และวิตามินอี

4) องค์ประกอบทางเคมี

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ (Flavonoid Glycoside) ได้แก่ คาร์ทามิน (Carthamin) ซาฟโฟลมิน (Safflomin) ซาฟฟลอร์เยลโล่ (Saffloryellow) ทิงค์ทอมีน (Tinctormine) พรีคาร์ทามิน (Precartamin) และ คาร์ตอมิน (Cartormin) (Yoon H. R. & et al., 2007) และสารในกลุ่มฟลาโวน เช่น ลูทีโอลิน (Luteolin) (Asgarpanah & Kazemivash, 2013)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญ Carthamin
ที่มา: http://www.drugfuture.com

GRAD VRU

5) คุณสมบัติในการป้องกันและรักษา

5.1) ต้านออกซิเดชัน โดยสารสกัดด้วยน้ำจากกลีบดอกคำฝอยมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (Yaginuma S. & et al., 1999)

5.2) เพิ่มประสิทธิภาพระบบการไหลเวียนของเลือด โดยมีคุณสมบัติในการขยายหลอดเลือดแดง เพิ่มการไหลเวียนเลือดและการนำออกซิเจนเข้าสู่เนื้อเยื่อ และสามารถยับยั้งการเกิดลิ่มเลือด รวมถึงละลายลิ่มเลือดได้อีกด้วย (Emongor V., 2010) สารสีคาร์ทามินที่พบในดอกคำฝอยมีคุณสมบัติในการลดความข้นเหนียวของเลือด ทำให้เลือดไหลเวียนดีขึ้นซึ่งเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการเลือดคั่ง (Li H. X. & et al., 2009)

5.3) ต้านอักเสบ บรรเทาปวด โดยสารสกัดด้วยน้ำจากกลีบดอกคำฝอยมีคุณสมบัติในการต้านอักเสบ โดยยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ (Wang C. C. & et al., 2011)

5.4) ลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์และน้ำจากดอกคำฝอยมีคุณสมบัติในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำไปรักษาโรคเบาหวาน (Asgary S. & et al., 2012)

6) การศึกษาทางพิษวิทยา

จากการศึกษาพิษเฉียบพลันในหนูถีบจักรของสารสกัด 50 % แอลกอฮอล์ จากดอกคำฝอย พบว่า ค่า LD_{50} มีค่ามากกว่า 10 กรัม/กิโลกรัม เมื่อให้โดยการป้อนหรือฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (มงคล โมกขะสมิต และคนอื่นๆ, 2546)

2.4.2 ฝรั่ง

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ (Scientific Name): *Psidium guajava* Linn.
ชื่อวงศ์ (Family): Myrtaceae
ชื่อสามัญ (Common or English Name): Guava
ชื่อไทย (Thai Name): ฝรั่ง มะก้วย มะปุ่น มะมั่น ยามู มะจีน สีดา ยะริง

ภาพที่ 2.6 ภาพแสดงลักษณะฝรั่งพันธุ์ขี้นก
ที่มา: http://bot.swu.ac.th

1) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะทั่วไปเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง แตกกิ่งก้านสาขามากมาย ใบหนาและแข็ง ใบเดี่ยวรูปใบรี ปลายใบและโคนใบมน หลังใบจะมีขนอ่อนนุ่ม ท้องใบจะหยาบเห็นเส้นใบเป็นร่างแหชัดเจนมาก พื้นใบมีสีเขียวอมเทา ผลดิบมีสีเขียวเมื่อสุกมีสีเขียวปนเหลือง เนื้อในสีขาวมีเมล็ดภายในมากสีน้ำตาลอ่อน การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ตอนกิ่งและตัดยอดปักชำ การที่ใบฝรั่งและผลดิบ

ช่วยบรรเทาอาการท้องเสียได้เพราะมีสารแทนนิน ซึ่งมีรสฝาดแก้ท้องเสียได้ มีการนำใบฝรั่งขึ้นกมาเตรียมเป็นยาบ้วนปากเพื่อระงับกลิ่นปาก โดยเฉพาะที่เกิดจากฟันผุ เหงือกอักเสบ

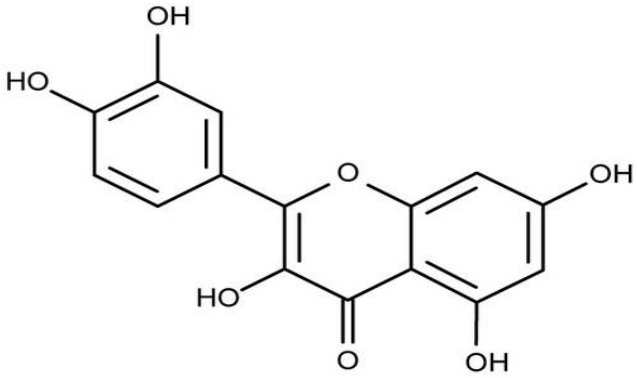
ฝรั่งเป็นพืชพื้นเมืองของอเมริกาเขตร้อน และถูกนำมาปลูกในประเทศเขตร้อนทั่วไป ฝรั่งที่รับประทานผลสดมีอยู่หลายพันธุ์ อาจแบ่งตามถิ่นกำเนิดเดิมได้เป็น

1.1) ฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองของไทย ได้แก่ พันธุ์ขี้นกผลมีขนาดเล็กมาก รูปร่างมีทั้งกลมและรูปไข่ ผิวเรียบ เนื้อสีชมพู เนื้อบาง รสหวานอมเปรี้ยวหรือมีฝาดปน ไส้สีแดง ติดผลเป็นกลุ่ม เมล็ดมีจำนวนมาก ลำต้นแข็งแรงทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีมาก ไม่มีการปลูกเป็นการค้า ปัจจุบันจะหาดูได้ตามชนบท

1.2) ฝรั่งพันธุ์เวียดนาม มีถิ่นเดิมอยู่ในประเทศเวียดนาม นำเข้าประเทศไทยประมาณ 10 ปีที่ผ่านมา ผิวขรุขระ เนื้อหนา กรอบ มีเมล็ดจำนวนมาก ให้ผลดก ลำต้นแข็งแรงมาก ทรงต้นแผ่กว้างมาก แบ่งออกได้หลายพันธุ์ตามรูปร่างลักษณะของผล เช่น พันธุ์กลมสาลี่ ผลกลมมีขนาดใหญ่ เนื้อหนาแน่นและกรอบ รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อยพันธุ์ขาวเศวต (ศรีวิชัยหนึ่ง) ผลขนาดใหญ่มาก รสหวาน ผิวสีเขียวอ่อนเกือบขาวพันธุ์กลมทูลเกล้า (ศรีวิชัยสอง) ลักษณะเหมือนพันธุ์ขาวเศวต แต่มีรูปร่างผลกลม ลักษณะใบกลมพันธุ์บางกอกแอปเปิล ได้มาจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์อีแห้ว (ฝรั่งอินเดีย) กับพันธุ์กลมสาลี่ (พันธุ์เวียดนาม) เป็นพันธุ์ไม่มีเมล็ด ลำต้นหรือกิ่งกระโดงหรือกิ่งที่แตกใหม่มีลักษณะเป็นเหลี่ยม ใบมนใหญ่ค่อนข้างกลม ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย เส้นใบเมื่อมองด้านบนจะเป็นร่องลึกและห่างอย่างเด่นชัดต่างกับฝรั่งทั่วๆไป ผลมีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลม คล้ายแอปเปิล เนื้อหนาแน่นตลอดทั้งผล กรอบ รสชาติคล้ายสาลี่อมเปรี้ยวนิดๆ สุกช้า ข้อเสียคือติดผลยาก และให้ผลผลิตต่ำ พันธุ์แป้นสีทอง ได้จากการคัดเลือกพันธุ์ที่เพาะเมล็ดมาจากพันธุ์กลมสาลี่ ลักษณะผลมีขนาดใหญ่ ขั้วใหญ่ และหัวบุ๋มมากกว่าพันธุ์กลมสาลี่ ผิวขรุขระ เมื่อผลอายุมากขึ้นผลจะเปลี่ยนรูปร่างจากกลมเป็นกลมแป้น และมีครีบขึ้นคล้ายฟักทองเนื้อหนาและเมล็ดน้อย ต้นเป็นพุ่มกิ่งค่อนข้างทอด ใบมีสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเป็นแบบก้างปลา ผลดก

2) องค์ประกอบทางเคมี

พบสารกลุ่ม Sesquiterpene Hydrocarbon จาก Essential Oil ในใบฝรั่ง (Smitth R. M. & Siwatibau S., 1975)



ภาพที่ 2.7 ภาพแสดงโครงสร้างทางเคมีของ Quercetin
ที่มา: http://chemistry.about.com

3) การทดสอบความเป็นพิษ

3.1) พิษเฉียบพลัน สารสกัดด้วยน้ำจากใบ มีค่าขนาดที่ทำให้สัตว์ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) มากกว่าหรือเท่ากับ 20 กรัมต่อกิโลกรัม เมื่อให้ทางปากในหนูถีบจักรทั้ง 2 เพศ (34, 35) และมีค่ามากกว่า 5 กรัมต่อกิโลกรัม เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้อง (Jaiarj P. & et al., 1999)

3.2) พิษเรื้อรัง การให้สารสกัดน้ำจากใบทางปาก ขนาด 0.2 2 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า อัตราการเพิ่มของน้ำหนักตัวลดลงในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ ขณะที่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณอาหารที่รับประทานในทุกกลุ่มพฤติกรรมทั่วไปปกติในทุกกลุ่ม หนูเพศผู้มีระดับ ALP SGPT และ WBC สูงขึ้น ขณะที่ระดับของโซเดียมและคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง น้ำหนักของตับและไตเพิ่มขึ้น การตรวจทางจุลทัศนกายวิภาคพบการเปลี่ยนแปลงของไขมันและลักษณะ Hydronephrosisหนูเพศเมียมีระดับโซเดียม โปแตสเซียม และอัลบูมินในเลือดเพิ่มขึ้น ขณะที่เกล็ดเลือดและกลอบูลิน ลดลง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวและไต แต่พบลักษณะ Nephrocalcinosis และ Pyelonephritis ในบางตัว (เอมมนัส อัตตวิชญ์ และคนอื่นๆ, 2538)

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโลชัน

2.5.1 ความหมายของโลชัน

โลชัน (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ (เหลว) เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูงวัฏภาคภายใน มักไม่เกิน 35 % เช่นถ้าเป็นอิมัลชัน O/W (ชนิดน้ำมันในน้ำ) มีวัฏภาคภายในคือน้ำมันไม่เกินร้อยละ 35 เป็นต้น โลชันอาจเป็นได้ทั้ง O/W (ชนิดน้ำมันในน้ำ) หรือ W/O (ชนิดน้ำในน้ำมัน) แต่แบบ W/O ไม่เป็นที่นิยม เพราะจะถูกน้ำชะล้างออกหมด โลชันอาจใช้สารเพิ่มความหนืดเพื่อให้หนืดขึ้นได้แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

2.5.2 อิมัลชัน (Emulsion)

อิมัลชัน หมายถึง ผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วย ของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ซึ่งไม่เข้ากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ถูกนามาผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันโดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) อิมัลชันจะมี 2 วัฏภาค คือวัฏภาคภายใน (Internal Phase) และวัฏภาคภายนอก (External Phase) โดยทั่วไปหยดของวัฏภาคภายในอาจทำให้มีขนาดต่างๆ กัน ได้ตั้งแต่เล็กกว่า 0.05-25 ไมครอน ซึ่งขนาดของวัฏภาคภายในนี้มีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกันด้วย

2.5.3 ชนิดของอิมัลชัน

แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้เป็น 2 ชนิดคือ

1) แมคโครอิมัลชัน (Macroemulsion) คือ อิมัลชันลักษณะขุ่นขาวที่พบโดยทั่วไป มักมีขนาดตั้งแต่ 0.25-10 ไมครอน อิมัลชันเป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดทั้งในอุตสาหกรรมอาหารยาและเครื่องสำอาง เช่น ไอศกรีม ครีมสลัด ครีมรักษาโรคผิวหนัง ครีมกันแดด โลชันทาผิว เป็นต้น

2) ไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) มีลักษณะโปร่งใสเนื่องจากอนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาดเล็กมากประมาณ 10-75 นาโนเมตร หยดของวัฏภาคภายในมีลักษณะกลม ถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวทำอิมัลชัน มีทั้งชนิดน้ำในน้ำมันหรือน้ำมันในน้ำ

แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกได้ 3 ชนิด

1) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o Emulsion) ภายในเป็นน้ำ ภายนอกเป็นน้ำมัน พบอิมัลชันนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (Cleansing Cream) ครีมทากลางคืน (Night Cream) ครีมนวดหน้า (Massage Cream) อิมัลชันชนิดนี้ล้างน้ำออกยาก มีความเหนอะหนะ จึงเป็นที่นิยมน้อย

2) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w Emulsion) วัฏภาคภายนอกจะเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างน้ำออกง่าย จึงเป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม และโลชันทาผิว (Body Cream) ครีมทาหน้า (Vanishing Cream) และครีมทากันแดด (Sun Screen Cream)

3) อิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple Emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น น้ำในน้ำมันในน้ำ (w/o/w) หรือน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (o/w/o) อิมัลชันแบบนี้สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น น้ำในน้ำมันในน้ำ (w/o/w) ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอกแต่วัฏภาคภายในซึ่งเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็กๆของน้ำซ้อนอยู่อีกที เมื่อกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาจะกลายเป็นน้ำมันในน้ำ (o/w) พบชนิดนี้ได้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น Cold Cream ซึ่งเป็นน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (o/w/o)

แบ่งตามความหนืดของอิมัลชันได้เป็น 2 ชนิด

1) โลชัน (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักมีไม่เกิน 35 % เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้างเพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมได้ดี ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำ

ออกง่าย เช่น โลชันทาผิว โลชันป้องกันแสงแดด ซึ่งโลชันนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (Thickening Agent) ในวัฏภาคน้ำเพื่อให้หนืดขึ้นได้แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

2) ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (Waxes) และไขมัน (Fatty Acid หรือ Fatty Alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดและเนื้อครีม ผสมอยู่กับน้ำมัน (Oils) ในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมักจะมีความหนืดมากกว่าโลชันเพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่าคือปริมาณ 35-75 % โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (Bodying or Stiffening Agent) เช่น ไขมันและไขแข็ง และถ้าเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w) อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืด (Thickening Agent) ร่วมด้วย เช่น Acasia หรือ Veegum

2.5.4 ส่วนประกอบของอิมัลชัน

2.5.4.1 วัฏภาคน้ำ (Water Phase) ได้แก่ น้ำและสารต่างๆ ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำ อาจเป็น

1) สารเพิ่มความหนืด เช่น Veegum Acasia Tragacanth Carbopol และ Methylcellulose

2) สารฮิวแมคแทนท์ เช่น Glycerin Propylene Glycol หรือ Glycols

3) สารกันเสีย เช่น Methylparaben และ Sodium Benzoate

4) สารลดแรงตึงผิว เช่น Tween และ Sodium Lauryl Sulfate

5) สีที่ละลายน้ำได้ เช่น Amaranth

6) สารต้านออกซิเดชัน เช่น Sodium Metabisulfite

2.5.4.2 วัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase) ได้แก่ Fixed Oil Volatile Oil Mineral Oil Castor Oil Cod Liver Oil Arachis Oil และ Safflower Oil ไขมัน เช่น Paraffin Beeswax และ Fatty Alcohol (เสาวนีย์ กระสานติสุข และคนอื่นๆ, 2549)

2.6 ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เป็นรูปแบบของการฝึกอบรมที่ส่งเสริมให้ผู้เข้ารับการฝึกอบรมเกิดการเรียนรู้ทั้งด้านทฤษฎีและปฏิบัติ สามารถนำสิ่งที่ได้เรียนรู้ไปปฏิบัติงานในสถานการณ์จริงที่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมปฏิบัติอยู่ ลักษณะของการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1) การให้ความรู้ของวิทยากร เพื่อเพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจให้แก่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมให้สามารถแก้ไขข้อขัดข้องในการทำงาน กำหนดแนวทางในการปฏิบัติและปรับปรุงงานได้

2) การปฏิบัติของผู้เข้ารับการฝึกอบรม ส่วนนี้เป็นการที่ผู้เข้ารับการฝึกอบรมหารืออภิปราย ให้ได้แนวทางแก้ปัญหาหรือวิธีการปฏิบัติงาน โดยอาจจะดำเนินการทั้งกลุ่มใหญ่หรือแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ซึ่งการดำเนินการของส่วนที่สอง จะใช้เนื้อหาสาระหรือหลักการที่วิทยากรได้บรรยายหรืออภิปรายมาแล้วในส่วนที่หนึ่งมาใช้ประกอบเป็นแนวทาง

ข้อดีของการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการคือ ส่งเสริมการมีส่วนร่วมของผู้เข้ารับการฝึกอบรมทุกคน ผู้เข้ารับการฝึกอบรมมีอิสระในการคิดและปฏิบัติงานกลุ่ม ผู้เข้ารับการฝึกอบรมสามารถนำผลการประชุมปฏิบัติการไปใช้ในการดำเนินงาน และปฏิบัติงานในหน่วยงานของตน

ข้อจำกัดของการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการคือ จะต้องใช้เจ้าหน้าที่จำนวนมากเพื่ออำนวยความสะดวกต่อผู้เข้ารับการฝึกอบรมในแต่ละกลุ่ม รวมทั้งต้องใช้เวลามากโดยเฉพาะเวลาสำหรับการปฏิบัติงานกลุ่ม

การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเป็นการสร้างภาวการณ์เรียนรู้ เพิ่มพูนสมรรถภาพและประสิทธิภาพด้านความรู้ความเข้าใจ ทักษะและเจตคติให้แก่ผู้เข้ารับการอบรม ทำให้สามารถนำสิ่งที่ได้รับจากการฝึกอบรมไปปรับใช้ได้กับการปฏิบัติงานจริง สิ่งหนึ่งที่จะช่วยให้เกิดการเรียนรู้ได้ดี คือ สื่อการเรียนรู้ ซึ่งมีอยู่หลายประเภท อย่างไรก็ตาม สื่อที่จำเป็นในการฝึกอบรมคือ สื่อประเภทวิธีการ ซึ่งในการฝึกอบรมมักจะเรียกว่าเทคนิคการฝึกอบรม

การฝึกอบรมเป็นกระบวนการจัดการเรียนรู้ จึงต้องอาศัยเทคนิคและวิธีการต่างๆ เพื่อใช้เป็นสื่อหรือเครื่องมือในการดำเนินงานให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ เจ้าหน้าที่ฝึกอบรมหรือวิทยากรที่สามารถประยุกต์และเลือกใช้เทคนิควิธีการฝึกอบรมประเภทต่างๆ ได้อย่างสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการฝึกอบรม เหมาะสมกับเนื้อหาสาระในหลักสูตร กระบวนการเรียนรู้ของผู้เข้ารับการฝึกอบรมจะช่วยให้ผู้เข้ารับการฝึกอบรมเกิดความรู้ความเข้าใจ มีการพัฒนาทักษะความสามารถได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องและง่ายขึ้น ทั้งยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาได้เป็นอย่างมาก ดังนั้น เจ้าหน้าที่ฝึกอบรม วิทยากรจำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับการฝึกอบรมเพื่อจะได้จัดการฝึกอบรมได้อย่างมีประสิทธิผล (รสสุคนธ์ มกรมณี, 2549)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในประเทศ

2.7.1.1 งานวิจัยเกี่ยวกับดอกคำฝอย

จิตติมา ตั้งศิริมงคล (2548) ศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสกัดกรดไลโนลิอิกจากเมล็ดคำฝอยด้วยตัวทำละลาย นำมาแปรรูปด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย บรรจุในแคปซูลและศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ผงแห้งที่ได้ โดยชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดกรดไลโนลิอิกจากเมล็ดคำฝอยคือ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยน้ำหนัก สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ อัตราส่วนระหว่างเมล็ดคำฝอย 6 กรัมต่อปริมาณเอทานอล 80 มิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาทำผงด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย ใช้อุณหภูมิขาเข้า 180°C และอุณหภูมิขาออก 85-95 °C ความเข้มข้นของมอลโทเด็กซ์ทริน DE.10 ที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 10 ต่อปริมาตรสารผสม ผงที่ได้บรรจุในแคปซูลเก็บรักษาทั้งในและนอก Desicator ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ผลิตภัณฑ์มีความชื้นสูงขึ้น และปริมาณกรดไลโนลิอิกลดลงตามอายุการเก็บรักษา โดยผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาใน Desicator จะมีคุณภาพดีกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เก็บรักษาใน Desicator

ปานทิพย์ บุญส่ง และคนอื่นๆ (2553) ศึกษาการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของรงควัตถุจากสารสกัดพืชท้องถิ่น 3 ชนิด ได้แก่ *Caesalpinia sappan* L., *Carthamus tinctorius* L., และ *Hibiscus sabdariffa* L. สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล ผลการวิจัยพบว่า *Caesalpinia sappan* L., *Carthamus tinctorius* L., และ *Hibiscus sabdariffa* L. ที่สกัดด้วยเมทานอลให้ % yield สูงสุด เท่ากับร้อยละ 14.5, 26.3, และ 40.7 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ เมื่อนำไปวัดค่าสีพบว่า พืชทั้ง 2 ชนิดให้สีแดงเหลือง และสีเหลืองเขียว ส่วน *Hibiscus sabdariffa* L. ให้สีแดงเหลือง และสีเหลืองเขียว ส่วนค่าความยาวคลื่นสูงสุดของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด มีค่าระหว่าง 470 และ 620 nm และพบสาร Prasinoxanthin, Lutein, Alloxanthin และ อนุพันธ์ของ Chlorophyll A และ B

2.7.1.2 งานวิจัยเกี่ยวกับใบฝรั่ง

จินดาพร ภูริพัฒนาวงษ์ และคนอื่นๆ (2548) ศึกษาการเตรียมสารสกัดจากใบฝรั่งสองสายพันธุ์คือ พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์เวียดนาม กระบวนการสกัดสมุนไพรทำโดยการใช้ตัวทำละลาย 50 % ethanol in DI-water แล้วนำไประเหยตัวทำละลาย ทำให้สารสกัดแห้งด้วย Speed Vac® และ Vacuum Oven ได้สารสกัดใบฝรั่งในรูปของผงแห้งสีน้ำตาลเข้มของใบฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์เวียดนาม คิดเป็นร้อยละของน้ำหนักใบฝรั่งแห้งเท่ากับ 10.19 w/w และ 8.08 w/w ตามลำดับ นำสารสกัดของใบฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์มาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ใน สารสกัด ซึ่งสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในใบฝรั่ง คือ Quercetin การวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญดังกล่าวโดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ชนิด Reversed Phase ใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile Phase) เท่ากับ 0.1 % aq Phosphoric Acid-Methanol เท่ากับ 1:1 โดยมีอัตราการไหล 1.2 ml/min และตรวจวัดสารสำคัญ Quercetin ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ 255 nm โดยใช้เครื่อง Diode-Arrays พบว่า Retention Time ของสารสำคัญ Quercetin เท่ากับ 19.6 นาที ซึ่งวิธีการที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้มีความถูกต้อง แม่นยำ และจำเพาะเจาะจง สำหรับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ได้ค่า % recovery อยู่ในช่วง 100.75-101.55 % โดยมี % RSD น้อยกว่า 1.61 % การตรวจสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์มีค่า % RSD ของการทำกราฟมาตรฐานทั้ง Intra-Day และ Inter-Day มีค่าน้อยกว่า 2 % และ 3 % ตามลำดับ ในการหา Linearity ของวิธีวิเคราะห์สารสำคัญ Quercetin มีค่า r^2 ของกราฟมาตรฐานอยู่ในช่วงระหว่าง 0.9937-0.9998 ในช่วงความเข้มข้น 0.0165-0.3300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทำ Specificity ของการวิเคราะห์พบว่า Aerosil® ใช้เป็นสารดูดความชื้นที่เติมในสารสกัดเพื่อเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ของสารสกัดใบฝรั่ง ไม่รบกวนวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้น HPLC-condition ที่พัฒนาขึ้นมานี้สามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ Quercetin ทั้งในสารสกัดและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งในสารสกัดใบฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองพบว่า มีปริมาณสาระสำคัญ Quercetin มากกว่าพันธุ์เวียดนามประมาณ 4.8 เท่า และเมื่อนำไปทดสอบหาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าสารสกัดใบฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์เวียดนามมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (r^2 = 1) และ 4.48 µg/ml (r^2 = 0.9991) ของสารสกัด ตามลำดับ

ดังนั้นในการพัฒนาเพื่อเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์จะเตรียมจากสารสกัดใบฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง อย่างไรก็ตาม พบว่าสารสำคัญ Quercetin ในสารสกัดใบฝรั่งมีความไม่คงตัวต่อความร้อน แสง ความชื้น ในสภาวะที่เป็นกรดและด่าง การเตรียมผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองในการวิจัยครั้งนี้ได้เติมสารดูดความชื้น Aerosil® ลงไป 3.35 % w/w ในขณะที่ทำให้แห้งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาล นำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมไปหาปริมาณสารสำคัญ Quercetin ได้เท่ากับ 1.71 % และมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (EC_{50}) น้อยกว่า 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดในสภาวะเร่งเพื่อการศึกษาความคงตัว (เก็บที่อุณหภูมิ 45 60 และ 70 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75 %) ของทั้งสารสกัดและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่ง พบว่าการสลายตัวของสารสำคัญ Quercetin ของสารสกัดและผลิตภัณฑ์ไม่เป็นเส้นตรง มีรูปแบบการสลายตัวเป็นแบบ Second-order Kinetic เหมือนกัน ซึ่งในการหาค่าครึ่งชีวิตจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้น และค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวจะขึ้นอยู่กับเงื่อนไขแต่ละชนิด อย่างไรก็ตามพบว่าในผลิตภัณฑ์ของสารสกัดจากใบฝรั่งพบว่า จะมี Lag Time ของการสลายตัวของสารสำคัญ Quercetin โดยการสลายตัวจะเกิดขึ้นน้อยมากในช่วง 7 วันแรกของการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารดูดความชื้นสามารถป้องกันการสลายตัวได้ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 45 และ 60°C และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไปทดสอบความคงตัวโดยการผ่านความร้อนสูงเป็นเวลา 3 5 และ 10 นาที พบว่าปริมาณสารสำคัญเท่ากับ 99.44 83.38 และ 77.06 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น จะเห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาระสำคัญน้อยมากที่เวลา 3 นาที ซึ่งเป็นเวลาเดียวกันกับที่โรงงานผลิตอาหารสำเร็จรูปใช้ทำอาหารสัตว์ให้แห้งในขั้นตอนสุดท้าย และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งไปหาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน พบว่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่มีค่า EC_{50} ประมาณ 10 µg/mL ซึ่งเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้น แต่พบว่ายังคงมีฤทธิ์ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ BHT ที่ใช้เป็น Positive Control (19.92 µg/mL)

จินดาพร คงเดช (2551) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไทโรสิเนส และสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช 13 ชนิด โดยนำมาสกัดด้วย ตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่า ประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มประสิทธิภาพสูงได้แก่ ขมิ้นชันสด ปอสาอบแห้ง บัวบกสด โลดทะนงอบแห้ง และถั่วเหลืองอบแห้ง กลุ่มประสิทธิภาพปานกลาง ได้แก่ ไพลสด ตำลึงสด ขิงสด ใบฝรั่งสด ทานาคาอบแห้ง และเถาวัลย์เปรียงอบแห้ง กลุ่มประสิทธิภาพต่ำได้แก่ ข่าสด และว่านหางจระเข้ เมื่อนำสารสกัดปอสาอบแห้งและบัวบกสด มาประยุกต์ใช้ในครีมทาหน้า พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 5.18 และ 4.75 เมื่อใช้ครีมทาหน้าเป็นเวลา 7 วัน

ศิริพร โอโกโนกิ (2551) เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและความเป็นพิษต่อเซลล์ของพืชสมุนไพรที่พบทั่วไปในประเทศไทย นอกจากนั้นยังเป็นการเสาะหาสารสำคัญ ที่แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุดและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปรกติน้อยที่สุด พร้อมทั้งศึกษาสูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์นั้นด้วยงานวิจัยของโครงการ จึงเริ่มต้นด้วยการรวบรวมพืชสมุนไพร ในประเทศโดยมีหลักเกณฑ์ว่าต้องเป็นพืชสมุนไพรที่หาได้ง่าย มีปริมาณมาก หรือเป็นของเหลือใช้หรือเป็นพืชที่มี

รายงานทั้งทางวิทยาศาสตร์หรือทางภูมิปัญญาพื้นบ้านว่าใช้เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยเหตุนี้จึงรวบรวมพืชสมุนไพรได้ 26 ชนิด บางชนิดใช้เพียงส่วนเดียว เช่น ส่วนของใบหรือส่วนลำต้น หรือส่วนรากบางชนิดใช้หลายๆ ส่วน ดังนั้นจึงรวบรวมได้ทั้งหมด 43 ตัวอย่าง ได้นำมาเตรียมสารสกัดหยาบจากเอทานอล ได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 43 ชนิดแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยใช้วิธี ABTS DPPH FRAP และ Lipid Peroxidation อีกทั้งได้นำไปศึกษา ความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้ Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) เป็นตัวแทนเซลล์ปรกติ และใช้ Caco-2 Cell เป็นตัวแทนเซลล์มะเร็งผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ ต้านออกซิเดชันในระดับที่แตกต่างกัน สารสกัดส่วนใหญ่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปรกติ ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกมังคุด ใบรางจืดและใบฟ้าทะลายโจรที่แสดงค่า IC_{50} ต่อเซลล์ปรกติเท่ากับ 4.9 5.3 และ 8.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุดแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ได้ทำให้พิจารณาเลือกตัวอย่างพืช 5 ชนิด ได้แก่ ใบฝรั่ง ใบสะระแหน่ เปลือกผลทับทิม ใบทับทิม และ ใบรางจืด ไปทำการสกัดแยกส่วนโดยใช้ตัวทำละลายต่างขั้ว ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต บิวทานอล และเมทานอล ทำให้ได้สารสกัดแยกส่วน 20 ชนิดเมื่อนำสารสกัดแยกส่วนทั้ง 20 ชนิดนี้ ไปศึกษาสมบัติเคมีเบื้องต้นพบว่า มีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบและพบปริมาณของฟีนอลิกสูง ในสารสกัดแยกส่วนจากเมทานอล เมื่อนำสารสกัดแยกส่วนทั้ง 20 ชนิด ไปทดสอบฤทธิ์ ต้านออกซิเดชันและความเป็นพิษต่อเซลล์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดแยกส่วนจาก เมทานอลของใบฝรั่ง เปลือกผลทับทิมและใบทับทิม มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด แต่เนื่องจากเปลือกผลทับทิมและใบทับทิมแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดจากใบฝรั่งไปทำการแยกสกัดหาสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ต่อไป การแยกสารบริสุทธิ์จากใบฝรั่งได้ใช้หลักการของคอลัมน์ โครมาโทกราฟีพบว่า สามารถแยกสารสำคัญออกมาได้ 3 ชนิด ตั้งชื่อว่า สาร 1 สาร 2 และสาร 3 จากการศึกษาสูตรโครงสร้างของสารทั้ง 3 ชนิด โดยอาศัยหลักการของ Spectroscopy และทางเคมี ทำให้ทราบว่า สาร 1 สาร 2 และสาร 3 คือ เควอร์ซิทีน มอรีนและเควอร์ซิทีน ตามลำดับ เมื่อนำสารทั้ง 3 ชนิดมาศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเปรียบเทียบกัน ก็พบว่า สาร 1 หรือ เควอร์ซิทีนมีฤทธิ์ ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดยให้ค่า TEAC IC_{50} และ EC เป็น 24.19±0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 1.20±0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 35.64±0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารนี้มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ PBMC และ KB-31 พบว่าสารนี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ทั้งสองเลย จากการศึกษาทั้งหมดนี้พอสรุปได้ว่าในบรรดาพืชสมุนไพรทั้ง 26 ชนิด หรือ 43 ตัวอย่างที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ใบฝรั่งเป็นแหล่งพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด เนื่องจากมีสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ซึ่งสารที่ว่านี้มีชื่อว่าเควอร์ซิทีน

สุกัญญา เตชกิตติรุ่งโรจน์ (2551) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชท้องถิ่นที่คัดเลือก โดยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ ส่วนของสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ดีที่สุดและไม่เป็นพิษจะถูกนำมาแยกและพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดเอทานอลจากพืชไทย 26 ชนิดที่นำมาศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง ABTS DPPH FRAP และ

β-Carotene Bleaching พบว่าสารสกัดใบฝรั่งให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งมีค่า TEAC เท่ากับ 4.908±0.050 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม เมื่อนำใบฝรั่งมาทำการศึกษาต่อโดยการสกัดแยกส่วนด้วยสารละลายที่มีขั้วต่ำไปจนถึงสารละลายที่มีขั้วสูงคือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต บิวทานอล และเมทานอล ตามลำดับ พร้อมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Reaction ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเมทานอลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด และตามด้วยสารสกัดจากบิวทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน ตามลำดับ สารสกัดเมทานอลจากใบฝรั่งได้ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการทางคอลัมน์โครมาโทกราฟี สารบริสุทธิ์ทั้งสามตัวที่แยกได้ถูกพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปคโตรเมตรี พบว่าสารประกอบทั้งสามคือ เคอซิติน เคอซิตินไกลโคไซด์ และมอริน เมื่อนำสารบริสุทธิ์ทั้งสามมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า เคอซิตินให้ฤทธิ์สูงที่สุดด้วยค่า IC_{50} TEAC และ EC เท่ากับ 1.20±0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 57.54±0.07 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม และ 72.69±1.06 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนเคอซิตินไกลโคไซด์ และมอรินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าเคอซิตินอย่างมีนัยสำคัญ

ศิริวรรณ วีระทวีพร และคนอื่นๆ (2552) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านไทโรสิเนสของสารสกัดใบฝรั่งและตำรับเซรั่มใบฝรั่ง พบว่าการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดใบฝรั่งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น แต่จะมีค่าคงที่เมื่อความเข้มข้นถึงระดับหนึ่ง เมื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่งที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสได้ 50 % (IC_{50}) พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.864 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.7.1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ และพรรณวิภา กฤษฎาพงษ์ (2548) ได้ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดจากกิ่งหม่อนในประเทศไทยและโลชันลดความคล้ำ สรุปว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์และความร้อนจากไอน้ำที่ความเข้มข้น 1,000-5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้มากกว่าสารมาตรฐานทั้ง 3 ตัวได้แก่ อาร์บูติน กรดโคจิก และสารทรานส์เรสเวอราทรอล และยังมากกว่าสารสกัดหม่อนที่มีขายอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งมีค่าการยับยั้งสูงที่สุดคือร้อยละ 40 78 41 และ 60 ตามลำดับ จากงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดจากกิ่งหม่อน การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส วิธีการเตรียมสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด เพื่อใช้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ พร้อมทั้งการทำกราฟแสดงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ของสารแต่ละชนิด และได้สูตรการผลิตโลชันที่ช่วยให้ใบหน้าขาวขึ้น การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารกลุ่มออกฤทธิ์ ด้วยปฏิกิริยาทางเคมี พบว่าเป็นสารกลุ่มแทนนิน และการตรวจสอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางพบว่า มีกรดแทนนิกเป็นส่วนประกอบ

สุพัตรา ฤกษ์สมโภชน์ (2550) ศึกษาวิธีการสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์ไทโรสิเนสจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์ ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยวิธีโดพาโครม ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจาก

เนื้อในเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์ และเพื่อจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่ความรู้ให้กับผู้ที่สนใจทำการทดลองสกัดสารจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์ โดยการทดลองเปรียบเทียบระหว่างการใช้พืชสดและแห้งมาทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยวิธีโดพาโครม การหาวิธีสกัดเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยใช้วิธีสกัด 3 วิธี คือ การสกัดด้วยเอทานอล การรีฟรักซ์ด้วยเอทานอล และการรีฟรักซ์ด้วย 1.2 โมลาร์กรดไฮโดรคลอริกในเอทานอล การแยก สารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสและปริมาณสารฟีนอลิกสารแต่ละกลุ่มที่แยกได้ แล้วทำการตรวจองค์ประกอบทางเคมีของสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด 2 วิธี คือการทดสอบด้วยปฏิกิริยาทางเคมีและการทดสอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง ผลการวิจัย พบว่า เนื้อในเมล็ดมะม่วง แบบสดที่ใช้วิธีการสกัดแบบการรีฟรักซ์ด้วย 1.2 โมลาร์กรดไฮโดรคลอริกในเอทานอลให้สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 67.43 มิลลิกรัมต่อลิตรกรดแกลลิก และเมื่อนำมาแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่า สารกลุ่มที่ 3 มีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ได้ดีที่สุดมีค่า IC_{50} ลดลงเท่ากับ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเท่ากับ 92.51 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จันทิมา หอมกลบ และคนอื่นๆ (2554) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตดจากผลมะขามป้อมทั้ง 4 แหล่งในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี บุรีรัมย์ ประจวบคีรีขันธ์ และมหาสารคาม พบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซีเตดของผลมะขามป้อมเป็นของเหลวกึ่งแข็ง เหนียว มีกลิ่นเฉพาะตัวของผลมะขามป้อมและมีสีเขียวเข้มจนถึงสีน้ำตาลเข้มขึ้นกับแหล่งที่ปลูก โดยมีร้อยละของสารสกัดมะขามป้อมที่ได้จากประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี มหาสารคาม และบุรีรัมย์ ได้แก่ 2.32 1.87 1.28 และ 0.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 597±18.8 345±13.1 494±19.5 และ 496±5.51 มิลลิกรัมแกลลิคแอซิดต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับหลังจากนั้นตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วยเอทิลอะซีเตดซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (SC_{50}) มีค่าเท่ากับ 0.025±0.002 0.037±0.002 0.030±0.001 และ 0.032±0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส (IC_{50}) เท่ากับ 0.403± 0.055 0.293±0.051 0.710±0.026 และ 0.151±0.072 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

ฉัตร เจนชัย (2555) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเสียดไทย โดยใช้เปลือกสดมาสกัดด้วยเอทานอล แล้วนำสารสกัดหยาบมาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแทนนินทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสแต่ละกลุ่มที่แยกได้ จากผลการวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเสียดไทยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 16.4 และ 7.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.7.2 งานวิจัยต่างประเทศ

2.7.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับดอกคำฝอย

บีตา โดมากัลสการ์ (Beata W. Domagalska, 2010) ได้ศึกษาเกี่ยวกับดอกคำฝอยซึ่งเป็นพืชที่รู้จักกันดีตั้งแต่สมัยโบราณ แต่ในปัจจุบันนี้ไม่ค่อยมีการนำมาใช้ในเครื่องสำอาง น้ำมันดอกคำฝอยยังคงมีการนำมาใช้ในประเทศแถบเอเชีย โดยใช้เป็นสีตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสีของคาร์ทามินที่มีราคาถูกกว่า แทนการใช้สีสังเคราะห์ ในหลายปีที่ผ่านมาเคยมีการศึกษาสรรพคุณของดอกคำฝอยที่ชาวจีนและชาวอินเดียใช้เป็นยา จากการศึกษาเหล่านี้สามารถยืนยันถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลของดอกคำฝอย และด้วยสรรพคุณของน้ำมันดอกคำฝอยสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นยาพื้นบ้านในประเทศเกาหลีเป็นเวลานานหลายปี สารสกัดและน้ำมันดอกคำฝอยอาจมีแนวโน้มในการใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางสำหรับผิวขาวที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน

แอสกาปานาร์ และ คาเซมิวาช (Asgarpanahand J. & Kazemivash N., 2013) ได้ศึกษาเกี่ยวกับดอกคำฝอยซึ่งเป็นที่รู้จักกันในชื่อของซาฟฟลาวเวอร์ สารสกัดและน้ำมันดอกคำฝอยเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนายาที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของโลก พืชชนิดนี้สามารถปลูกโดยใช้เมล็ด ซึ่งใช้ส่วนของน้ำมันนำมากินได้ เป็นเวลายาวนานที่มีการใช้ดอกคำฝอยเป็นยาพื้นบ้านในการนำมาใช้เป็นยาถ่าย ยาแก้ปวด ยาลดไข้ และยาแก้พิษจากการวางยาพิษ ดอกคำฝอยเป็นพืชที่ใช้ในการแก้ปัญหาการปวดรอบเดือน การตกเลือดหลังคลอด และโรคกระดูกพรุน ซึ่งดอกคำฝอยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ แก้ปวด ต้านการอักเสบ และรักษาโรคเบาหวาน คาร์ทามินเป็นสารสีเหลืองของดอกคำฝอยซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในดอกคำฝอย คาร์ทามิดิน ไฮดรอกซีซาฟฟลาวเวอร์เยลโล่ เอซาฟฟลานิน ซี และ ลูทีโอลิน ก็เป็นส่วนประกอบหลักที่พบว่ามีรายงานจากพืชชนิดนี้ คารีโอฟิลลีน อัลลีโทลูอีน อะซิโตซีเตตระลิน และ เฮนิโคเซน ซึ่งใช้ระบุส่วนประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยดอกคำฝอย เนื่องจากพืชชนิดนี้มีการเก็บที่ง่าย มีการปลูกอย่างกว้างขวาง และมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่โดดเด่น พืชชนิดนี้กลายเป็นทั้งอาหารและยาจำนวนมากของโลก

เชน และคนอื่นๆ (Chen Y.S. & et al., 2013) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ Carthamus Yellow (CY) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในสีเหลืองของดอกคำฝอย ซึ่ง CY นิยมใช้เป็นสีตามธรรมชาติสำหรับใช้กับอาหารและเครื่องสำอาง ดังนั้นจึงนำ CY มาทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.01±0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากการศึกษาเกี่ยวกับ CY พบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส และจากการศึกษาความเป็นพิษของ CY ที่ความเข้มข้น 1-4 มิลลิกรัม พบว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของกระบวนการสร้างเมลานิน ดังนั้น CY จึงมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารให้ความขาวแก่ผิวหนังได้ในอนาคต

2.7.2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับใบฝรั่ง

ดอง-ฮยุน ยู และคนอื่นๆ (Dong-Hyun You & et al., 2011) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของตัวทำละลาย 4 ชนิด (อะซีโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ) ที่ใช้ในการสกัด กิ่ง ผล ใบ และเมล็ดของฝรั่ง และทำการทดสอบ

หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส พบว่า สารสกัดจากอะซิโตนของกิ่งและใบฝรั่งให้ผลในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากผลและเมล็ดฝรั่ง และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูง มีค่าเท่ากับ 141.28 มิลลิกรัมต่อกรัมแกลลิกแอซิดซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.23 µg/mL ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำของเมล็ดฝรั่งให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่าเท่ากับ 69.56 % ซึ่งให้ผลในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่น

เมกี้ เนลส์ ไมเลา และคนอื่นๆ (Meigy Nelce Mailoa & et al., 2013) ได้ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารแทนนินในใบฝรั่ง โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินโดยดูจากสีของสารประกอบ $FeCl_3$ ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน โดยใช้กรดแทนนิกเป็นกราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 724.5 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณ สารแทนนินจะใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ เอทานอล และอะซิโตน ที่ความเข้มข้น 30 % 50 % และ 70 % ปริมาณสารแทนนินในสารตัวอย่างเมื่อเทียบกับ EAT (Tannates Acid Equivalent) พบว่า ปริมาณสารแทนนินในใบฝรั่งของ 30 % 50 % และ 70 % Ethanol เท่ากับ 3.228 2.9970 และ 2.333 มิลลิกรัมต่อกรัม และปริมาณสารแทนนินใน ใบฝรั่งของ 30 % 50 % และ 70 % Acetone เท่ากับ 2.781 2.738 และ 2.405 มิลลิกรัมต่อกรัม

ชิรู ดาคัพพา ชรูติ และคนอื่นๆ (Shiru Dakappa Shruthi & et al., 2013) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความสำคัญในทางอาหาร และทางการแพทย์ของฝรั่งในประเทศเขตร้อน ซึ่งมีการนำมาใช้เป็นอาหารและทำเป็นยาทั่วทั้งโลก ในฝรั่งอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด เช่น แทนนิน ไตรเทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ (เคอร์ซิติน) ซาโปนิน แคโรทีนอยด์ เลคตินและกรดเอลลาจิก จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฝรั่ง พบว่าสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคท้องร่วงและโรคเบาหวานได้

GRAD VRU

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส เป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการตามลำดับขั้นดังนี้

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

3.2 การวางแผนการทดลอง

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.4 การพัฒนาชุดฝึกอบรม

ในแต่ละข้อมีกิจกรรมย่อยซึ่งแสดงในภาพที่ 3.1 ได้ดังนี้

GRAD VRU

ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

ขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาค้นคว้าหาข้อมูลพื้นฐานจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อคัดเลือกหาคุณประโยชน์ของพันธุ์พืชสมุนไพรไทยที่สนใจ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสได้

3.2 การวางแผนการทดลอง

ขั้นตอนนี้เป็นการนำข้อมูลและความรู้ที่ได้จากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาวางแผนการทดลอง โดยเริ่มจากการเตรียมพืชตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย การสกัดแยก วิธีแยกองค์ประกอบทางเคมี การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid) และแทนนินทั้งหมด (Total Tannin) และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง โดยวิธีโดพาโครมเทียบกับสารมาตรฐาน

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

ขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ โดยเตรียมตัวอย่างของดอกคำฝอยและใบฝรั่ง และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid) และแทนนินทั้งหมด (Total Tannin) นำสารสกัดหยาบที่ได้มาวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยวิธีโดพาโครมเทียบกับสารมาตรฐาน การแยกองค์ประกอบทางเคมีและพัฒนาโลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีจากห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

3.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.3.1.1 เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)

3.3.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3.3.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.3.1.4 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)

3.3.1.5 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)

3.3.1.6 ตู้แช่สารอุณหภูมิ -20^{0}C (Deep Freezer)

3.3.1.7 เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (Ultraviolet Light)

3.3.1.8 เครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dryer)

3.3.1.9 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Vacuum Rotary Evaporator)

3.3.1.10 แผ่น TLC และ แทงก์ TLC

3.3.1.11 กระดาษกรองเบอร์ 1

3.3.1.12 เครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

3.3.2 สารเคมี

3.3.2.1 เอทานอล (Ethanol)

3.3.2.2 เมทานอล (Methanol)

3.3.2.3 เมทิลีนคลอไรด์ (Methylene Chloride)

3.3.2.4 กรดฟอร์มิก (Formic Acid)

3.3.2.5 เอทิลอะซีเตท (Ethyl Acetate)

3.3.2.6 กรดอะซิตริก (Acetic Acid)

3.3.2.7 กรดแทนนิก (Tannic Acid)

3.3.2.8 กรดแกลลิก (Gallic Acid)

3.3.2.9 รูทิน (Rutin)

3.3.2.10 น้ำกลั่น (Purified Water)

3.3.2.11 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate)

3.3.2.12 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium Dihydrogen Phosphate)

3.3.2.13 ไดโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Di-Sodium hydrogen Phosphate)

3.3.1.14 แอล-โดพามิน (L-dopamine, L-DOPA)

3.3.1.15 เอนไซม์มัสรูม ไทโรสิเนส (Mushroom Tyrosinase Enzyme)

3.3.2.16 โซเดียมไนไตรต์ (Sodium Nitrite)

3.3.2.17 สารลายฟอร์ลิน (Folin- Ciocalteu Reagent)

3.3.2.18 อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium Chloride)

3.3.2.19 เนเจอรัลโปรดักส์ (NP, Natural Products)

3.3.2.20 โพลีเอธิลลีนไกลคอล (PEG, Polyethylene Glycol)

3.3.3 วิธีการทดลอง

3.3.3.1 การสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเอทานอล

1) เตรียมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยวิธีการแช่ยุ่ย (Maceration)

1.1) ทำความสะอาดดอกคำฝอยและล้างใบฝรั่งให้สะอาด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งดอกคำฝอยและใบฝรั่งแห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด

1.2) นำดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ผ่านการอบและบดมา ชั่งน้ำหนัก 1,000 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบาง แช่ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ ปิดฝาเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน

1.3) นำสารจากข้อ 1.2 มากรองเอากากออกแล้วใช้เครื่องกรองสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 กากที่เหลือ สกัดซ้ำด้วยเอทานอล ทิ้งไว้ 5 วัน แล้วนำส่วนสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในขวดเพื่อทำการระเหยตัวทำละลายออก

1.4) รวบรวมสารสกัดดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ได้ไปกรอง นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) แล้วนำไประเหยแห้ง

แบบเยือกแข็ง จะได้สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ บันทึกผล คำนวณหาร้อยละผลผลิต (% Yield) ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง}}{\text{น้ำหนักดอกคำฝอยและใบฝรั่งอบแห้ง}} \times 100$$

1.5) นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งไปวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แทนนินทั้งหมด และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

3.3.3.2 ตรวจหาฟลาโวนอยด์ในดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง

การทำ TLC Fingerprint ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์

1) ชั่งผงดอกคำฝอยและใบฝรั่งแห้ง 0.5 กรัม อุ่นกับเมทานอล 5 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำร้อน (Water Bath) ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรอง

2) นำสารสกัดที่ได้ ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Vacuum Rotary Evaporator) ให้แห้ง แล้วละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร

3) เตรียมสารละลายมาตรฐานรูทิน (Rutin) 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล

4) นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายสารมาตรฐาน (3 ไมโครลิตร) มาแต้มบนแผ่น TLC ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปใส่ในแทงก์ TLC ที่อิ่มตัวด้วยเอทิลอะซิเตท-กรดฟอร์มิก-กรดอะซิติก-น้ำให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC จนถึงบริเวณที่ต้องการ

5) นำแผ่น TLC ออกมาทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วพ่นด้วยน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์พอลิเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG) (พ่น NP ก่อนแล้วจึงพ่นตามด้วย PEG) ทิ้งไว้ให้แห้งและสังเกตการเรืองแสงภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร สังเกตและบันทึกผลการทดลอง

6) การเตรียมน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG, Natural Products-Polyethylene Glycol)

สารละลาย A: ละลายไดฟินิลโบริลออกซีเอทิลเอมีน 1 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร

สารละลาย B: ละลายโพลีเอทิลีนไกลคอล 5 กรัม ในเอทานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีใช้ ฉีดพ่นสารละลาย A แล้วตามด้วยสารละลาย B

3.3.3.3 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1) ชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล 99.9 %

2.2) นำมาเจือจางด้วย เอทานอล 99.9 % ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3) การเตรียม 20 % สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่ง Na_2CO_3 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร

4) การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

4.1) ปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

4.2) ปิเปตสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.3) เติมสารละลายฟอร์ลิน 500 ไมโครลิตรเขย่า 1 นาที

4.4) เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.5) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4.6) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

5) การเตรียม Blank

5.1) ปิเปตน้ำกลั่น 8,500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

5.2) เติมสารละลายฟอร์ลิน 500 ไมโครลิตรเขย่า 1 นาที

5.3) เติม Na_2CO_3 20 % 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5.4) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5.5) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

3.3.3.4 การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1) ชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.9 % ปรับปริมาตร 5 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล 99.9 %

2.2) นำมาเจือจางด้วย เอทานอล 99.9% ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ (1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3) การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 %

ชั่ง Na_2CO_3 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร

4) การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด

4.1) ปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

4.2) ปิเปตสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.3) เติมสารละลายฟอร์ลิน 500 ไมโครลิตรเขย่า 1 นาที

4.4) เติม Na_2CO_3 20 % 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.5) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4.6) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

5) การเตรียมสารตัวอย่าง

5.1) ปิเปตน้ำกลั่น 8,500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

5.2) เติมสารละลายฟอร์ลิน 500 ไมโครลิตรเขย่า 1 นาที

5.3) เติม 20 % Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5.4) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5.5) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

3.3.3.5 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง อย่างละ 20 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 80 % ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1) ชั่งสารมาตรฐานรูทิน 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 80 % ปรับปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2.2) นำมาเจือจางด้วยเอทานอล 80 % ให้ได้ความเข้มข้นที่ 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3) การเตรียมโซเดียมไนไตรต์ 5 %

ชั่งโซเดียมไนไตรต์ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4) การเตรียมอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10 %

ชั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม ละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5) การเตรียม 1 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร

6) หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

6.1) ปิเปตสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ)

6.2) ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 5 % $NaNO_2$

6.3) ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 10 % $AlCl_3$

6.4) ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิลิตรของ 1 M NaOH

6.5) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

7) การเตรียม Blank

7.1) ปิเปตน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

7.2) ที่เวลา 0 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 5 % $NaNO_2$

GRAD VRU

7.3) ที่เวลา 5 นาที เติม 0.3 มิลลิลิตรของ 10 % $AlCl_3$

7.4) ที่เวลา 6 นาที เติม 2 มิลลิลิตรของ 1 M NaOH

7.5) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.3.3.6 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

1) การวิเคราะห์หาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

1.1) การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) โดยชั่ง $Na_2HPO_4.2H_2O$ 0.44 กรัม และ $NaH_2PO_4.2H_2O$ 0.39 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

1.2) การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรสิเนส (314.8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ละลายเอนไซม์ไทโรสิเนส 0.2 มิลลิกรัม ด้วย 5 มิลลิลิตรของ 0.02 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8)

1.3) การเตรียมสารละลาย L-DOPA 0.34 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง L-DOPA 0.32 มิลลิกรัมของ 0.02 โมลาร์โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8)

2) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส

2.1) นำสารสกัดดอกคำฝอยและใบฝรั่งความเข้มข้นต่างๆกันมาทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส โดยใช้ Dopachrome Mesamoto ซึ่งได้ดัดแปลงมาจากวิธีของบุญชู ศรีตุลารักษ์ และคนอื่นๆ (2545) เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic Acid) ดังนี้

2.2) เติมสารละลาย A B C และ D แยกกันลงในหลอดทดลอง (ทำ 3 ซ้ำ) ได้แก่

A (Control)

- สารละลายเอนไซม์ไทโรสิเนส (314.8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร 50 ไมโครลิตร)
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร
- สารละลายตัวอย่างในเอทานอล 20 % 50 ไมโครลิตร

B (Blank of A)

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร
- สารละลายตัวอย่างในเอทานอล 20 % 50 ไมโครลิตร

C (Test Sample)

- สารละลายเอนไซม์ไทโรสิเนส (314.8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร 50 ไมโครลิตร)
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร
- สารละลายตัวอย่างใน 20 % เอทานอล 50 ไมโครลิตร

D (Blank of C)

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร

GRAD VRU

- สารละลายตัวอย่างในเอทานอล 20 % 50 ไมโครลิตร

เขย่าสารให้เข้ากันดี แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม

3) คำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส จากสูตร

$$\% \text{ Tyrosinase Inhibition} = \left[\frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)}\right] \times 100$$

โดย A B C และ D คือผลต่างของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ระหว่างค่าที่วัดได้ก่อนการบ่ม และหลังการบ่มแล้ว 2 นาที ($A_{0min} - A_{2min}$) ทดลองจนหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง จนได้เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสที่ได้จากการคำนวณให้อยู่ระหว่างร้อยละ 50

3.3.3.7 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส เป็นขั้นตอนเพื่อตรวจสอบว่าสารสกัดหยาบจากดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีคุณสมบัติเสริมฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสมีขั้นตอนดังนี้

1) นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ กันจำนวน 3 อัตราส่วน

2) นำสารสกัดทั้ง 3 อัตราส่วนไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสตามวิธีการข้างต้น (ทำ 3 ซ้ำ)

3.3.3.8 การพัฒนาโลชัน

นำอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสที่ได้จากข้อ 3.3.3.7 มาทำผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของโลชัน โดยมีขั้นตอนการทำโลชัน ดังนี้

1) แบ่งส่วนประกอบของตำรับออกเป็นวัฏภาคน้ำ (Water Phase) และวัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase)

2) อุ่นวัฏภาคทั้งสองบนหม้ออังไอน้ำ โดยอุ่นให้อุณหภูมิของวัฏภาคน้ำสูงถึง 73-78 °C และอุ่นวัฏภาคน้ำมันให้อุณหภูมิสูงถึง 70-75°C (ให้อุณหภูมิวัฏภาคน้ำสูงกว่าวัฏภาคน้ำมัน 2-3 °C)

3) ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันโดยเทผ่านแท่งแก้วคนให้เป็นสาย พร้อมทั้งคนเบาๆ ติดต่อกันตลอดเวลา ใส่สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งลงไป และคนเบาๆ จนกระทั่งโลชันเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3.3.3.9 การทดสอบสมบัติบางประการของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

1) ทดสอบสมบัติทางกายภาพของโลชัน ได้แก่ สี ความคงตัวและการแยกชั้น

2) ทดสอบสมบัติทางเคมีของโลชัน ได้แก่ ค่า pH

3) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง โดยนำอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส นำมาทดสอบที่สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

3.4 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัย

ผู้วิจัยนำความรู้ที่ได้จากผลงานวิจัยไปถ่ายทอดโดยนำไปพัฒนาชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับนักศึกษา จำนวน 30 คน ซึ่งชุดฝึกอบรมประกอบด้วย 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม เป็นเอกสารประกอบการอบรมที่ได้จากการวิเคราะห์เนื้อหาในเอกสารงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” มีความครอบคลุม ความถูกต้อง และมีการเรียบเรียงของเนื้อหาให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของโครงการ

ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ เป็นภาคปฏิบัติมีการจัดเตรียมวัสดุ/อุปกรณ์ ของกิจกรรมการทดลองให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของโครงการ

ส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผล เป็นการวัดและประเมินผลด้วยแบบทดสอบก่อนและหลังการอบรม และการประเมินความพึงพอใจให้สอดคล้องระหว่างแบบทดสอบกับวัตถุประสงค์ของโครงการเช่นกัน

ทั้งนี้ การพัฒนาชุดฝึกอบรมทั้ง 3 ส่วน ได้นำไปหาค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา ประเมินดัชนีความสอดคล้องโดยผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน มีค่าดัชนีความสอดคล้องมากกว่า 1.00 ขึ้นไป จึงนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อเผยแพร่ความรู้เรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษาเพื่อศึกษาหาความรู้ด้านสมุนไพร และการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในรูปแบบโลชัน

3.4.1 การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

1) เสนอโครงการ ขออนุมัติโครงการ

2) จัดเตรียมเอกสารที่ใช้ในการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

3) ประชาสัมพันธ์โครงการ

4) ดำเนินการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” โดยใช้ชุดฝึกอบรมทั้ง 3 ส่วน

5) จัดอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับนักศึกษา คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 30 คน

6) กิจกรรมที่ปฏิบัติในระหว่างการอบรม มีการบรรยายเกี่ยวกับเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” การอภิปรายซักถาม และการปฏิบัติทดลองโดยใช้ชุดฝึกอบรมส่วนที่ 1 และส่วนที่ 2

7) สรุปผลการดำเนินงานและประเมินผลการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ

3.4.2 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.4.2.1 ค่าเฉลี่ย (Mean, $\overline{X}$) คำนวณได้จากสูตร (อุษา ช่อผล, 2536)

$$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i}{N}$$

$\overline{X}$ แทนค่า เฉลี่ย

X แทนค่า ที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้ง

N แทน จำนวนครั้งในการทดลอง

3.4.2.2 การหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation: S.D.) (ล้วน สายยศ, 2540)

$$S.D = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}(X_i - X)^2}{N-1}}$$

$\overline{X}$ แทนค่า เฉลี่ย

S แทนค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน

X_i แทนค่า ที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้ง

3.4.2.3 ค่าสถิติเพื่อการทดสอบสมมติฐาน (t-test) เพื่อหาความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยก่อนและหลังการฝึกอบรม (ล้วน สายยศ, 2540)

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{N\sum D^2 - (\sum D)^2}{N-1}}}$$

D = ผลต่างของคะแนนการทดสอบหลังและก่อนการฝึกอบรม

N = จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ทำแบบทดสอบ

3.4.2.4 ค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหาของเอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับแบบทดสอบความรู้ผู้เข้ารับการอบรม ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับกิจกรรมภาคปฏิบัติ การหาค่าดัชนีความสอดคล้องได้จากสูตร (พวงรัตน์ ทวีรัตน์, 2538)

$$IOC = \frac{\sum R}{N}$$

เมื่อ IOC แทน ดัชนีความสอดคล้อง

R แทน คะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ

N แทน จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ได้ดำเนินการตามขั้นตอนได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเอทานอล

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

4.3 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

4.4 ผลการพัฒนาและศึกษาสมบัติบางประการของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

4.5 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง“การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง”

4.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเอทานอล

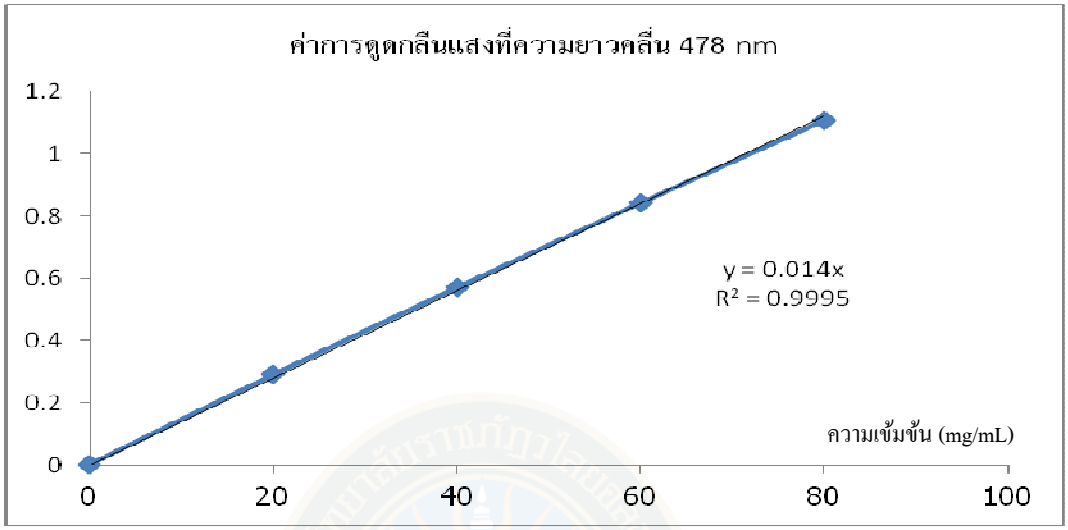
4.1.1 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

โดยนำค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ได้ ไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ตัวอย่าง	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg of Gallic Acid / g Extract)
สารสกัดหยาบดอกคำฝอย	0.11
สารสกัดหยาบใบฝรั่ง	0.39

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพที่ 4.1) เท่ากับ 0.11 และ 0.39 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 กราฟสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

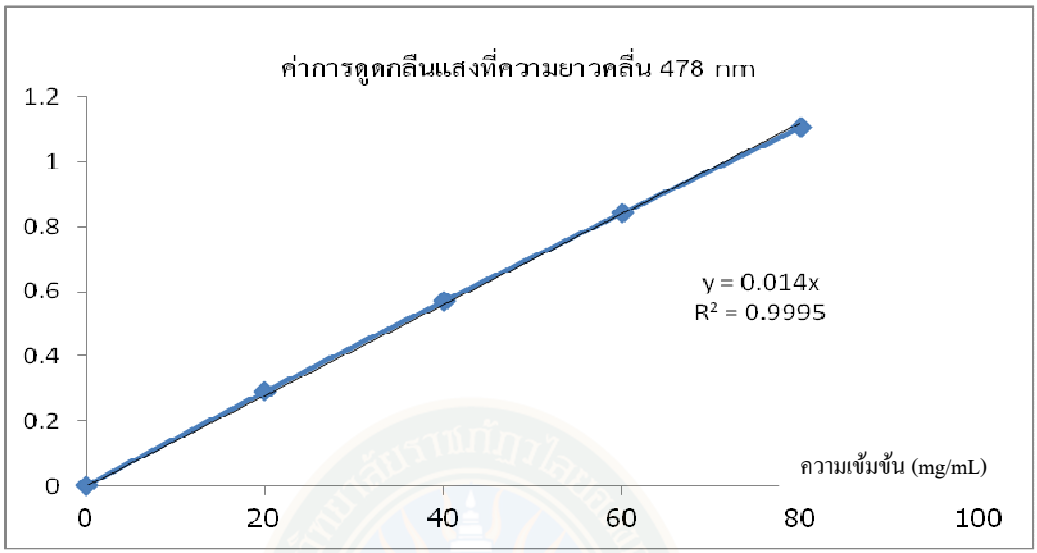
4.1.2 ผลการหาปริมาณแทนนินทั้งหมด

โดยนำค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ได้ ไปคำนวณหาปริมาณแทนนินทั้งหมด ในรูปมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแทนนิกและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการหาปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก

ตัวอย่าง	**ปริมาณแทนนินทั้งหมด** (mg of Tannic Acid / g Extract)
สารสกัดหยาบดอกคำฝอย	0.09
สารสกัดหยาบใบฝรั่ง	0.37

จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีปริมาณแทนนินทั้งหมดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก (ภาพที่ 4.2) เท่ากับ 0.09 และ 0.37 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 กราฟสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก

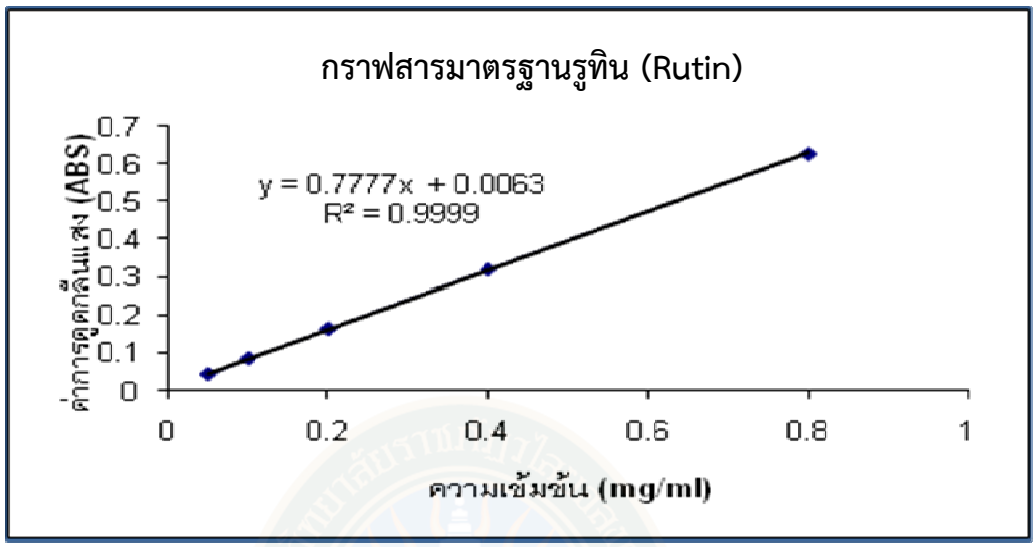
4.1.3 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของรูทินและค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานรูทิน

ตัวอย่าง	**ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg of Rutin / g Extract)**
สารสกัดหยาบดอกคำฝอย	0.15
สารสกัดหยาบใบฝรั่ง	0.42

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน (ภาพที่ 4.3) เท่ากับ 0.15 และ 0.42 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ



ภาพที่ 4.3 กราฟสารละลายมาตรฐานของรูทิน

4.1.4 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล พบว่าให้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง ดังตารางที่ 4.4

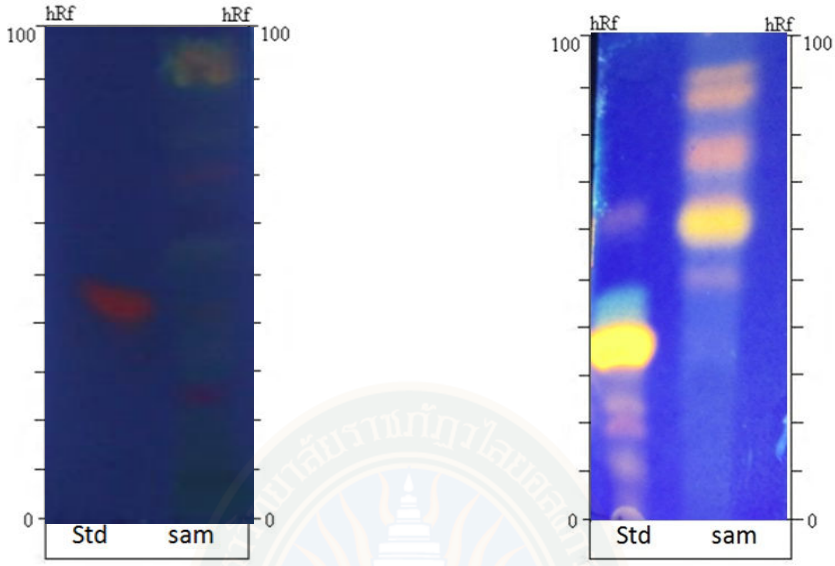
ตารางที่ 4.4 ร้อยละผลผลิตของการสกัดสารจากดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล

พืชแห้ง	น้ำหนัก (g)	น้ำหนักสารสกัด (g)	ร้อยละผลผลิต (% yield)
ดอกคำฝอย	1,000	56.95	5.70
ใบฝรั่ง	1,000	45.58	4.56

จากตารางที่ 4.4 การสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งโดยวิธีการแช่ยุ่ย ด้วยเอทานอล พบว่า สารสกัดหยาบดอกคำฝอยที่ได้มีลักษณะเหนียว มีสีส้มเข้ม และใบฝรั่งที่ได้ มีลักษณะเหนียว มีสีเขียวเข้ม น้ำหนักของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยมีค่าเท่ากับ 56.95 กรัม และใบฝรั่งเท่ากับ 45.58 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.70 และ 4.56 ตามลำดับ

4.1.5 ผลการตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง

การตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง ผลการทดลองเทียบกับสารมาตรฐาน แสดงดังภาพที่ 4.4 ได้แก่



สารสกัดดอกคำฝอย **สารสกัดใบฝรั่ง**

Ethyl Acetate: Formic Acid: Acetic Acid: H_2O (10: 1: 1: 2)

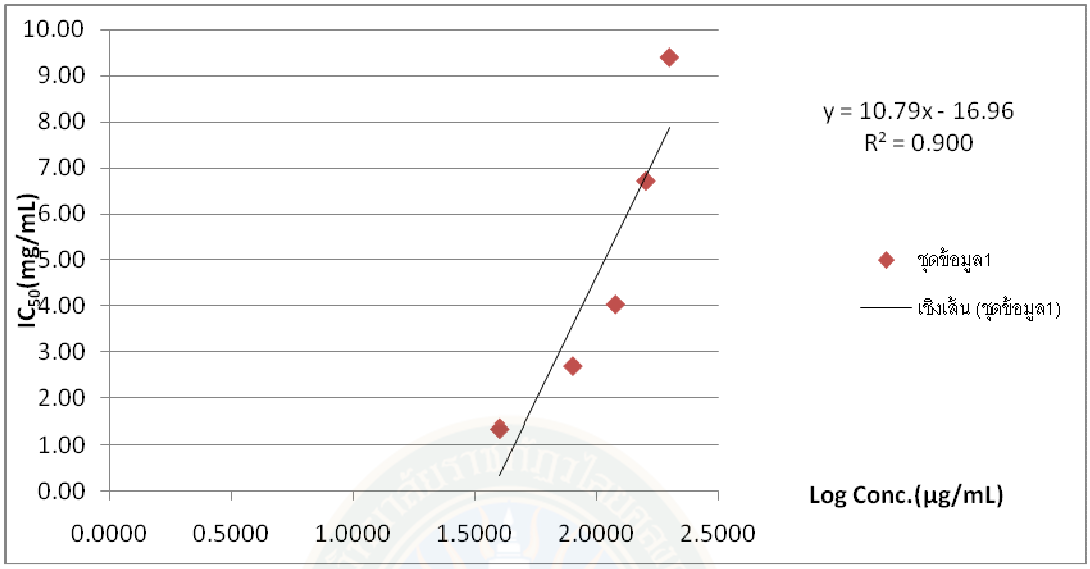
Specific Reagent NP/PEG, Std. Rutin

ภาพที่ 4.4 TLC Fingerprints ขององค์ประกอบทางเคมีของดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

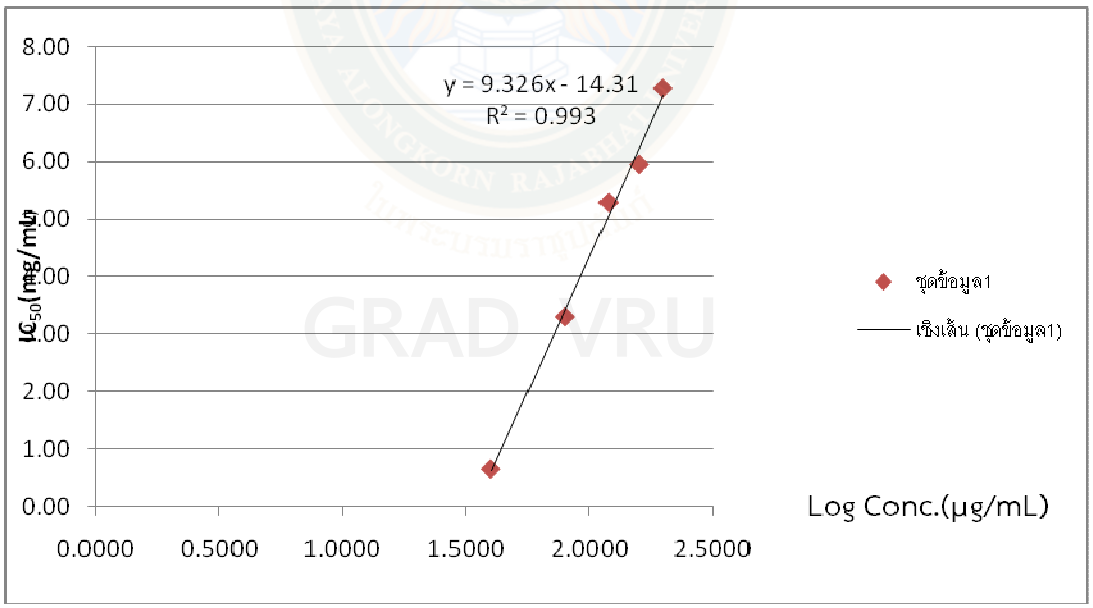
จากภาพที่ 4.4 การตรวจหาฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง พบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ และวิเคราะห์โดยใช้ระบบตัวทำละลายเอทิลแอซิเตต: กรดฟอร์มิก: กรดอะซิติก: น้ำ (10: 1: 1: 2) เมื่อพ่นด้วยน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG, Natural Products-Polyethylene Glycol) ได้ค่า R_f ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เท่ากับ 0.41 และ 0.60 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน รูทินซึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.41 และ 0.60 ตามลำดับ

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

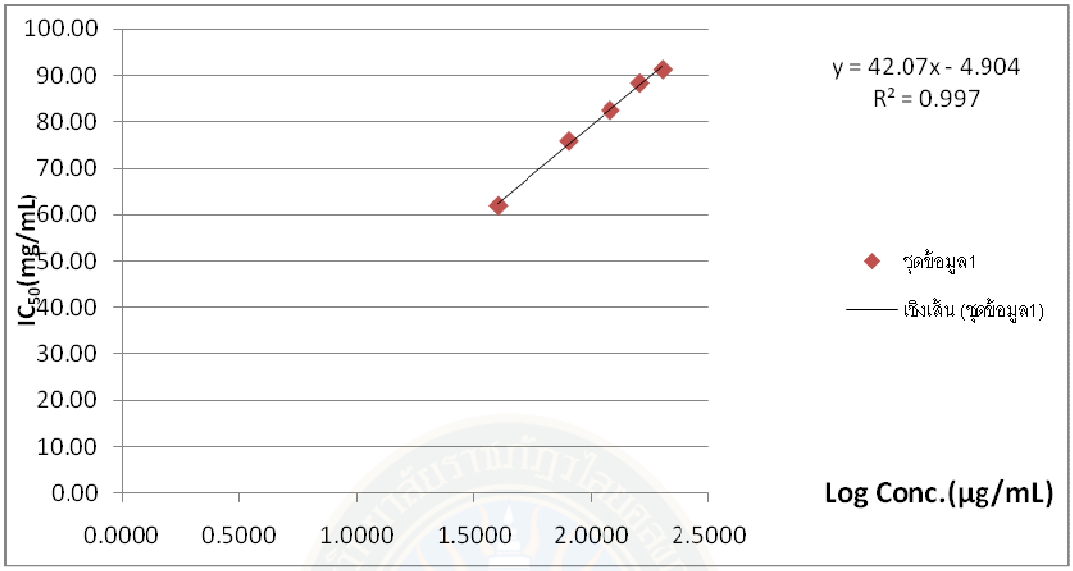
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก แสดงดังกราฟต่อไปนี้



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอย



ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง



ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของกรดโคจิก

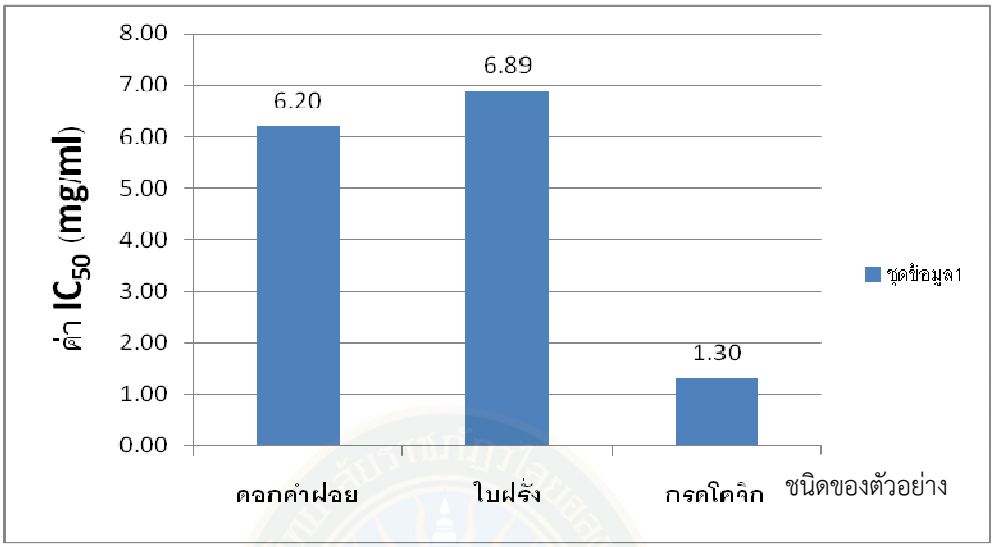
GRAD VRU

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

Treatment	Concentration (µg/mL)	% Scavenging	Linear Equation	IC_{50}(mg/mL)
ดอกคำฝอย	40	1.34	y=10.79x-16.96	6.20
	80	2.68		
	120	4.03		
	160	6.71		
	200	9.40		
ใบฝรั่ง	40	0.66	y=9.326x-14.31	6.89
	80	3.31		
	120	5.30		
	160	5.96		
	200	7.28		
กรดโคจิก	40	62.04	y=42.07x-4.904	1.30
	80	75.91		
	120	82.48		
	160	88.32		
	200	91.24		

จากตารางที่ 4.5 พบว่า สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (ภาพที่ 4.8) ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

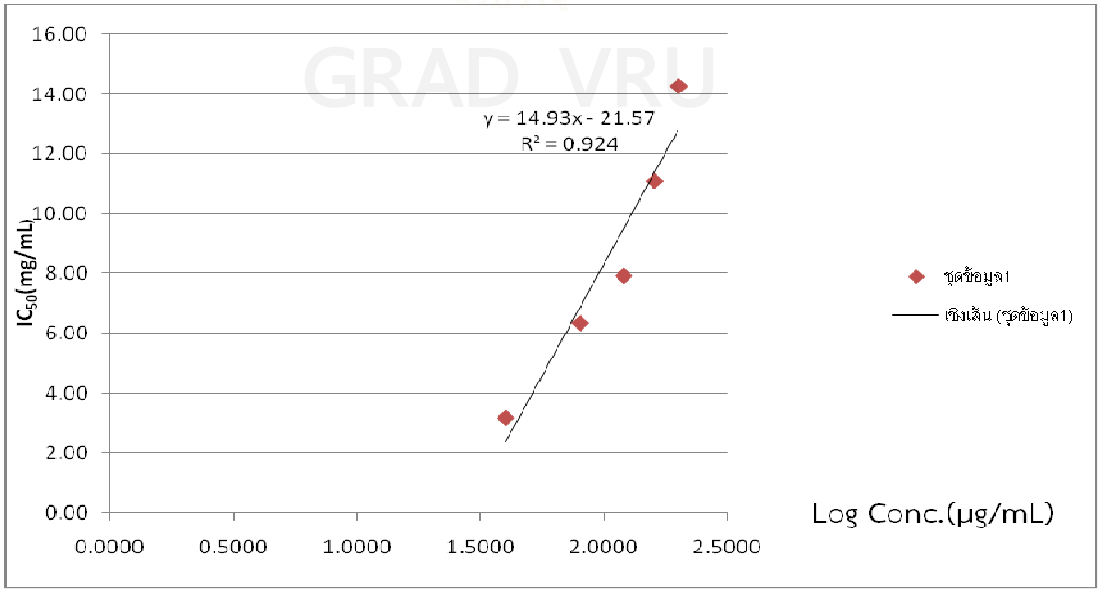
GRAD VRU



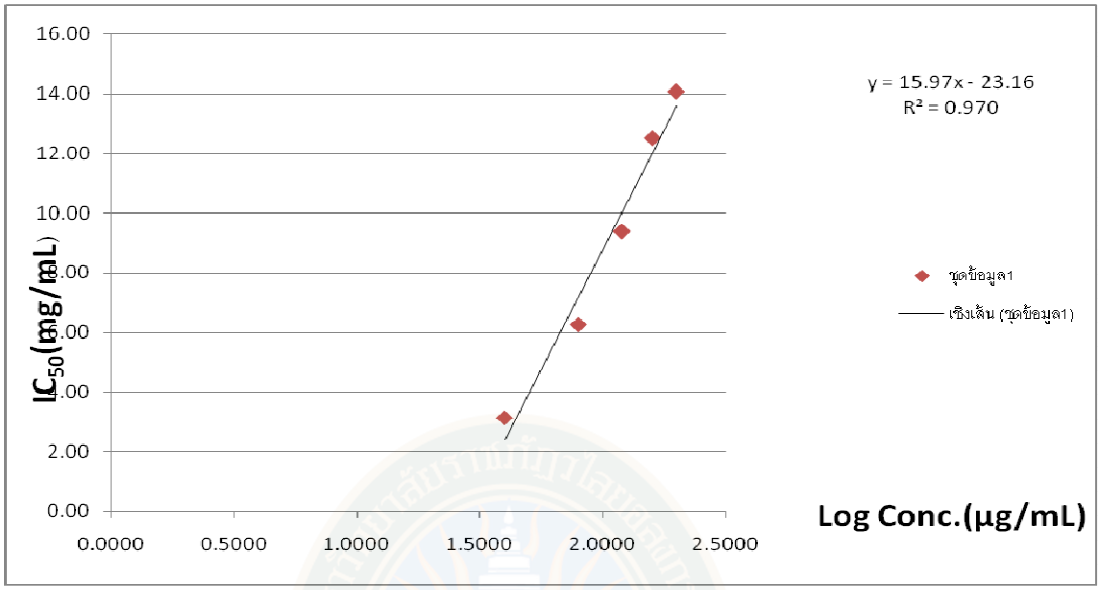
ภาพที่ 4.8 เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอย ใบฝรั่งและสารมาตรฐานกรดโคจิก

4.3 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

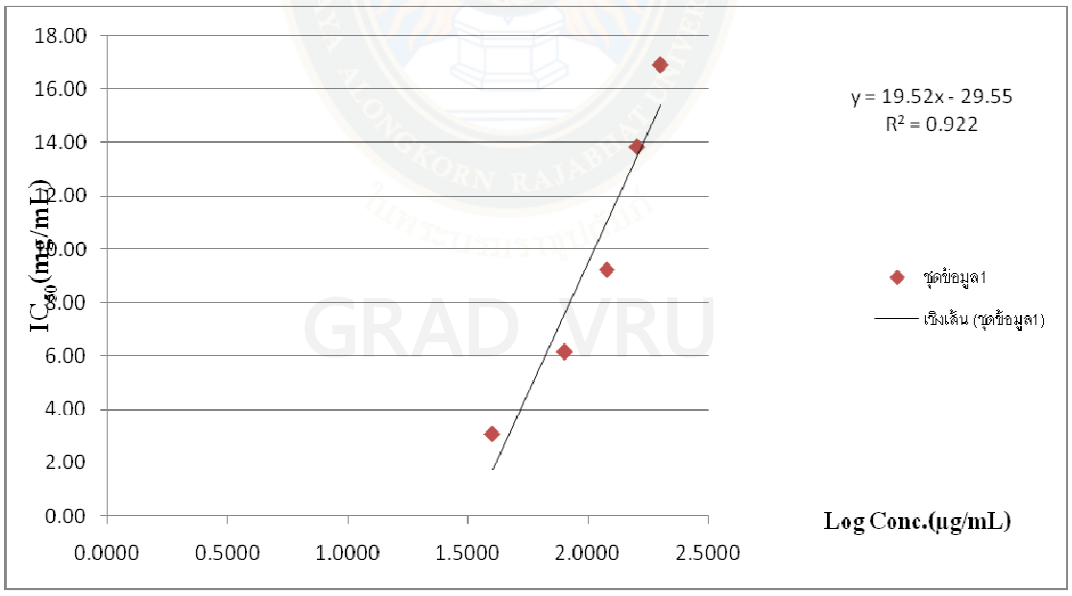
การทดสอบอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก แสดงดังกราฟต่อไปนี้



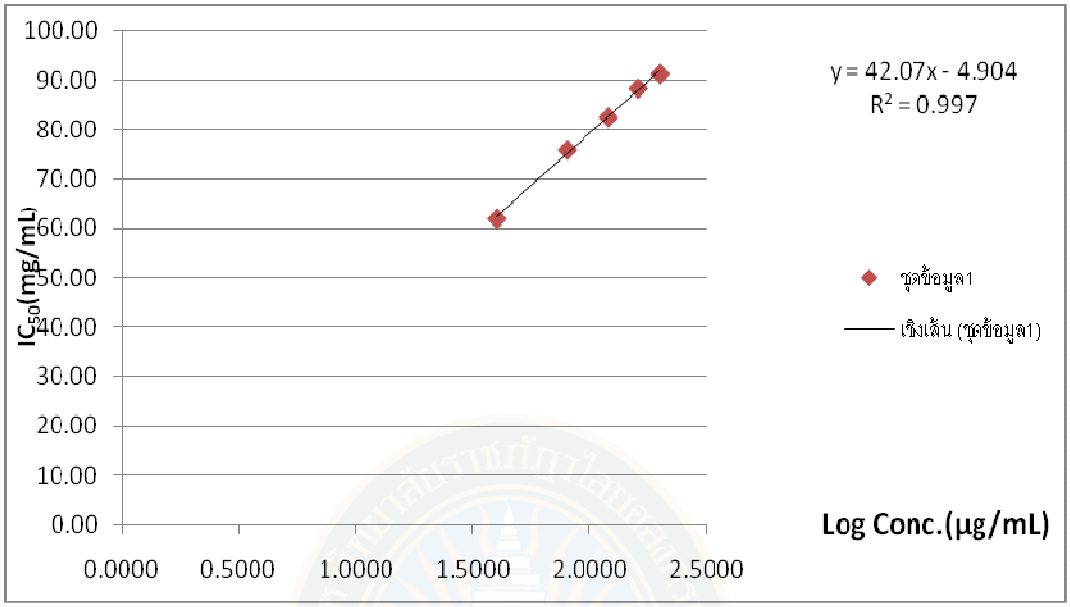
ภาพที่ 4.9 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 1



ภาพที่ 4.10 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 2



ภาพที่ 4.11 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของอัตราส่วนที่ 3



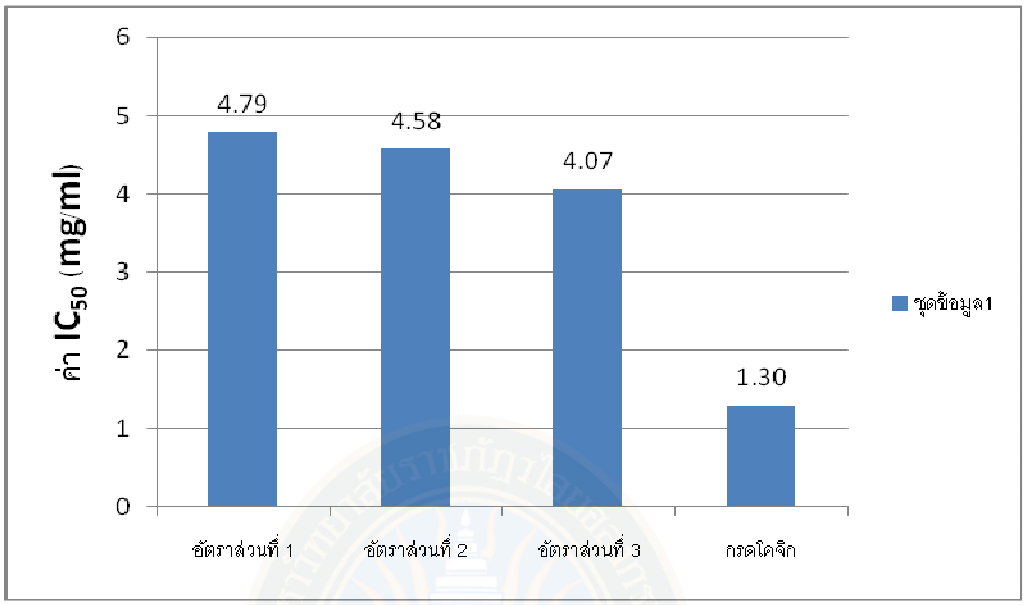
ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของกรดโคจิก

GRAD VRU

ตารางที่ 4.6 ผลการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

Treatment	Concentration (µg/mL)	% Scavenging	Linear Equation	IC_{50} (mg/mL)
อัตราส่วนที่ 1	40	3.17	y=14.93x-21.57	4.79
	80	6.35		
	120	7.94		
	160	11.11		
	200	14.29		
อัตราส่วนที่ 2	40	3.12	y=15.97x-23.16	4.58
	80	6.25		
	120	9.37		
	160	12.50		
	200	14.06		
อัตราส่วนที่ 3	40	3.08	y=19.52x-29.55	4.07
	80	6.15		
	120	9.23		
	160	13.85		
	200	16.92		
กรดโคจิก	40	62.04	y=42.07x-4.904	1.30
	80	75.91		
	120	82.48		
	160	88.32		
	200	91.24		

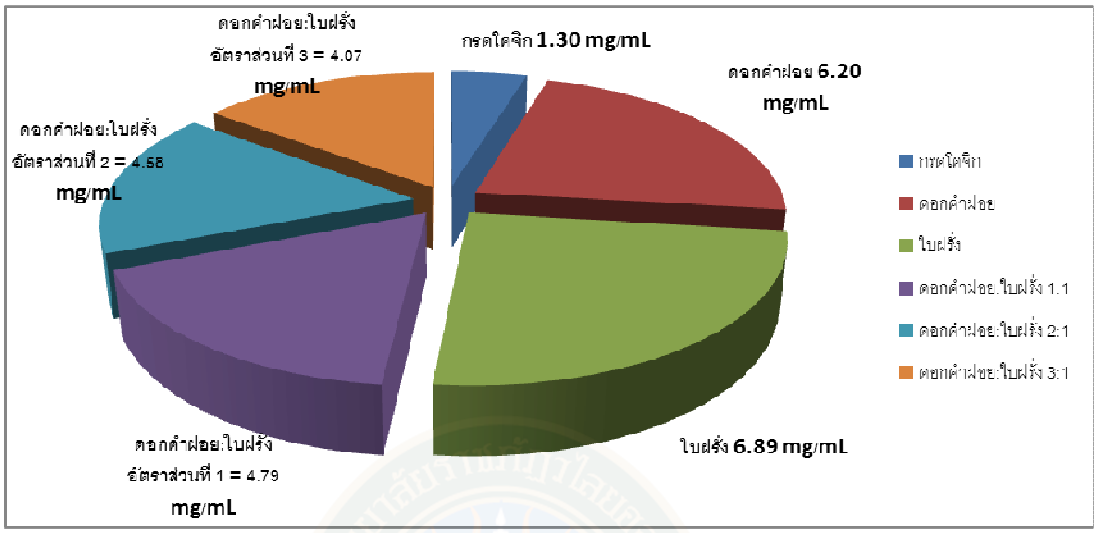
จากตารางที่ 4.6 พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยผสมใบฝรั่ง อัตราส่วนที่ 3 มีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคืออัตราส่วนที่ 2 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และอัตราส่วนที่ 1 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.79 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.13 เปรียบเทียบค่า IC_{50} อัตราส่วนของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งอัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 อัตราส่วนที่ 3 และสารมาตรฐานกรดโคจิก

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส (IC_{50}) ของสารมาตรฐานกรดโคจิก สารสกัดหยาบดอกคำฝอย สารสกัดหยาบใบฝรั่ง อัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 และอัตราส่วนที่ 3

ค่า IC_{50} (mg/mL)					
กรดโคจิก	**ดอกคำฝอย**	**ใบฝรั่ง**	**อัตราส่วนที่ 1**	**อัตราส่วนที่ 2**	**อัตราส่วนที่ 3**
1.30	6.20	6.89	4.79	4.58	4.07



ภาพที่ 4.14 แผนภูมิแสดงค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานกรดโคจิก สารสกัดหยาบดอกคำฝอย สารสกัดหยาบใบฝรั่ง อัตราส่วนที่ 1 อัตราส่วนที่ 2 และอัตราส่วนที่ 3

จากตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.14 จะพบว่า ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีค่าเท่ากับ 6.20 และ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิกจะมีค่ามากกว่า ส่วนค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยผสมใบฝรั่งอัตราส่วนที่ 1 มีค่ามากที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 2 และอัตราส่วน 3 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งในอัตราส่วนที่ 3 มีฤทธิ์ดีที่สุดแต่ยังน้อยกว่าสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก

4.4 ผลการพัฒนาและศึกษาสมบัติบางประการของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง และผลการทดสอบผลิตภัณฑ์

นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสมากที่สุดมาพัฒนาเป็นโลชัน แล้วทดสอบสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์

4.4.1 ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง พบว่า โลชันมีสีขาว มีความคงตัว และไม่แยกชั้น

4.4.2 ผลการทดสอบสมบัติทางเคมีบางประการของโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง พบว่า มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5

4.4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง พบว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์

4.5 ผลการถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง”

4.5.1 ผลการพัฒนาชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้สร้างชุดฝึกอบรมเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” สำหรับนำไปเผยแพร่ให้กับผู้เข้ารับการอบรม ประกอบด้วย ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ (การทดลอง) และส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผลการอบรม

4.5.2 ผลการหาค่าดัชนีความสอดคล้อง พบว่า ค่าดัชนีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ โดยให้ผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน ประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง พบว่า

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม มีความสอดคล้องระหว่างเนื้อหากับวัตถุประสงค์ของโครงการ มีค่าดัชนีความสอดคล้อง = 1.00

ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ (ทดลอง) มีความสอดคล้องระหว่างกิจกรรมการทดลองกับวัตถุประสงค์ของโครงการ มีค่าดัชนีความสอดคล้อง = 1.00

ส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผล มีความสอดคล้องระหว่างแบบทดสอบและแบบประเมินความพึงพอใจในการอบรมกับวัตถุประสงค์ของโครงการ มีค่าดัชนีความสอดคล้อง = 1.00

ดังนั้น ชุดฝึกอบรมทั้ง 3 ส่วนนี้ มีค่าดัชนีความสอดคล้องเท่ากับ 1.00 แสดงว่าเป็นชุดฝึกอบรมที่มีคุณภาพ สามารถนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการได้

4.5.3 ผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้ดำเนินการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” โดยนำชุดฝึกอบรมที่พัฒนาผ่านการประเมินทั้ง 3 ส่วน ไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับนักศึกษาคณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ จำนวน 30 คน ผลการทดสอบความรู้ก่อนและหลัง การฝึกอบรม และผลการสำรวจความพึงพอใจของผู้เข้าการรับอบรม แสดงไว้ดังตารางที่ 4.8 และตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบก่อนการฝึกอบรมและหลังการฝึกอบรม

การทดสอบ	**N**	$\overline{X}$	**S.D.**	**t**
ก่อนเรียน	30	11.36	1.40	9.635*
หลังเรียน	30	15.10	1.84	

($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.8 จากค่า t ที่ได้จากการคำนวณ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับค่าจากตารางแจกแจง t การทดสอบแบบ One – Tail มีค่า 0.01 t_{29} = 2.84 ค่า t ที่คำนวณได้ (t = 9.635) มากกว่าค่า t ที่เปิดตาราง สรุปได้ว่า คะแนนเฉลี่ยของการสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการฝึกอบรม

เชิงปฏิบัติการ ของผู้เข้ารับการอบรมจำนวน 30 คน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีคะแนนจากแบบทดสอบ เรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” หลังการฝึกอบรม ($\overline{X}$ =15.10, S.D.= 1.84) สูงกว่า ก่อนการฝึกอบรม ($\overline{X}$ =11.36, S.D.= 1.46) แสดงว่า การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการครั้งนี้ ทำให้ผู้เข้ารับการฝึกอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.9 แสดงความพึงพอใจในการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ของผู้เข้ารับการอบรม (N = 30)

หัวข้อประเมิน	$\overline{X}$	S.D.	ระดับความพึงพอใจ
1. เนื้อหาในการอบรมเหมาะสม	3.79	0.62	มาก
2. บุคลิกภาพของวิทยากรผู้ให้การอบรม	4.03	0.73	มาก
3. เทคนิคในการถ่ายทอด	3.89	0.61	มาก
4. อุปกรณ์และโสตทัศนูปกรณ์	4.06	0.75	มาก
5. เอกสารที่ได้รับจากการอบรม	3.86	0.64	มาก
6. ระยะเวลาในการอบรม	4.03	0.73	มาก
7. สถานที่จัดอบรม	4.27	0.79	มาก
8. อาหารว่างและอาหารกลางวัน	4.20	0.72	มาก
9. ความรู้จากการอบรมสามารถนำไปใช้ปฏิบัติจริง	4.62	0.62	มากที่สุด
10. ประโยชน์ที่ได้รับจากการอบรม	4.07	0.75	มาก
รวม	**4.08**	**0.69**	**มาก**

เกณฑ์ ค่าเฉลี่ย 5.00 - 4.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมากที่สุด
ค่าเฉลี่ย 4.49 - 3.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมาก
ค่าเฉลี่ย 3.49 - 2.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับปานกลาง
ค่าเฉลี่ย 2.49 - 1.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อย
ค่าเฉลี่ย 1.49 - 1.00 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อยที่สุด (ถิรเดช พิมพ์ทองงาม, 2552)

จากตารางที่ 4.9 พบว่า ความพึงพอใจในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” จากผู้เข้ารับการฝึกอบรมทั้งหมด 30 คน ในภาพรวมอยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ = 4.08, S.D. = 0.69) เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อพบว่าระดับความพึงพอใจอยู่ในระดับมากที่สุด 1 อันดับ คือ ความรู้จากการอบรมสามารถนำไปใช้ปฏิบัติจริง ($\overline{X}$ = 4.62, S.D. = 0.62)

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ได้ผลการทดลองดังนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การสกัดสารสำคัญจากดอกคำฝอยและใบฝรั่ง โดยวิธีการแช่ยุ่ยด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่า ในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.11 และ 0.39 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 0.09 และ 0.37 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.15 และ 0.42 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.70 และ 4.56 ตามลำดับ และผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC Fingerprint พบสารฟลาโวนอยด์

5.1.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.20 และ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.3 การทดสอบอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส พบว่า อัตราส่วนที่ 3 มีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคืออัตราส่วนที่ 2 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และอัตราส่วนที่ 1 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.79 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิกซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.4 โลชันที่ได้ มีสีขาว มีความคงตัว และไม่แยกชั้น เมื่อทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าโลชันที่พัฒนาขึ้น มีค่า pH เท่ากับ 6.5

5.1.5 การถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” ให้กับนักศึกษา พบว่า ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการทั้ง 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ ส่วนที่ 3 การประเมินผลการอบรม แต่ละส่วนมีค่า IOC เท่ากับ 1.00 และเมื่อนำไปจัดอบรมให้กับนักศึกษาคณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยองลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 30 คน โดยการทำแบบทดสอบวัดผลทั้งก่อนและหลังการฝึกอบรมจำนวน 20 ข้อ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และมีผลการประเมินระดับความพึงพอใจในการเข้ารับการอบรมเชิงปฏิบัติการครั้งนี้ มีระดับคะแนนเฉลี่ย 4.08 อยู่ในเกณฑ์ระดับมาก

5.2 อภิปรายผล

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.39 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ ดอง-ฮยุน ยู และคนอื่นๆ (Dong-Hyun You & et al., 2011) ที่นำกิ่ง ผล ใบ และเมล็ดของฝรั่งมาสกัด เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส และทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า ใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 141.28 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งเป็นสารกลุ่มเดียวกันกับที่พบในสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสเช่นกัน

การหาปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก พบว่า สารสกัดหยาบใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 0.37 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของเมกี้ เนลส์ ไมเลา และคนอื่นๆ (Meigy Nelce Mailoa & et al., 2013) ที่ศึกษาปริมาณแทนนินของสารสกัดใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 30 % 50 % และ 70 % พบว่า มีปริมาณแทนนินเท่ากับ 3.228 2.970 และ 2.333 มิลลิกรัมแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานรูทิน พบว่า มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชิเรอร์ ดาคัพพา ชรูติ และคนอื่นๆ (Shirur Dakappa Shruthi & et al., 2013) ที่พบว่าในใบฝรั่งมีสารเคอร์ซิติน ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง และมีสารอื่นๆ เช่น แทนนิน และแคโรทีนอยด์

ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของเชน และคนอื่นๆ (Chen YS. & et al., 2013) ที่ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของดอกคำฝอย พบว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.01±0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบใบฝรั่งที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของศิริวรรณ วีระทวีพร และคนอื่นๆ (2552) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านไทโรสิเนสของสารสกัดใบฝรั่งและตำรับเซรั่มใบฝรั่ง พบว่า สารสกัดใบฝรั่งที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสได้ 50 % (IC_{50}) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.864 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นผู้วิจัยได้นำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสมากที่สุด คืออัตราส่วนที่ 3 มีค่าเท่ากับ 4.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสต่ำกว่าสารสกัดหยาบใบฝรั่ง ซึ่งมีค่า

GRAD VRU

เท่ากับ 6.89 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากในพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดมีสารออกฤทธิ์กลุ่มเดียวกันคือสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เมื่อนำมาผสมกันจึงมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบดอกคำฝอย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นการนำสารสกัดหยาบใบฝรั่งผสมเข้าไปจะทำให้ลดต้นทุน เนื่องจากใบฝรั่งเป็นพืชที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น มีราคาถูก จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพร

จากการถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยโดยนำชุดอบรมเชิงปฏิบัติเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” มาจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า ผู้เข้าอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากเอกสารประกอบการอบรมทั้ง 3 ส่วน ซึ่งประเมินจากผู้ทรงวุฒิจำนวน 3 ท่าน มีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 1 โดยหลังการฝึกอบรม ($\overline{X}$ = 15.10, S.D. = 1.84) ผู้เข้าอบรมมีความรู้มากกว่าก่อนการฝึกอบรม ($\overline{X}$ = 11.36, S.D. = 1.46) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ค่า (t = 9.635) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของฉวีวรรณ สังวาลย์ (2557) ที่ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเมล็ดบานเย็น และได้นำผลการวิจัยไปพัฒนาชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการและนำไปจัดอบรมให้กับนักศึกษาจำนวน 30 คน พบว่า ผลการทดสอบความรู้ก่อนและหลังการฝึกอบรม และผลการสำรวจความพึงพอใจของผู้เข้าการรับอบรม พบว่าผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.01 ดังนั้นชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการนี้สามารถนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ข้อเสนอแนะทั่วไป

5.3.1.1 ควรระมัดระวังเรื่องของแสง เนื่องจากแสงมีผลต่อการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเช่น การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแทนนินทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และการวัดค่าดูดกลืนแสงในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส

5.3.2 ข้อเสนอแนะการวิจัย

5.3.2.1 จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในดอกคำฝอยและใบฝรั่งพบกลุ่มสารออกฤทธิ์อยู่หลายกลุ่มที่น่าจะมีคุณสมบัติที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ โดยอาจมีการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่นๆ ของดอกคำฝอยและใบฝรั่งได้

บรรณานุกรม

GRAD VRU

บรรณานุกรม

จินดาพร ภูริพัฒนาวงษ์ และคนอื่นๆ. (2548). **การเตรียมและการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้สำหรับการผลิตสัตว์**. ชุดโครงการ “การใช้สมุนไพรในการผลิตสัตว์” สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).

จิตติมา ตั้งศิริมงคล. (2548). **การศึกษาการสกัดและการผลิตแคปซูลน้ำมันคำฝอย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จันทิมา หอมกลบ และคนอื่นๆ. (2554). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตดจากผลมะขามป้อมจากแหล่งในประเทศไทย. กรุงเทพฯ:** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฉวีวรรณ สังวาลย์. (2557). **องค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเมล็ดบานเย็นที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.

ฉัตร เจนชัย. (2555). **การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเสียดไทย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.

ดวงดาว ฉันทศาสตร์. (2540). **กลไกการสร้างและยับยั้งเมลานิน (Formation and Inhibition of Melanin): เทคโนโลยีการพัฒนาตำรับเครื่องสำอางและการผลิตขั้นอุตสาหกรรม**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชน จำกัด.

ถิรเดช พิมพ์ทองงาม. (2552). **สถิติเพื่อการวิจัย.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี.

นิสากร แซ่วัน. (2553). **การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสขององค์ประกอบทางเคมีจากใบหนาด.** เชียงราย: มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

บุญชู ศรีตุลารักษ์ และคนอื่นๆ. (2541). สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสจากมะหาด. **Thai Journal Pharmacy Science.** 22(4), 149-455.

บัวนัส วงษ์สุด และคนอื่นๆ. (2545). **การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการชีวสังเคราะห์เมลานินของส่วนสกัดจากพญายา โลดทะนงแดงและปลาไหลเผือก**. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ปานทิพย์ บุญส่ง และคนอื่นๆ. (2553). การวิเคราะห์รงควัตถุของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นของไทย 3 ชนิด. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 657-660.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2540). **อิมัลชันทางเครื่องสำอาง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

พวงรัตน์ ทวีรัตน์. (2540). **วิธีการวิจัยทางพฤติกรรมศาสตร์และสังคมศาสตร์.** พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

มงคล โมกขะสมิต และคนอื่นๆ. (2546). **การศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรไทย.** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รสสุคนธ์ มกรมณี. (2549). **เอกสารคำสอนรายวิชาการจัดการฝึกอบรมทางการศึกษา**. กรุงเทพฯ: คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ. (2540). **สถิติวิทยาทางการวิจัย**. กรุงเทพฯ: สุรีวิทยาสาส์น.

ศิริพร โอโกโนกิ และคนอื่นๆ. (2551). **การวิจัยสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพรไทย**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริวรรณ วีระทวีพร และคนอื่นๆ. (2552). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดใบฝรั่งและตำรับเซรั่มใบฝรั่ง. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก.** 7,2.

สุกัญญา เตชกิตติรุ่งโรจน์. (2551). **การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชท้องถิ่นที่คัดเลือก**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุพัตรา ฤกษ์สมโภชน์. (2550). **การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสโดยวิธีโดพาโครม**. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. (2550). **เศรษฐกิจสมุนไพรไทย ปี 2549/50 กรณีศึกษา: กระเจี๊ยบแดง ดอกคำฝอยและกวาวเครือขาว.** สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เสาวนีย์ กระสานติสุข และ หทัยชนก รุณรงค์. (2549). **การพัฒนาตำรับโลชันบำรุงผิว.** เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

GRAD VRU

อรัญญา มโนสร้อย และ จีรเดช มโนสร้อย. (2556). **เวชสำอาง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

อุษา ช่อผล. (2536). **วิธีการทางสถิติกับผลการทดลอง**. ยะลา: สถาบันราชภัฏยะลา.

เอมมนัส อัตตวิชญ์ และคนอื่นๆ. (2538). การศึกษาพิษของใบฝรั่ง**. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 37(4), 289-305.

อัมพวัน อภิสริยะกุล และคนอื่นๆ. (2536). **ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเคอร์ซิทิน (Quercetin) ซึ่งพบในใบฝรั่ง (*Psidium guajava*, Myrtaceae) ต่อการหดตัวของลำไส้เล็กของหนูขาวและหนูตะเภา.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ และพรรณวิภา กฤษฎาพงษ์. (2548). การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากกิ่งหม่อนในประเทศไทยและครีมลดความคล้ำ. **วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ**. 37(2), 84-94.

Asgarpanah J. & Kazemivash N. (2013). Phytochemistry, Pharmacology and Medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. **Chinese Journal of Integrative Medicine.** 19(2), 153-159.

Asgary S. & et al., (2012). Antidiabetic effect of hydroalcoholic extract of *Carthamus tinctorius* L. in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Research in Medical Sciences**. Isfahan University. 17(4), 386.

Beata W. Domagalska. (2010). Safflower (*C. tinctorius*) – forgotten cosmetic plant. **Cosmetology Today**. 2.

Chen Y. S. & et al., (2013). Kinetic study on the tyrosinase and melanin formation inhibitory activities of carthamus yellow isolated from *Carthamus tinctorius* L. **Journal of Bioscience and Bioengineer**. 115(3), 242-5.

Dong-Hyun You & et al., (2011). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of different parts of guava (*Psidium guajava* L.). **Food Science Biotechnology.** 20(4), 1095-1100.

Ekin Z. (2005). Resurgence of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) utilization : a global view. **Journal of Agronomy**. 4(2), 83-87.

Emongor V. (2010). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the underutilized and neglected crop. **Asian Journal Plant Science.** 9, 299-306.

Ho C. T., (1992). **Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health**. Volume 1. American Chemical Society, Washington D.C.

Jaiarj P. & et al., (1999). Anticough and Antimicrobial Activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. **Journal of Ethnopharmacol.** 67(2), 203-12.

Li H. X. & et al., (2009). Effect of the carthamins yellow from *Carthamus tinctorius* L. on hemorheological disorders of blood stasis in rats. **Food and Chemical Toxicology.** 47(8), 1797-180.

Meigy Nelce Mailoa & et al., (2013). Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava* L.) variation with concentration organic solvents. **International Journal of Scientific & Technology Research. 2(9).**

Miean K. H. & Mohamed S., (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49(6), 3106-3112.

Packer L. & et al., (1999). Electron spin resonance study of free radicals formed from a procyanidin-rich pine (Pinus maritime) bark extract. **Free Radical Biology Medicine**. 27 (11-12), 1308-1312.

Shirur Dakappa Shruthi & et al., (2013). A review on the medicinal plant *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae). **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**. 162-168.

Smith R. M. & Siwatibau S. (1975). Sesquiterpene hydrocarbons of Fijian guavas, **Phytochemistry.** 14(9).

Vrijendra Singh. (2013). **Safflower R&D at NARI.** Nimbkar Agricultural Research Institute (NARI).

Wang C. C. & et al., (2011). Protective effect of dried safflower petal aqueous extract and its main constituent. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 91(2), 218-255.

Yaginuma S. & Igarashi K. (1999). Protective effects of hot water extracts from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) petals on paraquat-induced oxidative stress in rats. **Food Science and Technology Research.** 5(2), 164-167.

GRAD VRU

Yoon H. R. & et al., (2007). Flavonoid glycoside with antioxidant activity from the petal of *Carthamus tinctorius*. **Journal of Applied Biological Chemistry**. 50(3).

GRAD VRU

ภาคผนวก

GRAD VRU

ภาคผนวก ก

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ

GRAD VRU

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ

1. ชื่อ	รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ แสง-ชูโต
สถานที่ทำงาน	ภาควิชามัธยมศึกษา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วุฒิการศึกษา	การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. ชื่อ	รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาศ พุ่มพิมล
สถานที่ทำงาน	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง ถนนลำปาง-แม่ทะ ตำบลชมพู อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง
วุฒิการศึกษา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (อินทรีย์เคมี) มหาวิทยาลัยมหิดล
3. ชื่อ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด
สถานที่ทำงาน	-
วุฒิการศึกษา	การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

GRAD VRU

ภาคผนวก ข

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

GRAD VRU

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

หลักการและเหตุผล

สังคมไทยนิยมการมีผิวสีอ่อนมากกว่าผิวสีเข้ม เพราะดูสะอาดตาและสดใส โดยเฉพาะผิวบริเวณใบหน้า ซึ่งเป็นจุดเด่นในการเข้าสังคม ดังนั้นผู้ที่มีผิวสีเข้มจึงพยายามค้นหาวิธีการหรือสารต่างๆเพื่อทำให้สีผิวจางลงและขาวขึ้น ปัจจุบันเครื่องสำอางจากสารสกัดพืชสมุนไพรกำลังเป็นที่นิยม สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส จึงถูกนำมาศึกษาเป็นลำดับแรกๆ เพื่อใช้คัดเลือกหาประโยชน์จากสารสกัดสมุนไพร แล้วนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและยา (จันทิมา หอมกลบ และคนอื่นๆ, 2554)

จากการศึกษาเบื้องต้น พบว่า ดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิดเป็นเม็ดสีเมลานิน (Melanin) ทำให้ผิวหนังมีสีเข้มขึ้นหรือสีผิวคล้ำขึ้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาวิจัยสารกลุ่มนี้จากดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ ผู้บริโภคสามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติได้อย่างปลอดภัยในชีวิตประจำวัน และยังเป็นการพัฒนา ส่งเสริม และเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทยอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีการตรวจหาสารฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิครงคเลขผิวบางได้
2. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกความหมายของกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนสได้
3. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกประโยชน์และสรรพคุณของพืชสมุนไพรไทยได้
4. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีและปฏิบัติการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งได้

เป้าหมาย

ด้านปริมาณ ผู้เข้ารับการอบรมจำนวน 30 คน

ด้านคุณภาพ ผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการแยกองค์ประกอบทางเคมี และการแยกสารอย่างง่ายด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส ประโยชน์และสรรพคุณของสมุนไพรและการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

สถานที่

ห้องประชุมศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ระยะเวลา

วันที่ 24 พฤศจิกายน 2557 เวลา 08.30–16.00 น.

งบประมาณ

2,000 บาท

การดำเนินการ

1. สำรวจกลุ่มบุคคลที่จะเข้ารับการอบรม
2. เขียนโครงการอบรม
3. จัดเตรียมเอกสาร วัสดุ อุปกรณ์ และสถานที่ใช้ในการอบรม
4. ดำเนินการอบรม
5. ประเมินผลและสรุปผล

การประเมินผล

1. การทดสอบด้วยแบบทดสอบก่อนและหลังการอบรม
2. การตอบแบบสำรวจความพึงพอใจในการอบรม

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผู้เข้ารับการอบรมทราบสาเหตุหลักของการเกิดรอยด่างดำ และวิธีการป้องกันผิวไม่ให้หมองคล้ำ

2. ผู้เข้ารับการอบรมปฏิบัติการแยกสารอย่างง่ายด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง

3. ผู้เข้ารับการอบรมสามารถนำความรู้เกี่ยวกับพืชสมุนไพรไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรใช้เองได้ เช่น ผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

ผู้รับผิดชอบโครงการ

นางสาวฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กำหนดการอบรม
โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง”
วันที่ 24 พฤศจิกายน 2557
ณ อาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

08.00 - 08.30 น.	ลงทะเบียน
08.30 - 09.00 น.	พิธีเปิด
09.00 - 09.30 น.	ทดสอบก่อนอบรม
09.30 - 10.30 น.	บรรยาย ความรู้เรื่องผลิตภัณฑ์โลชันบำรุงผิว - รู้จัก “ดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” พืชสมุนไพรไทย - กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส - การแยกองค์ประกอบทางเคมีมีด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง - ความรู้เกี่ยวกับเครื่องสำอางและโลชัน
10.30 - 10.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
10.45 - 12.00 น.	นำเสนอผลการวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส
12.00 - 13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน
13.00 - 14.30 น.	ปฏิบัติการที่ 1 เรื่อง การตรวจหาฟลาโวนอยด์โดยใช้เทคนิครงคเลข ผิวบาง
14.30 - 14.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
14.45 - 15.30 น.	ปฏิบัติการที่ 2 เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง
15.30 - 15.45 น.	ทดสอบหลังการอบรม
15.45 - 16.00 น.	ประเมินผลการอบรม / ปิดการอบรม

GRAD VRU

ภาคผนวก ค

ชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ 3 ส่วน

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอย

และใบฝรั่ง

GRAD VRU

ส่วนที่ 1
เอกสารประกอบการอบรม

โดย
นางสาวฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์
นักศึกษาปริญญาโท

GRAD VRU

สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ความรู้เกี่ยวกับเครื่องสำอางและโลชัน

เครื่องสำอางจัดเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่ทุกคนต้องใช้เป็นประจำ ได้แก่ ยาสีฟัน สบู่ โรลออน ดับกลิ่นกาย น้ำยาย้อมผม ผ้าเย็น น้ำหอม โลชันทาผิว หรือครีมกันแดด พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พุทธศักราช 2535 ได้แบ่งเครื่องสำอางออกเป็น 3 ประเภท ประเภทที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายมากที่สุด เรียกว่า 1) เครื่องสำอางควบคุมพิเศษ โดยเครื่องสำอางกลุ่มนี้ จะมี การกำกับดูแลที่เข้มงวดมากที่สุด เครื่องสำอางกลุ่มนี้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ย้อมผมถาวร ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ ผลิตภัณฑ์ดัดผม ฟอกสีผม กำจัดขน ที่ฉลากต้องมีข้อความ กำกับไว้ใกล้กับเครื่องหมาย อย. ด้วย 2) เครื่องสำอางควบคุม เครื่องสำอางกลุ่มที่มีความเสี่ยงปานกลาง ผู้ประกอบธุรกิจจะต้องยื่นแบบแจ้งการผลิตและการนำเข้า ไม่น้อยกว่า 15 วันก่อนการผลิตหรือนำเข้า และจัดทำฉลากภาษาไทยให้ถูกต้อง เครื่องสำอางกลุ่มนี้ ได้แก่ เครื่องสำอางที่ผสมสารป้องกันแสงแดด แป้งฝุ่นโรยตัว แป้งน้ำ แป้งเย็น ผ้าอนามัย ผ้าเย็น สังเกตที่ฉลากจะระบุข้อความข้อความว่า เครื่องสำอางควบคุม ไว้ด้วย 3) เครื่องสำอางทั่วไป เป็นกลุ่มที่ความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายค่อนข้างน้อย เครื่องสำอาง ในกลุ่มนี้ ได้แก่ พวกแชมพู ครีมนวดผม สเปรย์ เจลแต่งผม ดินสอเขียนคิ้ว สบู่ โฟมล้างหน้า และพวกเครื่องสำอางแต่งหน้า

อิมัลชัน (Emulsion) หมายถึง ผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ซึ่งไม่เข้ากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ถูกนำมาไว้ด้วยกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) อิมัลชันที่เกิดขึ้นถ้ามองด้วยตาเปล่าจะเห็นลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ถ้าส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค คือ หยดเล็กๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายใน กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายนอก อิมัลชันแบ่งตามความหนืดได้ 2 ชนิด คือ โลชัน และครีม

โลชัน (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักไม่เกิน 35 % เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำออกได้ง่าย เช่น โลชันทาผิว ซึ่งโลชันนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (Thickening Agent) ในวัฏภาคน้ำให้หนืดขึ้นได้ แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้ (เสาวนีย์ กระสานติสุข และคนอื่นๆ, 2549)

ผลิตภัณฑ์โลชันทาผิว

การมีสุขภาพผิวที่ดีนั้นมาจากการบำรุงรักษาผิวอย่างสม่ำเสมอ ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวนับเป็นเครื่องมือชิ้นสำคัญที่ช่วยให้เราสามารถรักษาการมีสุขภาพผิวที่ดีไว้ได้ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่นิยม มาจนถึงปัจจุบัน คือ โลชัน (Lotion) เนื่องจากโลชันเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย มีกลิ่นหอม รวมทั้งสามารถให้ความชุ่มชื้นให้กับผิวภายหลังการใช้ จึงจำเป็นต้องพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันให้มีคุณสมบัติที่พิเศษ มีการนำเอาสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

ดอกคำฝอยและใบฝรั่งเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณช่วยส่งเสริมคุณค่าผลิตภัณฑ์โลชันได้ จากการศึกษาวิจัยดอกคำฝอยและใบฝรั่ง โดยนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง พบว่าสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเมลานินที่ทำให้เกิดสีบนผิวหนัง ผู้วิจัยจึงให้ความสำคัญในการนำสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งมาเป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์โลชัน เนื่องจากโลชันเป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้างเพราะทาแล้วชุ่มชื้นไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำออกได้ง่าย เป็นการพัฒนา ส่งเสริม และเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยที่มีในท้องถิ่นในการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

รู้จัก “ดอกคำฝอยและใบฝรั่ง” พืชสมุนไพรไทย

ดอกคำฝอย

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific Name): *Carthamus tinctorius* Linn.

ชื่อวงศ์ (Family): Asteraceae

ชื่อสามัญ (Common or English Name): Safflower

ชื่อไทย (Thai Name): คำฝอย คำ คำยอง ดอกคำ

ภาพที่ 1 ภาพแสดงลักษณะของดอกคำฝอย

ที่มา: http://www.greenerald.com

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ดอกคำฝอยเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับเบญจมาศและทานตะวัน สูงประมาณ 40-130 ซม. (ขึ้นอยู่กับพันธุ์วิธีปลูกและสภาพแวดล้อม) ลำต้นกิ่งแตกเป็นพุ่ม มีใบเดี่ยวสีเขียวเข้ม เรียงสลับดอกอ่อนสีเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีส้มเมื่อแก่ ขอบใบมีหนามแหลมคมและแข็ง (โดยเฉพาะที่ปลายใบ) ผลลักษณะเป็นผลแห้ง เมล็ดทรงรียาวและเล็กสีน้ำตาลอ่อน (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

ถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจาย

คำฝอยเป็นพืชเพาะปลูกเก่าแก่ในอินเดียตะวันออกเป็นที่รู้จักตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณกรีซ โรม บริเวณภูเขาของอะบิสสิเนีย (Abyssinia) และอาฟกานิสถาน แพร่กระจายจากประเทศอินเดีย จีน ไปยังเปอร์เซีย คอเคซัส อียิปต์ อิตาลีและสเปน นำเข้าสู่ประเทศสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลีย เมื่อไม่นานมีการเพาะปลูกคำฝอยเกือบทุกรัฐในประเทศอินเดีย ปัจจุบันพบคำฝอยมากในเอเชียกลาง อินเดีย เมดิเตอร์เรเนียน ยุโรป แอฟริกาเหนือ เอเชียไมเนอร์ เอเชียตะวันออก ออสเตรเลีย อเมริกาเหนือและใต้ พบการปลูกดอกคำฝอยมากในแถบภาคเหนือ (จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ฯลฯ) ซึ่งในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาวเป็นเวลาที่เหมาะสำหรับการปลูกเนื่องจากความชื้นในดินยังคงอยู่เกษตรกรจึงนิยมปลูกราวๆ เดือน ต.ต. – ธ.ค. ด้วยการเพาะเมล็ดซึ่งสามารถปลูกเป็นพืชเดี่ยวหรือร่วมกับพืชอื่น (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

สรรพคุณพื้นบ้าน

ดอก ใช้บำรุงโลหิตแก้แสบร้อน คันตามผิวหนัง บำรุงประสาท บำรุงหัวใจ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ ทำให้ประจำเดือนมาปกติ แก้โรคผิวหนัง แก้อ่อนเพลีย เป็นยาระบายใช้บรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย ใช้ย้อมสีอาหารและเครื่องสำอาง ใช้ย้อมสีเครื่องนุ่งห่ม ใช้แทนหญ้าฝรั่น (*Crocus sativus* L.) ซึ่งราคาแพงมาก เกสรบำรุงโลหิต บำรุงประสาท แก้แสบร้อนตามผิวหนัง

เมล็ด ขับเสมหะ แก้โรคผิวหนัง แก้บวม เป็นยาถ่าย น้ำมันจากเมล็ดแก้โรค ขัดข้อ แก้ฝี ลดไขมันในเลือด ลดไขมันในเลือด ใช้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันชักเงา น้ำมันหล่อลื่น

สาระสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ดอกหรือเกสรมีสาร Carthamin และ Isocarthamin เป็นสีแดงสด ไม่ละลายน้ำ และ Safflower Yellow ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง ละลายน้ำได้ สีจากดอกคำฝอยใช้บริโภคได้อย่างปลอดภัยซึ่งในดอกคำฝอยมีโปรตีน เบต้าแคโรทีน และวิตามินอี

ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

ดอกคำฝอยใช้ในเครื่องสำอางแต่โบราณอียิปต์โบราณใช้สีคาร์ทามินแต่งหน้าปัจจุบันใช้แต่งหน้านักแสดง

น้ำมันดอกคำฝอยที่คงตัวและผ่านการ Standardized เทียบกับวิตามินอีสามารถนำไปใช้บำรุงผิวในคนแทนน้ำมันพืชปกติ

น้ำมันคำฝอยเป็นส่วนประกอบในโลชันทาผิวและครีมช่วยทำให้ผิวนุ่มใน ความเข้มข้น 0.1-5 % เป็นสารบำรุงเส้นผมและผิวหนัง

ฝรั่ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific Name): *Psidium guajava* Linn.

ชื่อวงศ์ (Family): Myrtaceae

ชื่อสามัญ (Common or English Name): Guava

ชื่อไทย (Thai Name): ฝรั่ง มะก้วย มะปุ่น มะมั่น ยามู มะจีน สีดา ยะริง

ภาพที่ 2 ภาพแสดงลักษณะของฝรั่งพันธุ์ขี้นก

ที่มา: http://bot.swu.ac.th

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้พุ่มขนาดกลาง แตกกิ่งก้านสาขามากมาย ใบหนาและแข็ง ใบเดี่ยวออกเป็นคู่ตรงกันข้ามบิดเล็กน้อย รูปใบรี ปลายใบและโคนใบมน หลังใบจะมีขนอ่อนนุ่ม ท้องใบจะหยาบเห็น

เส้นใบเป็นร่างแหชัดเจนมาก พื้นใบมีสีเขียวอมเทา ยอดอ่อนมีขนอ่อนสั้นๆ ออกดอกตรงส่วนยอดของกิ่งก้านต้นช่อละ 2-3 ดอกขนาดไม่ใหญ่นัก สีขาว ผลดิบมีสีเขียวเมื่อสุกมีสีเขียว ปนเหลือง เนื้อในสีขาวมีเมล็ดภายในมากสีน้ำตาลอ่อน ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ตอนกิ่งและ ตัดยอดปักชำ ฝรั่งเป็นพืชพื้นเมืองของอเมริกาเขตร้อน และถูกนำมาปลูกในประเทศเขตร้อนทั่วไป ฝรั่งที่รับประทานผลสดมีอยู่หลายพันธุ์ อาจแบ่งตามถิ่นกำเนิดเดิมได้เป็น

ฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองของไทย ได้แก่ พันธุ์ขี้นกผลมีขนาดเล็กมาก รูปร่างมีทั้งกลมและรูปไข่ ผิวเรียบ เนื้อสีชมพู เนื้อบาง รสหวานอมเปรี้ยวหรือมีฝาดปน ไส้สีแดง ติดผลเป็นกลุ่ม เมล็ดมีจำนวนมาก ลำต้นแข็งแรงทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีมาก ไม่มีการปลูกเป็นการค้า ปัจจุบันจะหาดูได้ตามชนบท

สรรพคุณ

ช่วยบรรเทาอาการท้องเสีย การที่ใบฝรั่งและผลดิบช่วยบรรเทาอาการท้องเสียได้ เพราะทั้งใบและผลดิบมีสารแทนนิน ซึ่งมีรสฝาดแก้ท้องเสียได้ มีการนำใบฝรั่งขึ้นกมาเตรียมเป็นยาบ้วนปาก ชนิดผสมน้ำก่อนใช้เพื่อระงับกลิ่นปาก โดยเฉพาะที่เกิดจากฟันผุ เหงือกอักเสบ แก้ท้องร่วง ท้องเดิน เป็นบิดเรื้อรัง แก้ลมพิษ ผดผื่นคัน ใช้ใบสดขยี้ใส่แผลสด ใช้เปลือกหรือใบสดอมแก้ปวดฟัน เหงือกบวม และรักษากลิ่นปาก แก้ลำไส้อักเสบ แก้กระเพาะอาหารอักเสบ ใช้เป็นยาสมานแผล และใบฝรั่งสามารถนำมาขยี้ให้คนที่เมาค้างดมเพื่อลดอาการคลื่นไส้ และมึนศีรษะได้

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

1) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดส่วนเนื้อ (Pulp) และเปลือก (Peel) ของฝรั่งมี Dietary Fiber 48.55-49.42 % และ Polyphenol 2.62-7.79 % สาร Polyphenol ในเปลือกฝรั่งแห้งน้ำหนัก 1 กรัม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยผลที่ได้มีค่าเทียบเท่ากับการใช้ Trolox 43 116 และ 176 mg ตามลำดับ (Jime's nez-Escrig & et al., 2001)

2) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส

สารสกัดใบฝรั่งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสได้ โดยจะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสได้เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น แต่จะมีค่าคงที่เมื่อความเข้มข้นถึงระดับหนึ่ง เมื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่งที่สามารถ ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสได้ 50 % (IC_{50}) พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.864 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ศิริวรรณ วีระทวีพร และคนอื่นๆ, 2552)

กระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส

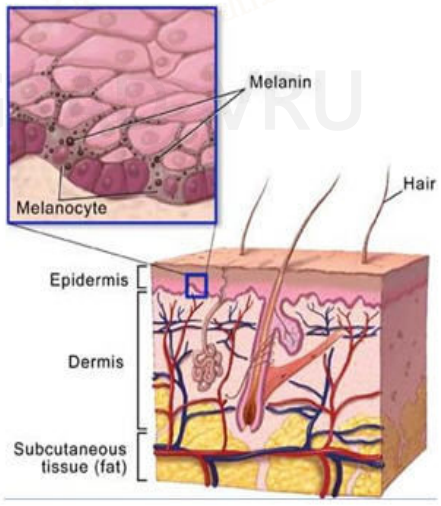
จากกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนส มีองค์ประกอบและหน้าที่ ที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1) ผิวหนัง

ผิวหนังมี 3 ชั้น คือ หนังกำพร้า หนังแท้ และชั้นรองรับผิวหนัง ผิวหนังเป็นส่วนที่ปกคลุมร่างกาย ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายจากสิ่งต่างๆ เช่น ป้องกันอันตรายจากการสูญเสียน้ำ ป้องกันอันตรายจากสิ่งแปลกปลอมและเชื้อโรคต่างๆ นอกจากนี้ยังเป็นที่อยู่ของรากขน ต่อมเหงื่อ เป็นต้น จากการที่ผิวหนังเป็นส่วนนอกสุดจึงมีโอกาสที่จะได้รับอันตรายจากรังสี โดยเฉพาะประชากรที่อยู่ในทวีปเอเชียซึ่งเป็นเขตที่มีแสงแดดจ้าตลอดปี อย่างไรก็ตามร่างกายมีกลไกป้องกันตนเองโดยการสร้างเม็ดสีเมลานินเพื่อประโยชน์ดังกล่าว (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

2) เซลล์เมลาโนไซต์

เซลล์เมลาโนไซต์ (ภาพที่ 3) จะสร้างเม็ดสีเมลานินซึ่งทำหน้าที่ดูดซับแสงในช่วงแสง ที่มองเห็น (Visible Light: 400-700 nm) และช่วงแสงอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet: 281-400 nm) ปริมาณเมลานินที่ไม่เท่ากันของคนต่างเชื้อชาติต่างเผ่าพันธุ์จะทำให้เกิดความแตกต่างของสีผิว เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆ ของร่างกายของคนคนเดียวกันพบว่า จำนวนเมลาโนไซต์จะแตกต่างกันในส่วนต่างๆของร่างกาย พบว่าบริเวณใบหน้าจะพบเมลาโนไซต์หนาแน่นที่สุด ส่วนบริเวณลำตัวและแขนขาจะมีน้อยลงตามลำดับ ในคนผิวขาวและคนผิวดำจะมีจำนวนเมลาโนไซต์ต่อพื้นที่ของร่างกายไม่แตกต่างกัน แต่การทำงานของเมลาโนไซต์ในคนผิวดำจะทำงานมากกว่า ขนาดของเมลาโนไซต์โตกว่า มีเดนไดรต์ (Dendrite) มากกว่า (ดวงดาว ฉันทศาสตร์, 2540)



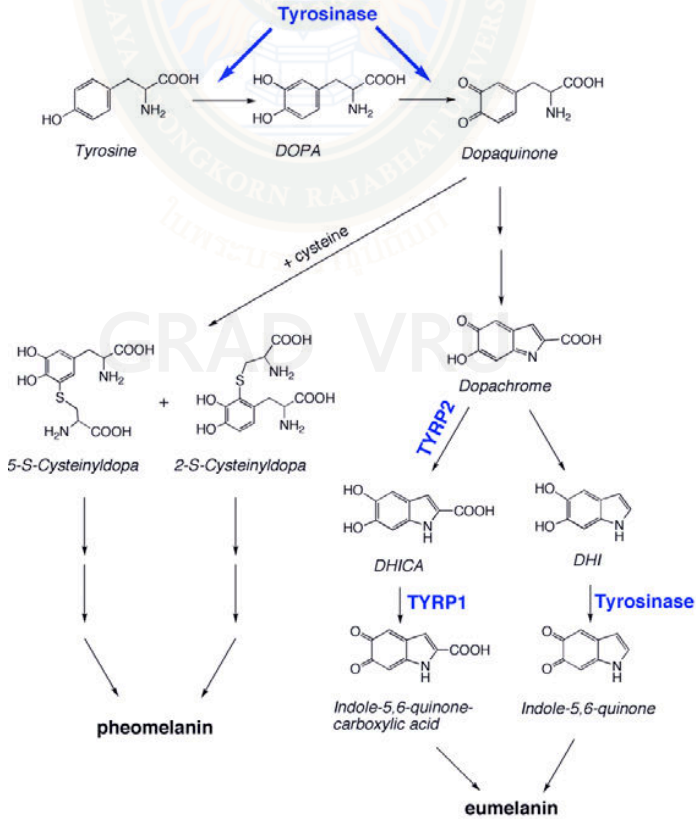
ภาพที่ 3 ลักษณะการสร้างเม็ดสีผิวของเมลานิน

ที่มา: http://www.mayoclinic.org/skin-layers-and-melanin/img-20007151

3) เอนไซม์ไทโรสิเนส

เอนไซม์ไทโรสิเนส เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เอนไซม์โพลีฟีนอล ออกซิเดส เป็น Rate Limiting Enzyme ของกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (บัวนัส วงษ์สุด และคนอื่นๆ, 2545) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเมลานินซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีบนผิวหนัง สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสจึงมีผลยับยั้งการสร้างเมลานิน เนื่องจากมีความสามารถเป็น Chelating Agent เป็นสารกลุ่ม Phenolic Acid ซึ่งจะเข้าจับกับทองแดงในโมเลกุลของเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Tyrosine ที่เป็นเอมีนที่มีอยู่ตามผิวหนังมนุษย์ไปเป็น Dopa และต่อไปเป็น Dopaquinone จากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยา Polymerization จนเป็นเม็ดสีเมลานินทำให้ผิวหนังมีสีเข้มขึ้น (ภาพที่ 4)

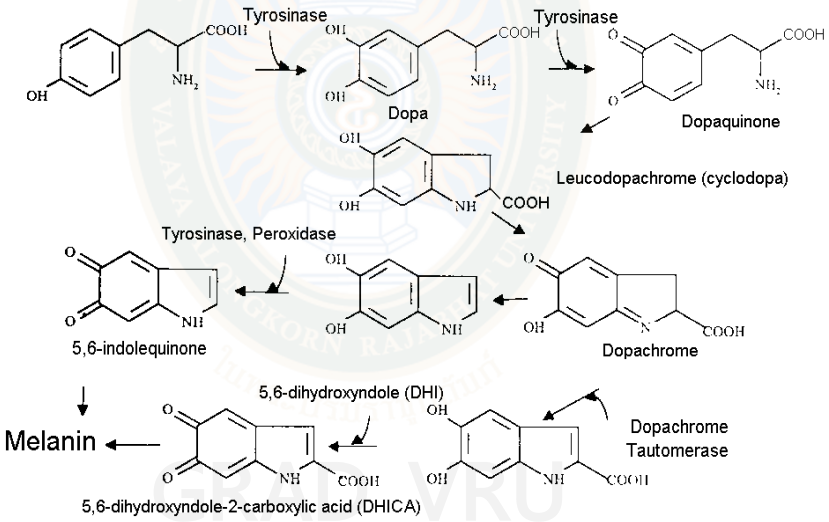
กระบวนการสร้างเม็ดสีจะอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่อยู่ในผิวหนัง ไปเป็น DOPA แล้วเปลี่ยน DOPA เป็น Dopaquinone และเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันผ่านสารมัธยันต์อีกหลายขั้นตอนจนได้เม็ดสี 2 ชนิด คือ เม็ดสียูเมลานิน (Eumelanin) ซึ่งมีสีน้ำตาลหรือดำ และเม็ดสีฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) ซึ่งมีสีแดงหรือเหลือง (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2554) ปฏิกิริยากระบวนการสร้างเม็ดสีทั้ง 2 ชนิดนี้ แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การเกิดเม็ดสี Eumelanins และ Pheomelanin จาก Tyrosine หรือ Dopa
ที่มา: นิสากร แซ่วัน (2553)

4) กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน

กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน มีขั้นตอนตามภาพที่ 4 โดยสารเริ่มต้นในการสร้างเมลานิน คือ L-Tyrosine จะถูกเปลี่ยนเป็น L-DOPA โดยเอนไซม์ไทโรสิเนส จากนั้น L-DOPA จะถูกเปลี่ยนต่ออย่างรวดเร็วไปเป็น Dopaquinone โดยเอนไซม์ไทโรสิเนส จากนั้น Dopaquinone จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น Dopachrome ซึ่งมีสีแดง และถูกเปลี่ยนต่อไปอีกจนสุดท้ายได้เป็นเมลานิน ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ Eumelanin และ Pheomelanin เซลล์จะสร้างเมลานินชนิดใดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับเชื้อชาติ และลักษณะทางพันธุกรรม กล่าวคือ ในคนผิวดำจะมี Eumelanin ปริมาณมาก ส่วนคนผิวขาวจะพบ Pheomelanin มาก สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการเป็น Chelating Agent และมีประโยชน์ในการพัฒนายาเพื่อรักษาโรคผิวหนังบางชนิด นอกจากนี้ยังอาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ช่วยให้ผิวขาวได้ (บุญชู ศรีตุลารักษ์ และคนอื่นๆ, 1998)



ภาพที่ 5 กระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน

ที่มา: http://www.bio.davidson.edu

5) กลไกการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน

5.1) การป้องกันรังสีอุลตราไวโอเลต เช่น สารอนินทรีย์ สารดูดซับรังสีอุลตร้าไวโอเลต ที่มีคุณสมบัติสะท้อนแสงปรือกระจายแสงได้ เช่น Titanium Dioxide ซึ่งกลไกนี้เป็นการป้องกันปัจจัยที่กระตุ้นการสร้างเมลานิน คือ แสงแดด

5.2) การใช้สารที่ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรสิเนส

5.3) การใช้สารที่มีคุณสมบัติกำจัดอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับเมลานิน ซึ่งจะชะลอปริมาณเมลานินที่จะสร้างขึ้น เช่น วิตามินอี (ดวงดาว ฉันทศาสตร์, 2540)

5.4) การใช้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส โดยมีคุณสมบัติเป็น Copper-Chelating Agent เข้าจับกับอิออนของทองแดงในโมเลกุลของเอนไซม์ ซึ่งออกฤทธิ์โดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ จึงจัดเป็นสารกลุ่ม Suppressive Type เช่น Kojic Acid

5.5) การใช้สารที่เป็นพิษต่อเมลาโนไซต์ เช่น Hydroquinone และ Monobenzyl Ether of Hydroquinone (HBEH) ซึ่ง Hydroquinone ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส (บัวนัส วงษ์สุด และคนอื่นๆ, 2545)

GRAD VRU

ส่วนที่ 2
ภาคปฏิบัติ

โดย
นางสาวฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์
นักศึกษาปริญญาโท

GRAD VRU

สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ปฏิบัติการที่ 1
เรื่อง TLC Fingerprints ของดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

หลักการและทฤษฎี

เทคนิครงคเลขผิวบาง (Thin Layer Chromatography) เป็นเทคนิคที่ใช้แยกและตรวจสอบสารปริมาณน้อยๆ ในงานวิเคราะห์และใช้ในงานพรีแพเรทีฟ (Preparative) ซึ่งใช้กับสารปริมาณมากๆ ได้ด้วย โดยใช้เฟสอยู่กับที่แผ่บนแผ่นรองรับ หรือซัพพอร์เทอร์ซึ่งทำด้วยแก้วหรืออลูมิเนียมหรือ พอลิเอทีลีน (Polyethylene) เมื่อหยดสารละลายตัวอย่างซึ่งเป็นสารผสมลงบนแอดซอร์เบนท์เรียบร้อยแล้ว จึงนำแผ่น TLC ใส่ลงในแทงก์ซึ่งบรรจุเฟสเคลื่อนที่หรือระบบตัวทำละลายทีเหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการที่เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนที่ไปบนเฟสอยู่กับที่ซึ่งเรียกว่าดีวีลอปเมนท์ (Development) จะเกิดการแยกสารประกอบต่างๆ ออกจากกันโดยอาศัยกลไกที่กล่าวมาข้างต้นแล้วว่าอาจมีกลไกมากกว่าหนึ่งกลไกก็ได้ ขึ้นอยู่กับธรรมชาติและคุณสมบัติของเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ แอดซอร์เบนท์ของทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีส่วนใหญ่จะใช้ซิลิกาเจลอลูมินาหรือเซลลูโลส

1) การเตรียมแผ่น TLC ก่อนอื่นต้องเตรียมน้ำยาแขวนตะกอนของแอดซอร์เบนท์ ซึ่งทำโดยนำซิลิกาเจลหรืออลูมินาผสมน้ำ เขย่าในขวดซึ่งจุกแน่นเป็นเวลา 30–45 วินาที สำหรับเซลลูโลสต้องใช้เครื่องคนแม่เหล็กช่วยการผสม จากนั้นนำสารละลายไปแผ่บนแผ่น TLC ให้มีลักษณะบาง และหนาสม่ำเสมอกันทั่วทั้งแผ่น แล้วนำไปทำให้แห้งในอากาศก่อน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2) การจุดหรือสปอตสารละลายตัวอย่างบนแผ่น TLC โดยใช้แคบิลลารี (Capillaries) พยายามให้จุดเล็กไม่เกิน 2.5 มิลลิเมตร ถ้าสารละลายมีปริมาตรสูงให้หยดหลายๆ ครั้ง และทำให้แต่ละครั้งแห้งก่อนค่อยหยดซ้ำ นำแผ่น TLC ที่สปอตสารตัวอย่างและสารมาตรฐานแล้วไปดีวีลอปในแทงก์ซึ่งทำให้อิ่มตัวก่อน (Presaturate) ด้วยระบบตัวทำละลายที่จะใช้ หลังจากดีวีลอปแผ่น TLC หากเป็นสารมีสีจะเห็นและรู้ตำแหน่งของสารที่แยกได้ทันที แต่สารส่วนใหญ่ไม่มีสี จึงต้องมีวิธีการที่จะบอกตำแหน่งของสารที่แยกได้หรือบอกว่าสารที่แยกได้เป็นสารกลุ่มใด โดยใช้น้ำยาตรวจสอบแบบทั่วไป หรือน้ำยาตรวจสอบแบบจำเพาะเจาะจง

ประโยชน์ของเทคนิครงคเลขผิวบาง ที่นำมาใช้ในการศึกษาสารเคมีในสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ พอสรุปได้ดังนี้

1) ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดนั้นๆ มีสารกี่ชนิด หรืออาจบอกได้ว่ามีสารประเภทใด

2) ใช้หาระบบของตัวทำละลาย (Solvent System) สำหรับการแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

3) ใช้ตรวจสอบสารที่แยกได้จากโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ เพื่อรวบรวมส่วนที่แยกได้ที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน

4) ใช้ตรวจสอบว่าสารบริสุทธิ์หรือไม่ ทำได้โดยเปลี่ยนระบบของตัวทำละลายที่ต่างกันอย่างน้อย 3 ระบบ ถ้าทั้ง 3 ระบบพบว่ามีสารเพียงสารเดียวในโครมาโทแกรม แสดงว่าสารนั้นๆ บริสุทธิ์

5) ใช้ตรวจสอบว่าสาร 2 ชนิดเป็นสารเดียวกันหรือไม่ โดยการทำ TLC ผสม คือ ทำ TLC 3 จุด จุดที่ 1 และจุดที่ 3 เป็นสารสองสารตามลำดับ ส่วนจุดกลางจะเป็นของผสมระหว่างสารทั้งสอง ถ้าโครมาโทแกรมพบว่าจุดทั้งสามมีค่า R_f เท่ากัน แสดงว่าสารทั้งสองเป็นสารตัวเดียวกัน

วัตถุประสงค์

ทำ TLC Fingerprints ดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เพื่อตรวจหาสาร Flavonoid

วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

1) สมุนไพรดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

2) อุปกรณ์/เครื่องมือ

2.1) เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Vacuum Rotary evaporator)

2.2) เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (UV-Lamp)

2.3) เครื่องชั่งดิจิตอล (Digital Scale)

2.4) อ่างน้ำร้อน (Water Bath)

2.5) เครื่องแก้วสำหรับพ่นน้ำยาตรวจวัด (TLC Sprayer)

2.6) ถังทำ TLC (TLC TanK)

2.7) เครื่องแก้วพื้นฐาน

สารเคมี

1) สารเคมีที่ใช้ทำ TLC โดยบ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์

1.1) สารมาตรฐานรูทิน (Rutin) หรือสารมาตรฐานเคอร์เซติน (Quercetin)

1.2) น้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอธิลลีนไกลคอล (NP/PEG)

1.3) เมทานอล (Methanol)

1.4) ตัวทำละลาย ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) โทลูอีน (Toluene) เอทิลอะซิเตต (Ethyl Acetate) กรดฟอร์มิก (Formic Acid) กรดอะซิติก (Acetic Acid) และน้ำ (H_2O)

วิธีการทดลอง

1) วิธีการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค TLC Fingerprints

1.1) การทำ TLC Fingerprints ที่บ่งชี้ด้วยสารมาตรฐานประเภทฟลาโวนอยด์

- ชั่งผงดอกคำฝอยและใบฝรั่ง 0.5 กรัม อุ่นกับเมทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำร้อน (Water Bath) ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรอง

- นำสารสกัดที่ได้ ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Vacuum Rotary Evaporator) ให้แห้ง แล้วละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายมาตรฐานรูทิน 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล

- นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายสารมาตรฐาน (3 ไมโครลิตร) มาแต้มบนแผ่น TLC ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปใส่ในถังทำ TLC ที่อิ่มตัวด้วยระบบตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท-กรดฟอร์มิก-กรดอะซิติก-น้ำ ให้น้ำยาซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 5 เซนติเมตร

- นำแผ่น TLC ออกมาทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วพ่นด้วยน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์ พอลิเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG) (พ่น PEG ก่อนแล้วจึงพ่นตามด้วย NP) ทิ้งไว้ให้แห้งและสังเกตการเรืองแสงภายใต้รังสียูวีความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร สังเกตและบันทึกผลการทดลอง

- การเตรียมน้ำยาเนเจอรัลโปรดักส์-โพลีเอทิลลีนไกลคอล (NP/PEG, Natural Products-Polyethylene Glycol)

สารละลาย A: ละลายไดฟินิลโบริลออกซีเอทิลเอมีน 1 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร

สารละลาย B: ละลายโพลีเอทิลีนไกลคอล 5 กรัม ในเอทานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีใช้: ฉีดพ่นสารละลาย A แล้วตามด้วยสารละลาย B

GRAD VRU

ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 2
เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

หลักการและทฤษฎี

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพร กำลังเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน กระทรวงสาธารณสุขมีนโยบาย และดำเนินการที่ชัดเจนในการส่งเสริม การวิจัย การพัฒนา ตลอดจนส่งเสริมการผลิตและการใช้สมุนไพร ทำให้มีผลิตภัณฑ์ที่ผสมสมุนไพรหรือมีสมุนไพรเป็นส่วนประกอบมากมายหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์ประเภทเพอซันแนล แคร์ (Personal Care) อโรมาเทอราพี (Aromatherapy) และสปา (Spa) เป็นต้น โลชันบำรุงผิวจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง ก็เป็นหนึ่งในความหลากหลายที่น่าสนใจ มีความปลอดภัย เนื่องจากเป็นโลชันที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพร

จากการศึกษางานวิจัยพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ พบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิด เช่น ลูกเดือย เถาสิรินธรวัลลี มะม่วงโชคอนันต์ แก่นมะหาด หม่อน สีเสียด เป็นต้น มีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางเภสัช สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ดอกคำฝอยและใบฝรั่งเป็นพืชสมุนไพรเพื่อสุขภาพของไทยชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณทางยาและทางเครื่องสำอางที่น่าสนใจศึกษา จากการศึกษาเบื้องต้น พบว่า มีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ซึ่งสารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิดเป็นเม็ดสีเมลานิน (Melanin) ทำให้ผิวหนังมีสีเข้มขึ้นหรือสีผิวคล้ำขึ้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาวิจัยสารกลุ่มนี้จากดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ ผู้บริโภคสามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติได้อย่างปลอดภัยในชีวิตประจำวัน และยังเป็นการพัฒนา ส่งเสริม และเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทยอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

สารเคมี

โลชันพื้น และสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

อุปกรณ์

Beaker 50 และ 250 ml

Dropper

ช้อนตักสาร

Hot Plate

Cylinder 100 ml

Stirring Rod

Thermometer

เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

Watch Glass

วิธีการปฏิบัติ

1) แบ่งส่วนประกอบของตำรับโลชันออกเป็นวัฏภาคน้ำ (Water Phase) และวัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase)

2) อุ่นวัฏภาคทั้งสองบนหม้ออังไอน้ำ โดยอุ่นให้อุณหภูมิของวัฏภาคน้ำสูงถึง 73-78 ℃ และอุ่นวัฏภาคน้ำมันให้อุณหภูมิสูงถึง 70-75℃ (ให้อุณหภูมิวัฏภาคน้ำสูงกว่าวัฏภาคน้ำมัน 2-3 ℃)

3) ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันโดยเทผ่านแท่งแก้วคนให้เป็นสายพร้อมทั้งคนเบาๆ ติดต่อกันตลอดเวลา ใส่สารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งลงไป และคนเบาๆ จนกระทั่งโลชันเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

ผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

ส่วนที่ 3
การวัดและประเมินผล

โดย
นางสาวฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์
นักศึกษาปริญญาโท

GRAD VRU

สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

3.1 แบบทดสอบความรู้ผู้เข้ารับการอบรม

<u>คำชี้แจง</u> เลือกคำตอบที่ถูกต้องที่สุดเพียงข้อเดียว

3.1.1 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกประโยชน์และสรรพคุณของพืชสมุนไพรไทยได้

1. “ดอกคำฝอย” เป็นพืชที่ปลูกกันมากทางภาคใดของประเทศไทย
    ก. ภาคใต้
    ข. ภาคกลาง
    ค. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
    ง. ภาคเหนือ
2. ท่านคิดว่า ข้อใดเป็นลักษณะของฝรั่งพันธุ์ขี้นก
    ก. ลูกใหญ่ เมล็ดน้อย
    ข. รสฝาด เมล็ดน้อย
    ค. ลูกเล็ก ไส้มีสีแดง
    ง. ลูกเล็ก รสหวาน
3. ท่านคิดว่า “คำฝอย” เป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกันกับพืชชนิดใด
    ก. สารภี
    ข. ดาวเรือง
    ค. ทานตะวัน
    ง. โป๊ยเซียน
4. พืชสมุนไพรข้อใดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสและช่วยลดการสังเคราะห์เม็ดสีผิว (Melanin) ในผิวหนังได้
    ก. ชะเอมเทศ ถั่วเหลืองอบแห้ง
    ข. ขมิ้นชันสด ปอสาอบแห้ง
    ค. บัวบกสด โลดทะนงอบแห้ง
    ง. ถูกทุกข้อ
5. ข้อใดต่อไปนี้<u>ไม่ใช่</u>พืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการแก้ปัญหารอยหมองคล้ำและจุดด่างดำของผิว
    ก. ขี้เหล็ก กระเจี๊ยบแดง
    ข. แก่นมะหาด พญายา
    ค. สีเสียด หม่อน
    ง. ลูกเดือย เถาสิรินธรวัลลี

GRAD VRU

3.1.2 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถทราบถึงกระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนสได้

6. ข้อใดคือสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดปัญหาความบกพร่องของผิวพรรณ เช่น ฝ้า จุดด่างดำ กระ และรอยหมองคล้ำ

ก. ความรุนแรงของแสงแดดและความร้อน

ข. การกินยาคุมกำเนิด

ค. การใช้ผลิตภัณฑ์ผสมสารลอกผิวบ่อยๆ

ง. การเผชิญกับมลพิษ ควันพิษและฝุ่นละอองในอากาศ

7. ปัญหาความหมองคล้ำและรอยด่างดำบนใบหน้า เกิดจากกระบวนการในข้อใด

ก. การสังเคราะห์ด้วยแสง

ข. การสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรสิเนส

ค. การสังเคราะห์เมลานิน

ง. การยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรสิเนส

8. ข้อใดคือบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญของเอนไซม์ไทโรสิเนส (Tyrosinase Enzyme) ต่อกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน

ก. เป็นตัวสังเคราะห์แสง

ข. เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ค. เป็นสารตั้งต้น

ง. เป็นสารตัวกลาง

9. ผิวหนังชั้นใดที่สัมผัสกับแสงแดดมากที่สุด

ก. ชั้นหนังกำพร้า

ข. ชั้นหนังแท้

ค. ผิวหนังชั้นล่าง

ง. ผิวหนังชั้นใน

10. ในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนังเอนไซม์ไทโรสิเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนกรดอะมิโนชนิดใดไปเป็นสารที่มีชื่อว่า โดปา (Dopa)

ก. ไลซีน

ข. ลิวซีน

ค. ไทโรซีน

ง. ทริบซีน

GRAD VRU

3.1.3 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีการแยกองค์ประกอบทางเคมีและปฏิบัติการแยกสารอย่างง่ายด้วยเทคนิครงคเลขผิวบางได้

11. ตัวทำละลายชนิดใดที่ใช้สกัดแยกสารออกฤทธิ์จากดอกคำฝอยและใบฝรั่งได้ดีที่สุด
    ก. น้ำ (Water)
    ข. เอทานอล (Ethanol)
    ค. เมทานอล (Methanol)
    ง. เฮกเซน (Hexane)
12. ข้อใด ไม่ใช่ ประโยชน์ของการแยกสารด้วยเทคนิครงคเลขผิวบาง
    ก. ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดที่ได้มีสารกี่ชนิด ประเภทใด
    ข. ใช้หาระบบของตัวทำละลาย
    ค. ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีได้แก่ pH
    ง. ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร
13. ข้อใดเป็นวิธีการที่สามารถทำให้มองเห็นสารที่แยกได้จากแผ่น TLC
    ก. การสเปรย์ด้วยไอโอดีน
    ข. การสเปรย์ด้วยกรดซัลฟุริค
    ค. การมองภายใต้แสง UV
    ง. ถูกทุกข้อ
14. การ Spot สารละลายตัวอย่างลงบนแผ่น TLC ควรมีขนาดไม่เกินเท่าไร
    ก. 0.1 มิลลิลิตร
    ข. 1.0 มิลลิลิตร
    ค. 2.0 มิลลิลิตร
    ง. 2.5 มิลลิลิตร
15. การสกัดแยกสารสำคัญจากดอกคำฝอยและใบฝรั่งด้วยเทคนิครงคเลขผิวบางส่วนใหญ่ใช้สารใดเป็นวัฏภาคอยู่กับที่
    ก. Silica Gel
    ข. Alumina
    ค. Cellulose
    ง. Polyamide

GRAD VRU

3.1.4 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถปฏิบัติและบอกประโยชน์ของผลิตภัณฑ์โลชันจากการสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

16. คุณสมบัติของโลชัน (Lotion) ตรงกับข้อใดมากที่สุด

ก. เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ ดูดซึมได้ดี

ข. เป็นของเหลวข้นคล้ายน้ำมัน มีความหนืด

ค. สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์แต่ไม่ละลายในน้ำ

ง. สามารถละลายได้ดีในไขมัน แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

17. ข้อใดไม่ใช่ขั้นตอนในการทำโลชัน

ก. นำส่วนผสมยกตั้งไฟจนหลอมละลาย

ข. นำส่วนผสมไปให้ความร้อน ผ่านน้ำที่อุณหภูมิ 70–75 องศาเซลเซียส

ค. อุ่นวัฏภาคทั้งสองบนหม้ออังไอน้ำ (Water Bath) โดยอุ่นให้อุณหภูมิของวัฏภาคน้ำสูงกว่าวัฏภาคน้ำมัน 2-3 องศาเซลเซียส

ง. ค่อยๆ เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันพร้อมทั้งคนเบาๆ ติดต่อกันตลอดเวลา จากนั้นนำไปอังกับน้ำเย็นเพื่อทำให้โลชันเย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว

18. วิธีที่ถูกต้องในการเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันของการทำโลชันควรทำอย่างไร

ก. เทลงตรงกลางบีกเกอร์

ข. ค่อยๆ เทลงข้างบีกเกอร์

ค. เทผ่าน Stirring Rod ให้เป็นสายพร้อมทั้งคนเบาๆ

ง. เทผ่าน Stirring Rod ให้เป็นสายอย่างรวดเร็ว

19. ข้อใดคือประโยชน์ของการทำโลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและ ใบฝรั่ง

ก. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของพืชสมุนไพรแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

ข. เพื่อส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยในท้องถิ่น

ค. เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ สามารถใช้ในชีวิตปัจจุบันได้อย่างปลอดภัย

ง. ถูกทุกข้อ

20. ในฐานะผู้บริโภค ท่านคิดว่าในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ทาผิวประเภทโลชัน ควรคำนึงถึงข้อใดมากที่สุด

ก. ต้องไม่เหนียวเหนอะหนะ

ข. ต้องมีความคงตัวที่ดีทั้งทางกายภาพและทางเคมี

ค. ต้องล้างน้ำออกได้ง่าย

ง. ถูกทุกข้อ

เฉลยแบบทดสอบความรู้ผู้เข้ารับการอบรม

1.	ง.	2.	ค.	3.	ค.	4.	ง.	5.	ก.
6.	ก.	7.	ค.	8.	ข.	9.	ก.	10.	ค.
11.	ข.	12.	ค.	13.	ค.	14.	ง.	15.	ก.
16.	ก.	17.	ง.	18.	ค.	19.	ง.	20.	ง.

GRAD VRU

แบบประเมินความพึงพอใจในการอบรม
เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง
โดย นางสาวฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์

คำชี้แจง ทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องที่ตรงกับความคิดเห็นของท่าน

หัวข้อประเมิน	ระดับความพึงพอใจ				
	5	4	3	2	1
1. เนื้อหาในการอบรมเหมาะสม					
2. บุคลิกภาพของวิทยากรผู้ให้การอบรม					
3. เทคนิคในการถ่ายทอด					
4. อุปกรณ์และโสตทัศนูปกรณ์					
5. เอกสารที่ได้รับจากการอบรม					
6. ระยะเวลาในการอบรม					
7. สถานที่จัดอบรม					
8. อาหารว่างและอาหารกลางวัน					
9. ความรู้จากการอบรมสามารถนำไปใช้ปฏิบัติจริง					
10. ประโยชน์ที่ได้รับจากการอบรม					

GRAD VRU

ข้อเสนอแนะ.....
.....
.....

หมายเหตุ

5 หมายถึงมากที่สุด
4 หมายถึงมาก
3 หมายถึงปานกลาง
2 หมายถึงน้อย
1 หมายถึงน้อยที่สุด

แบบประเมินชุดฝึกอบรม

หัวข้อพิจารณา		ความคิดเห็นผู้ทรงคุณวุฒิ			ข้อเสนอแนะ
		สอดคล้อง (+1)	ไม่แน่ใจ (0)	ไม่สอดคล้อง (-1)	
ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม มีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ดังนี้					
1. เอกสารประกอบการอบรมและกิจกรรมการอบรม 1.1 เนื้อหาครอบคลุมเรื่องที่อบรม 1.2 ความถูกต้องของเนื้อหา 1.3 กิจกรรมการอบรม					
ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ มีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ดังนี้					
2.1 กิจกรรมการทดลอง 2.2 วัสดุ/อุปกรณ์ มีความเหมาะสม					
ส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผล					
3.1 แบบทดสอบ 3.1.1 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกประโยชน์และสรรพคุณของสมุนไพรไทยได้	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
3.1.2 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถเข้าใจกระบวนการสร้างเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนสได้	6				
	7				
	8				
	9				
	10				

GRAD VRU

หัวข้อพิจารณา		ความคิดเห็นผู้ทรงคุณวุฒิ			ข้อเสนอแนะ
		สอดคล้อง (+1)	ไม่แน่ใจ (0)	ไม่สอดคล้อง (-1)	
3.1.3 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีการแยกองค์ประกอบทางเคมีและปฏิบัติการแยกสารอย่างง่ายด้วยเทคนิครงคเลขผิวบางได้	11				
	12				
	13				
	14				
	15				
3.1.4 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถปฏิบัติการและบอกประโยชน์ของโลชันจากสมุนไพรผสมสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งได้	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
3.2 แบบประเมินความพึงพอใจในการอบรมสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของโครงการ 3.2.1 หัวข้อประเมินครอบคลุมกิจกรรมการอบรม 3.2.2 ระดับความพึงพอใจ					

GRAD VRU

ภาคผนวก ง

ผลการประเมินชุดฝึกอบรมจากผู้ทรงคุณวุฒิ

GRAD VRU

ตารางที่ ง.1 สรุปค่าความสอดคล้อง (IOC) ของแบบประเมินชุดฝึกอบรม

หัวข้อพิจารณา	ข้อ	ผู้ทรงคุณวุฒิ คนที่			IOC	ความหมาย
		1	2	3		
ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรม มีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ดังนี้						
1.1 ความครอบคลุมของเนื้อหา		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
1.2 ความถูกต้องของเนื้อหา		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
1.3 การเรียบเรียงของเนื้อหา		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
1.4 กิจกรรมการอบรม		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ มีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ดังนี้						
2.1 กิจกรรมการทดลอง		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
2.2 วัสดุ/อุปกรณ์ มีความเหมาะสม		1	1	1	1.00	สอดคล้อง
ส่วนที่ 3 การวัดและประเมินผล						
3.1 แบบทดสอบ	1	1	0	1	0.66	สอดคล้อง
3.1.1 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีการแยกองค์ประกอบทางเคมีและปฏิบัติการแยกสารอย่างง่ายด้วยเทคนิครงคเลขผิวบางได้	2	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	3	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	4	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	5	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
3.1.2 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกความหมายของกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยเอนไซม์ไทโรสิเนสได้	6	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	7	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	8	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	9	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	10	0	1	1	0.66	สอดคล้อง
3.1.3 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกประโยชน์และสรรพคุณของสมุนไพรไทยได้	11	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	12	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	13	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	14	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	15	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
3.1.4 ผู้เข้ารับการอบรมสามารถบอกวิธีและปฏิบัติการทำผลิตภัณฑ์โลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งได้	16	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	17	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	18	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	19	1	1	1	1.00	สอดคล้อง
	20	1	1	1	1.00	สอดคล้อง

ตารางที่ ง.1 (ต่อ)

หัวข้อพิจารณา	ข้อ	ผู้ทรงคุณวุฒิ			IOC	ความหมาย
		1	2	3		
3.2 แบบประเมินความพึงพอใจ						
3.2.1 หัวข้อประเมินครอบคลุมกิจกรรมการอบรม		1	1	1	1	สอดคล้อง
3.2.2 ระดับความพึงพอใจ		1	1	1	1	สอดคล้อง

GRAD VRU

ภาคผนวก จ

ภาพประกอบการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

GRAD VRU

ภาพที่ จ.1 ผู้วิจัยได้บรรยายเรื่องการทำผลิตภัณฑ์โลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

ภาพที่ จ.2 การเตรียมส่วนผสมในการทำโลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

ภาพที่ จ.3 การทำผลิตภัณฑ์โลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

ภาพที่ จ.4 ผลิตภัณฑ์โลชันจากสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่งที่ผู้อบรมได้ทำขึ้น

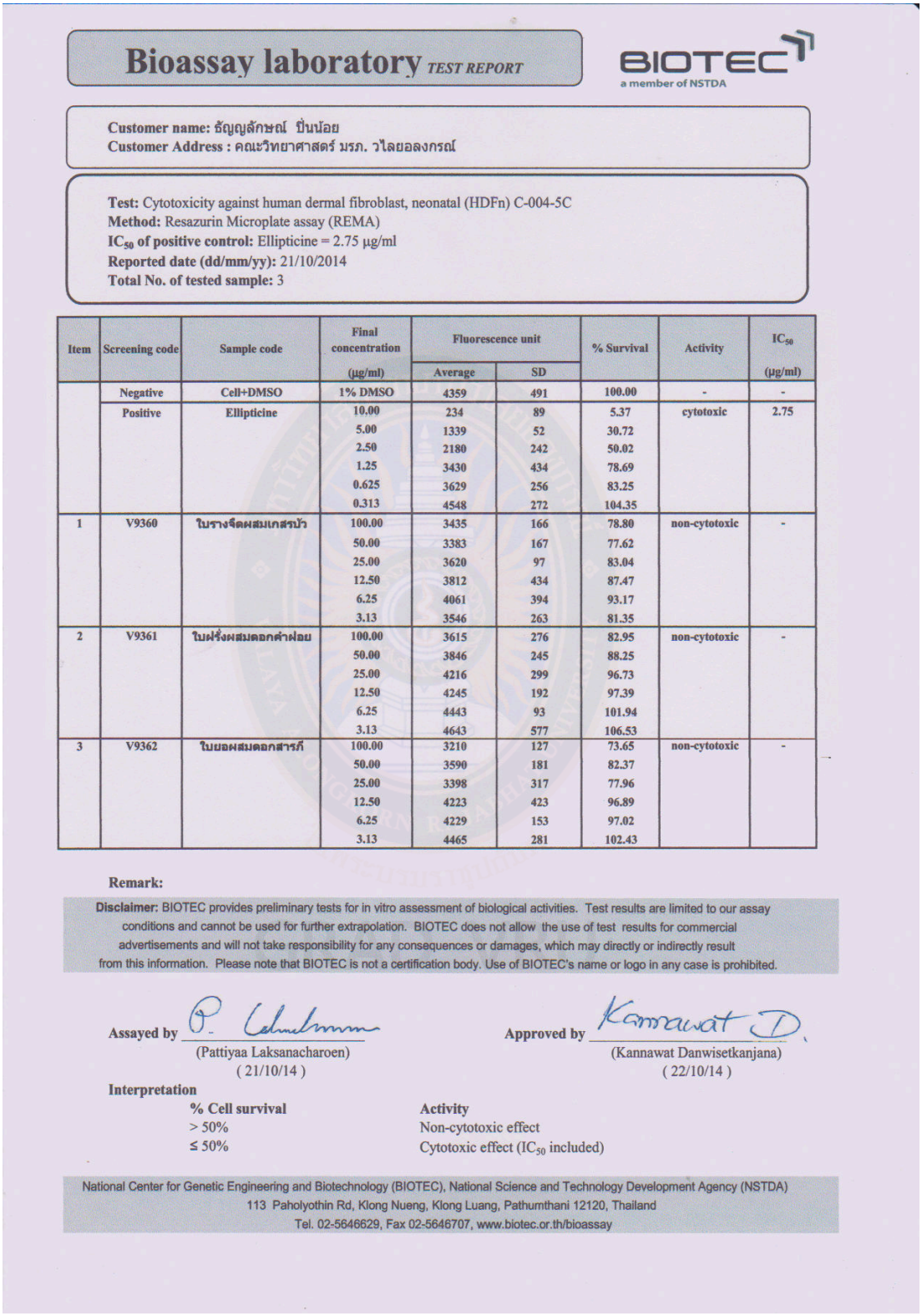
ภาพที่ จ.5 ผู้เข้ารับการอบรมทำแบบทดสอบ

ภาพที่ จ.6 ร่วมถ่ายภาพกับผู้เข้ารับอบรม

ภาคผนวก ฉ

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

GRAD VRU



Bioassay laboratory *TEST REPORT*

BIOTEC
a member of NSTDA

Customer name: ธัญญลักษณ์ ปิ่นน้อย
Customer Address : คณะวิทยาศาสตร์ มรภ. วไลยอลงกรณ์

Test: Cytotoxicity against human dermal fibroblast, neonatal (HDFn) C-004-5C
Method: Resazurin Microplate assay (REMA)
IC_{50} of positive control: Ellipticine = 2.75 µg/ml
Reported date (dd/mm/yy): 21/10/2014
Total No. of tested sample: 3

Item	Screening code	Sample code	Final concentration (µg/ml)	Fluorescence unit		% Survival	Activity	IC_{50} (µg/ml)
				Average	SD			
	Negative	Cell+DMSO	1% DMSO	4359	491	100.00	-	-
	Positive	Ellipticine	10.00	234	89	5.37	cytotoxic	2.75
			5.00	1339	52	30.72		
			2.50	2180	242	50.02		
			1.25	3430	434	78.69		
			0.625	3629	256	83.25		
			0.313	4548	272	104.35		
1	V9360	ใบรางจืดผสมเกสรบัว	100.00	3435	166	78.80	non-cytotoxic	-
			50.00	3383	167	77.62		
			25.00	3620	97	83.04		
			12.50	3812	434	87.47		
			6.25	4061	394	93.17		
			3.13	3546	263	81.35		
2	V9361	ใบฝรั่งผสมดอกคำฝอย	100.00	3615	276	82.95	non-cytotoxic	-
			50.00	3846	245	88.25		
			25.00	4216	299	96.73		
			12.50	4245	192	97.39		
			6.25	4443	93	101.94		
			3.13	4643	577	106.53		
3	V9362	ใบยอผสมดอกสารภี	100.00	3210	127	73.65	non-cytotoxic	-
			50.00	3590	181	82.37		
			25.00	3398	317	77.96		
			12.50	4223	423	96.89		
			6.25	4229	153	97.02		
			3.13	4465	281	102.43		

Remark:

Disclaimer: BIOTEC provides preliminary tests for in vitro assessment of biological activities. Test results are limited to our assay conditions and cannot be used for further extrapolation. BIOTEC does not allow the use of test results for commercial advertisements and will not take responsibility for any consequences or damages, which may directly or indirectly result from this information. Please note that BIOTEC is not a certification body. Use of BIOTEC's name or logo in any case is prohibited.

Assayed by (Pattiyaa Laksanacharoen) (21/10/14)

Approved by (Kannawat Danwisetkanjana) (22/10/14)

Interpretation

% Cell survival	Activity
> 50%	Non-cytotoxic effect
≤ 50%	Cytotoxic effect (IC_{50} included)

National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA)
113 Paholyothin Rd, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
Tel. 02-5646629, Fax 02-5646707, www.biotec.or.th/bioassay

ภาพที่ ฉ.1 ภาพแสดงรายงานผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบดอกคำฝอยและใบฝรั่ง

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ –นามสกุล	ฐิตารีย์ ชุ่มชัยพฤกษ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	20 พฤษภาคม 2527
สถานที่เกิด	จังหวัดปทุมธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	12 หมู่ 11 ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2549	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ. 2552-ปัจจุบัน	ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย
ที่ทำงานปัจจุบัน	มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย
รางวัลหรือทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

GRAD VRU