ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม
Antioxidant Activity of Emblic Toner

ธนโรจน์ ทิมอุดม[1] รศ.พญ.ดวงพร นะคาพันธุ์ชัย[2]
[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา, S59562807008@ssru.ac.th
[2]อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา, duangporn.na@ssru.ac.th

บทคัดย่อ

มะขามป้อม (Phyllanthus emblica) เป็นพืชผลที่มีสรรพคุณในการบำรุงผิว เนื่องจากพบว่าสารสกัดจากผลมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง โทนเนอร์ที่ผสมสารสกัดมะขามป้อมเป็นผลิตภัณฑ์ใช้ได้ง่ายสำหรับทุกสภาพผิว จึงเหมาะสำหรับนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดมะขามป้อมและโทนเนอร์ที่ผสมสารสกัดมะขามป้อม โดยนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 274.40±23.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 2.42±0.02 และ 4.13±0.01 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อมิลลิลิตรสารสกัด ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดมะขามป้อมไปใช้ผสมเป็นโทนเนอร์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ร้อยละ 2 และร้อยละ 3 พบว่าเนื้อสารละลายโทนเนอร์ทุกความเข้มข้นมีลักษณะใส สีน้ำตาล มีกลิ่นอ่อน ๆ ไม่ตกตะกอน ไม่เหนอะหนะ มีความคงตัว และพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มแปรผันตรงตามความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อม โดยโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 3 มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 45.53±0.73 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของโทนเนอร์ 100 กรัม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 2.01±0.02 และ 1.38±0.06 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าโทนเนอร์สูตรพื้นฐาน ดังนั้นโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมจึงเหมาะสำหรับนำไปใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, โทนเนอร์, สารสกัดมะขามป้อม

Abstract

Indian gooseberry (Phyllanthus emblica) is a fruit tree. It has fruits with skin-nourishing properties according to a number of studies disclosing that emblic extract has high content of phenolic compounds, which are effectively antioxidant. Since toner with emblic extract is a handy product which is suitable for all skin types, it should be developed as a skincare. This study aimed to determine total content of phenolic compounds and antioxidant activity in emblic extract and emblic toner. The amount of total phenolic compounds was measured using Folin-Ciocalteu reagent, and antioxidant activity were determined using DPPH and ABTS methods with Trolox standard. The result shows that emblic extract totoal phenolic content was found to be 274 ±23.98 mg of gallic acid equivalent per 100 g of extract, and antioxidant activity using DPPH and ABTS methods were found to be 2.42±0.02 and 4.14±0.01 mg of Trolox equivalent per ml of extract, respectively. As toner was mixed with 1%, 2%, and 3% of emblic extract, it was found that toner, with any concentration, was clear and brown with mild smell. This toner was not precipitated nor sticky. Furthermore, Toner with 3% emblic extract had the most total phenolic compounds as 45.53±0.73 mg of gallic acid equivalent per 100 g of toner and had antioxidant activity using DPPH and ABTS methods as 2.01±0.02 และ 1.38±0.06 mg of Trolox equivalent per ml of toner, respectively. Apparently, emblic toner was more antioxidant than basic formula toner. Therefore, emblic toner is appropriate to be developed as a skincare.

Keywords: antioxidant activity, toner, emblic extract

บทนำ

มะขามป้อม (Indian gooseberry) ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Phyllanthus emblica Linn. เป็นสมุนไพรที่พบทั่วไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีประวัติการใช้เป็นยาในตำราอายุรเวทและยาในแพทย์แผนไทยมาอย่างยาวนาน โดยหนึ่งในสรรพคุณของผลมะขามป้อมที่สำคัญนั้น ได้แก่ ช่วยบำรุงเนื้อหนังให้สมบูรณ์ (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, 2557) ทั้งนี้ในทางวิทยาศาสตร์พบว่าสารสกัดมะขามป้อม (Emblic Extract) มีสารฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก (Scarte zzini, Antognoni, Raggi, Poli, & Sabbioni, 2006) และยังมีคุณสมบัติที่ดีสำหรับผิว ได้แก่ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส และยับยั้งเอนไซม์อีลาสเตส (Pientaweeratch, Panapisal, & Tansirikongkol, 2016) นอกจากนี้ยังช่วยทำให้ผิวขาวกระจ่างใสอีกด้วย (Draelos, 2017) จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมะขามป้อมมีศักยภาพในการนำมาเป็นส่วนผสมในเวชสำอางเพื่อบำรุงผิวได้เป็นอย่างดี

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์และเนื้อเยื่อ ทำให้ช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของผิวไม่ให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย (Ames et al., 1993) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในพืชเป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอลรวม เช่น ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (เจนจิราและประสงค์, 2554) การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ การใช้วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของอนุมูลอิสระโดยสารฟีนอลในสารสกัดพืชจะให้อิเลกตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH หรือ ABTS โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ เป็นมาตรฐาน คือ โทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของวิตามินอี ซึ่งเรียกว่า TEAC มาจากคำว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity แสดงถึงสารตัวอย่าง 1 กรัม มีฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่ากับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ที่มีน้ำหนักในหน่วยมิลลิกรัม

โทนเนอร์เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เหมาะสำหรับเช็ดทาผิวหน้าหลังทำความสะอาดสำหรับปรับสภาพผิวจากการถูกรบกวนสมดุลกรดเบสหลังล้างหน้า มีลักษณะเป็นน้ำยาใส (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2544) ซึ่งมี ทั้งสูตรที่มีแอลกอฮอล์สำหรับผิวมันและสูตรพื้นฐานจากโพรพิลีนไกลคอลสำหรับผิวระคายเคืองง่าย (Draelos, 2017) ซึ่งใช้น้ำและกลีเซอรีนให้ความชุ่มชื้นร่วมกับสารสกัดอื่น ๆ ซึ่งหากเป็นสารที่ได้มาจาก

ธรรมชาติ จะช่วยในการถนอมผิวได้อีกด้วย เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแต่ละชนิดแล้วโทนเนอร์จะไม่ทิ้งความ เหนียวเหนอะหนะให้กับใบหน้า จึงสามารถใช้ได้กับทุกสภาพผิว

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม
2. เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม

ขอบเขตการวิจัย (Research Scope)

1. ขอบเขตเนื้อหา

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1 ร้อยละ 2 และร้อยละ 3

2. ขอบเขตด้านตัวแปร

2.1 ตัวแปรต้น คือ ความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อมในโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม

2.2 ตัวแปรตาม คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม

3. สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์โภชนเภสัชภัณฑ์และเวชสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม

2. ขั้นตอนการวิจัย

2.1 การเตรียมโทนเนอร์

2.1.1 เตรียมโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม 3 สูตร จากโทนเนอร์สูตรพื้นฐาน (toner base) ได้แก่ โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 1, เข้มข้นร้อยละ 2, และเข้มข้นร้อยละ 3, ซึ่งประกอบด้วยสารสกัดมะขามป้อม(Emblic extract liquid) โดยสกัดด้วยน้ำ และมีอัตราส่วนน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักแห้ง (extraction ratio) เท่ากับ 1:10 (สเปเชี่ยลตี้ เนเชอรัล โปรดักส์, ประเทศไทย), อัลลานโทอิน (allantoin), อะมิโนโคท)aminocoat), กลีเซอรีน) glycerin), ไกลแดนท์)glidant), ไตรทาโนลามีน)trithanolamine), และน้ำกำจัดไอออน (deionized water) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนผสมโทนเนอร์เพิ่มสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1 ร้อยละ 2 และร้อยละ 3 จากโทนเนอร์สูตรพื้นฐาน

องค์ประกอบ	**ความเข้มข้นขององค์ประกอบ (%W/W)**			
	โทนเนอร์ สูตรพื้นฐาน	**โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม**		
		ร้อยละ 1	**ร้อยละ 2**	**ร้อยละ 3**
กลีเซอรีน	2	2	2	2
ไกลแดนท์	↑	↑	↑	↑
อะมิโนโคท	3.10	3.10	3.10	3.10
อัลลานโทอิน	↓	↓	↓	↓
น้ำกำจัดไอออน	94.9	93.9	92.9	91.9
สารสกัดมะขามป้อม	0	1	2	3
ไตรทาโนลามีน	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
รวม	100	100	100	100

หมายเหตุ q.s. คือ การปรับความเป็นกรดเบสให้เหมาะสมกับผิวหน้า (pH ประมาณ 5.5)

2.2 การทดสอบความคงตัว

ทดสอบความคงตัวภายในภาวะเร่งที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที และแบบร้อนเย็น (heating cooling) โดยเก็บสารตัวอย่างในภาชนะปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (นับเป็น 1 รอบ) ทดสอบรวม 7 รอบ (ญาณิกา ลือชาพุฒิพร, 2557) แล้วตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น การแยกชั้น ความขุ่น การตกตะกอน และความเป็นกรดเบส

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalte Colorimetric โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ละลายสารสกัดด้วยน้ำกำจัดไอออน และนำสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิดปริมาตร 80 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (spectrophotometry) ซึ่งคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารตัวอย่าง (ดัดแปลงวิธีจากสุธิรา มณีฉาย และประสบอร รินทอง, 2559)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธี DPPH free radical scavenging activity เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

ทดสอบโดยเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 65 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.10 mM DPPH ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อย 95 ปริมาตร 135 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องไว้เป็นเวลา 30 นาที ในที่มืดและนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่

ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (A_s) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวควบคุม (blank) จากนั้นคำนวณหาค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการ DPPH scavenging effect (%) = $[(A_c - A_s)/A_c] \times 100$ (A_c คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่เติมสารตัวอย่าง และ A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เติมสารตัวอย่าง เมื่อหักด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมแล้ว) แล้วเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558)

วิธี ABTS scavenging activity เป็นการทดสอบโดย ABTS (2,2’-Azino-bis-(3-ethyben-zothia zoline-6-sulfonic acid diammonium salt) จะเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี

เตรียมสารละลาย ABTS โดยการผสม 7 mM ABTS กับ 2.45 mM โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตในน้ำกลั่น แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนสารละลายมีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.8 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร การทำปฏิกิริยาทำได้โดยเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 160 ไมโครลิตร บ่มไว้ 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี คำนวณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (A_s) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวควบคุม (blank) และคำนวณหาค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการ % Inhibition = $[(A_c - A_s)/A_c] \times 100$ (A_c คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่ไม่เติมสารตัวอย่าง และ A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่เติมสารตัวอย่าง เมื่อหักด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมแล้ว) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (ดัดแปลงวิธีจากสุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558)

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n=3) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์สารสกัดมะขามป้อมและผลิตภัณฑ์โทนเนอร์

การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดมะขามป้อม คือ ใส สีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นอ่อน ๆ มีค่า pH เท่ากับ 4.06±0.09 ส่วนโทนเนอร์สูตรพื้นฐานมีลักษณะภายนอก คือ ใส ไม่มีสี ไม่มีความหนืด มีค่า pH เท่ากับ 6.21±0.4 และโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมมีลักษณะทุกสูตรความเข้มข้นคล้ายคลึงกัน คือ มีลักษณะใส มีสีน้ำตาล มีกลิ่นอ่อน ๆ ไม่มีความหนืด ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอน เมื่อนำไปทดสอบความคงตัว พบว่ามีความคงตัวดี มีค่า pH ลดลงเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม ก่อนและหลังทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง

คุณสมบัติทางกายภาพ	**โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม**					
	ร้อยละ 1		**ร้อยละ 2**		**ร้อยละ 3**	
	ก่อน	**หลัง**	**ก่อน**	**หลัง**	**ก่อน**	**หลัง**
สี	ใส, น้ำตาลอ่อน	ใส, น้ำตาลอ่อน	ใส, น้ำตาลปานกลาง	ใส, น้ำตาลปานกลาง	ใส, น้ำตาลเข้ม	ใส, น้ำตาลเข้ม
ความหนืด	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
pH	5.66±0.04	5.64±0.03	5.64±0.03	5.57±0.03	5.63±0.06	5.55±0.02
การหมุนเหวี่ยง	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
การทำร้อน-เย็น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
การตกตะกอน	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี

2. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลทั้งหมด (total phenolic content) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อม, โทนเนอร์สูตรพื้นฐาน, โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 1, เข้มข้นร้อยละ 2, และเข้มข้นร้อยละ 3 ดังนี้ 274.40±23.98, 4.21±.0.17, 29.90±.0.46, 38.14±.0.99และ 45.53±.0.73มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารตัวอย่าง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์สารสกัดมะขามป้อมและผลิตภัณฑ์โทนเนอร์

การวิเคราะห์	**สารประกอบฟีนอลทั้งหมด** (mg GAE/100g sample)
สารสกัดมะขามป้อม	274.40±23.98
โทนเนอร์สูตรพื้นฐาน	4.21±.0.17
โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม ร้อยละ 1	29.90±.0.46
โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม ร้อยละ 2	38.14±.0.99
โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม ร้อยละ 3	45.53±.0.73

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดมะขามป้อมและผลิตภัณฑ์โทนเนอร์

ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ ด้วยวิธีการ 2 วิธี คือ วิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม, โทนเนอร์สูตรพื้นฐาน, โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 1, เข้มข้นร้อยละ 2, และเข้มข้นร้อยละ 3 มีค่าเท่ากับ 2.42±0.02, 1.31±0.04, 1.58±0.08, 1.81±0.10 และ 2.01±0.02 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อมิลลิลิตรของสารตัวอย่าง

ส่วนวิธี ABTS พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม, โทนเนอร์สูตรพื้นฐาน, โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 1, เข้มข้นร้อยละ 2, และเข้มข้นร้อยละ 3 เท่ากับ 4.13±0.01, 1.15±0.01, 1.19±0.09, 1.26±0.04 และ 1.38±0.06 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อมิลลิลิตรของสารตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดมะขามป้อมและผลิตภัณฑ์โทนเนอร์

วิธีทดสอบ	**สารต้านอนุมูลอิสระ** (mg Trolox equivalent/ml sample)				
	สารสกัดมะขามป้อม	**โทนเนอร์สูตรพื้นฐาน**	**โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม**		
			ร้อยละ 1	**ร้อยละ 2**	**ร้อยละ 3**
DPPH	2.42±0.02	1.31±0.04	1.58±0.08	1.81±.010	2.01±0.02
ABTS	4.13±0.01	1.15±0.01	1.19±0.09	1.26±0.04	1.38±0.06

อภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม ผลการวิจัยพบว่า สารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดมะขามป้อมในงานวิจัยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 274.40±23.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม เทียบเท่ากับ 27.44±2.40 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม (อัตราส่วนการสกัดของน้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสารสกัด เท่ากับ 10:1) ดังนั้น เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนในหน่วยเดียวกัน พบว่ามีค่ามากกว่าของสารสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำในงานวิจัยของ (Juree Charoentee-raboon, Chatri Ngamkitidechakul, Noppamas Soonthornchareonnon, Kanjana Jaijoy and Seewaboon Sireeratawong, 2010) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 34.22 ±1.74 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม และน้อยกว่าของสารสกัดมะขามป้อมซึ่งสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งเท่ากับ 65.01 ±10.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ทั้งนี้ เนื่องจากคุณสมบัติของสารสกัดมะขามป้อมอาจแตกต่างกันตามแหล่งเพาะปลูกและวิธีการสกัดสารสกัดที่แตกต่างกันไปได้ และเมื่อพิจารณาสารสกัดมะขามป้อมที่ใช้ในงานวิจัยนี้พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดก็อยู่ในช่วงค่าที่มีเคยมีการศึกษาในงานวิจัยอื่นเช่นเดียวกัน

โทนเนอร์ที่ผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 3 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับโทนเนอร์สูตรพื้นฐานและโทนเนอร์ที่ผสมสารสกัดมะขามป้อมที่เข้มข้นร้อยละ 1 และเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 45.53±0.73 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของโทนเนอร์ 100 กรัม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 2.01±0.02 และ 1.38±0.06 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่มีในโทนเนอร์ทุกความเข้มข้นมีแนวโน้มแปรผันตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Giovanna Piluzza & Simonetta Bullitta, 2011) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ผลการทดสอบความคงตัวของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมพบว่ามีความคงตัวดี ใส มีสีน้ำตาล ไม่มีการตกตะกอน มีค่า pH ลดลงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบกับโลชันผสมสารสกัดหยาบมะขามป้อมเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวล (ณพัฐอร บัวฉุน และ วิชุดา มั่นจิตร, 2561) ซึ่งพบว่าความหนืดเริ่มลดลงที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และแยกชั้นหลังจากผ่านสภาวะทำให้แข็งตัวและละลาย เนื่องจากโทนเนอร์เป็นสารละลายกลุ่มมีขั้วเช่นเดียวกับสารสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำ ซึ่งแตกต่างจากโลชันที่มีตัวทำละลายทั้งมีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ร่วมกัน ทำให้โทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมมีความคงตัวของสูงกว่า ดังนั้นโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมจึงเหมาะสำหรับนำไปใช้เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาประสิทธิผลทางคลินิคและความปลอดภัยของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อม
2. ควรศึกษาคุณสมบัติของโทนเนอร์ผสมสารสกัดมะขามป้อมที่มีผลต่อผิวในด้านอื่น ๆ เช่น ความชุ่มชื้น การควบคุมความมัน และความกระจ่างใส เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการดำเนินงานวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง (Reference)

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์.** (1), น.59-70

ชนัญ ผลประไพ และศรัณยู อุ่นทวี. (2562). การพัฒนากระบวนการเตรียมสารสกัดสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **Thai Journal of Science and Technology**, 8(5), น.479-492)

ญาณิกา ลือชาพุฒิพร. (2557). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสีผมชั่วคราวที่ประกอบด้วยสารสกัดจากธรรมชาติ. การศึกษาโดยอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาสาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

ณพัฐอร บัวฉุน และวิชุดา มั่นจิตร. (2561). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**, 13(2), น. 86-97)

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2544). **เครื่องสำอางเพื่อความสะอาด: Cleansing cosmetics (ฉบับปรับปรุง).** กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, วงศ์สถิต ฉั่วกุล, ภานุพงศ์ พงษ์ชีวิน, เลญญาภาญจน์ พงศ์กิจวิทูร, อำพล บุญเปล่ง และอุบลวรรณ บุญเปล่ง. (2557). **สมุนไพรและเรื่องยาไทยในยาสามัญประจำบ้าน** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: หจก.สามลดา จำกัด.

สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจิรญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. **วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์**, 15(1), น. 106-117)

สุธิรา มณีฉาย และประสบอร รินทอง. (2559). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อย. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 44(1), 142-152

สุพนิดา วินิฉัย, นคร เหลืองประเสริฐ, นวลปรางค์ ไชยคุป และจันทิมา หอมกลบ. (2010). ฤทฐ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทฐ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทิลอะซีเตดจากผลมะขามป้อมจากแหล่งในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 (น. 91-99). กรุงเทพฯมหาวิทยาลัย :เกษตรศาสตร์.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 90(19), p.7915-7922

Draelos, Z.D. (2017). The science behind skin care: Cleansers. **The journal of Cosmetic Dermatology**, 17, 8-14. Doi:10.1111/jocd.12469

Giovanna Piluzza & Simonetta Bullitta. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. **Pharmaceutical Biology**, 49(3), p.240–247

Juree Charoenteeraboon , Chatri Ngamkitidechakul , Noppamas Soonthornchareonnon, Kanjana Jaijoy , and Seewaboon Sireeratawong. (2010). Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of Phyllanthus emblica Linn. **Songklanakarin Journal Science Technology**, 32(6), p.599-604

Leite, L., &Dourado, L. (2013). Laboratory activities, sciences education and problem-solving skills. Procedia-Social and Behavioral Sciences. 106, p.1677-1686.

Pientaweeratch, Panapisal, & Tansirikongkol. (2016). Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of Phyllanthus emblica, Manilkara zapota and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. **Pharmaceutical Biology**, 54 (9), p.1865–1872

Scartezzini, P., Antognoni, F., Raggi, M.A., Poli, F., & Sabbioni, C. (2006). Vitamin C content and antioxidant activity of the fruit and of the Ayuravedic preparation of Emblica officinalis Gaertn. **Journal of Ethnopharmacology**, 104(1-2), 113-118. doi:10.1016/j.jep.2005.08.065