



การพัฒนาสูตรครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบฝรั่ง
DEVELOPMENT OF A SUNSCREEN FORMULA CONTAINING
GUAVA LEAF EXTRACT

นลิน โมรา

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การพัฒนาสูตรครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบฝรั่ง
DEVELOPMENT OF A SUNSCREEN FORMULA CONTAINING
GUAVA LEAF EXTRACT

นลิน โมรา

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การพัฒนาสูตรครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบฝรั่ง
DEVELOPMENT OF A SUNSCREEN FORMULA CONTAINING
GUAVA LEAF EXTRACT

นลิน โมรา

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
2567

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. रुपนีย์ สารศรี)

อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. อำภา จิมีไธสง)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นิสากร แซ่วัน)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้ ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความร่วมมือ ความช่วยเหลือ และการสนับสนุนจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.อำภา จิมนะสง ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาต่าง ๆ และช่วยตรวจสอบแก้ไขการศึกษาค้นคว้าอิสระนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ด้วยความเอาใจใส่ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่แม่ฟ้าหลวงทุกๆ ท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณธนัชชา ประเสริฐ ที่ให้คำปรึกษา และดูแลอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับเครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณทุกกำลังใจที่ยิ่งใหญ่ที่คอยสนับสนุน ช่วยเหลือ และให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา จากบิดา มารดา สมาชิกในครอบครัว ตลอดจนเพื่อนๆ ปริญญาโท สำนักวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางที่คอยช่วยเหลือและแนะนำให้การศึกษาค้นคว้าอิสระนี้เสร็จลุล่วงสมบูรณ์

ท้ายที่สุดนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าการศึกษาค้นคว้าอิสระนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ หากมีสิ่งผิดพลาดประการใด ผู้เขียนขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นลิน โมรา

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การพัฒนาสูตรครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบฝรั่ง
ชื่อผู้เขียน	นลิน โมรา
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.อำภา จิมไธสง

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง และวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบฝรั่ง พร้อมทั้งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบฝรั่งด้วยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS โดยทำการสกัดใบฝรั่งด้วยวิธีอัลตราโซนิก ใช้เอทานอล: น้ำ อัตราส่วน 80/20 (v/v) เป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองพบว่า สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลอมเขียว มีร้อยละผลผลิต (%yield) เท่ากับ 19.88 ± 0.28 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ $2,879.86 \pm 2.18$ mg GAE/g extract ปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 699.37 ± 8.30 mg QE/g extract ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 348.85 ± 4.18 mg AAE/g extract สารสกัดใบฝรั่งแสดงการดูดกลืนแสงช่วง 250-450 นาโนเมตร และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 286 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS องค์ประกอบหลักที่พบในสารสกัดใบฝรั่ง ได้แก่ quercetin, myricetin, catechin, epicatechin, apigenin, kaempferol, rutin, naringenin, luteolin, hesperetin และอนุพันธ์ของสารเหล่านี้ จากนั้นพัฒนาตำรับกันแดดพ่นให้เนื้อเนียน ไม่เหนอะหนะ และคงตัวดีเมื่อนำไปผสมกับสารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5% สารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 5% มีค่า SPF ต่ำ (2.23) แต่เมื่อนำไปผสมกับ Titanium dioxide 6% และ Bisotrizole 7% ส่งผลให้ค่า SPF จาก 21.73 ± 1.34 เป็น 34.55 ± 3.27 คิดเป็น 59% การทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งในสภาวะเร่ง (Heating-cooling cycle), ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง และที่สภาวะ 45 องศาเซลเซียส พบว่าไม่เกิดการแยกชั้น สีของตำรับเข้มข้น ค่าความหนืดและค่าความเป็น

กรด-ด่าง (pH) ไม่เปลี่ยนแปลง ประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดหลังจากผ่านไป 4 สัปดาห์ที่
สภาวะ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มลดลง จาก SPF
 34.55 ± 3.27 เป็น 28.54 ± 4.53 , 30.76 ± 3.08 และ 23.90 ± 2.57 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ใบฝรั่ง, กันแดด, ประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด, ความคงตัว



Independent Study Title Development of a Sunscreen Formula Containing Guava Leaf Extract

Author Nalin Mora

Degree Master of Science (Cosmetic Science)

Advisor Assoc. Prof. Ampa Jimtaisong, Ph. D.

ABSTRACT

This research aims to develop a sunscreen formulation containing guava leaf extract and to evaluate its total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and absorbance spectrum. Additionally, the chemical compositions of guava leaf extracts were analyzed using UHPLC-QTOF-MS technique. Guava leaves were extracted using ultrasonic techniques with a solvent mixture of ethanol and water at an 80:20 (v/v) ratio. The obtained extract was solid and greenish-brown, with a percentage yield of 19.88 ± 0.28 . The total phenolic content was $2,879.86 \pm 2.18$ mg GAE/g extract. The flavonoid content was 699.37 ± 8.30 mg QE/g extract. The antioxidant DPPH activity was 348.85 ± 4.18 mg AAE/g extract. The extract absorbed wavelengths in region of 250-450 nm with the maximum absorbance of 286 nm. The analysis of the chemical composition of guava leaf extract using UHPLC-QTOF-MS revealed the presence of major components such as quercetin, myricetin, catechin, epicatechin, apigenin, kaempferol, rutin, naringenin, luteolin, hesperetin, and their derivatives. Sunscreen product was prepared smooth, non-sticky and was exhibited good stability when combined with guava leaf extract at concentrations of 1, 3 and 5%. Emulsion with guava leaf extract alone showed an SPF value of 2.23 at a concentration of 5%, the incorporation of 6% Titanium dioxide and 7% Bisotrizole, the SPF value increased from 21.73 ± 1.34 to 34.55 ± 3.27 , representing a 59% increase. The

stability of sunscreen formulations containing guava leaf extracts was studied under accelerated conditions (Heating-cooling cycle), including 4 °C, room temperature, and 45 °C and showed no separation. Product showed a slight darkening in color and relatively stable in viscosity and pH values. Sun protection efficacy after 4 weeks at 4 °C, room temperature and 45 °C tended to decrease from SPF 34.55±3.27 to 28.54±4.53, 30.76±3.08 and 23.90±2.57, respectively.

Keywords: Guava leaf, Sunscreen, Sun Protection Effectiveness, Stability



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 ใบฟรัง	4
2.2 ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด	9
2.3 รูปแบบของผลิตภัณฑ์กันแดด	10
3 ระเบียบวิธีวิจัย	12
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	12
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	13
3.3 วิธีการดำเนินวิจัย	14

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	18
4.1 การเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง	18
4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	19
4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์	19
4.4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	20
4.5 สมบัติการดูดกลืนแสง	20
4.6 การวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยวิธี UHPLC-QTOF-MS	21
4.7 การพัฒนาตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง	28
4.8 การทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง	34
5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	40
5.1 สรุปผลการวิจัย	40
5.2 ข้อเสนอแนะ	41
รายการอ้างอิง	43
ภาคผนวก	50
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก	51
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์	52
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	53
ประวัติผู้เขียน	54

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
4.1 Retention times และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS	24
4.2 ส่วนประกอบของตำรับพื้กันแดดและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง	28
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด และค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับกันแดดพื้กันแดดและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง	33
4.4 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพเมื่อทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle จำนวน 6 รอบ	35
4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความหนืดของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% ทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C	36
4.6 ค่า $L^*a^*b^*$ และ ΔE ของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% ทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C	37
4.7 ค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% หลังทดสอบความคงตัวที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	38

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง	18
4.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบฝรั่งและสารกันแดด Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole)	21
4.3 ลักษณะของผลิตภัณฑ์กันแดดพื้นและผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง	30
4.4 ผลการทดสอบการแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงของตำรับ	31
4.5 ผลการทดสอบการแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงของตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% หลังทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle	34
4.6 ลักษณะของสูตรตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5% ก่อน-หลังทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle	35
4.7 ลักษณะของสูตรตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5% หลังทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์	38

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

แสงแดดประกอบด้วยความถี่ของรังสีที่แตกต่างกันตามความยาวคลื่น แสงที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่ามีความยาวคลื่นในช่วง 400-700 นาโนเมตร ซึ่งถือว่าไม่เป็นอันตรายต่อผิวของเรา ในขณะที่รังสี UV จากดวงอาทิตย์สามารถทำให้ผิวหนังของเราให้เสียหายได้แม้จะมองไม่เห็นเลยก็ตาม รังสี UV ที่เป็นอันตรายแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ๆ คือ UVA (ในช่วงความยาวคลื่น 320-400 นาโนเมตร) และ UVB (ในช่วงความยาวคลื่น 280-320 นาโนเมตร) ส่วน UVC ถูกกรองได้โดยชั้นบรรยากาศโลก ดังนั้นจึงไม่สามารถซึมผ่านเข้ามาก่อให้เกิดอันตรายต่อผิวหนังได้ โดยรังสี UVA เป็นรังสีที่สามารถแทรกซึมถึงชั้นหนังแท้ได้ไปกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระเข้าทำลายเนื้อเยื่อ และดีเอ็นเอของเซลล์ผิว โดยทำลายโครงสร้างโปรตีนที่เรียกว่าคอลลาเจน ทำให้ผิวสูญเสียความยืดหยุ่น และเรียบเนียน ทำให้ผิวเหี่ยวย่น เกิดริ้วรอยก่อนวัย ส่วนรังสี UVB เป็นรังสีที่ทะลุได้ถึงชั้นหนังกำพร้าเท่านั้น มีผลทำให้ผิวสูญเสียความชุ่มชื้น เกิดอาการแสบร้อน แดง และไหม้เกรียม ทำให้รู้สึกแสบผิว และเกิดรอยด่างจากแดดได้ หากสัมผัสระยะเวลานานอาจทำให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้ ดังนั้นจึงควรปกป้องผิวจากแสงแดดให้ได้มากที่สุด เช่น หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับแสงแดดเป็นระยะเวลานาน ๆ การสวมเสื้อผ้าให้มิดชิด การใช้อิมหรือที่บังแดด และสุดท้ายที่นิยม คือ การทาครีมกันแดด ซึ่งจะช่วยป้องกันมะเร็งผิวหนังและช่วยบำรุง ป้องกันไม่ให้ผิวแก่ก่อนวัย ป้องกันผิวหมองคล้ำและการเกิดกระฝ้า (Milani et al., 2018)

สารป้องกันแสงแดดแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารป้องกันแสงแดดแบบกายภาพ (Physical Sunscreen) เมื่อทาลงบนผิวหน้าจะเคลือบผิวสร้างเกราะป้องกันดูดซับและสะท้อนแสงโดยไม่ดูดซึมลงสู่ผิวหนัง ส่วนสารป้องกันแสงแดดแบบเคมี (Chemical Sunscreen) เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่ดูดซับพลังงานรังสียูวี ให้มีความเข้มข้นน้อยลงก่อนผ่านสู่ผิวหนัง มีประสิทธิภาพสูงแม้ทาในปริมาณน้อย แต่ดูดซึมลงสู่ผิวหนัง ซึ่งอาจก่อปฏิกิริยาภูมิแพ้ได้โดยเฉพาะในผู้ที่มีผิวแพ้ง่าย ดังนั้นในปัจจุบันการใช้สารป้องกันแสงจากแหล่งธรรมชาติจึงได้รับความนิยมมากขึ้น เพื่อป้องกันผลกระทบที่เป็นอันตรายของรังสียูวี การใช้ส่วนผสมจากธรรมชาติในสูตรเครื่องสำอาง

เป็นนวัตกรรมที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น แนวโน้มนี้ได้รับการสนับสนุนจากประชากร โดยให้การยอมรับว่าส่วนประกอบจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าส่วนประกอบที่มีแหล่งกำเนิดจากการสังเคราะห์ และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่า (Violante et al., 2009; Polonini et al., 2014)

ในปัจจุบัน มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติป้องกันแสงแดดของผลไม้บางชนิดและฤทธิ์ทางเคมีของสารสกัดจากผลไม้ในครีมนกันแดด ตัวอย่างเช่น ทับทิม (*Punica Granatum*) อุดมไปด้วย ellagitannin และ anthocyanins ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สามารถลดความเสียหายจากการถูกแดดเผา สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* L.) มีโพลีฟีนอล 60-70% เช่น resveratrol ซึ่งแสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่น และคุณสมบัติด้านการอักเสบที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมการต่อต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Mota et al., 2019) โลโคปิ่นที่พบในมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) สามารถปกป้องผิวจากผื่นแดงและป้องกันความเสียหายของผิวหนังที่เกิดจากรังสียูวีได้ (Sopyan et al., 2017) เป็นต้น

ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) เป็นไม้ยืนต้น สูง 3-10 เมตร เปลือกต้นเรียบแตกกิ่งก้านสาขามากมาย ใบหนาและแข็ง เป็นรูปวงรี ปลายใบและโคนใบมน พื้นใบมีสีเขียวอมเทา กลีบดอกสีขาวร่วงง่าย ผลคล้ายลูกแพร์หรือลูกสาละ โดยทั่วไปมีการเพาะปลูกในเขตร้อน ซึ่งในปัจจุบันมีรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารสกัดผลฝรั่งเป็นสารเสริมออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการป้องกันแสงแดดร่วมกับสารกันแดดสังเคราะห์ 2-ethyl-hexyl methoxycinnama 7.5% ส่งผลให้ค่า SPF ของสูตรกันแดดเพิ่มมากขึ้นประมาณ 134% โดยลักษณะการเพิ่มขึ้นของค่า SPF ดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของสาร 2-ethyl-hexyl methoxycinnama กับสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดสารจากผลฝรั่ง (เช่น catechin, quercetin และ myricetin) เนื่องจากการมีอยู่ของพันธะคอนจูเกตในโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ จึงสามารถดูดซับรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ ได้ รวมถึงรังสี UV ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นผู้วิจัยพบว่า ใบฝรั่งมีสารแทนนิน (Tannin) และสารเคอร์ซีทีน (Quercetin) ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส (ศิริวรรณ วีระทวีพร และคณะ, 2552) และมีรายงานว่า สารสกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ทางยา เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ รักษาอาการท้องเสีย รักษาโรคลำไส้อักเสบ ยับยั้งอาการบาดเจ็บ ฤทธิ์ผดผามาน ต้านอนุมูลอิสระ และด้านการอักเสบ (อรัญญา มโนสร้อย และจิเรเดช มโนสร้อย, 2556) รวมทั้งยังมีฤทธิ์ทางเครื่องสำอาง พงศัณณา พงศกรไพศาล (2559) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการลดความมันบนใบหน้าของโทนเนอร์ที่มีส่วนผสมจากสารสกัดใบฝรั่ง อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพการป้องกันแสงแดดของสารสกัดจากใบฝรั่ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการนำสารสกัดใบฝรั่งมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กันแดดจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ และเพื่อนำใบฝรั่งมาสร้างมูลค่าและสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง
- 1.2.2 เพื่อพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง
- 1.2.3 เพื่อศึกษาความคงตัวและประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 เตรียมสารสกัดใบฝรั่ง
- 1.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบฝรั่งในหลอดทดลอง
- 1.3.3 ศึกษาปริมาณที่สูงสุดและเหมาะสมของสารสกัดใบฝรั่งในการเตรียมตำรับกันแดด
- 1.3.4 ประเมินคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ และประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดในหลอดทดลอง
- 1.3.5 ทดสอบความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง
- 1.4.2 พัฒนาประสิทธิภาพการกันแดดของผลิตภัณฑ์กันแดดโดยใช้สารสกัดใบฝรั่ง
- 1.4.3 ช่วยเพิ่มมูลค่าของใบฝรั่ง และส่งเสริมผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติให้เป็นที่แพร่หลายมากขึ้น

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ใบฝรั่ง

2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบฝรั่ง

ใบฝรั่งประกอบไปด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาทางเคมีพบว่า ใบฝรั่งมีสารสำคัญ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก เช่น Caryophyllene, Cineol, Tannins, Sesquiter penoids, และ Triterpenoid compounds (เช่น quercetin, quercetin-3-arabinoside, guajavarin, isoquercetin, hyperin, quercitrin และ quercetin 3-O gentiobioside) นอกจากนี้ยังมี rutin, kaempferol, avicularin, ellagic acid, gallic acid, citric acid และอนุพันธ์ของกรดไขมันหลายชนิด รวมทั้ง glycerine-1 monostearate โดยใบฝรั่งถูกใช้เพื่อรักษาอาการท้องเสีย รักษาโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ รวมถึงรักษาบาดแผลและปวดฟัน และมีฤทธิ์อื่น ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง แลนอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสิว 3 ชนิด ได้แก่ *Propionibacterium acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ในงานเลี้ยงเชื้อ (อัญญา ชัตติยะวงศ์ และสิริรัตน์ พานิช, 2563)

2.1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ของใบฝรั่ง

ณพัฐอร บัวฉุน (2563) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง ผลการสกัดสารจากสารสกัดหยาบใบฝรั่ง โดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล การตรวจหาฟลักซ์เคมีเบื้องต้นโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอนพบสารรวม 5 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และ โพลิแทนนิน ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดหยาบเอทานอลของใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 138.89 ± 0.04 mg GAE/g, 157.56 ± 0.02 mg TAE/g และ 145.29 ± 0.05 mg QE/g ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารมาตรฐาน BHA และ BHT โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 12.11 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 10.09 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Tachakittirungrod et al. (2006) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชบางชนิดในประเทศไทย โดยรวบรวมพืช 24 ชนิดซึ่งพบได้ทั่วไปทางภาคเหนือของประเทศไทย นำส่วนที่น่าสนใจ เช่น ใบ ลำต้น เนื้อผลและเปลือกผล นำไปสกัดหยาบด้วยเอทานอล แล้วทำการประเมินเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 4.908 ± 0.050 mM/mg รองลงมาคือเปลือกเงาะและมังคุด โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 3.074 ± 0.003 และ 3.001 ± 0.016 mM/mg ตามลำดับ และได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสกัดจากใบฝรั่งเพิ่มเติม โดยนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เช่น n-hexane, ethyl acetate, n-butanol และ methanol แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ ABTS และ FRAP assays ผลการวิจัยพบว่า ส่วนเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ตามด้วย n-butanol และ ethyl acetate ตามลำดับ ส่วน n-hexane แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ผลการวิจัยพบว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบฝรั่งคือการกำจัด และลดปริมาณอนุมูลอิสระของตัวกลางออกซิไดซ์ ปริมาณฟีนอลในเศษใบฝรั่งมีบทบาทสำคัญในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Liang et al. (2005) ศึกษาการจำแนกฟลาโวนอยด์ และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์บนใบฝรั่ง โดยการใช้โครมาทด้วย High-performance liquid chromatography ultraviolet (HPLC-UV) และ HPLC mass spectrometry ผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC-UV พบฟีนอลิกที่รู้จัก 2 ชนิด (กรดแกลลิก และเคอซีทิน) และ 5 ชนิดที่เพิ่งรายงาน (กรดโปรคาซูอิก กรดคลอโรจีนิค กรดคาเฟอิก กรดเคมเฟอร์อล และกรดเฟอร์ูลิก) พบได้ในสารสกัดใบฝรั่งที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ผลการวิเคราะห์ด้วย Mass spectra พบฟลาโวนอยด์ 2 ชนิด (เคอซีทินและเคมเฟอร์อล) และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ 4 ชนิด (ได้แก่ quercetin 3-O-alpha-L-arabinoside, quercetin 3-O-beta-D-glucoside, quercetin 3-O-beta-D-galactoside และ kaempferol-glycoside)

Chuanoi et al. (2009) ศึกษาการพัฒนาเชอร์รี่ฝรั่งในรูปแบบไลโปโซม และประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและผลการใช้คุณสมบัติต้านไทโรซิเนสในรูปของ IC_{50} ของสารสกัดจากใบฝรั่งของความสามารถในการต่อต้านริ้วรอยและไวท์เทนนิ่ง โดยส่วนแรกของการศึกษานี้ คือ การประเมินเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสของสารสกัดจากใบฝรั่งโดยวิธี DPPH และวิธี dopachrome ตามลำดับ ส่วนที่สองของการศึกษานี้ คือ พัฒนาสูตรเชอร์รี่ที่มีไลโปโซมผสมสารสกัดจากใบฝรั่งและตรวจประเมินความสามารถในการกำจัดอนุมูลของสูตรเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบโดยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลในรูปของกรดแกลลิก การวิเคราะห์ HPLC ระบุว่าสารสกัดจากฝรั่งมีสารประกอบฟีนอลในระดับสูงในรูปของกรดแกลลิกเป็นเครื่องหมายทางเคมี จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งมีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระอย่างมี

ประสิทธิภาพ ($IC_{50} = 53.2 \mu\text{g/ml}$)ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า $IC_{50} = 9.864 \text{ mg/ml}$ ปริมาณของกรดแกลลิกที่พบในสารสกัดและเชอร์รี่มีค่าเท่ากับ $3.0743 \mu\text{g/mg}$ และ $1.041 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

Nantitanon et al. (2010) ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบฝรั่ง ผลของการปรับสภาพตัวอย่างใบก่อนนำมาสกัด วิธีการสกัดและอายุของใบ ผลการวิจัยพบว่า อัลตราโซนิกเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดใบฝรั่งให้ได้สารสกัดที่มีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมา คือ การแช่หมักที่มีการกวน การแช่หมักที่ไม่มีการกวน และสุดท้ายการสกัดด้วยซอกซ์เลต สำหรับกระบวนการปรับสภาพใบฝรั่งแนะนำให้ลวกตามด้วยการทำให้เย็นด้วยน้ำแข็ง (BCD) น้ำร้อนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัด หลักการทำงาน สารสกัดใบอ่อนที่ปรับสภาพด้วยวิธี BCD นำมาสกัดด้วยความร้อนมีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า TEAC และ EC เท่ากับ 24.30 ± 0.50 และ $20.41 \pm 0.67 \text{ mM/mg}$ ตามลำดับ ค่าเหล่านี้สูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (BHT) 1.88 และ 8.72 เท่า และสูงกว่าวิตามินอี 1.75 และ 1.21 เท่าตามลำดับ สรุปได้ว่ากระบวนการปรับสภาพและการทำให้แห้ง วิธีการสกัด และการเจริญเติบโตของใบ มีบทบาทสำคัญต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบฝรั่ง

Shu et al. (2012) ศึกษาการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของใบฝรั่ง ผลการศึกษาพบ diphenylmethane 1 ชนิด, benzophenone 1 ชนิด, flavonoids 8 ชนิด ถูกแยกและชี้แจงได้ดังนี้ 2,6-dihydroxy-3-formaldehyde-5-methyl-4-O-(6"-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl)-diphenylmethane (1), 2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-O-(6"-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl)-benzophenone (2), kaempferol (3), quercetin (4), quercitrin (5), isoquercitrin (6), guaijaverin (7), avicularin (8), hyperoside (9), reynoutrin (10) ด้วยวิธี Spectroscopy รวมถึง 1D, 2D NMR และ HR-ESI-MS spectrometry ตลอดจนเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เผยแพร่ สารประกอบ 5 และ 10 ได้มาจากฝรั่งเป็นครั้งแรก และสารประกอบ 1 คือ สารประกอบ diphenylmethane ชนิดใหม่

Seo et al. (2014) ศึกษาผลของใบฝรั่งที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ 94% เอทานอล 99.8% เมทานอลและตัวทำละลายไฮโดรเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่างกัน ทำการประเมินสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ และคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ 4 วิธี ได้แก่ DPPH, ABTS, FARP และ NO ผลการศึกษาพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบฝรั่งมีความสัมพันธ์อย่างมากกับปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลในใบฝรั่งที่สกัดด้วยน้ำมีค่าสูงขึ้นเมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยเอทานอล และเมทานอลบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดด้วยตัวทำละลายไฮโดรเอทานอลมีค่า

มากกว่าตัวทำละลายน้ำ ในขณะที่ไฮโดรเอทานอลิก 50% เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

Díaz de Cerio et al. (2016) ศึกษาสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในใบฝรั่ง โดยใช้ส่วนผสมของตัวทำละลายเอทานอล/น้ำที่แตกต่างกันในการสกัดสารประกอบฟีนอลในใบฝรั่งจากพันธุ์ pomifera และ pyrifer การจำแนกฟีนอลดำเนินการโดยใช้ HPLCESI-QTOF-MS และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC จากผลการวิเคราะห์ด้วย HPLCESI-QTOF-MS พบสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 72 ชนิด พบสารประกอบฟีนอลิก 12 ชนิดเป็นครั้งแรกในใบฝรั่ง สารประกอบฟีนอลในปริมาณสูงสุดพบในส่วนผสม EtOH/H₂O ในอัตราส่วน 80:20 (v/v) นอกจากนี้พันธุ์ pyrifer มีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลสูงกว่าพันธุ์ pomifera (113.34 เทียบกับ 86.12 mg/g) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากขึ้น

Wang et al. (2017) ศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากใบฝรั่งที่แตกต่างกันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธี high-performance liquid chromatography fingerprint ร่วมกับวิธีทางเคมีในการประเมินคุณภาพของตัวอย่างใบฝรั่ง ผลการวิเคราะห์พบสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ระบุได้ 8 ชนิด ได้แก่ rutin, isoquercitrin, quercetin-3-O- β -d-xylopyranoside, quercetin-3-O- α -l-arabinopyranoside, avicularin, quercitrin, quercetin และ kaempferol ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องหมายทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่าง 15 ชุดถูกตรวจสอบโดยใช้วิธีการที่แตกต่างกัน 3 วิธี และผลการวิจัยพบว่า ใบฝรั่งขึ้นก็มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โกลโคไซด์ และอะโกลโคนสูงกว่าตัวอย่างอื่น และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

Milani et al. (2018) ศึกษาประเมินสารสกัดวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปทางอุตสาหกรรมเกษตรของฝรั่งที่ได้มาตรฐานในกรดเอลลาจิก (Ellagic Acid) เกี่ยวกับการเสริมประสิทธิภาพการเป็นสารป้องกันแสงแดดในสูตรเครื่องสำอางและตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารดังกล่าว จากผลการทดลองพบว่า มีปริมาณฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ $2.19 \pm 0.05\%$ และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ $1.81 \pm 0.04\%$ โครงสร้างสารประกอบเหล่านี้มีวงแหวนอะโรมาติกและมีความสามารถในการดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ต นอกเหนือจากการทำให้เป็นกลางของอนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน ความเข้มข้นของกรดเอลลาจิกที่พบ คือ 4.86 ± 0.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม กรดเอลลาจิกเป็นอนุพันธ์ของเอลลาจิกแทนนินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การประเมินค่า SPF ของสูตรอิมัลชันที่มีการเพิ่มสารสกัดจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปของฝรั่งเปรียบเทียบกับสูตรอ้างอิงที่มีสารกรองแสงยูวี ethylhexyl methoxycinnamate เพียงอย่างเดียวพบว่า สูตร Phytocosmetic แสดงค่า SPF ที่สูงกว่าสูตรอ้างอิงซึ่งสารสกัดสามารถทำงานร่วมกับสารกรองรังสียูวี ethylhexyl methoxycinnamate โดยแสดงประสิทธิภาพการป้องกันแสงเพิ่มขึ้น

17.99% ในสูตร จากผลดังกล่าวมีความเป็นไปได้ที่จะอ้างว่า สารสกัดวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปของฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองและมีความสามารถในการออกฤทธิ์ร่วมกับสารกรองแสง UV แบบเคมีซึ่งดูดซับรังสีในช่วงความยาวคลื่นของสเปกตรัม UVB จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันแสงในสูตรเครื่องสำอาง สรุปได้ว่า สารสกัดวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปของฝรั่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ โดยนำไปประยุกต์ใช้กับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นนวัตกรรมใหม่ที่มีจุดประสงค์เพื่อการดูแลปกป้องแสง

Mota et al. (2019) ศึกษาประเมินศักยภาพในการใช้สารสกัดจากผลฝรั่งเป็นสารเสริมออกฤทธิ์ทางชีวภาพตามธรรมชาติในการป้องกันแสงแดดสำหรับสูตรครีมกันแดด การตรวจสอบสารพิษเคมีพบว่า ผลฝรั่งมีสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลในปริมาณมาก (ฟลาโวนอยด์และแทนนิน) และไม่มีสารที่ไวต่อแสง เช่น คูมาริน จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากผลฝรั่งแสดงการดูดกลืนแสงในช่วงของแถบ UV-B ตั้งแต่ 290 ถึง 320 นาโนเมตร และตัวอย่างสูตรครีมที่มี 2-ethyl-hexyl methoxycinnamate 7.5% ให้ค่า SPF เท่ากับ 8.1 แม้ว่าสารสกัดจากผลฝรั่งจะมีค่า SPF ต่ำ (1.0) แต่เมื่อนำไปผสมกับ 2-ethyl-hexyl methoxycinnamate 7.5% ส่งผลให้ค่า SPF ของสูตรเพิ่มมากขึ้นประมาณ 134% (18.9) เป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันระหว่างส่วนประกอบของสารสกัดและสารกันแดดแบบสังเคราะห์ ลักษณะการเพิ่มขึ้นของค่า SPF ดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของ 2-ethyl-hexyl methoxycinnamate กับสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัดจากผลฝรั่ง (เช่น catechin, quercetin และ myricetin) เนื่องจากการมีอยู่ของพันธะคอนจูเกตในโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ จึงสามารถดูดซับรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ ได้ รวมถึงรังสี UV ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า การผสมผสานระหว่างสารสกัดจากผลฝรั่งกับครีมกันแดดแบบ 2-ethyl-hexyl methoxycinnamate สามารถปรับปรุงค่า SPF ของผลิตภัณฑ์ได้ งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดจากผลฝรั่งในสูตรครีมกันแดดช่วยลดการใช้สารป้องกันแสงแดดสังเคราะห์ได้ประมาณ 78% ดังนั้นนอกจากการลดความเสี่ยงของความเป็นพิษและการระคายเคืองผิวหนังที่เกิดจากการเพิ่มสารสังเคราะห์มากเกินไป สารสกัดจากผลฝรั่งยังแสดงศักยภาพในการลดต้นทุนของผลิตภัณฑ์กันแดดได้ประมาณ 65% การไม่มีคูมารินที่สังเกตพบมีความสำคัญในการกำหนดลักษณะเฉพาะของสารสกัดจากพืช เนื่องจากเป็นสารที่ไวต่อแสง และการมีอยู่ของสารคูมารินในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอาจทำให้เกิดจุดด่างดำบนผิวหนังหลังสัมผัสกับรังสียูวี

Lorena et al. (2022) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากยาต้มใบฝรั่ง ประเมินองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่ง และสารแขวนตะกอนเอทานอล ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่งแสดงปริมาณฟีนอลทั้งหมดสูง ($89.58 \pm 7.92 \mu\text{g GAE/mg}$) และฟลาโวนอยด์ ($749.42 \pm 0.16 \mu\text{g RE/mg}$) คาเทชิน เคอซีติน

เอพิกัลโลคาเทซิน กรดโปรโตคาเทอจิก กรดแกลลิก กรดคลอโรจีนิก ไฮเปอร์โอไซด์ เคอร์ซีตริน กัวจาเวริน และกรดจาคูมาริก ถูกระบุโดย High-Resolution Liquid Chromatography-High-Resolution Tandem Mass Spectrometry (LC-HRMS-MS) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประเมินด้วยวิธี DPPH ทั้งสองตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง (EC_{50} 7.2 ± 0.41 และ 11.93 ± 0.57 $\mu\text{g/mL}$) และสามารถยับยั้ง acetylcholinesterase ได้ (IC_{50} 48.66 ± 1.39 และ 63.44 ± 1.13 $\mu\text{g/mL}$) นอกจากนี้ สารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้ง 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase (IC_{50} 8.40 ± 51 $\mu\text{g/mL}$) กลุ่มตัวอย่างไม่เป็นพิษต่อเซลล์ CaCO_2 ตามการทดสอบด้วยวิธี MTT

2.2 ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

2.2.1 โครงสร้างของรังสียูวี

รังสีดวงอาทิตย์ ประกอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet) รังสีช่วงแสงสว่าง (Visible) และอินฟราเรด (Infrared) รังสีมีคุณสมบัติตามช่วงคลื่น มักแสดงในหน่วยนาโนเมตร (Nanometer) โดยสเปกตรัมรังสีอัลตราไวโอเล็ต ประกอบด้วย 3 ส่วน

2.2.1.1 รังสี UVA อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 320-400 nm และเป็นรังสีที่ส่องลงมาถึงโลกในปริมาณมากที่สุด สามารถแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ UVAI และ UVAII ซึ่งส่งผลต่อโครงสร้างของผิว กระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานิน ทำให้ผิวหมองคล้ำ และกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระทำให้ผิวแก่ก่อนวัย

2.2.1.2 รังสี UVB อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 280-320 nm เป็นรังสีที่สามารถผ่านไปสู่ชั้นผิว Stratum corneum (SC) และ Epidermis ทำให้ผิวหนังแดงไหม้เกรียม

2.2.1.3 รังสี UVC อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 100-280 nm มีความเข้มที่สูงที่สุดของช่วง UV แต่ถูกดูดกลืนไว้เกือบหมด เป็นรังสีที่ถูกกรองไว้โดยชั้นโอโซนของโลก

2.2.2 การป้องกันแสงแดดของสารกันแดด

ในผลิตภัณฑ์กันแดดจะประกอบด้วยสารกันแดดที่ทำหน้าที่ป้องกันรังสี UV ซึ่งสารกันแดด หรือ UV Filters สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามคุณสมบัติในการป้องกันรังสี UV ดังนี้

2.2.2.1 สารกันแดดกลุ่ม Inorganic UV Filters หรือ Physical Sunscreen ทำหน้าที่ปกป้องผิวโดยการเคลือบอยู่บนผิวหนังแล้วทำการสะท้อนและกระเจิงรังสี UV ออกไปจากผิว ตัวอย่างสารกันแดดกลุ่มนี้ได้แก่ Titanium Dioxide, Zinc Oxide, Magnesium Carbonate, Calcium Carbonate, Silicates, Talc เป็นต้น เนื่องจากสารกลุ่มนี้ไม่ซึมซาบเข้าสู่ผิวชั้นลึก ทำให้มีความปลอดภัยสูงกว่าและมีโอกาสเกิดการแพ้ได้น้อยกว่าสารกันแดดกลุ่ม Organic UV Filters

ประสิทธิภาพการป้องกันแสงจะขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค โดย Inorganic UV Filters ที่มีขนาดอนุภาค 10-100 nm จะเป็นช่วงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกันแดด โดยช่วงระหว่าง 10-40 nm จะสะท้อนรังสี UVB ได้ดีกว่า ทำให้ได้ค่า SPF ที่สูง ส่วนขนาดอนุภาคช่วง 40-80 nm จะสะท้อนได้ทั้งรังสี UVA และ UVB และไม่ทำให้เกิดสีขาวออกเวลาใช้

2.2.2.2 สารกันแดดกลุ่ม Organic UV Filters หรือ Chemical Sunscreen ทำหน้าที่ปกป้องผิวจากแสงแดดด้วยการดูดซับรังสี UV แล้วคายออกในรูปแบบของความร้อน ไม่ใช่การสะท้อนแสงกลับออกไป สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มสารดูดซับรังสี UVA (UVA Absorbers) ได้แก่ สารกันแดดกลุ่ม Benzophenones, Avobenzone (ABZ), Bemotrizinol เป็นต้น และกลุ่มสารดูดซับรังสี UVB (UVB Absorbers) ได้แก่ สารกันแดดกลุ่ม Salicylates, Octyl methoxy cinnamate (OMC), Octocrylene (OCR), PABA และ Triazone Derivatives เป็นต้น (Puglia et al., 2014)

2.3 รูปแบบของผลิตภัณฑ์กันแดด

ผลิตภัณฑ์กันแดด คือ สารที่ช่วยปกป้องอันตรายจากแสงแดดที่จะมาทำลายผิวผลิตภัณฑ์กันแดดมีหลายประเภทขึ้นกับชนิดของตำรับ และสูตรที่ใช้ โดยสามารถจำแนกชนิดของผลิตภัณฑ์ตามเนื้อของผลิตภัณฑ์ได้ดังนี้

2.3.1. อิมัลชัน (Emulsion) เป็นรูปแบบที่นิยมใช้กันมากที่สุด มีข้อดี คือ สามารถเคลือบบนผิวได้ และสามารถเพิ่มสำคัญที่ละลายในน้ำหรือละลายในน้ำมันได้ง่าย สามารถแบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ คือ เนื้อโลชั่นและเนื้อครีม โดยเนื้อโลชั่นมีความนิยมนิยมมากกว่าเนื่องจากเกลี่ยง่ายกว่า ไม่เหนอะหนะให้ผิวสัมผัสที่บางเบา

2.3.2. น้ำมัน (Oils) เป็นรูปแบบเก่าของผลิตภัณฑ์กันแดด ทำสูตรง่ายเนื่องจากสารกันแดดส่วนใหญ่สามารถละลายได้ในน้ำมัน

2.3.3. เจล (Gels) มีจุดเด่นในเรื่องความสวยงามของเนื้อผลิตภัณฑ์ แต่ข้อเสียคือ ฟิล์มที่เกิดจากเนื้อเจลสามารถถูกชะล้างออกด้วยน้ำหรือเหงื่อได้ง่าย ทำให้ประสิทธิภาพกันแดดลดลง แบ่งออกได้ 3 ชนิด คือ Aqueous gels, Hydro-alcohol gels และ Oily gel

2.3.4. แท่ง (Sticks) มีความสะดวกในการใช้งาน พกพาง่าย เหมาะกับการทาบริเวณเล็กๆ

2.3.5. สเปรย์ (Aerosols) ใช้กับผิวหนังบริเวณกว้างได้ง่าย แต่ข้อเสียคือเมื่อสเปรย์ลงบนผิวแล้ว มักได้ฟิล์มที่ไม่สม่ำเสมอบนผิว ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพการกันแดดที่ลดลง

2.3.6. Ointments ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำมันและแว็กซ์ มีความเหนียวเหนอะหนะ สามารถกันน้ำได้ดี



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.1 ใบฝรั่ง (อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี)
- 3.1.2 Gallic Acid (Merck, Germany)
- 3.1.3 Folin-Ciocalteu Reagent (Merck, Germany)
- 3.1.4 Sodium Carbonate (Carlo Erba, Italy)
- 3.1.5 Quercetin (Sigma Aldrich, USA)
- 3.1.6 Sodium Nitrite (Sigma Aldrich, USA)
- 3.1.7 Aluminium Chloride (Sigma Aldrich, USA)
- 3.1.8 Sodium Hydroxide (Merck, Germany)
- 3.1.9 95% Ethanol (J.T.baker, Malaysia)
- 3.1.10 Deionized Water (ได้จากเครื่อง TKA/08.2063, Germany)
- 3.1.11 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical (Sigma Aldrich, USA)
- 3.1.12 Ascorbic Acid (Fluka, China)
- 3.1.13 Titanium Dioxide (and) Aluminum Hydroxide (and) Triethoxycaprylsilane (Micro TiO₂ 060 AS) (K.S. PEARL, Korea)
- 3.1.14 Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole) (Aurocos Speciality Chemicals, India)
- 3.1.15 Cetearyl Alcohol (Sigma Aldrich, USA)
- 3.1.16 Behenyl Alcohol (Kokyu Alcohol kogyo, Japan)
- 3.1.17 Ceterateth-20 (BASF, Germany)
- 3.1.18 Glyceryl Monostearate (Chanjao Longevity Co., Thailand)

- 3.1.19 Potassium Cetyl Phosphate (Chanjao Longevity Co., Thailand)
- 3.1.20 Caprylic/Capric Triglyceride (INOLEX Incorporated, USA)
- 3.1.21 C12-15 Alkyl benzoate (D-BASF, Shanghai)
- 3.1.22 Dimethicone (Dow Corning, USA)
- 3.1.23 Cyclopentasiloxane (Dow Corning, USA)
- 3.1.24 2-Methyl-1,3-Propanediol (Merck, Germany)
- 3.1.25 Disodium EDTA (Nouryon, China)
- 3.1.26 Hydroxyethyl Acrylate/ Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer (and) Isohexadecane (and) Polysorbate 60 (SANDSTON, USA)
- 3.1.27 Tocopheryl Acetate (Eisai, Japan)
- 3.1.28 Phenoxyethanol (and) Chlorophenesin (and) Glycerin (THOR SPECIALTY CHEMICAL, China)
- 3.1.29 Cetyl Ethylhexanoate (Chanjao Longevity Co., Thailand)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 3.2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa/XT 220A, Switzerland)
- 3.2.2 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa/XB 2200C, Switzerland)
- 3.2.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (QIS/B200, Germany)
- 3.2.4 เครื่องวัดความหนืด (BROOKFIELD/DV-II+Pro, USA)
- 3.2.5 เครื่องผสม (IKA/T25 Basic, Germany)
- 3.2.6 เครื่องวัดสี (KONICA MINOLTA/CM-700d, Japan)
- 3.2.7 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo IEC/Micromax, China)
- 3.2.8 เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific/GENESYS 10S, USA)
- 3.2.9 เครื่อง Microplate reader (BMG Labtech/FLUOstar OMEGA, Germany)
- 3.2.10 เครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (CREAT/690DAE)
- 3.2.11 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (MEMMER/WB 29, Germany)
- 3.2.12 เครื่องปั่นละเอียด (Tefel/DPA130, Thailand)
- 3.2.13 ตู้อบลมร้อน (MMM/ECOCCELL 222C, Germany)

- 3.2.14 ตู้เย็น (Haier, Thailand)
- 3.2.15 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Heidolph, Germany)
- 3.2.16 เครื่องทดสอบค่าการป้องกันแสงแดด (SPF-290S Analyzer system)
- 3.2.17 ไมโครปิเปต (GILSON, France)
- 3.2.18 Pipette Tip
- 3.2.19 ชุดกรองสุญญากาศ
- 3.2.20 กระดาษกรอง (Whatman, England)
- 3.2.21 เครื่องแก้วสำหรับการทดลอง (Duran, Germany)
- 3.2.22 เครื่อง UHPLC-QTOF/MS (Agilent Technologies/Agilent 1290 infinity II/G6545B QTOF/MS, CA, USA)

3.3 วิธีการดำเนินวิจัย

3.3.1 การเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง

เก็บใบฝรั่งสด พันธุ์พื้นเมือง ที่อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี นำใบฝรั่งมาล้างน้ำสะอาด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปบดให้ละเอียด นำผงใบฝรั่งแห้งจำนวน 100 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล: น้ำ อัตราส่วน 80/20 (v/v) 500 มิลลิลิตร ในอ่างอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากครบกำหนด ทำการกรองแยกกากด้วยกระดาษกรองวอทแมน แล้วนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) เก็บรักษาสารสกัดในภาชนะปิดทึบแสงไว้รอทดสอบต่อไปที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงตามงานวิจัยของ Seo et al., 2013)

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงวิธีจาก Tsai et al., 2005) นำตัวอย่างสารสกัดใบฝรั่งมาละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลาย 20 ไมโครกรัม เติมสารละลาย Folin-ciocalteu Reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% Na_2CO_3) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ใน 96-well Microplates ตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบจากกราฟของสารมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg of Gallic Acid Equivalent/g Extract)

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method ทดสอบโดยปิเปตสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.5 ml แล้วเติม โซเดียมไนไตรท์ (5% NaNO_2) ปริมาตร 0.3 ml และเติมอลูมิเนียมคลอไรด์ (10% AlCl_3) ปริมาตร 0.6 ml บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (4% NaOH) ปริมาตร 2 ml นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วย บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมโดยเทียบจากกราฟของสารมาตรฐานเคอร์ซีติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด (mg of Quercetin Equivalent/g Extract) (วรรณิสา แก้วบ้านกรุด, 2561)

3.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH Free Radical Scavenging Method) (ดัดแปลงวิธีจาก Jung et al., 2006) โดยเตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.1-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ จำนวน 100 ไมโครลิตร ใน 96-well Microplates ตั้งทิ้งไว้ที่มีด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก (mg Ascorbic Acid Equivalent/g Extract)

3.3.5 การวิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืนแสง

แสมกการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยนำสารสกัดมาละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 5 mg/ml จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นที่ 2.0, 1.0, 0.5 และ 0.1 mg/ml นำสารสกัดที่เจือจางไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ทดสอบในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 200-450 นาโนเมตร ภายในช่วง 2 นาโนเมตร (คณิศร์ ชาญทวีคุณ, 2565) และเปรียบเทียบกับผลลัพธ์กับสารกันแดด Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole) ซึ่งเป็นสารกันแดดกลุ่ม UVA&UVB ตามลำดับ

3.3.6 การวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยวิธี UHPLC-QTOF-MS

การวิเคราะห์ LC-QTOF ถูกปรับให้เหมาะสม โดยใช้ UHPLC Agilent 1290 Infinity II ควบคู่กับ Agilent 6545 LC-QTOF/MS (Agilent Technologies, CA, USA) ซึ่งได้พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจสอบคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ วิธีการนี้เกี่ยวข้องกับการปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของโครมาโทกราฟีให้เหมาะสม รวมถึงองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ชนิดของคอลัมน์ อัตราการไหล และอัตราส่วนของตัวทำละลาย ใช้คอลัมน์ชนิด Waters XBridge C18 (100 mm × 2.1 mm, 2.5 µm) สำหรับการแยก สารสกัดถูกเจือจางด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:25 และกรองโดยใช้ Syringe Filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Labfil, China) และถ่ายโอนไปยังขวด HPLC การชะใช้ระบบ binary gradient โดยมี 0.1 เปอร์เซ็นต์กรดฟอร์มิกในน้ำ LCMS grade (J.T.baker) เป็นตัวชะ A และ 0.1 เปอร์เซ็นต์กรดฟอร์มิกในอะซิโตนไตริล (ACN) เป็นตัวชะ B ระบบการชะแบบ gradient ได้แก่ 5-17% B ที่เวลา 0-13 นาที ตามด้วย 17-100% B ที่เวลา 13-20 นาที และ 100% B ที่เวลา 25-27 นาที ใช้อัตราการไหลที่ 0.2 มิลลิลิตร/นาที หลังการวิเคราะห์ (Post-run) ถูกตั้งค่าให้ปรับคอลัมน์ให้สมดุลเป็นเวลา 6 นาที

Dual AJS (Agilent Jet Stream) ESI ถูกนำมาใช้กับ ion source ที่อุณหภูมิแก๊ส 250 °C, Sheath gas flow ที่ อัตรา 12L/min, Drying gas อุณหภูมิ 350 °C, Drying gas flow ที่ อัตรา 10L/min และ Capillary voltage 3500 V

ทำการสแกนแมสเปกตรัมจาก m/z 50 ถึง 1100 การวิเคราะห์ MS/MS ดำเนินการโหมดอัตโนมัติด้วย collision energy (10, 20 and 40 eV) สำหรับการแยกส่วน การระบุพืชทำทั้งในโหมดไอออนบวกและไอออนลบ ในขณะที่การควบคุมเครื่องมือ การเก็บข้อมูล และการประมวลผล ดำเนินการโดยใช้ MassHunter workstation software (Qualitative Analysis, Version B.8.00) (Agilent Technologies, USA)

3.3.7 การพัฒนาตัวรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

3.3.7.1 การเตรียมตัวรับกันแดดพื้น

โดยพัฒนาตัวรับกันแดดให้อยู่ในรูปอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil in Water, O/W) มีเนื้อผลิตภัณฑ์ที่เนียน เกลี่ยง่าย ไม่เหนียวเหนอะหนะบนผิว ไม่มีการแยกชั้น ได้น้ำมันที่ตีและมีความคงตัวดี โดยพิจารณาจากลักษณะภายนอก คุณสมบัติทางกายภาพที่นำมาใช้ประเมิน ได้แก่ ลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น ความเหนียวเหนอะหนะ ความง่ายในการกระจายบนผิวเมื่อกำ และความรู้สึกเมื่อทาหลังบนผิว และทดสอบความคงตัวเบื้องต้นโดยวิธีปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที คัดเลือกสูตรตัวรับกันแดดที่มีความคงตัวที่สุดเพื่อนำไปผสมกับสารสกัดใบฝรั่ง

3.3.7.2 การพัฒนาตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากใบฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 1, 3, 5, 7 และ 10% ตามลำดับ มาพัฒนาตำรับกันแดดที่มีสารกันแดด Titanium Dioxide และ Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole) เป็นสารกันแดดกลุ่ม Physical และ Chemical Sunscreen ต่อคุณลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์และประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ทดสอบความคงตัวเบื้องต้นโดยวิธีปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วประเมินประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดโดยใช้เครื่อง SPF-290S Analyzer โดยวัดที่ความยาวคลื่น 290-400 นาโนเมตร

3.3.8 การทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

3.3.8.1 ทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิสูงสลับต่ำ (Heating-cooling cycling) โดยบรรจุตัวอย่างในภาชนะที่ปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในตู้บัตที่อุณหภูมิ 4 °C ต่ออีก 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทดลองติดต่อกันทั้งหมด 6 รอบ แล้วตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสี ค่าความหนืด การแยกชั้น และค่าความเป็นกรด-ด่าง (พิมพร ลีลาพิสิฐ, 2540)

3.3.8.2 ทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ประเมินความคงตัวทุกสัปดาห์ เช่น ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสี ค่าความหนืด การแยกชั้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง

ผลการสกัดใบฝรั่งโดยวิธีอัลตราโซนิก (Ultrasound-assisted Extraction: UAE) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล: น้ำ อัตราส่วน 80/20 (v/v) พบว่า สารสกัดใบฝรั่งที่ได้มีสีเขียวเข้ม และมีกลิ่นใบฝรั่งค่อนข้างแรง หลังจากนำไปผ่านการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน พบว่า สารสกัดหยาบของสารสกัดใบฝรั่ง มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลเข้มอมเขียว ดังแสดงในภาพที่ 4.1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบมีค่าเท่ากับ 3.977 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิต (%yield) ของสารสกัดใบฝรั่งเท่ากับ 19.88 ± 0.28



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง

4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบฝรั่งด้วยวิธี Folin-ciocalteu Reagent (ดัดแปลงวิธีจาก Tsai et al., 2005) เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก เมื่อนำค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกมาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า สารสกัดใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ $2,879.86 \pm 2.18$ mg GAE/g extract และจากรายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของมนตรี แก้วดวง และอนุจร บัญประกอบ (2566) ที่ทำการสกัดใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล และพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในใบฝรั่งกลุ่มพันธุ์พื้นเมืองมีค่าเท่ากับ $4,644.20$ mg GAE/100g FW นอกจากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นยังมีงานวิจัยของณพัชร บัวฉุน (2558) ที่พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 138.89 ± 0.04 mg GAE/g extract และ Nantitanon et al. (2010) พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบ เท่ากับ 24.3 ± 0.5 mg GAE/g fresh weight มีรายงานว่าใบฝรั่งมีสารประกอบฟีนอลหลายชนิด Huang และ Zhang (2004) รายงานว่าส่วนประกอบหลักในสารสกัดเอทานอลของใบฝรั่ง ได้แก่ ไตรเทอร์พีนคาร์โบไฮเดรต และโพลีฟีนอล

4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์

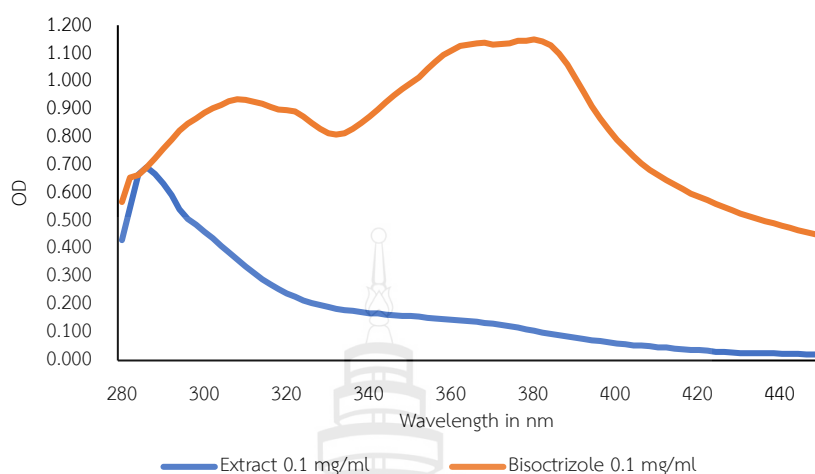
การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method (วรรณิสา แก้วบ้านกรุด, 2561) สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานเคอควิทิน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอควิทินต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 699.37 ± 8.30 mg QE/g extract และจากรายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของณพัชร บัวฉุน (2558) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของใบฝรั่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 145.29 ± 0.05 mg QE/g extract ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shruthi et al. (2013) ที่พบว่าในใบฝรั่งมีสารเคอควิทิน ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งจากการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์พบได้ในส่วนของใบ ทั้งนี้เนื่องจากในใบ จำต้องมีการสะสมของสารประกอบโพลีฟีนอลในปริมาณมาก เพื่อที่จะใช้ในการป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดมาจากความเข้มของแสงที่พืชได้รับ (Souza et al., 2005)

4.4ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH Free Radical Scavenging Ability) (ดัดแปลงวิธีจาก Jung et al., 2006) รายงานผลเป็น mg Ascorbic Acid Equivalent ต่อกรัมสารสกัด (mg AAE/g Extract) พบว่า สารสกัดใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 348.85 ± 4.18 mg AAE/g extract และจากรายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Venkatachalam et al. (2012) ที่ทำการสกัดใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล พบว่าสารสกัดใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 42.33 ± 0.76 mg AAE/g และจากงานวิจัยของ Feng et al. (2015) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบที่แยกได้จากใบฝรั่ง โดยใช้วิธี DPPH ในการทดสอบ ผลจากการศึกษาของ Feng et al. (2015) พบว่า guavinoside C, guavinoside F, quercetin, quercetin-3-O-a-L-arabinofuranoside และ quercetin-3-O-a-L-arabinopyranoside มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบฝรั่งอาจเกิดจากการมีสารประกอบฟีนอลิกสูง (Hartati et al., 2020) ใบฝรั่งมีสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง สารเหล่านี้มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Nantitanon et al., 2010; Chang et al., 2013)

4.5 สมบัติการดูดกลืนแสง

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบฝรั่งด้วยเครื่อง Microplate reader (BMG Labtech/FLUOstar OMEGA, Germany) แสดงการดูดกลืนแสงช่วง 250-450 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนแสงของ UV ช่วงการดูดกลืนแสงของ UV สามารถแบ่งได้เป็น UVC ความยาวคลื่นช่วง 200-280 นาโนเมตร UVB ความยาวคลื่นช่วง 280-320 นาโนเมตร และ UVA ความยาวคลื่นช่วง 320-400 นาโนเมตร จะเห็นได้ว่าสารสกัดใบฝรั่ง (ความเข้มข้น 0.1 mg/ml) สามารถดูดกลืนแสงสูงสุดได้ในช่วง UVB ดังนั้นสารสกัดใบฝรั่งสามารถเป็น sunscreen ในช่วง UVB ได้ แต่เมื่อเทียบผลการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบฝรั่งกับสารกันแดด Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisocotrizole) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า สารกันแดด Bisocotrizole แสดงผลการดูดกลืนแสงช่วง UV ได้ดีกว่าสารสกัดใบฝรั่ง ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งช่วง UVA และ UVB ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบฝรั่งและสารกันแดด Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole)

4.6 การวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยวิธี UHPLC-QTOF-MS

การแยกและวิเคราะห์สารสกัดใบฝรั่งด้วยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS จะทำการศึกษาสภาวะการแยก 2 สภาวะ คือ สภาวะที่เป็นบวก (Positive Mode) และสภาวะเป็นลบ (Negative Mode) ผลการทดลองพบว่าในสารสกัดหยาบของใบฝรั่งพบองค์ประกอบทางเคมีที่สามารถระบุได้ทั้งหมด 56 สาร โดยในสภาวะที่เป็นบวก (Positive Mode) พบ 13 สาร และสภาวะที่เป็นลบ (Negative Mode) พบ 43 สาร แสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งองค์ประกอบหลักที่พบในสารสกัดใบฝรั่ง ได้แก่ quercetin, myricetin, catechin, epicatechin, apigenin, kaempferol, rutin, naringenin, luteolin, hesperetin และอนุพันธ์ของสารเหล่านี้ การศึกษาของ Díaz-de-Cerio et al. (2016) รายงานว่า พบสารประกอบฟีนอล 73 ชนิดในสารสกัดใบฝรั่ง ที่สกัดด้วย ethanol:water 80/20 (v/v) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS ผลการวิเคราะห์ HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS ในโหมดไอออนลบพบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 72 ชนิด นอกจากนี้ในโหมดไอออนบวกทำให้สามารถระบุสารประกอบแอนโทไซยานินได้ นั่นคือ Cyanidin-3-O-glucoside ซึ่งสารประกอบนี้ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในใบฝรั่ง การศึกษาของ Babatola & Oboh (2021) ศึกษาคุณลักษณะและวัดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกของใบฝรั่งโดยใช้ HPLC-DAD ผลการทดลองพบสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกัน 33 ชนิด โดยสารประกอบที่พบได้มากที่สุดในใบ ได้แก่ chlorogenic acid,

rutin, vanillic acid, quercetin, and p-hydroxyl benzoic acid, syringic acid, kaempferol, myricetin, isoquercetin และ apigenin ในการศึกษาโดย Shu et al. (2012) ได้ทำการศึกษาโครมาโตกราฟีของสารสกัดใบฝรั่ง ผลการศึกษาพบ diphenylmethane 1 ชนิด, benzophenone 1 ชนิด และ flavonoids 8 ชนิด แยกได้ดังนี้ 2,6-dihydroxy-3-formaldehyde-5-methyl-4-O-(6''-O-galoyl-D-glucopyranosyl)-diphenylmethane, 2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-O-(6''-O-galoyl-D-glucopyranosyl)-benzophenone, kaempferol, quercetin, quercitrin, isoquercitrin, guajaverin, avicularin, hyperoside และ reynoutrine ในการศึกษาของ Eidenberger et al. (2013) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่งประกอบด้วย flavonol-glycosides ที่สำคัญ 7 ชนิด ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค semipreparative HPLC ได้แก่ peltatoside quercetin-3-O-arabinoglucoside, hyperoside, quercetin-3- β -O-arabinoglucoside, isoquercitrin, quercetin-3-O- β -glucoside, guajaverin และ quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside และในการศึกษาของ Chang et al. (2013) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของใบฝรั่ง ผลการทดลองพบองค์ประกอบหลัก ได้แก่ quercetin, myricetin, catechin, gallic acid, ellagic acid และอนุพันธ์ของสารเหล่านี้ ซึ่งยืนยันกับการศึกษาของเราที่พบสารประกอบเหล่านี้บางส่วนเช่นกัน นอกจากนี้ Gallic acid, catechin, epicatechin, rutin, quercetin, naringenin และ kaempferol ยังพบในใบฝรั่งในการศึกษาของ Chen et al. (2007) บางชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

โดยสรุปจากผลการทดลองการแยกและวิเคราะห์สารสกัดใบฝรั่งด้วยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS ฟลาโวนอยด์และอนุพันธ์ของไตรเทอร์พีนิกเป็นส่วนประกอบหลักที่ระบุได้ในสารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก

สารประกอบฟลาโวนอยด์มีการกระจายอย่างกว้างขวางในอาณาจักรพืชและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และการปกป้องผิวจากอันตรายจากรังสียูวี (Photoprotective) (Pietta, 2000; Lacombe et al., 2010) ความต้องการสารสกัดที่อุดมไปด้วยฟลาโวนอยด์ กลายเป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับการค้นพบโมเลกุลใหม่ที่มีฤทธิ์ในการป้องกันแสงแดด นั่นเป็นเพราะว่าโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่คล้ายคลึงกันกับสารกันแดดเคมี ซึ่งทำให้ไวต่อการดูดกลืนรังสีในช่วงแถบรังสีอัลตราไวโอเลต (Agati et al., 2013) สารสกัดจากพืชที่อุดมไปด้วยฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต สเปกตรัมการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตของฟลาโวนอยด์ มักจะแสดงพีคการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตสูงสุด 2 จุด ในแถบที่มีรังสี UV-B และ UV-A อันหนึ่งระหว่างความยาวคลื่น 240-280 นาโนเมตร และอีกอัน 300-550 นาโนเมตร ซึ่งส่งผลให้มีความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดเหล่านี้ในการพัฒนาสูตรครีมกันแดด (Bobin et al., 1995) ในการศึกษาของ Violante et al. (2009) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์ของ *Macrosiphonia velame*, *Oxalis hirsutissima* และ

Lafoensiacari ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้แสดงการดูดกลืนรังสียูวีสูงสุดที่ความยาวคลื่น 318 nm, 324 nm และ 356 nm ตามลำดับ การศึกษาไฟโตเคมีคอลบรรยายถึงการมีอยู่ของฟลาโวนอยด์ และองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น แทนนิน และอัลคาลอยด์ ซึ่งเป็นสารที่บรรยายไว้ว่า มีคุณสมบัติในการป้องกันแสง นอกจากนี้ Oliveira et al. (2013) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติการป้องกันแสงแดดสารสกัดแห้งจากใบของ *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง และแสดงแถบการดูดกลืนแสงเฉพาะรังสี UVB และ UVA ฤทธิ์ป้องกันแสงแดดมีความสัมพันธ์กับการมีอยู่ของสารประกอบฟลาโวนอยด์อย่างมีนัยสำคัญ ตามวรรณกรรมปริมาณ ฟลาโวนอยด์ที่ผลิตโดยพืชถือเป็นปัจจัยสำคัญในการปกป้องพืชจากรังสีอัลตราไวโอเลต (Souza et al., 2005) พืชผลิตสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลายเพื่อต่อต้านความเสียหายระดับโมเลกุลจากอนุมูลอิสระ (ROS) และสารประกอบฟีนอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลักจากพืชในบรรดาสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด ฟลาโวนอยด์อาจเป็นกลุ่มที่สำคัญที่สุด นอกเหนือจากการกำจัดอนุมูลที่เกิดจากรังสียูวีแล้ว ฟลาโวนอยด์อาจให้ผลในการป้องกันรังสียูวี โดยทำหน้าที่เป็นตัวดูดซับรังสียูวีที่แข็งแกร่ง (Mambro & Fonseca, 2005)

วิตามินซีและวิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย โดยวิตามินซีและวิตามินอีที่อยู่ในผลิตภัณฑ์กันแดด มีหน้าที่ช่วยในการปกป้องผิวจากการถูกทำลายโดยรังสียูวีเอและยูวีบี (González et al., 2008) นอกจากวิตามินซีและวิตามินอีแล้วยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติอีกหลายชนิดที่มีรายงานว่า สามารถปกป้องผิวหนึ่งจากการถูกทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเลตได้ ซึ่งจำแนกออกเป็นกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแคโรทีนอยด์ กรดไฮดรอกซีซินนามิก ฟลาโวนอยด์ และสารสกัดจากพืช (อรัญญา จุติวิบูลย์สุข, 2556) ฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุในพืชชนิดที่ละลายได้ดีในน้ำ โดยที่โครงสร้างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์มักจะมีหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิล (Phenolic Hydroxyl Group) อยู่หนึ่งหมู่หรือมากกว่า ซึ่งเป็นฟังก์ชันที่มีความสำคัญต่อคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่แรง นอกจากนี้ยังพบว่า สารกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิดสามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตได้ ซึ่งสารเหล่านี้ ได้แก่ genistein, apigenin, naringenin, hesperetin, quercetin และ silybin (อรัญญา จุติวิบูลย์สุข, 2556) ดังนั้นจากข้อมูลข้างต้นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากสารสกัดใบฝรั่งที่มีผลต่อฤทธิ์การป้องกันแสงแดด จากตารางที่ 4.1 ได้แก่ Quercetin 3-apiosyl-(1→2)-alpha- L-arabinopyranoside, Naringenin 5-O-glucuronide, Naringenin 7-O-glucoside, Naringenin 7-(2-p-Coumaroylglucoside), Apigenin 7-methyl ether 5-(6"- malonylglucoside), Apigenin 7-rutinoside, Apigenin 7-(2"-acetyl-6"- methylglucuronide), Apigenin-7-O-beta-D-glucuronide butyl ester, Isoquercetrin, 6,8-Diprenylgenistein, Hesperetin 7-O-glucoside และ Hesperetin 7-O-rhamnoside

ตารางที่ 4.1 Retention times และองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS

No.	Proposed Compounds	Molecular formula	Retention Time (min)	Mode of Ionization (ESI-/ESI+)	Molecular Weight	Theoretical (m/z)	Observed (m/z)	Error (ppm)
1	m-Trigallic acid	C ₂₁ H ₁₄ O ₁₃	16.121	(M+Na) ⁺ + [-H ₂ O]	474.0417	479.0206	479.0221	3.03
2	Pumilaisoflavone C	C ₂₇ H ₃₀ O ₇	16.555	(M+H) ⁺ + [-H ₂ O]	466.2062	449.2029	449.2031	-7.02
3	Frutinone A	C ₁₆ H ₈ O ₄	1.703	(M+H) ⁺	264.0444	265.0517	265.0529	-2.1
4	Dihydromyricetin	C ₁₅ H ₁₂ O ₈	16.199	(M+H) ⁺ + [-H ₂ O]	320.0573	303.0541	303.0522	-4.11
5	Methyl maslinate	C ₃₁ H ₅₀ O ₄	20.513	(M+H) ⁺	486.3669	487.3743	487.3782	4.06
6	beta-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	22.408	(M+Na) ⁺	414.3829	437.372	437.3754	3.42
7	22S-hydroxysitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	21.906	(M+Na) ⁺	430.3801	453.3667	453.3708	0.99
8	Sucrose monopalmitate	C ₂₈ H ₅₄ O ₁₃	22.727	(M+Na) ⁺	598.3552	621.3445	621.3467	1.26
9	Presqualene diphosphate	C ₃₀ H ₅₂ O ₇ P ₂	24.416	(M+Na) ⁺ + [-H ₂ O]	586.3179	609.307	609.3034	0.89
10	Mactraxanthin	C ₄₀ H ₆₀ O ₆	21.691	(M+H) ⁺ + [-H ₂ O]	636.4396	619.4364	619.4357	-1.11
11	Fucoxanthin	C ₄₂ H ₅₈ O ₆	21.773	(M+H) ⁺	658.4232	659.4304	659.4306	0.28
12	alpha-Terpinyl cinnamate	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	4.698	(M+Na) ⁺ + [-H ₂ O]	284.1757	289.1543	289.1523	1.91
13	Absciscic acid glucose ester	C ₂₁ H ₃₀ O ₉	12.011	(M+H) ⁺	426.1903	427.1979	427.1976	-1.3
14	Quercetin 3-apiosyl-(1->2)-alpha- L-arabinopyranoside	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₅	16.8	(M-H) ⁻	566.1386	565.1314	565.1351	6.67
15	Dihydrocaffeic acid 3-O- glucuronide	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀	9.886	(M-H) ⁻	358.0943	357.087	357.0841	-8.29

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

No.	Proposed Compounds	Molecular formula	Retention Time (min)	Mode of Ionization (ESI-/ESI+)	Molecular Weight	Theoretical (m/z)	Observed (m/z)	Error (ppm)
16	Docosyl caffeate	C ₃₁ H ₅₂ O ₄	20.654	(M-H) ⁻	488.3832	487.3762	487.3793	6.38
17	Cajaisoflavone	C ₂₆ H ₂₆ O ₇	5.972	(M-H) ⁻	450.1691	449.1615	449.1619	0.81
18	4'-O-Prenylalpinumisoflavone	C ₂₅ H ₂₄ O ₅	10.287	(M-H) ⁻	404.1611	403.1537	403.1551	3.59
19	Rubraflavone A	C ₂₅ H ₂₆ O ₅	3.829	(M-H) ⁻	406.1772	405.1697	405.1707	2.65
20	Cudraflavone C	C ₂₅ H ₂₆ O ₆	4.047	(M-H) ⁻	422.1722	421.1649	421.1657	1.78
21	Polystachin (flavone)	C ₂₆ H ₂₆ O ₈	3.839	(M-H) ⁻	466.1635	465.1564	465.1555	-1.89
22	3',5,6-Trihydroxy-3,4',7,8- tetramethoxyflavone 3-glucoside	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₄	17.426	(M-H) ⁻	552.1462	551.1388	551.1406	3.36
23	4'-O-Methyl(-)-epicatechin 3'-O- glucuronide	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₂	13.832	(M-H) ⁻	480.1225	479.1152	479.1177	5.1
24	Naringenin 5-O-glucuronide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	15.501	(M-H) ⁻	448.0953	447.0879	447.0881	0.52
25	Naringenin 7-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	16.647	(M-H) ⁻	434.1161	433.1088	433.1075	-3.01
26	Naringenin 7-(2-p- Coumaroylglucoside)	C ₃₀ H ₂₈ O ₁₂	17.682	(M-H) ⁻	580.1547	579.1477	579.1508	5.43
27	6-Methoxykaempferol 3- galactoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	16.4	(M-H) ⁻	478.1077	477.1005	477.1038	7.02
28	Apigenin 7-methyl ether 5-(6"- malonylglucoside)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₃	16.384	(M-H) ⁻	532.1167	531.1098	531.1144	8.76
29	Apigenin 7-rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	8.559	(M-H) ⁻	578.1777	577.1702	577.1702	-0.01

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

No.	Proposed Compounds	Molecular formula	Retention Time (min)	Mode of Ionization (ESI-/ESI+)	Molecular Weight	Theoretical (m/z)	Observed (m/z)	Error (ppm)
30	Apigenin 7-(2"-acetyl-6"- methylglucuronide)	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₂	16.662	(M-H) ⁻	502.1052	501.0979	501.0985	1.09
31	Apigenin-7-O-beta-D-glucuronide butyl ester	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₁	17.375	(M-H) ⁻	502.1445	501.1372	501.1402	6.14
32	(-)-Epigallocatechin-7-glucuronide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	1.942	(M-H) ⁻	482.1019	481.0945	481.0988	8.92
33	Epigallocatechin 3-O-p-coumarate	C ₂₄ H ₂₀ O ₉	26.547	(M-H) ⁻	452.1058	451.0986	451.0994	1.86
34	6-Hydroxymyricetin 3,6,3',5'-tetramethyl ether 7-glucoside	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₄	17.426	(M-H) ⁻	552.1462	551.1388	551.1406	3.36
35	8-Hydroxyluteolin 8,3'- dimethyl ether 7-glucoside	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	16.476	(M-H) ⁻	492.1234	491.1159	491.1195	7.34
36	6-Hydroxyluteolin 5-rhamnoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	15.501	(M-H) ⁻	448.0953	447.0879	447.0881	0.52
37	Luteolin 7,3'-dimethyl ether 5- glucoside	C ₂₄ H ₂₆ O ₁₀	17.631	(M-H) ⁻	474.1463	473.1389	473.1388	-0.32
38	Luteolin 7-apiosyl(1->6)glucoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	17.682	(M-H) ⁻	580.1547	579.1477	579.1508	5.43
39	Oleanolic acid acetate	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	14.198	(M-H) ⁻	498.3744	497.3672	497.3636	-7.11
40	beta-Sitosterol acetate	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	23.459	(M-H) ⁻	456.3921	455.3847	455.3854	1.58
41	Isoquercetrin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	12.093	(M-H) ⁻	464.0906	463.0831	463.0842	2.23
42	alpha-Tocopherol acetate	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	21.572	(M-H) ⁻	472.3875	471.3802	471.3844	8.92
43	Malonyldaidzin	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₂	16.662	(M-H) ⁻	502.1052	501.0979	501.0985	1.09
44	6,8-Diprenylgenistein	C ₂₅ H ₂₆ O ₅	3.829	(M-H) ⁻	406.1772	405.1697	405.1707	2.65

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

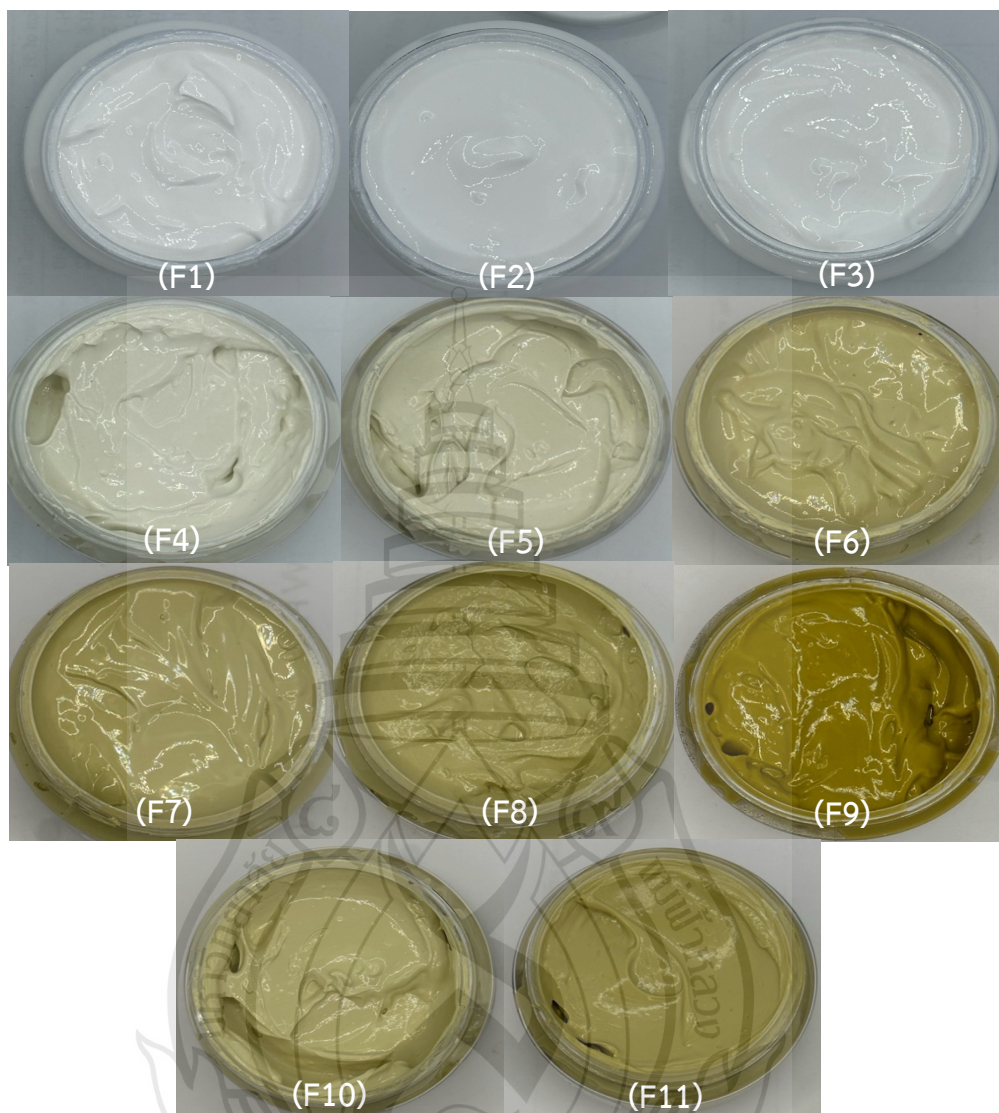
No.	Proposed Compounds	Molecular formula	Retention Time (min)	Mode of Ionization (ESI-/ESI+)	Molecular Weight	Theoretical (m/z)	Observed (m/z)	Error (ppm)
45	Mactraxanthin	C ₄₀ H ₆₀ O ₆	21.685	(M-H) ⁻	636.4402	635.4331	635.4317	-2.14
46	3,6-Epoxy- 5,5',6,6'-tetrahydro-b,b-carotene-3',5,5',6'-tetrol	C ₄₀ H ₅₈ O ₅	22.633	(M-H) ⁻	618.4292	617.422	617.4211	-1.41
47	Prodelphinidin A1	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₄	17.23	(M-H) ⁻	608.1144	607.1072	607.1093	3.54
48	(-)-Epigallocatechin 7-glucuronide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	2.762	(M-H) ⁻	482.1023	481.095	481.0988	7.72
49	3'-(2",6"-Digalloylglucosyl)- phloracetophenone	C ₂₈ H ₂₆ O ₁₇	10.025	(M-H) ⁻	634.1177	633.1106	633.1097	-1.39
50	Hesperetin 7-O-glucoside	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	16.318	(M-H) ⁻	464.1274	463.12	463.1246	9.86
51	Hesperetin 7-O-rhamnoside	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	17.256	(M-H) ⁻	448.132	447.1246	447.1231	-3.33
52	Phloretin 2'-O-glucuronide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	12.833	(M-H) ⁻	450.1108	449.1034	449.1031	-0.84
53	Afrosin 7-O-glucoside	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀	14.48	(M-H) ⁻	460.1297	459.1224	459.123	1.2
54	3,5-Dicaffeoyl-4-succinoylquinic acid	C ₂₉ H ₂₈ O ₁₅	15.045	(M-H) ⁻	616.1424	615.135	615.1355	0.87
55	Hydrocinnamic acid	C ₉ H ₁₀ O ₂	1.926	(M-H) ⁻	150.0704	149.0629	149.0608	-14.25
56	Isoquinoline	C ₉ H ₇ N	2.584	(M-H) ⁻	129.0586	128.0514	128.0506	-6.09

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ส่วนประกอบ	หน้าที่	ตำรับ (% w/w)										
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
Deionized water	Solvent	56.4	55.4	49.4	48.4	46.4	44.4	42.3	39.4	57.4	51.4	50.4
Simulgel INS 100	Thickener	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamin E acetate	Antioxidant	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Microcare PHC	Preservative	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Guava leaf extract	Active	-	-	-	1	3	5	7	10	5	5	5

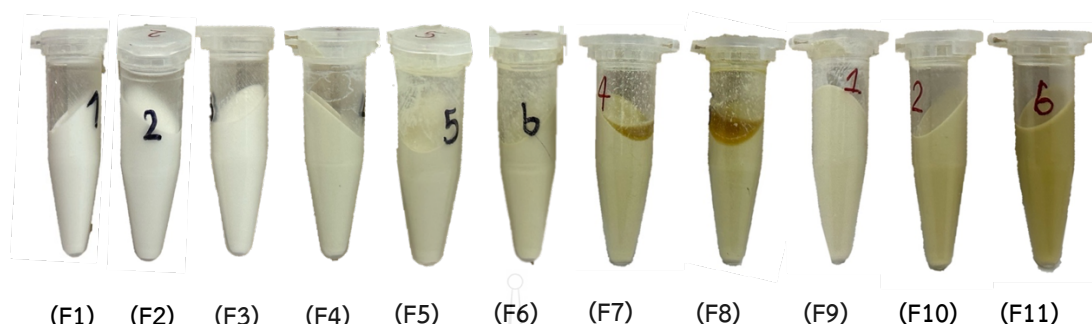
4.7.2 การพัฒนาตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

การพัฒนาเป็นตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากใบฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 1, 3, 5, 7 และ 10% ตามลำดับ มาพัฒนาร่วมในตำรับกันแดดที่มีสารกันแดด Titanium Dioxide ปริมาณ 6% และ Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (Bisotrizole) ปริมาณ 7% เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม และศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของสารสกัดใบฝรั่ง ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ แสดงในภาพที่ 4.3 เมื่อทำการใส่สารสกัดใบฝรั่งลงในตำรับพบว่า เนื้อครีมมีความแน่นขึ้น มีความหนืดเพิ่มขึ้น เนื้อครีมมีสีเขียวยอ่อนของสารสกัด มีกลิ่นของใบฝรั่ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความหนืด และค่าการป้องกันแสงแดดของสูตร แสดงในตารางที่ 4.3 ผลการทดลองพบว่าตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ 1, 3, 5 และ 7% ได้ลักษณะทางกายภาพที่ดี ลักษณะภายนอกมองด้วยตาเปล่าเป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อสัมผัสที่ดี เกลี่ยง่าย เนื้อผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะค่อนข้างหนืด สีเขียวยอ่อน มีกลิ่นของใบฝรั่ง กลิ่นและสีของตำรับมีกลิ่นที่ชัดเจน สีเข้มมากขึ้นตามเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดใบฝรั่งที่เพิ่มมากขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (pH) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่ง โดยสูตรตำรับที่พัฒนาขึ้นได้ค่า pH อยู่ในช่วง 4.99-6.31



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของผลิตภัณฑ์กันแดดพื้นและผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

การทดสอบความคงตัวเบื้องต้นของตำรับ เพื่อทดสอบการแยกชั้นโดยใช้เครื่อง Centrifuge โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 15 นาที พบว่า ตำรับกันแดดพื้นและสูตรตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ 1, 3 และ 5% ไม่พบการแยกชั้น ส่วนตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 7% และ 10% พบการแยกชั้นของเหลวสีเขียว ดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ผลการทดสอบการแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงของตำรับ

จากการทดสอบค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดด้วยเครื่อง SPF-290S Analyzer ของตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่ใส่สารสกัดใบฝรั่งในสูตร F1-F11 โดยประสิทธิภาพการป้องกันรังสี UV-A จะประเมินจากค่า Protection grade of UVA (PA) และประสิทธิภาพการป้องกันรังสี UV-B จะประเมินจากค่า Sun Protection Factor (SPF) ผลการทดลองพบว่า สูตร F9 (ครีมเบสที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5%) มีค่า SPF เท่ากับ 2.23 ± 0.29 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 แม้ว่าสารสกัดใบฝรั่ง (5%) จะมีค่า SPF ต่ำ (2.23) แต่เมื่อนำไปผสมกับสารกันแดดแบบกายภาพและเคมี (Titanium Dioxide 6%, Bisotrizole 7%) ส่งผลให้ค่า SPF ของสูตรเพิ่มขึ้นประมาณ 59% จาก 21.73 ± 1.34 เพิ่มขึ้นเป็น 34.55 ± 3.27 และค่า PA ของสูตรเพิ่มมากขึ้น จาก PA++ เป็น PA+++ เป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของส่วนประกอบในสารสกัดและสารกันแดดแบบกายภาพและเคมี ลักษณะการเพิ่มขึ้นของค่า SPF ดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของ Titanium Dioxide และ Bisotrizole กับสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในสารสกัดใบฝรั่ง เนื่องจากการมีอยู่ของพันธะคอนจูเกตในโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ สามารถดูดซับรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ ได้ รวมถึงรังสี UV ตัวอย่างเช่น เควอซิทินและแอนโทไซยานินดูดซับรังสี UVB โดยตรงเพื่อยับยั้งความเสียหายของผิวหนังที่เกิดจากรังสี UVB นอกจากนี้ แอลลาจิกแทนนิน และคาเทชินยังถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพในการลดผลกระทบของความเสียหายจากอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสรังสียูวี (Mota, Costa et al., 2019) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าการผสมผสานระหว่างสารสกัดจากใบฝรั่งและสารกันแดดแบบกายภาพและเคมี สามารถปรับปรุงค่า SPF และ PA ของผลิตภัณฑ์ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารเมแทบอลิต์เหล่านี้ อาจยังช่วยให้สารกันแดดสังเคราะห์มีความเสถียร เช่น EHMC ดังนั้นการมีอยู่ของสารเหล่านี้จึงช่วยลดการย่อยสลายได้โดยแสงของ EHMC และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันรังสียูวี (Hubner et al., 2019; Shaath, 2010) กล่าวอีกนัยหนึ่ง แม้ว่าสารธรรมชาติบางชนิดจะไม่แสดงฤทธิ์ป้องกันแสงแดด แต่อาจเพิ่ม

ประสิทธิภาพการป้องกันแสงแดดสังเคราะห์ โดยการรักษาความคงตัวหรือฟื้นฟูคุณสมบัติทางเคมีของสารกันแดดระหว่างสัมผัสกับรังสียูวี (Mota et al., 2019) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดใบฝรั่งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในสูตรเพื่อเป็นตัวช่วยหรือเพิ่มความสามารถในการป้องกันแสงแดดของสารกันแดดสังเคราะห์ในครีมกันแดดได้ ในงานวิจัยของ Sopyan et al. (2017) ได้ทำการศึกษาใช้สารสกัดจากมะเขือเทศในตำรับโลชั่นกันแดด พบว่า ตำรับโลชั่นที่ใส่สารสกัดมะเขือเทศที่ความเข้มข้น 1% และ 1.5% ให้ค่า SPF เท่ากับ 18.84 และ 22.24 ตามลำดับ เนื่องจากมีสารโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ โมโนเทอร์พีนอยด์ เซสควิเทอร์พีน และซาโปนิน มะเขือเทศประกอบด้วยไลโคปีนเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบเทอร์พีนอยด์ จากโครงสร้างของไลโคปีน พบว่าเป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง ในงานวิจัยของ Chiari et al. (2014) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันเมล็ดกาแฟเขียวเพื่อใช้ในครีมกันแดด พบว่า น้ำมันเมล็ดกาแฟเขียว 10% ให้ค่า SPF น้อยกว่า 4 แต่เมื่อนำไปผสมในครีมเบสที่มีสารกันแดด Ethylhexyl Methoxycinnamate 7.5% ส่งผลให้ค่า SPF เพิ่มขึ้น 20% ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นถึงผลเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารกันแดดและน้ำมันเมล็ดกาแฟเขียว ซึ่งผลเสริมฤทธิ์นี้มีความสัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกในน้ำมันเมล็ดกาแฟเขียว ซึ่งอาจทำปฏิกิริยากับสารกันแดดสังเคราะห์ส่งผลให้ค่า SPF สูงกว่าการใช้สารกันแดดสังเคราะห์หรือน้ำมันเมล็ดกาแฟเขียวเพียงอย่างเดียวหนึ่ง ในงานวิจัยของ บุญญาณี ศุภผล (2558) ได้ทำการศึกษาได้ทำการศึกษาคุณสมบัติการป้องกันแสงแดดของสารสกัดเปลือกมังคุด โดยเปรียบเทียบกับสารกันแดดสังเคราะห์ Octyl methoxycinnamate และ Homosalate พบว่า สารสกัดเอทานอลช่วงความเข้มข้น 2-10% ให้ค่า SPF ในช่วง 1.09-3.92 ซึ่งต่ำกว่าค่า SPF ของ Octyl methoxycinnamate และ Homosalate ที่ความเข้มข้นเดียวกัน รวมถึงศึกษา Synergistic effect เมื่อใช้สารสกัดเอทานอลที่ช่วงความเข้มข้น 2-8% ร่วมกับสารกันแดดสังเคราะห์ (Octyl methoxycinnamate, Homosalate, Octocrylene และ Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine) ที่ความเข้มข้น 5 และ 10% พบว่า ค่า SPF ของครีมเพิ่มขึ้นจาก 11.88 เป็น 14-27 และ 35 เพิ่มขึ้นเป็น 44-56 ตามลำดับ โดยค่า SPF ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจาก Synergistic effect และในงานวิจัยของ Mota, da Boa Morte et al. (2020) ได้ทำการศึกษาพัฒนาครีมกันแดดโดยใช้สารสกัดจากเปลือกเงาะ พบว่า สารสกัดเปลือกเงาะที่ความเข้มข้น 1% ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของสูตรที่ ประกอบด้วย Ethylhexyl methoxycinnamate 7.5% ได้ถึง 134% (ค่า SPF จาก 11.2 เพิ่มขึ้นเป็น 26.3) เนื่องจากสารสกัดเปลือกเงาะมีกรดเอลลาจิก คอริลาจिन เจอรานิน อะพิจินิก เควอซิทิน คาเทชิน และแอนโธไซยานิน สารเหล่านี้มีพันธะคอนจูเกตและกลุ่มสารเคมีที่ทำหน้าที่ดูดซับรังสียูวีที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ

เมื่อเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับกันแดดที่ใส่สารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 10% พบว่า ตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ 5% (F6)

ให้ค่า SPF และค่า PA สูงที่สุด เท่ากับ 34.55 ± 3.27 และ PA+++ ตามลำดับ ตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ 7% (F7) และ 10% (F8) ให้ค่า SPF และค่า PA น้อย เนื่องจากตำรับเกิดการแยกชั้น ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้การวัดค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดเกิดการคลาดเคลื่อนได้ การใช้สารสกัดในปริมาณที่สูงจะต้องมีการปรับสูตรปรับเนื้อของผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มความคงตัวของตำรับ

ดังนั้นจากผลการทดลองจึงคัดเลือกตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 5% เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น เนื้อสัมผัสดี และให้ค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดสูงที่สุดไปทำการทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด และค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

สูตร	SPF (Mean $\pm$ STD)	UVA/UVB (Mean $\pm$ STD)	PA	pH	ความหนืด (cPs)
F1	17.92 $\pm$ 0.79	0.826 $\pm$ 0.00	PA++	6.34 $\pm$ 0.02	45,500 $\pm$ 400
F2	6.07 $\pm$ 0.31	1.053 $\pm$ 0.00	PA+	6.25 $\pm$ 0.01	35,667 $\pm$ 1210
F3	21.73 $\pm$ 1.34	0.913 $\pm$ 0.00	PA++	6.41 $\pm$ 0.02	38,833 $\pm$ 833
F4	26.31 $\pm$ 3.13	0.904 $\pm$ 0.00	PA++	6.31 $\pm$ 0.01	96,600 $\pm$ 1058
F5	29.18 $\pm$ 4.32	0.849 $\pm$ 0.00	PA++	5.80 $\pm$ 0.01	99,567 $\pm$ 208
F6	34.55 $\pm$ 3.27	0.795 $\pm$ 0.01	PA+++	5.49 $\pm$ 0.02	99,667 $\pm$ 208
F7	25.19 $\pm$ 1.95	0.808 $\pm$ 0.01	PA++	5.25 $\pm$ 0.02	61,067 $\pm$ 1050
F8	3.85 $\pm$ 0.35	0.934 $\pm$ 0.01	PA+	4.99 $\pm$ 0.01	72,633 $\pm$ 2344
F9	2.23 $\pm$ 0.29	0.555 $\pm$ 0.01	PA+	5.16 $\pm$ 0.02	79,400 $\pm$ 889
F10	17.36 $\pm$ 1.79	0.754 $\pm$ 0.00	PA+	5.32 $\pm$ 0.01	95,900 $\pm$ 1039
F11	4.40 $\pm$ 0.35	0.879 $\pm$ 0.01	PA+	5.24 $\pm$ 0.02	96,500 $\pm$ 1345

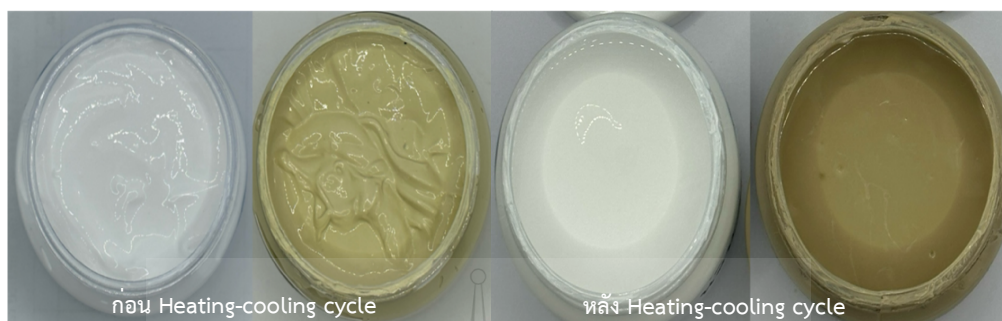
4.8 การทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง

4.8.1 การทดสอบความคงตัวด้วยวิธีเร่งอุณหภูมิสูงสลับต่ำ (Heating-cooling Cycle)

ทดสอบความคงตัวของตำรับภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle เก็บที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ต่ออีก 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 6 รอบ แล้วทำการประเมินลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงไป ผลการทดสอบความคงตัวแสดงในตารางที่ 4.4 จากผลการทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งเมื่อผ่านสภาวะเร่งอุณหภูมิสูงสลับต่ำ พบว่า ทั้ง 2 ตำรับมีลักษณะทางกายภาพที่คงตัว เนื้อครีมเนียน แสดงในภาพที่ 4.6 หลังทดสอบด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ไม่พบการแยกชั้น แสดงภาพที่ 4.5 ตำรับกันแดดพื้น พบว่า ค่าความหนืดลดลง และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ค่า L^* มีค่าลดลงจาก 80.45 เป็น 61.46 แสดงว่าสีของสูตรมีความสว่างลดลง ส่วนค่า a^* มีค่ามากขึ้นจาก -1.00 เป็น -0.45 และ b^* มีค่าเพิ่มขึ้น จาก 2.07 เป็น 3.47 ตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% พบว่า สีและกลิ่นของตำรับมีสีเข้มขึ้น ชัดขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งค่า L^* มีค่าลดลงจาก 91.58 เป็น 82.55 แสดงว่าสีของสูตรมีความสว่างลดลง ส่วนค่า a^* มีค่ามากขึ้นจาก -1.68 เป็น 1.61 ซึ่งจะพบว่า สีเขียวจางลง และ b^* มีค่าลดลง จาก 19.79 เป็น 14.75 หมายถึงสีเหลืองหายไป ค่าความหนืดและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลงเล็กน้อยซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้



ภาพที่ 4.5 ผลการทดสอบการแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงของตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% หลังทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle



ภาพที่ 4.6 ลักษณะของสูตรตำรับกันแดดพื้นและตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5% ก่อน-หลังทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle

ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพเมื่อทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle จำนวน 6 รอบ

การประเมิน	ก่อน Heating-cooling Cycle		หลัง Heating-cooling Cycle	
	ตำรับกันแดดพื้น	ตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง	ตำรับกันแดดพื้น	ตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง
การแยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
pH	6.41±0.01	5.45±0.02	6.50±0.01	5.43±0.01
ความหนืด (cP)	37,800±100	99,667±208	27,767±153	99,633±153
ค่าสี				
L*	91.58±0.42	80.45±0.05	82.55±0.29	61.86±0.55
a*	-1.00±0.03	-1.68±0.01	-0.45±0.06	1.61±0.09
b*	2.07±0.12	19.79±0.03	3.47±0.32	14.75±0.21

4.8.2 การทดสอบความคงตัวในสภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C

ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บันทึกการเปลี่ยนแปลงที่ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ สัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 ประเมินผลโดยสังเกตด้วยตาเปล่าดูลักษณะภายนอก วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดความหนืด วัดค่าสี ทดสอบการแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และวัดค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด

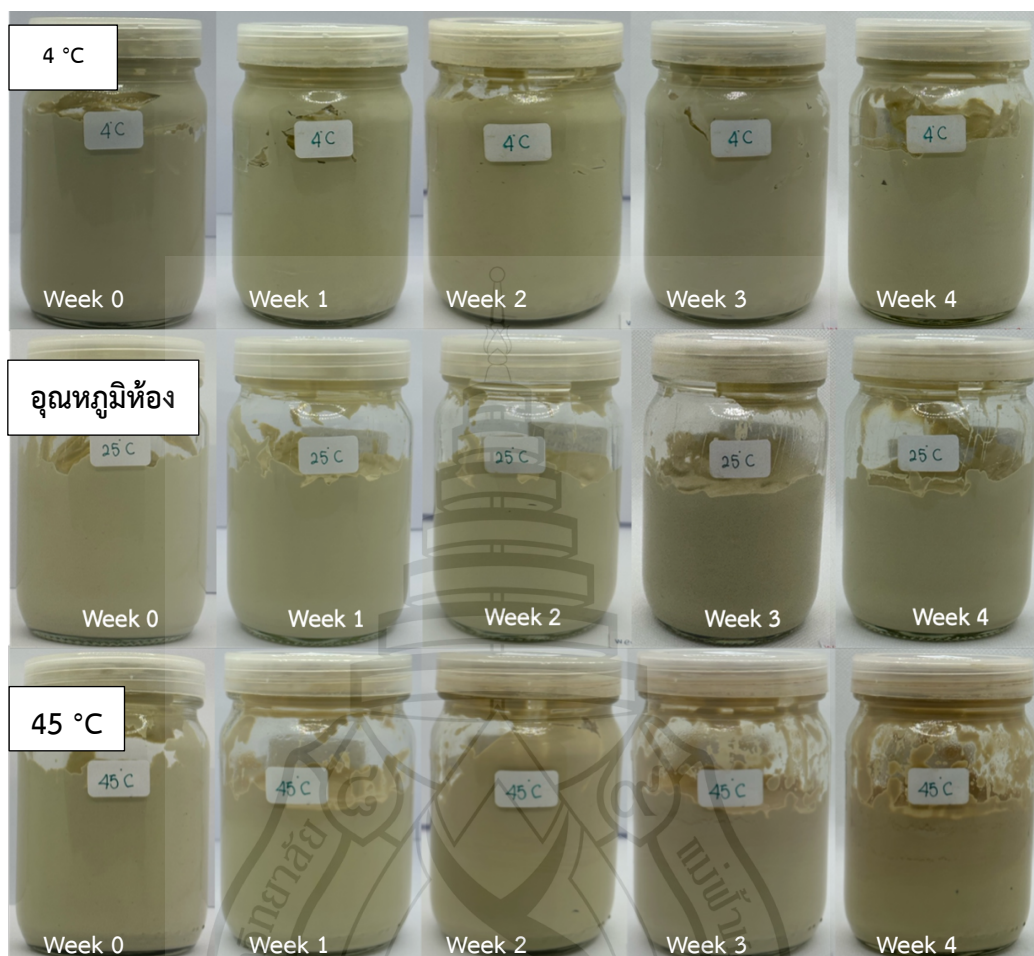
ของตำรับหลังจากผ่านไป 4 สัปดาห์ พบว่า คุณสมบัติภายนอกของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5% ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ไม่เกิดการแยกชั้น มีความคงตัวดี เนื้อครีมเนียน กลิ่นไม่เปลี่ยนแปลง แต่ที่สภาวะ 45 องศาเซลเซียส มีการแยกชั้นของเนื้อผลิตภัณฑ์เล็กน้อย แต่เมื่อนำไปทดสอบด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ไม่พบการแยกชั้น มีกลิ่นของสารสกัดใบฝรั่งชัดเจน ทั้ง 3 สภาวะค่าความหนืดลดลงเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลงเล็กน้อย การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องโครมามิเตอร์ พบว่า ทั้ง 3 สภาวะค่า L^* a^* b^* มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือ เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ค่า L^* มีค่าลดลง แสดงถึงสีของตำรับมีความสว่างลดลง ค่า a^* มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงถึงสีเขียวจางลง ค่า b^* มีค่าลดลง แสดงถึงสีเหลืองหายไป จากนั้นนำค่า L^* a^* b^* ที่ได้มาคำนวณเพื่อหาค่าความแตกต่างของสี (ΔE) พบว่า ทั้ง 3 สภาวะเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ มีความแตกต่างของสีเท่ากับ 9.13 ± 0.22 , 14.46 ± 0.06 , 18.10 ± 0.05 ตามลำดับ โดยที่สายตาของมนุษย์สามารถแยกความต่างของสีที่ได้เมื่อ ΔE มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 4 แสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า ดังแสดงในตารางที่ 4.5-4.6 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความหนืดของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% ทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C

Weeks	pH			ความหนืด (cPs)		
	4 °C	อุณหภูมิห้อง	45 °C	4 °C	อุณหภูมิห้อง	45 °C
0	5.58±0.01	5.55±0.01	5.47±0.01	99833±58	99700±100	99733±58
1	5.54±0.01	5.55±0.01	5.46±0.01	99600±100	99633±208	99600±100
2	5.56±0.01	5.56±0.01	5.47±0.01	99567±58	99500±300	99600±100
3	5.62±0.01	5.59±0.02	5.45±0.02	99567±58	99367±153	99367±208
4	5.52±0.01	5.49±0.01	5.37±0.01	99567±153	99233±58	99133±58

ตารางที่ 4.6 ค่า L^* , a^* , b^* และ ΔE ของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5% ทดสอบความคงตัวที่
สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C

สภาวะที่ทดสอบ	Weeks	L^*	a^*	b^*	ΔE
4 °C	0	78.47±0.21	-1.29±0.01	18.07±0.08	-
	1	79.97±0.01	-1.18±0.01	19.03±0.01	1.78±0.22
	2	64.44±0.01	0.02±0.01	14.24±0.02	14.60±0.21
	3	75.09±0.03	-0.60±0.01	16.14±0.01	3.95±0.25
	4	69.77±0.02	-0.27±0.00	15.51±0.01	9.13±0.22
อุณหภูมิห้อง	0	78.77±0.06	-1.31±0.00	18.15±0.01	-
	1	77.35±0.05	-0.52±0.01	18.04±0.02	1.63±0.01
	2	71.62±0.07	-0.05±0.01	17.71±0.03	7.26±0.12
	3	71.46±0.12	0.28±0.01	14.91±0.07	8.15±0.09
	4	65.49±0.01	0.63±0.01	12.76±0.01	14.46±0.06
45 °C	0	78.88±0.05	-1.31±0.01	18.14±0.02	-
	1	77.84±0.01	0.30±0.01	20.28±0.01	2.88±0.02
	2	64.65±0.08	1.68±0.00	14.93±0.03	14.89±0.14
	3	64.17±0.02	2.57±0.00	15.30±0.01	15.48±0.05
	4	61.96±0.01	2.64±0.01	13.09±0.02	18.10±0.05



ภาพที่ 4.7 ลักษณะของสูตรตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5% หลังทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 °C, อุณหภูมิห้อง และ 45 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.7 ค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดของตำรับกันแดดที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5 % หลังทดสอบความคงตัวที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สภาวะที่ทดสอบ	SPF (Mean±STD)	UVA/UVB (Mean±STD)	PA
4 °C	28.54±4.53	0.800±0.00	PA++
อุณหภูมิห้อง	30.76±3.08	0.789±0.01	PA++
45 °C	23.90±2.57	0.822±0.01	PA++

จากตารางที่ 4.7 พบว่า ผลการประเมินค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดเปรียบเทียบ ณ วันเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 0) เทียบกับหลังพัฒนาตำรับตั้งทิ้งไว้ 4 สัปดาห์ที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C โดย ณ วันเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 0) ตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 5 % มีค่า SPF เท่ากับ 34.55 ± 3.27 และ PA+++ หลังจากผ่านไป 4 สัปดาห์ ทั้ง 3 สภาวะค่า SPF มีแนวโน้มลดลง โดยในสัปดาห์ที่ 4 ที่สภาวะ 4 °C มีค่า SPF เท่ากับ 28.54 ± 4.53 ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง มีค่า SPF เท่ากับ 30.76 ± 3.08 และที่สภาวะ 45 °C มีค่า SPF เท่ากับ 23.90 ± 2.57 และ PA++



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดใบฝรั่งด้วยตัวทำละลายเอทานอล:น้ำ พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้ มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลเข้มอมเขียว น้ำหนักของสารสกัดหยาบมีค่าเท่ากับ 3.977 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิต (%yield) เท่ากับ 19.88 ± 0.28 เมื่อนำสารสกัดใบฝรั่งไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช พบว่า สารสกัดใบฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ $2,879.86 \pm 2.18$ mg GAE/g extract ปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 699.37 ± 8.30 mg QE/g extract และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 348.85 ± 4.18 mg AAE/g extract และจากการทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสง พบว่า สารสกัดใบฝรั่งแสดงการดูดกลืนแสงช่วง 250-450 นาโนเมตร ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงสูงสุดได้ในช่วง UVB จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบฝรั่ง ด้วยเทคนิค UHPLC-QTOF-MS องค์ประกอบหลักที่พบในสารสกัดใบฝรั่ง ได้แก่ quercetin, myricetin, catechin, epicatechin, apigenin, kaempferol, rutin, naringenin, luteolin, hesperetin และอนุพันธ์ของสารเหล่านี้

การพัฒนาตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7, และ 10% ผลการทดลองพบว่า ตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ 1, 3 และ 5% ไม่แยกชั้น ได้ลักษณะทางกายภาพที่ดี เนื้อสัมผัสดี เกลี่ยง่าย เนื้อผลิตภัณฑ์ได้มีลักษณะค่อนข้างหนืด สีเขียวอ่อน และมีกลิ่นของใบฝรั่ง ส่วนตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง 7 และ 10% พบการแยกชั้นของเหลวสีเขียว จากการทดสอบค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดด พบว่า สูตร F9 (ครีมเบสที่มีสารสกัดใบฝรั่ง 5 %) มีค่า SPF เท่ากับ 2.23 ± 0.29 แต่เมื่อนำไปผสมกับสารกันแดดแบบกายภาพและเคมี (Titanium dioxide 6 %, Bisotrizole 7 %) ส่งผลให้ค่า SPF ของสูตรเพิ่มขึ้นประมาณ 59% จาก 21.73 ± 1.34 เพิ่มขึ้นเป็น 34.55 ± 3.27 และค่า PA ของสูตรเพิ่มมากขึ้น จาก PA++ เป็น PA+++ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงคัดเลือกตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 5% ไปทำการทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

การทดสอบความคงตัวของตำรับกันแดดที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating-cooling cycle, สภาวะ 4 องศาเซลเซียส สภาวะที่อุณหภูมิห้อง และสภาวะ 45 องศาเซลเซียส พบว่า ไม่เกิดการแยกชั้น มีความคงตัวดี เนื้อครีมเนียน มีกลิ่นของใบฝรั่งชัดเจน สีมืดลงเข้มขึ้น ค่าความหนืดและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลงเล็กน้อยซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และค่าประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดหลังทิ้งไว้ 4 สัปดาห์ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มลดลง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการทดสอบการระคายเคืองและความพึงพอใจในอาสาสมัคร

5.2.2 หลังจากการทดสอบความคงตัวที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ตำรับมีการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างเห็นได้ชัด ในกรณีที่จะทำเป็นอุตสาหกรรมอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมและทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์มากขึ้น โดยการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

5.2.3 เนื่องจากสารสกัดใบฝรั่งเป็นสารจากธรรมชาติ อาจเกิดการสลายตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากความชื้น แสง และอุณหภูมิได้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดใบฝรั่งในตำรับกันแดดหลังจากการทดสอบความคงตัวที่สภาวะต่าง ๆ เพื่อดูว่ามีการสลายตัวของสารสำคัญในสารสกัดใบฝรั่งหรือไม่



รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- คณิศร์ ขาญทวีคุณ. (2565). การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของคราฟท์เปียร์ไทย (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต) มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ณพัทธ์ บัวณ. (2563). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง. วารสารวิจัยและพัฒนา. วไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 15(1), 1-12.
- บุญญาณี ศุภผล. (2558). การศึกษาคุณสมบัติป้องกันแสงแดดของสารสกัดเปลือกมังคุด (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- พงศ์ผกา พงศกรไพศาล. (2559). การพัฒนาผลิตภัณฑ์โทนเนอร์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่ง (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต) มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- พิมพ์พร สีสภาพสิริฐ. (2540). อิมัลชันทางเครื่องสำอาง (พิมพ์ครั้งที่ 1). โอเดียนสโตร์.
- มนตรี แก้วดวง และอนุจร บุญประกอบ. (2566). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบฝรั่ง 3 ชนิด. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 10, 18-24.
- วรรณิสา แก้วบ้านกรุด. (2561). ฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของสารสกัดใบสมุหยอม (การค้นคว้าอิสระวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ศิริวรรณ วีระทวีพร, จิตติมา มานะกิจ, สายันท์ เชื้อน้อย และ สุภาภรณ์ ปิติพร. (2552). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดใบฝรั่งและตำรับเซรัมใบฝรั่ง. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 7(2), 137.
- อรัญญา มโนสร้อย และจิรเดช มโนสร้อย. (2556). เวชสำอาง (พิมพ์ครั้งที่ 1).โอเดียนสโตร์.
- อรัญญา จุติวิบูลย์สุข. (2556). การใช้สารต้านอิสระจากธรรมชาติในการป้องกันผิวหน้าจากการถูกทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเลต. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 5(10), 110–127.

อัญญา ชัตติยะวงศ์ และสิริรัตน์ พานิช. (2563). การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบฝรั่งและการเตรียมเจลล้างมือจากสารสกัดใบฝรั่ง. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

Agati, G., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F., Pollastri, S., & Tattini, M. (2013). Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 35–45.

Bobin, M. F., Raymond, M., & Martini, M. C. (1995). Propriedades de absorcao UVA/UVB de produtos naturais. *Cosmetics & Toiletries*, 7, 44–50.

Babatola, J. L., & Oboh, G. (2021). Extract of varieties of guava (*Psidium guajava* L.) leaf modulate angiotensin-1-converting enzyme gene expression in cyclosporine-induced hypertensive rats. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100045.

Chang, C. H., Hsieh, C. L., Wang, H. E., Peng, C. C., Chyau, C. C., & Peng, R. Y. (2013). Unique bioactive polyphenolic profile of guava (*Psidium guajava*) budding leaf tea is related to plant biochemistry of budding leaves in early dawn. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 944–954.

Chiari, B.G., Trovatti, E., Pecoraro, E., Correa, M.A., Cicarelli, R.M., Ribeiro, S.J., & Isaac, V.L. (2014). Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. *Industrial Crops and Products*, 52, 389–393.

Chuanoi, S., Weerataweeporn, S., Managit, C., Pitiporn, S., & Kamkaen, N. (2009). Development of guava liposome serum and evaluation of free radical-scavenging capacity. *Journal of Health Research*, 23(4), 163–167.

Chen H. Y., & Yen, G. C. (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chem*, 101(2), 686–694.

- Díaz de Cerio, E., Gómez-Caravaca, A. M., Verardo, V., Fernández-Gutiérrez, A. & Segura-Carretero, A. (2016). Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. *Journal of Functional Foods*, 22, 376–388.
- Mambro, V. M., & Fonseca, M. J. (2005). Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(2), 287–295.
- Eidenberger, T., Selg, M., & Krennhuber, K. (2013). Inhibition of dipeptidyl peptidase activity by flavonol glycosides of guava (*Psidium guajava* L.): A key to the beneficial effects of guava in type II diabetes mellitus. *Fitoterapia*, 89, 74–79.
- Feng, X. H., Wang, Z. H., Meng, D. L., & Li, X. (2015). Cytotoxic and antioxidant constituents from the leaves of *Psidium guajava*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 25(10), 2193–2198.
- González, S., Fernández-Lorente, M., & Gilaberte-Calzada, Y. (2008). The latest on skin photoprotection. *Clinics in Dermatology*, 26(6), 614–626.
- Hartati, R., Nadifan, H. I., & Fidrianny, I. (2020). Crystal Guava (*Psidium guajava* L. "Crystal"): Evaluation of In Vitro Antioxidant Capacities and Phytochemical Content. *The Scientific World Journal*, 2020, 9413727.
- Huang, J., & Zhang, Z. (2004). Gas chromatographic–mass spectroscopic analysis of the chemical components in the ethanol extract of guava leaves. *Zhongshan Daxue Xuebao Ziran Kexueban*, 43(6), 117–120.
- Hubner, A., Sobreira, F., Vetore Neto, A., Pinto, C. A. S. O., Dario, M. F., Díaz, I. E. C., . . . Bacchi, E. M. (2019). The Synergistic Behavior of Antioxidant Phenolic Compounds Obtained from Winemaking Waste's Valorization, Increased the Efficacy of a Sunscreen System. *Antioxidants*, 8(11), 530.

- Jung, B. K., Jong, B. K., Kang, J. C., Gabriele, M. K., & Anthony, D. W. (2006). Antioxidant activity of 3, 4, 5-Trihydroxy benzaldehyde isolated from *Geum japonicum*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 14(2), 190-193.
- Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Nair, M. S., Maheshwari, C., . . . Satankar, V. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Foods*, 10(4), 752.
- Lacombe, A., Wu, V. C. H., Tyler, S., & Edwards, K. (2010). Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolic, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 102–107.
- Liang, Q., Quian, H., & Yao, W. (2005). Identification of flavonoids and their glycosides by highperformance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry and with diode array ultraviolet detection. *European Journal of Mass Spectrometry*, 11(1), 93–101.
- Lorena, C., Ressaissi, A., & Serralheiro, M. L. (2022). Bioactives from *Psidium guajava* leaf decoction: LC-HRMS-MS-Qtof identification, bioactivities and bioavailability evaluation. *Food Chemistry Advances*, 1, 100003.
- Matsuzaki, K., Ishii, R., Kobiyama, K., & Kitanaka, S. (2010). New benzophenone and quercetin galloyl glycosides from *Psidium guajava* L. *Journal of Aatural Medicines*, 64(3), 252–256.
- Milani, L. P., Garcia, N. O., Morais, M. C., Dias, A. L., & Conceição, E. C. (2018). Extract from byproduct *Psidium guajava* standardized in ellagic acid: Additivation of the in vitro photoprotective efficacy of a cosmetic formulation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(6), 692-696.

- Mota, M. D., Costa, R. Y. S., Guedes, A. A. S., Silva, L. C. R. C. E., & Chinalia, F. A. (2019). Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 201, 111639.
- Mota, M. D., da Boa Morte, A. N., Silva, L. C. R. C. E., & Chinalia, F. A. (2020). Sunscreen protection factor enhancement through supplementation with Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) ethanolic extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, 205, 111837.
- Nantitanon, W., Yotsawimonwat, S., & Okonogi, S. (2010) Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1095-1103
- Oliveira, R. G., Jr, Souza, G. R., Guimarães, A. L., de Oliveira, A. P., Silva Moraes, A. C., da Cruz Araújo, E. C., . . . Almeida, J. R. (2013). Dried extracts of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) present antioxidant and photoprotective activities in vitro. *Journal of Young Pharmacists*, 5(3), 102–105.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
- Polonini, H. C., Lopes, R. S., Beatriz, A., Gomes, R. S., Silva, A. O., de Lima, R. V., . . . Nunes, G. A. (2014). Synthesis and Evaluation of Octocrylene-Inspired Compounds for UV-filter Activity. *Quimica Nova*, 37(6), 1004–1009.
- Ruksiriwanich, W., Khantham, C., Muangsanguan, A., Phimolsiripol, Y., Barba, F. J., Sringarm, K., . . . Sommano, S. R. (2022). Guava (*Psidium guajava* L.) Leaf Extract as Bioactive Substances for Anti-Androgen and Antioxidant Activities. *Plants*, 11(24), 3514.
- Shaath, N.A. (2010). Ultraviolet Filters. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 4, 405-616.

- Shruthi, S.D., Roshan, A., Timilsina, S.S., & Sunita, S. (2013). A review on the medical plant *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae). *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 3: 162-168
- Shu, J. C., Chou, G. X., & Wang, Z. T. (2012). One new diphenylmethane glycoside from the leaves of *Psidium guajava* L. *Natural Product Research*, 26(21), 1971–1975.
- Seo, J., Lee, S., Elam, M. L., Johnson, S. A., Kang, J., & Arjmandi, B. H. (2014). Study to find the best extraction solvent for use with guava leaves (*Psidium guajava* L.) for high antioxidant efficacy. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 174–180.
- Sopyan, I., Gozali, D., & Tiassetiana, S. (2018). Formulation of tomato extracts (*Solanum lycopersicum* L.) as a sunscreen lotion. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 8(3), 453-458.
- Souza T. M., Santos L. E., Moreira R. R. D., & Rangel V. L. B. I. (2005). Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15, 36-38
- Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2006). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2), 381–388.
- Tsai, C. C., Chen, H. S., Chen, S. L., Ho, Y. P., Ho, K. Y., Wu, Y. M., . . . Hung, C. C. (2005). Lipid peroxidation: A possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 40(5), 378–384.
- Venkatachalam, R. N., Singh, K., & Marar, T. (2012). Phytochemical screening and in vitro antioxidante activity of *Psidium guajava*. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(1), 31–36.

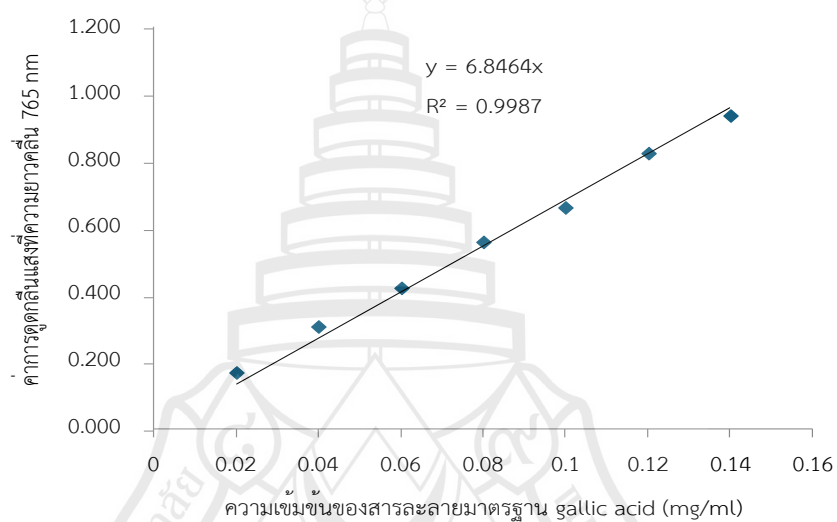
- Violante, I. M., Souza, I. M., Venturini, C. L., Ramalho, A. F., Santos, R. A., & Ferrari, M. (2009). In vitro sunscreen activity evaluation of plants extracts from Mato Grosso cerrado. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, 452–457.
- Wang, L., Wu, Y., Bei, Q., Shi, K., & Wu, Z. (2017). Fingerprint profiles of flavonoid compounds from different *Psidium guajava* leaves and their antioxidant activities. *Journal of Separation Science*, 40(19), 3817–3829.





ภาคผนวก ก

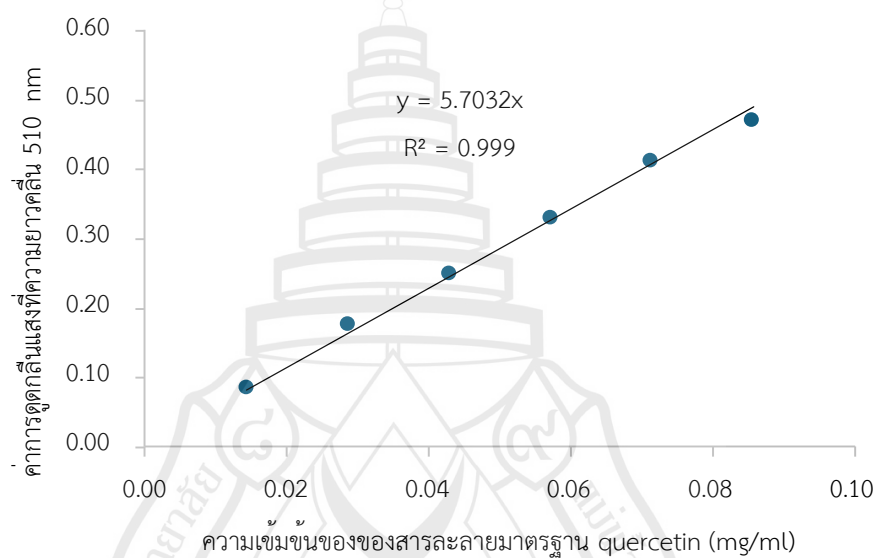
การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก



ภาพที่ ก1 สารมาตรฐานของกรดแกลลิก

ภาคผนวก ข

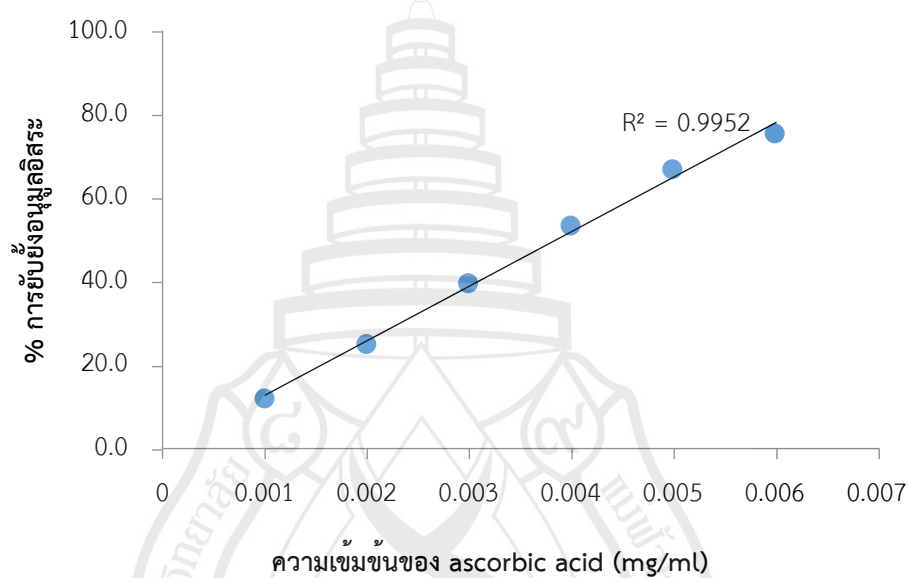
การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์



ภาพที่ ข1 สารมาตรฐานเคออสติน

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ ค1 การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบฝรั่ง



ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ

นลิน โมรา

ประวัติการศึกษา

2562

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต

เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยมหิดล

