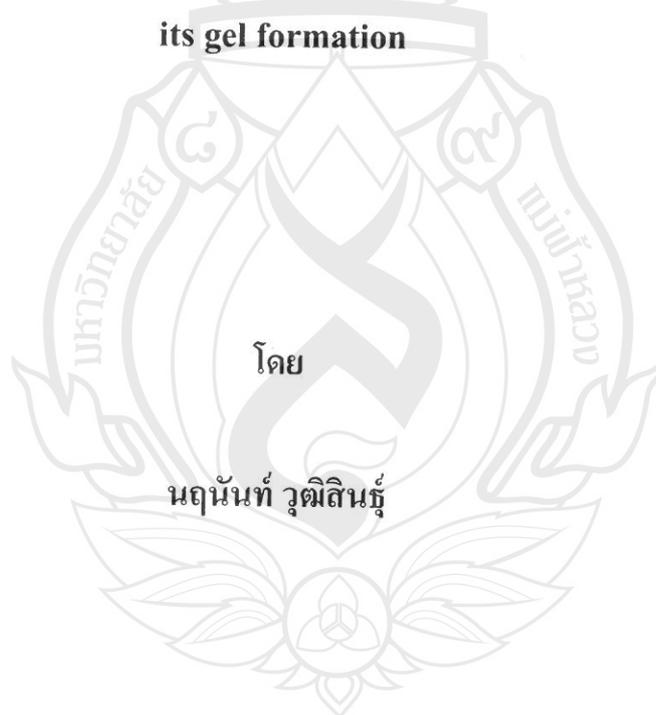




รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

คุณสมบัติทางชีวภาพของสารเมือกจากผลพุทราและการเตรียมเป็นเจล
Biological properties of mucilage from *Ziziphus mauritiana* Lam. and
its gel formation



โดย

นฤนันท วุฒิสินธุ์

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๕๕

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง สถานที่วิจัย และอุปกรณ์โดยความสนับสนุนของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อปกป้องและส่งเสริมสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

นฤนันท์ วุฒิสินธุ์



บทสรุปผู้บริหาร

พุทราเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กและเป็นไม้ผลที่สำคัญอย่างหนึ่งของเมืองไทย เป็นไม้ที่ปลูกง่ายขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด มีความทนทานต่อความแห้งแล้งหรือแม่อัดที่มีฝนชุก ให้ผลเร็วกว่าไม้ผลชนิดอื่น โดยปกติพุทราจะออกดอกมากและติดผลมาก ผลตกสามารถเก็บผลได้ตลอดปี พุทราจึงเป็นแหล่งวัตถุดิบที่หาได้ง่ายและราคาถูก หากนำมาศึกษาเพิ่มเติมก็จะสามารถเพิ่มมูลค่าของพุทราได้ มีรายงานวิจัยพบว่าเนื้อพุทรา ประกอบด้วยสารเมือกปริมาณมาก สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ จากการค้นคว้าทางวิชาการยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารเมือกจากผลพุทรา ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมือกจากผลพุทรา เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เจลเพื่อเป็นแนวทางพัฒนาเป็นเครื่องสำอางต่อไป

สารเมือกจากผลพุทราเตรียมโดยสกัดด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทานอลแล้วจึงเตรียมเป็นผงแห้ง จากการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัด พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยพบว่าสารเมือกจากผลพุทรา 1 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox (อนุพันธ์ของวิตามินอีซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) 208.16 ± 2.30 mg/ml และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ผลการทดสอบพบว่า สารเมือกจากผลพุทรา 1 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 226.33 ± 0.48 mM จากการที่สารสกัดเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงมีแนวโน้มนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยหรือชะลอวัยได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารเมือกจากผลพุทรา มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสารเมือกจากผลพุทรา 1 mg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Kojic acid 63.20 ± 2.68 μ g/ml การที่สารเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานินเป็นสาเหตุทำให้ผิวคล้ำ ดังนั้นสารเมือกจากผลพุทราจึงมีแนวโน้มนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาวได้ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมือกจากผลพุทรา ได้ศึกษาในเชื้อจุลินทรีย์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย ลงวันที่ 23 เมษายน 2553 มีจุดประสงค์เพื่อเป็นแนวทางในการใช้สารเมือกจากผลพุทรา ร่วมกับหรือใช้ทดแทนสารกันเสียสังเคราะห์ใน

การต้านเชื้อจุลินทรีย์ แต่ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเมือกจากผลพุทราไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อนำสารเมือกจากผลพุทรามาเตรียมเป็นเจลที่มีความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารเมือกจากผลพุทราในสูตร โดยลดปริมาณสารก่อเจลสังเคราะห์ทำให้ความหนืดของสูตรลดลง จึงสรุปได้ว่าไม่สามารถใช้สารเมือกจากผลพุทรามาทดแทนสารก่อเจลสังเคราะห์ได้ นอกจากนี้สารเมือกจากผลพุทราทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในสูตรจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มมากขึ้น เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ไปทดสอบความคงตัว ด้วยวิธี Heating-Cooling โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ โดยแต่ละรอบจะวัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH, ความหนืด และสี ผลการทดสอบพบว่าเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราที่มีความเข้มข้น 0.05%w/w มีความคงตัวดีที่สุดโดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่า pH, ความหนืด และสี ตลอดระยะเวลาทดสอบ นอกจากนี้เจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราทั้ง 3 สูตรยังมีความคงตัวเมื่อทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน

จากผลวิจัยสรุปได้ว่าสารเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาต่อเป็นตำรับเครื่องสำอางที่มีความคงตัวดี โดยมีแนวโน้มนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยชะลอวัย และ ผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาวได้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารเมือกจากผลพุทราและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา รวมถึงนำสารเมือกจากผลพุทราไปทำเป็นผลิตภัณฑ์เจล และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้ สารเมือกจากผลพุทราสกัดด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทานอลแล้วจึงนำไปเตรียมเป็นผงแห้ง สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ สารเมือกจากผลพุทรา 1 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging assay เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 208.16 ± 2.30 mg/ml และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบโดยวิธี ABTS เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 226.33 ± 0.48 mM นอกจากนี้สารเมือกจากผลพุทรา 1 mg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Kojic acid 63.20 ± 2.68 μ g/ml แต่สารสกัดเมือกจากผลพุทราไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อนำสารเมือกจากผลพุทราไปเตรียมเป็นเจลที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารเมือกจากผลพุทราในสูตรทำให้ความหนืดของสูตรลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มมากขึ้น และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ไปทดสอบความคงตัว ด้วยวิธี Heating-Cooling test โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ ผลการทดสอบพบว่าเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราที่ความเข้มข้น 0.05%w/w มีความคงตัวดีที่สุด โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่า pH, ความหนืด และสี ตลอดระยะเวลาทดสอบ นอกจากนี้เจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราทั้ง 3 สูตรยังมีความคงตัวเมื่อทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน

Abstract

The objectives of this study were to test the physical properties of mucilage from *Ziziphus mauritiana* Lam. and investigate the biological activities such as antioxidant activity, antityrosinase activity and antimicrobial activity. Then the mucilage was objected to prepare into gel formulations and test for their physical properties. The mucilage was obtained from water extraction follow by precipitating with ethanol and dried into powder. The mucilage has high water holding capacity and swelling property. The mucilage 1 g/ml has antioxidant potency against DPPH scavenging assay (208.16 ± 2.30 mg/ml Trolox equivalent) and ABTS assay (226.33 ± 0.48 mM Trolox equivalent). Besides, the mucilage (1 mg/ml) also inhibit tyrosinase enzyme with calculated as 63.20 ± 2.68 μ g/ml Kojic acid equivalent but did not exhibit antimicrobial activity. The gel formulations were prepared by adding mucilage at various concentrations such as 0.05, 0.10 and 0.15 %w/w. The results showed that the viscosity of the formulation was reduced significantly when increasing the concentration of mucilage while the color of the formulation was increased. The stability of the formulation was tested by Heating-Cooling cycle between 45°C (24 hours) and 4°C (24 hours) for 6 cycles. It was found that gel containing 0.05% w/w was the best formulation since there was no change of pH, viscosity and color during the test. Moreover all of the formulations were still stable after one month storage at 4°C, room temperature and 45°C conditions.

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	บทนำ	
	1.1 ภูมิหลัง	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
	1.3 ความสำคัญของการวิจัย	2
	1.4 สมมติฐานของการวิจัย	2
	1.5 ขอบเขตของการวิจัย	3
บทที่ 2	แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
	2.1 สารเมือก	4
	2.2 พุทรา	5
	2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	6
	2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	7
	2.5 การทดสอบเชื้อทางจุลชีพ	8
บทที่ 3	ระเบียบวิธีวิจัย	
	3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	10
	3.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	11
	3.3 วิธีการวิจัย	11
บทที่ 4	ผลการวิจัย	
	4.1 การสกัดสารเมือกจากพุทรา	17
	4.2 คุณสมบัติของสารเมือกจากพุทรา	18
	4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมือกจากพุทรา	19
	4.4 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	21
	4.5 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ	22
	4.6 การพัฒนาเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทราและการศึกษาความคงตัว	22
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
	5.1 สรุปผลการทดลอง	30

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า	
5.2 การอภิปรายผล	31	
5.3 ข้อเสนอแนะ	34	
เอกสารอ้างอิง	35	
ภาคผนวก	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา	41
ประวัติผู้วิจัย	43	

สารบัญตาราง

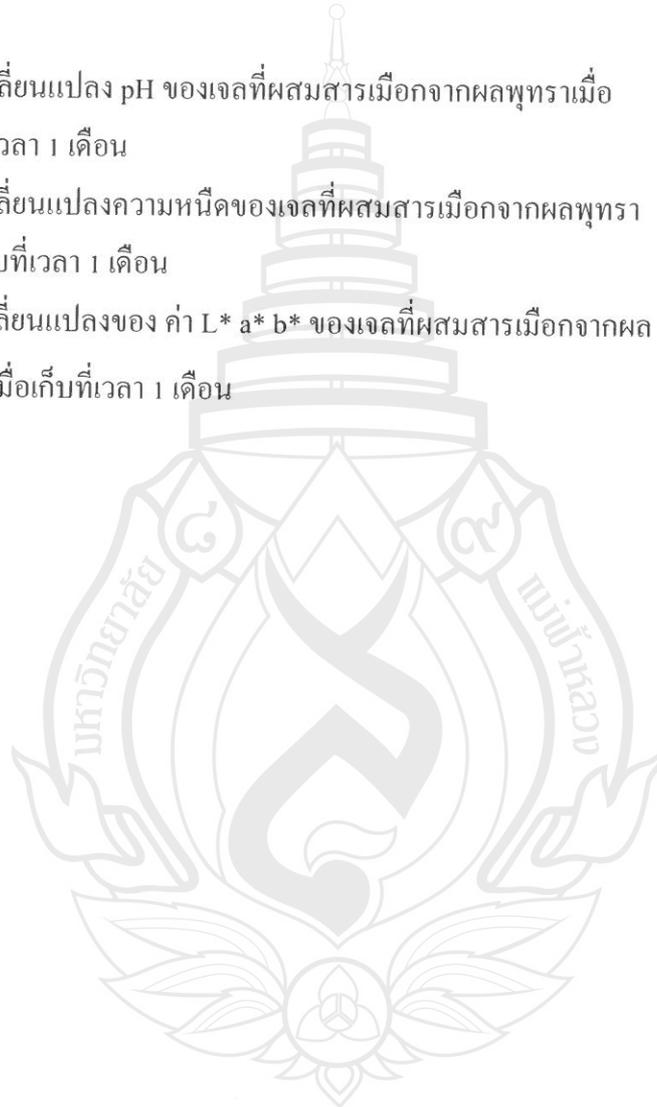
	หน้า	
ตารางที่ 4-1	ผลทดสอบการป้องกันตัวของสารเมือกจากผลพุทรา	19
ตารางที่ 4-2	แสดงคุณสมบัติของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา	23

สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 4-1	ต้นพุทรา	17
ภาพที่ 4-2	ผลพุทรา	17
ภาพที่ 4-3	ผงเมือกจากผลพุทรา	18
ภาพที่ 4-4	ผลทดสอบคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำยาทดสอบ Molish	18
ภาพที่ 4-5	กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ	20
ภาพที่ 4-6	กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ	21
ภาพที่ 4-7	กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Kojic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ	22
ภาพที่ 4-8	เจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา	23
ภาพที่ 4-9	การเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา	24

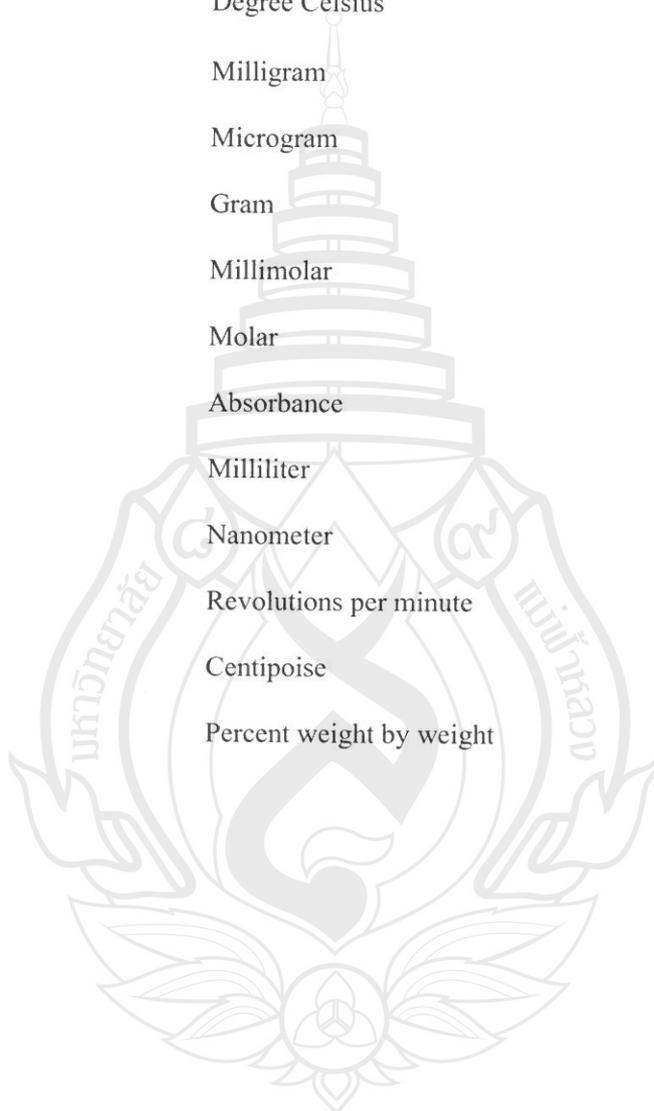
สารบัญญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4-10	การเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา	25
ภาพที่ 4-11	การเปลี่ยนแปลงค่า L^* a^* และ b^* ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา	26
ภาพที่ 4-12	การเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือน	27
ภาพที่ 4-13	การเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือน	28
ภาพที่ 4-14	การเปลี่ยนแปลงของ ค่า L^* a^* b^* ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือน	29



อักษรย่อและสัญลักษณ์

%	Percent
°C	Degree Celsius
mg	Milligram
µg	Microgram
g	Gram
mM	Millimolar
M	Molar
A	Absorbance
ml	Milliliter
nm	Nanometer
rpm	Revolutions per minute
cP	Centipoise
% w/w	Percent weight by weight



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลายรูปแบบซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญในสูตรเป็นสารจากธรรมชาติ ทั้งนี้เป็นผลจากผู้คนในปัจจุบันเริ่มกลับมาให้ความสนใจผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารจากธรรมชาติมากขึ้น ด้วยเชื่อว่าสารธรรมชาติมีผลในการบำรุงรักษา เยียวยา และปรับสภาพของร่างกายผู้ใช้ให้อยู่ในสถานะสมดุลได้ โดยมีผลข้างเคียงน้อย ไม่ทำปฏิกิริยาเคมี มีความปลอดภัย ราคาถูก และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ตลอดจนย่อยสลายง่าย ไม่ก่อมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม สารจากธรรมชาติที่ใช้เป็นสารช่วยเพิ่มคุณภาพในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางส่วนมากจะได้แก่ สารหล่อลื่น สารให้ความชุ่มชื้น สารกันบูด สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น สารแต่งรส สารลดแรงตึงผิว และสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

สารเมือกจากพืชประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ที่ละลายน้ำ มีหน้าที่ในการเก็บกักน้ำ สะสมอาหาร และเป็นแหล่งสะสมสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้น ในทางเครื่องสำอางมีการนำสารเมือกมาใช้เป็นสารทำให้ลื่นผิวและให้ความชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารป้องกันน้ำระเหย สารแขวนตะกอน (suspending agent) สารก่อฟิล์ม (film former) และสารก่อเจล (gelling agent) ในผลิตภัณฑ์ (Jain *et al.*, 2007) ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดสารเมือกทำได้ง่าย สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ ไม่มีพิษ (Kulkarni *et al.*, 2002) สารสามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ และกระบวนการผลิตไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Kulkarni *et al.*, 2002)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารเมือกจากผลพุทรา
- 1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ของสารเมือกจากผลพุทรา
- 1.2.3 เพื่อสร้างเป็นผลิตภัณฑ์เจลและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้

1.3 ความสำคัญของการวิจัย

พุทรา (*Ziziphus mauritiana* Lam.) เป็นพืชวงศ์ Rhamnaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กและเป็นไม้ผลที่สำคัญอย่างหนึ่งของเมืองไทย เป็นไม้ที่ปลูกง่ายขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด มีความทนทานต่อความแห้งแล้งหรือแม่แต่ที่มีฝนชุก ให้ผลเร็วกว่าไม้ผลชนิดอื่น โดยปกติพุทราจะออกดอกมากและติดผลมาก ผลดกสามารถเก็บผลได้ตลอดปี (ประจักษ์, 2504) พุทราจึงเป็นแหล่งวัตถุดิบที่หาได้ง่ายและราคาถูกหากนำมาศึกษาเพิ่มเติมก็จะสามารถเพิ่มมูลค่าของพุทราได้ มีรายงานวิจัยพบว่าเนื้อพุทรา ประกอบด้วยสารเมือกปริมาณมากซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ที่ละลายน้ำ มีขนาดโมเลกุล 2000 kDa (Zhao *et al.*, 2007) สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ (Thanatcha and Pranee, 2011) สารเมือกจากพืชประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ที่ละลายน้ำ มีหน้าที่ในการเก็บกักน้ำ สะสมอาหาร และเป็นแหล่งสะสมสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้น ในทางเครื่องสำอางมีการนำสารเมือกมาใช้เป็นสารทำให้ลื่นผิวและให้ความชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารป้องกันน้ำระเหย สารแขวนตะกอน (suspending agent) สารก่อฟิล์ม (film former) และสารก่อเจล (gelling agent) ในผลิตภัณฑ์ จากการค้นคว้าทางวิชาการยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารเมือกจากผลพุทรา ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงได้สนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมือกจากผลพุทรา เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น รวมถึงการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เจลเพื่อเป็นแนวทางพัฒนาเป็นเครื่องสำอางต่อไป

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

จากรายงานการวิจัยที่พบว่าเนื้อพุทรา ประกอบด้วยสารเมือกจำนวนมากซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ มีขนาดโมเลกุล 2000 kDa (Zhao *et al.*, 2007) ประกอบด้วย L-arabinose, D-glucose, L-rhamnose, D-xylose และ galacturonic acid ในสัดส่วนที่ต่างกัน (Saenz *et al.*, 2004) การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารเมือกพบว่าสารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ จากคุณสมบัติของสารเมือกที่พบในพืชต่างๆดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้เกิดสมมติฐานว่าสารเมือกจากพุทราอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งมีการศึกษาเนื้อพุทราจึงพบว่ามีความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Jin-wei *et al.*, 2005) ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงได้สนใจสกัดสารเมือกจากพุทราเพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารเมือกที่สกัดได้ รวมถึงศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมือก เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น รวมถึงการเตรียมเป็นเจลเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาเป็นเครื่องสำอางต่อไป

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 สกัดสารเมือกจากผลพุทราโดยตกตะกอนด้วยเอทานอล (Thanatcha and Pranee, 2011)

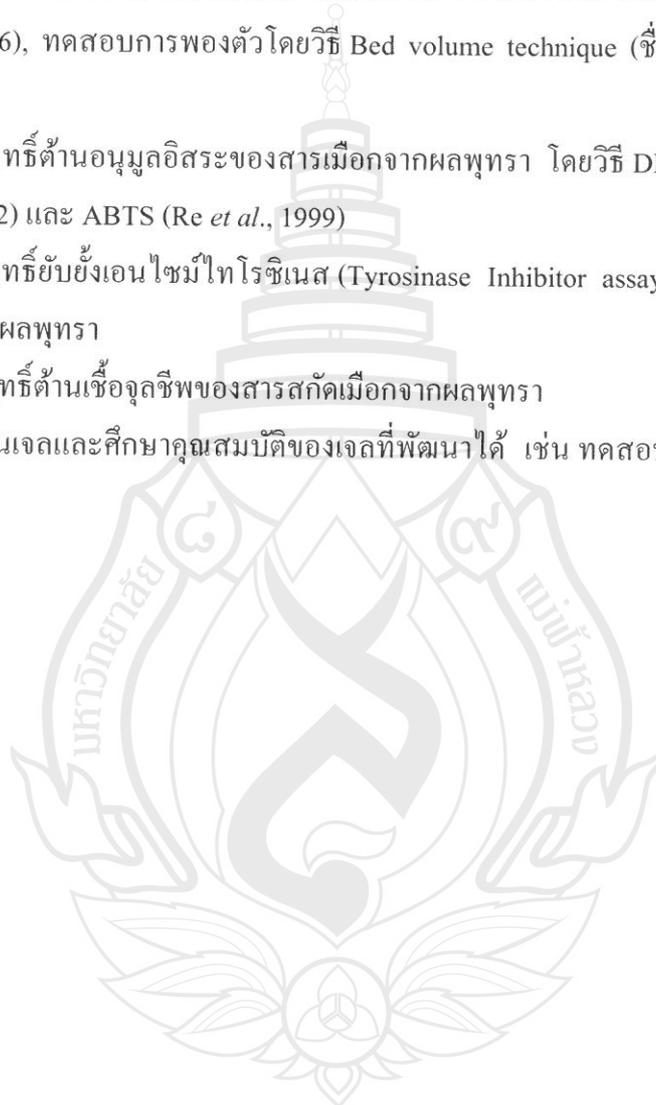
1.5.2 ศึกษาคุณสมบัติของสารเมือก เช่น ตรวจสอบสารคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำยาทดสอบ Molisch (William, 1996), ทดสอบการพองตัวโดยวิธี Bed volume technique (ชินนภา และคณะ, 2553), วัด pH

1.5.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารเมือกจากผลพุทรา โดยวิธี DPPH scavenging assay (Singh *et al.*, 2002) และ ABTS (Re *et al.*, 1999)

1.5.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibitor assay) (Chan *et al.*, 2008) ของสารเมือกจากผลพุทรา

1.5.5 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมือกจากผลพุทรา

1.5.6 พัฒนาเป็นเจลและศึกษาคุณสมบัติของเจลที่พัฒนาได้ เช่น ทดสอบความคงตัว, สี, pH, ความหนืด เป็นต้น



บทที่ 2

แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารเมือก

สารเมือกจากพืชประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ เป็นโพลีเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ มีหน้าที่ในการเก็บกักน้ำ สะสมอาหาร และเป็นแหล่งสะสมสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสังเคราะห์ขึ้น มีการนำสารเมือกมาใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยา โดยนำมาทำเป็น diluents และ binders ในการทำยาเม็ด เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickeners) และสารแขวนตะกอน (suspending agent) ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลว เช่น ยาน้ำ สารก่อเจล (gelling agents) ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นเจล (Ravindrakullai-reddy and Manjunath, 2013)

ในทางเครื่องสำอางมีการนำสารเมือกมาใช้เป็นสารทำให้ลื่นผิวและให้ความชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารป้องกันน้ำระเหย สารแขวนตะกอน สารก่อฟิล์ม (film former) และสารก่อเจลในผลิตภัณฑ์ (Jain *et al.*, 2007) ทั้งนี้เนื่องจาก สารเมือกได้จากธรรมชาติ, ราคาถูก, การสกัดสารเมือกทำได้ง่าย, สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ ไม่มีพิษเนื่องจากประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตจึงไม่ก่อให้เกิดการแพ้หรือระคายเคือง (Ravindrakullai-reddy and Manjunath, 2013), สารสามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ และกระบวนการผลิตไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Kulkarni *et al.*, 2002) จึงได้มีงานวิจัยเพื่อศึกษาสารเมือกจากพืชหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดบอเรจ (Borage) ได้จากยอดดอกของต้น *Borage Officinalis* L. ประกอบด้วยวิตามินซี, saponins, tannins, แร่ธาตุ และมีสารเมือกอยู่ 30% จึงมีคุณสมบัติทำให้ผิวนุ่มลื่น (Leung and Foster, 1996), สารสกัดจากมาร์ชเมลโลว์ (Marshmallow) ได้จากรากของต้น *Althaea officinalis* L. ประกอบด้วยสารเมือกที่มี Acidic polysaccharide ประกอบด้วย D-galactose, L-rhamnose, D-glucuronic acid, and D-galacturonic acid มีคุณสมบัติทำให้ผิวเย็นชุ่มชื้น เป็นอิมอลเลียนท์สำหรับผิว (Capek *et al.*, 1987), สารเมือกจากว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis* Mill.) ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโนหลายชนิด รวมถึงโมโนแซคาไรด์ และโพลีแซคาไรด์ เช่น glucomannans, โพลีเมอร์ของ galactose และ galacturonic acid มีคุณสมบัติให้ความชุ่มชื้นผิว ด้านการอักเสบ ป้องกันแสงแดด รักษาบาดแผล ด้านเชื้อจุลินทรีย์ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Wynn, 2005; Dracelos, 2001), สารเมือกจากมันเทศ (yam, *Dioscorea batatas*) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Hou *et al.*, 2003) มีคุณสมบัติให้ความชุ่มชื้น ประกอบด้วย allantoin และ allantonic acid ซึ่งมีคุณสมบัติรักษาบาดแผล และป้องกันมะเร็งผิวหนังได้ (Fu *et al.*, 2006), สารเมือกจากลำต้นผักปลัง (*Basella alba* L.) มี

องค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลกลูโคสและโกลูโคส และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถนำมาเตรียมเป็นเจลที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี มีความคงตัว (ชื่นนภา และคณะ, 2553) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พยายามสกัดสารเมือกจากพืชต่างๆ มาพัฒนาเป็นสารยึดเกาะในยาเม็ด เพื่อประโยชน์ในอุตสาหกรรมยา ได้แก่ สารเมือกจากกระเจี๊ยบมอญ (*Abelmoschus Esculentus*) (Kumar *et al.*, 2009), สารเมือกจากกระบองเพชร (*Opuntia ficus indica*) (Sepulveda *et al.*, 2007), สารเมือกจากเทียนแดง (*Lepidium sativum*) (Mehta *et al.*, 2010), สารเมือกจากเมล็ดโหระพา (*Ocimum americanum* Linn) (Patel *et al.*, 2007) และเมล็ดแมงลัก (*Ocimum canum sims*) (Ruangchakrpet and Anprung, 2002; ลักขณา, 2545) เป็นต้น

ได้มีการศึกษาเพื่อนำสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากพืชต่างๆ มาพัฒนาเป็นสารให้ความชุ่มชื้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การศึกษาคุณสมบัติทางด้านความชุ่มชื้นของครีมที่เตรียมจากสารสกัดจากว่านหางจระเข้ (อัญญารัตน์, 2546), การพัฒนาเจลให้ความชุ่มชื้นผิวจากสารสกัดมะขาม (บุญล้อม, 2550), การพัฒนาเจลให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนังที่มีส่วนผสมของผงบุก (ลัดดา, 2554)

2.2 พุทรา

พุทรา (*Ziziphus mauritiana* Lam.) เป็นพืชวงศ์ Rhamnaceae พุทราเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 5 - 7 เมตร เปลือกลำต้นมีร่องเล็กๆ ตามยาวลำต้น ยอดอ่อนมีขนปกคลุมเล็กน้อย และกิ่งมีหนามแหลม ใบเดี่ยว เรียงตัวแบบสลับ ใบรูปไข่ปลายใบมน ขอบใบหยักถี่ ท้องใบมีขนสีขาว มีเส้นใบ 3 ใบ ดอกออกเป็นช่อกระจุกตามซอกใบ สีเขียวอ่อนถึงเหลือง ผลทรงกลม เมื่อสุกสีเหลือง กินได้ บางชนิดมีรสหวานสนิท บางชนิดอมเปรี้ยวและฝาด โดยมากที่เกิดเองในป่ามีรสเปรี้ยว มีเมือกมาก (ประจักษ์, 2504) มักรับประทานเมื่อสดและสามารถนำมาทำเป็นน้ำผลไม้และผลไม้ตากแห้ง พุทรามีสรรพคุณ คือ ผลดิบ ไข่ไก่ ไข่ ฝาดสมาน ผลสุก ช่วยขับเสมหะ แก้ไอ เป็นยาระบาย สำหรับเปลือกต้น มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย แก้ลมท้อง และแก้อาเจียน เป็นต้น (นุศรา, 2010)

มีการศึกษาเนื้อพุทราจีน (*Ziziphus jujuba*) 5 สายพันธุ์ พบว่า ประกอบด้วยน้ำตาลละลายน้ำ ได้แก่ fructose, glucose, rhamnase, sorbital, sucrose, potassium, phosphorus, calcium, manganese, phenolic acid, วิตามินซี และมีสารเมือกปริมาณมาก (Jin-wei *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2007) นอกจากนี้สารสกัดเมทานอลของเนื้อพุทราจีนยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสายพันธุ์ *Ziziphus jujube* cv. jinsixiaozao และ *Ziziphus jujube* cv. yazao มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินอี (Jin-wei *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบพุทรา (*Ziziphus mauritiana*) อีกด้วย (Dahiru and Obidoa, 2008) ใบพุทราประกอบด้วย flavonoids,

tannins, holosides, mucilages, sterol, triterpenoids โดยมีสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์สูงถึง 45.57% (Diallo *et al.*, 2004) ซึ่งในประเทศอินโดนีเซียมีการนิยมนำโคมโบออบอ่อนพุทราด้วย (Morton, 1987) เนื้อพุทรา ประกอบด้วยสารเมือกจำนวนมากซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำ มีขนาดโมเลกุล 2000 kDa (Zhao *et al.*, 2007) ประกอบด้วย L-arabinose, D-glucose, L-rhamnose, D-xylose และ galacturonic acid ในสัดส่วนที่ต่างกัน (Saenz, 2004) โดยพบว่ามีสัดส่วนของ galacturonic acid ต่อ rhamnose ในอัตราส่วน 8.1: 1 (Zhao *et al.*, 2007) สารเมือกจากพุทราสกัดได้ด้วยน้ำ อุณหภูมิ 60°C และตกตะกอนสารเมือกโดยเอทานอล การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารเมือกจากพุทราพันธุ์สามารถพบว่ามีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ (โดยมีค่าการพองตัว, water holding capacity 11.77 g dry weight) มีคุณสมบัติลดน้ำมันได้ดีกว่า guar gum และ xanthan gum ถึง 9 และ 6 เท่า มีคุณสมบัติในการเป็น emulsifier เทียบเท่ากับ guar gum แต่ดีกว่า xanthan gum โดยมีคุณสมบัติการไหล (Rheological properties) เป็นแบบ pseudoplastic เช่นเดียวกับ guar gum สารเมือกที่สกัดได้มีความหนืดสูง และความหนืดจะลดลงเมื่อ pH และ อุณหภูมิสูงขึ้น โดยมีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Thanatcha and Pranee, 2011) ซึ่งจากการค้นคว้าทางวิชาการยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารเมือกจากผลพุทราและการพัฒนาเครื่องสำอางจากสารเมือกจากผลพุทรา

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง โมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมของออกซิเจนที่พร้อมเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ตัวอย่าง เช่น hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), peroxy radical ($\text{ROO}\cdot$) หรืออาจเป็นกลุ่มของ reactive oxygen species (ROS) เช่น superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$) เป็นต้น ในร่างกายของคนมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นตลอดเวลาซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย อนุมูลอิสระที่มากเกินไปเป็นสาเหตุให้เกิดโรค และเป็นสาเหตุของความชรา มีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพร เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเสริมและใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารตัวอย่าง มีหลายวิธีส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยเปรียบเทียบกับฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ซึ่งเป็นสารที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์ไป สารต้านอนุมูลอิสระมีมากมายหลายกลุ่ม มีคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพต่างกันไป แต่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เหมือนกัน เช่น วิตามินซี, วิตามินอี, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethoxylchroman-2-carboxylic acid) และ BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นต้น (สุนีย์, 2552)

2.3.1 วิธี DPPH scavenging assay

วิธี DPPH เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ง่ายและใช้กันอย่างกว้างขวางในการทดสอบฤทธิ์ของอาหารและสมุนไพร โดยใช้ออนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm มีสีม่วงอมน้ำเงิน เมื่อถูก reduce ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH• เปลี่ยนเป็น DPPH-H) การเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนอิเล็กตรอนที่ก่อกวนระกัไฮโดรเจนที่ได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm มีค่าลดลง การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถคำนวณได้หลายแบบแล้วแต่ผู้ทดลองจะกำหนด เช่น การเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน การรายงานผลจะเป็น % antioxidant activity (%AA) หรือรายงานผลในรูปของ Inhibition concentration 50%, IC₅₀ เป็นค่าความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ลดความเข้มข้นของ DPPH• ได้ 50% ของความเข้มข้นเริ่มต้น ซึ่งวิธีการนี้จะต้องเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นหลายๆค่า เพื่อติดตามการเกิดปฏิกิริยา ข้อควรระวังของการวัดวิธีนี้คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับ DPPH• จะเป็นชนิดที่ละลายน้ำได้ จึงวิเคราะห์ผลได้เฉพาะส่วนที่ละลายน้ำเท่านั้น ดังนั้นมีผู้วิจัยบางคนใช้ตัวทำละลายเป็น methanol แทนน้ำ (Lin *et al.*, 2005) หรือตัวทำละลายอื่น เช่น DMSO (Ruiz-Terán *et al.*, 2008) เพื่อให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ละลายน้ำในตัวอย่างสามารถละลายและถูกวัดได้

2.3.2 วิธี ABTS

วิธี ABTS เป็นการศึกษาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยให้สารต้านอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับ ABTS^{•+} ที่เตรียมโดยทำปฏิกิริยา ABTS กับ potassium persulfate (K₂S₂O₈) มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm มีสีเขียว เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มของสีเขียวจะลดลง สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm มีค่าลดลง การศึกษาโดยวิธีนี้อาจรายงานผลเป็น % inhibition ไว้เปรียบเทียบกับตัวเองระหว่างตัวอย่างที่ต่างชนิดกัน หรืออาจใช้สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานเป็นตัวเทียบก็ได้ วิธีนี้สามารถใช้ได้กับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายน้ำและละลายในน้ำมัน (สุนีย์, 2552)

2.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibitor assay)

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน tyrosine ไปเป็น dihydroxyphenylalanine (DOPA) และเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน DOPA เป็น DOPA quinone ใน

กระบวนการผลิตเม็ดสีเมลานิน การทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจะถูกยับยั้งโดยสารหลายชนิด เช่น กรดโคจิก (kojic acid), อาร์บูติน (arbutin) และวิตามินซี รวมถึงสารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เช่น มะละกอ (*Carica papaya*), ส้ม (*Citrus sinensis*), มะนาว (*Citrus limon*), มะพร้าว (*Cocos nucifera*), องุ่น (*Vitis vinifera*), พริก (*Capsicum annum*), ว่านหางจระเข้ (*Aloe vera*) และขิง (*Zingiber officinale*) เป็นต้น (Vardhan *et al.*, 2014) สารสกัดสมุนไพรจะมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและยับยั้งการเกิดสารตัวกลางในการผลิตเม็ดสีเมลานิน การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสทำได้โดยให้เอนไซม์ไทโรซิเนสเร่งการเปลี่ยน L-DOPA เป็น DOPA quinone ซึ่งสามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 475 nm สารฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจะยับยั้งการเกิด DOPA quinone ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm มีค่าลดลง (Chan *et al.*, 2008)

2.5 การทดสอบเชื้อทางจุลชีพ

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง เป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาการคงสภาพของเครื่องสำอาง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี เกิดการแยกชั้น เปลี่ยนสี และกลิ่น จนอาจนำไปสู่อันตรายต่อผู้บริโภคได้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ลงวันที่ 23 เมษายน 2553 เครื่องสำอางต้องไม่พบเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค อีกทั้งเครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อเมือก และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ต้องตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) ไม่เกิน 500 โคโลนีต่อกรัม และเครื่องสำอางอื่นๆ ที่นอกเหนือจากนี้ต้องตรวจพบไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัม (สำนักคณะกรรมการอาหารและยา, 2553) ดังนั้นในการผลิตเครื่องสำอางจึงมักต้องเติมสารกันเสีย (preservatives) เพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ แต่เนื่องจากสารกันเสียที่ใช้เป็นสารเคมีสังเคราะห์ ตัวอย่างเช่น parabens, imidazolidinyl- และ diazolidinyl-urea พบว่าเป็นสาเหตุให้เกิดการแพ้และระคายเคืองต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียเกิดการพัฒนาสายพันธุ์เพื่อต้านทานฤทธิ์ของสารกันเสียอีกด้วย ดังนั้นจึงเกิดการศึกษาวิจัยเพื่อหาแนวทางใหม่ในการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง นำไปสู่การพัฒนาเครื่องสำอางธรรมชาติ และปราศจากสารกันเสีย (natural and preservative-free cosmetics) (Dreger and Wielgus, 2013)

ที่ผ่านมา มีรายงานการศึกษาคูณสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากพืชหลายชนิด เพื่อใช้ร่วมกับหรือใช้ทดแทนสารกันเสียสังเคราะห์ วิธีการศึกษา มีหลายวิธี ได้แก่ disc diffusion (รายงาน

ผลเป็นค่า zone of inhibition), broth dilution รายงานผลเป็น Minimum inhibitory concentrations (MIC) และ Minimum fungicidal concentrations (MFC) และศึกษาโดยใช้ Scanning electron microscope (SEM) (Rajeh *et al.*, 2010) มีการศึกษาพบว่า สมุนไพรไทย เช่น นนทรี, ฝรั่ง, พริกขี้หนู, โปทะเล, มะไฟเดือนห้า, ลูกใต้ใบ, ใญ่ใต้ใบ, ใญ่ข้ดใบป้อม, ใญ่ข้ดมอญ และใญ่ข้ดเล็ก มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดและมีแนวโน้มในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยา (ปัทมาวดี และคณะ, 2542) น้ำมันหอมระเหย เช่น tea tree (*Melaleuca alternifolia*), thyme (*Thymus vulgaris*), lemon grass (*Cymbopogon citratus*), oregano (*Origanum vulgare*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), calamint (*Calamintha officinalis*) และ lavender (*Lavendula officinalis*) มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ (Kunicha-Styczynska *et al.*, 2009; Dreger and Wielgus, 2013) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ เช่น สารโพลีแซคคาไรด์เจลาจากเปลือกทุเรียนมีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* และ *E. coli* (Lipipun *et al.*, 2002) และ โพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายสีน้ำตาล มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. albican* (Kantachumpoo and Chirapart, 2010) เป็นต้น



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.1.1 Ethanol, laboratory grade, 95% , ALCOH-AX, Thailand
- 3.1.2 Resorcinol, reagent grade, 98%, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.3 Sulfuric acid, $\geq 97.5\%$, AR grade, Merck, Germany
- 3.1.4 Dimethylsulfoxide (DMSO), ACS Reagent Grade, Merck, Germany
- 3.1.5 Methanol, ACS Reagent Grade, Merck, Germany
- 3.1.6 Propylene glycol, laboratory grade, ISP, United States
- 3.1.7 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^o), analytical grade, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.8 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), analytical grade, 97%, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.9 Potassium dihydrogenphosphate (KH₂PO₄), laboratory grade, Merck, Germany
- 3.1.10 Potassium hydrogenphosphate (K₂HPO₄), laboratory grade, Merck, Germany
- 3.1.11 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonic acid) (ABTS), analytical grade, 98%, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.12 Potassium persulphate (K₂S₂O₈), laboratory grade, Ajax Finechem, Australia
- 3.1.13 Kojic acid, $\geq 98.0\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.14 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-Dopa), $\geq 98\%$ (TLC), Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.15 Mushroom tyrosinase, 1,000 units/mg solid, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.16 Nutrient broth, bacteriological grade, Titan Biotech, India
- 3.1.17 Yeast Malt broth, bacteriological grade, HIMEDIA[®], India
- 3.1.18 Mueller Hinton agar, bacteriological grade, HIMEDIA[®], India
- 3.1.19 Carbopol ultreze 10[®], commercial grade, Lubrizol, USA
- 3.1.20 Triethanolamine, reagent grade, 98%, Sigma-Aldrich, United States
- 3.1.21 Liquid germall plus[®], 40% germall plus [99% diazolidinyl urea and 0.5% 3-Iodo-2-propynylbutylcarbamate (IPBC)] and 60% propylene glycol, ISP, United States

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.2.1 Ultra-low temperature centrifuge, Beckman Coulter
- 3.2.2 เครื่องปั่น, Moulinex
- 3.2.3 ตู้อบ (Hot air oven), Binder
- 3.2.4 Freeze dryer, Labconco
- 3.2.5 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง, Sartorius
- 3.2.6 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง, Sartorius
- 3.2.7 pH meter, NeoMet/pH-200L, Mettler Toledo
- 3.2.8 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer), Thermo Scientific
- 3.2.9 เครื่องวัดสี, UltraScan VIS, HunterLab
- 3.2.10 ตู้เย็น, Toshiba
- 3.2.11 เครื่องวัดความหนืด, DV2T extra, Brookfield

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 การสกัดสารเมือกจากผลพุทรา

สกัดสารเมือกจากผลพุทรา โดยวิธีของ Thanatcha and Prance, 2011

- 1) เก็บตัวอย่างพุทรา (*Ziziphus mauritiana* Lam.) จากต้นในมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย ช่วงเดือน มกราคม-กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 ผู้ตรวจสอบพืช คือ ดร.อังคณา อินตา, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 2) นำพุทรามาบ่มให้สุก ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 9 วัน และนำพุทราที่สุกมาลวกด้วยไอน้ำที่ 85°C นาน 3 นาทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา Enzymatic Browning reaction
- 3) นำมาสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:7 และปั่นด้วยเครื่องปั่น เป็นเวลา 1 นาที
- 4) กรองด้วยผ้าขาว และนำสารที่กรองได้ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10000xg เป็นเวลา 30 นาที
- 5) แยกสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนด้วยเอทานอล และเก็บตะกอนโดย centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10000xg เป็นเวลา 10 นาที
- 6) ทำสารเมือกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Dialysis โดยเปลี่ยนน้ำทุกๆ 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ cellulose tubular membrane MWCO 12,000-14,000 (Cellu Sep T4, USA)
- 7) นำตะกอนที่ได้ไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Freeze Dryer

3.3.2 ศึกษาคุณสมบัติของสารเมือกจากผลพุทรา

3.3.2.1 ตรวจสอบสารคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำยาทดสอบ Molish

ทดสอบโดยดัดแปลงจากวิธีของ William, 1996 โดยเตรียมสารละลายเมือกพุทรา ในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/ml ปริมาณ 2 ml หยดสารละลาย 5% resorcinol 2-3 หยด ผสมให้เข้ากัน แล้วค่อยๆ ริน sulfuric acid เข้มข้น 1 ml ลงข้างหลอดทดลอง โดยผลบวกจะปรากฏวงแหวนสีส้มแดง

3.3.2.2 ทดสอบการพองตัว โดยวิธี Bed volume technique

ทดสอบการพองตัวของสารเมือกจากผลพุทราทดสอบโดยดัดแปลงจากวิธีของ ชื่นนภา และคณะ (2553) ทดสอบการพองตัวในตัวทำละลายชนิดต่างๆ เช่น น้ำ, ethanol, methanol และ propylene glycol โดยชั่งผงเมือกพุทรา 0.2 g ลงในกระบอกตวงขนาด 10 ml จากนั้นเติมตัวทำละลายชนิดต่างๆ จนถึงขีดปริมาตร 10 ml วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คำนวณค่าการพองตัว (Swelling capacity) จาก ปริมาตรการพองตัว (ml) ลบด้วยปริมาตรตั้งต้น (ml) รายงานผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การพองตัว

3.3.2.3 วัด pH

ชั่งสารเมือกจากผลพุทรา 0.1 g ละลายในน้ำ 10 ml และวัดด้วย pH meter, NeoMet/pH-200L (ชื่นนภา และคณะ, 2553; Parth, 2013; Badi and Khan, 2014; Tarun, *et al.*, 2014)

3.3.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารเมือกจากผลพุทรา

3.3.3.1 วิธี DPPH scavenging assay (Singh *et al.*, 2002)

- เตรียมสารละลายสารเมือกจากผลพุทราความเข้มข้น 0.1 mg/ml ใน DMSO (Sangeethapriya and Siddhuraju, 2014)

- ปิเปตสารละลาย 0.1 mM DPPH ใน DMSO จำนวน 750 μ l ลงในสารละลายสารเมือกจากผลพุทรา 250 μ l ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ 517 nm คำนวณ % inhibition เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox (Pisoschi *et al.*, 2009, Koley *et al.*, 2011, Liao *et al.*, 2012 และ Enujiugha *et al.*, 2012) ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 และ 12.5 μ g/ml ตามลำดับ

โดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = [(A \text{ control} - A \text{ extract or A standard}) / A \text{ control}] \times 100$$

กำหนดให้ A control คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A standard คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่มีสารละลาย Trolox

A extract คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่มีสารเมือกจากผลพุทรา

3.3.3.2 วิธี ABTS (Re *et al.*, 1998)

- เตรียมสารละลาย ABTS radical cation (ABTS^{•+}) โดยผสมสารละลาย ABTS 7 mM กับสารละลาย K₂S₂O₈ 2.45 mM ปริมาณที่เท่ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบให้เจือจางด้วย 50 mM phosphate buffer, pH 7.4 ให้ได้ค่าดูดกลืนแสงประมาณ 0.8 ที่ 734 nm

- เตรียมสารเมือกจากผลพุทราความเข้มข้น 5 mg/ml ในน้ำ

- ปิเปตสารละลายสารเมือกจากผลพุทรา 10 µl ผสมกับ 50 mM phosphate buffer 40 µl ตามด้วยสารละลาย ABTS^{•+} 1500 µl ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 nm คำนวณ % inhibition เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox ใน ethanol ที่ความเข้มข้น 1.6, 3.2, 4.8, 6.5, 8.1 และ 9.7 µM ตามลำดับ

โดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = [(A \text{ control} - A \text{ extract or A standard}) / A \text{ control}] \times 100$$

กำหนดให้ A control คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS^{•+}

A standard คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่มีสารละลาย Trolox

A extract คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่มีสารเมือกจากผลพุทรา

3.3.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibitor assay) (Chan *et al.*, 2008)

- เตรียมสารละลาย L-Dopa 10 mM โดยละลาย L-Dopa ใน DMSO 2 ml และปรับปริมาตรให้ได้ 25 ml ด้วย 50 mM phosphate buffer pH 6.8

- เตรียมสารละลายสารเมือกจากผลพุทราความเข้มข้น 10 mg/ml ในน้ำ

- ปิเปตสารละลายสารเมือกจากผลพุทรา 100 µl ผสมกับ 50 mM phosphate buffer 550 µl ตามด้วย tyrosinase enzyme (1,000 unit/ml) 100 µl บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม L-Dopa 250 µl และบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 475 nm คำนวณ % inhibition เทียบกับสารละลายมาตรฐาน kojic acid ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 mg/ml ตามลำดับ

โดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = [(A \text{ control} - A \text{ extract or A standard}) / A \text{ control}] \times 100$$

กำหนดให้ A control คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่ไม่มีสารยับยั้ง

A standard คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดที่มี kojic acid

A extract คือ ค่าคุณลักษณะของหลอดที่มีสารเมื่อมาจากผลพุทรา

3.3.5 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมื่อมาจากผลพุทรา

ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมื่อมาจากผลพุทรา ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas spp.* และ *Candida albicans* ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค และเป็นเชื้อจุลินทรีย์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย ลงวันที่ 23 เมษายน 2553 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ใช้วิธี disc diffusion (รายงานผลเป็นค่า zone of inhibition) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rajeh *et al.*, 2010

3.3.5.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient broth

ชั่ง Nutrient broth (Titanbiotech) 13 g ละลายในน้ำ 1000 ml แบ่งใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C 15 lbs.pressure เป็นเวลา 15 นาที

3.3.5.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ Yeast Malt broth

ชั่ง Yeast Malt broth (HIMEDIA) 10.5 g ละลายในน้ำ 1000 ml แบ่งใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C 15 lbs.pressure เป็นเวลา 15 นาที

3.3.5.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้รับจากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ วว. (TISTR Culture Collection) ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฟวช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่

Salmonella typhimurium TISTR 292

Staphylococcus aureus TISTR 1466

Escherichia coli TISTR 780

Pseudomonas aeruginosa TISTR 781

เตรียมเชื้อ โดย ปิเปตเชื้อ stock culture (glycerol stock) 100 µl ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth 5 ml บ่มที่ 37°C เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.5.4 การเตรียมเชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ที่ใช้ทดสอบ คือ *Candida albicans* TISTR 5779

เตรียมเชื้อ โดย ปิเปตเชื้อ stock culture 100 µl ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt broth 5 ml บ่มที่ 30°C เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.5.5 การเตรียม antibiotic

Antibiotic สำหรับแบคทีเรียใช้ antibiotic disc สำเร็จ ของ ampicillin 10 µg และ streptomycin 10 µg ส่วน antibiotic สำหรับเชื้อยีสต์ใช้ยาปฏิชีวนะ ketoconazole ที่มีตัวยา 200 mg ละลายน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1ml และทำการเจือจางจนเหลือความเข้มข้น 20 mg/ml

3.3.5.6 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ทำการ swab plate แต่ละเชื้อลงบนอาหาร Mueller Hinton agar หยดสารละลายสารเมื่อจากผลพุทราที่แต่ละความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 mg/ml ปริมาณ 20 µl ลงบนแผ่น disc ทิ้งให้สารซึมลงในแผ่น disc แล้วจึงนำมาวางโดย aseptic technique บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อแบคทีเรียใช้ ampicillin และ streptomycin เป็น positive control ส่วนเชื้อยีสต์จะทดสอบเทียบกับ ketoconazole เป็น positive control โดยมีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็น negative control นำงานทดสอบไปบ่มที่สภาวะต่างๆ คือ แบคทีเรียบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเชื้อยีสต์บ่มที่ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของ clear zone ที่เกิดขึ้น

3.3.6 พัฒนาเป็นเจลและศึกษาความคงตัวของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมื่อจากผลพุทรา

3.3.6.1 การพัฒนาเจลที่มีส่วนผสมของสารเมื่อจากผลพุทรา

นำสารเมื่อจากผลพุทรามาเตรียมเป็นเจล (พิมพ์ร ลีลาพรพิสิษฐ์, 2554) โดยทดลองใช้ที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w ดังสูตรด้านล่าง

	สูตรพื้นฐาน (Control)	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Carbopol ultreze 10 [®]	0.50	0.45	0.40	0.35
สารเมื่อจากผลพุทรา	-	0.05	0.10	0.15
Triethanolamine	0.50	0.50	0.50	0.50
Liquid germall plus [®]	0.50	0.50	0.50	0.50
DI water	to 100	to 100	to 100	to 100

วิธีการเตรียมเจล

1. ละลายสารเมื่อจากผลพุทราในน้ำและค่อยๆ โปย Carbopol ultreze 10[®] ในน้ำ ทิ้งให้พองตัวและคนให้เข้ากัน
2. เติม triethanolamine เพื่อปรับสมดุล กรด-ด่าง เจลจะมีความหนืดมากขึ้น
3. เติม liquid germall plus[®] และคนให้เข้ากัน

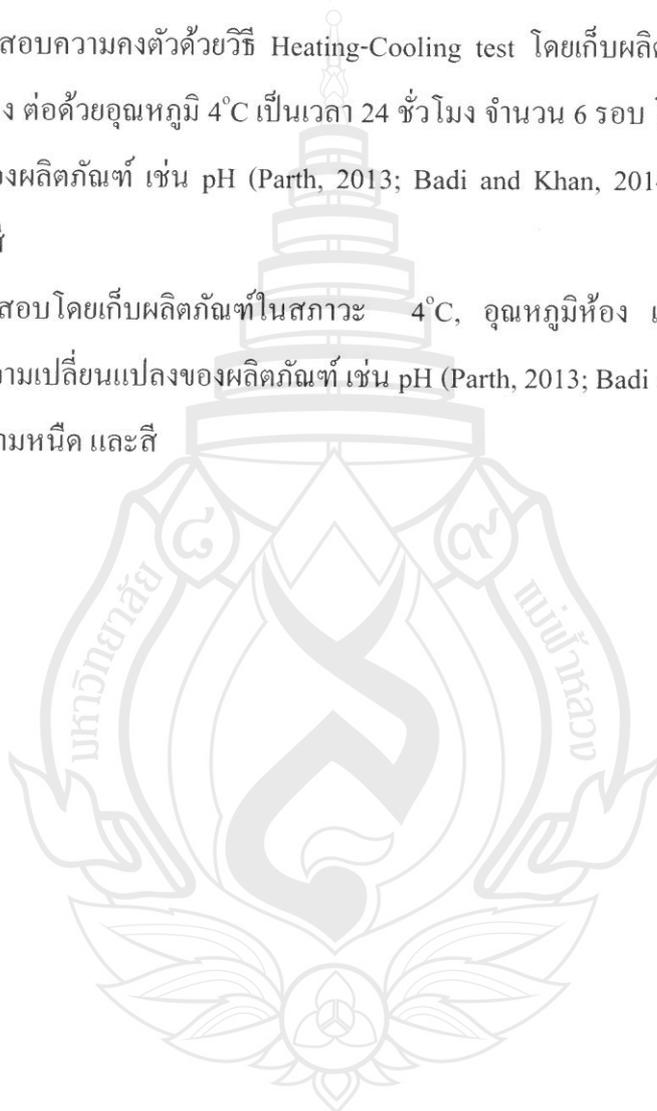
ศึกษาคุณสมบัติของสูตร และความคงตัว โดยดูการเปลี่ยนแปลงของ สี, pH และ ความหนืด เป็นต้น

3.3.6.2 การศึกษาความคงตัวของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา

ศึกษาความคงตัวของเจลที่มีส่วนผสมของพุทรา ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w (Formula 1-3) เทียบกับสูตรพื้นฐาน (Control) และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดย Independent-Samples T-Test (IBM SPSS Statistics 21)

1) ทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating-Cooling test โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ โดยแต่ละรอบจะวัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH (Parth, 2013; Badi and Khan, 2014; Tarun, *et al.*, 2014), ความหนืด และสี

2) ทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน วัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH (Parth, 2013; Badi and Khan, 2014; Tarun, *et al.*, 2014), ความหนืด และสี



บทที่ 4

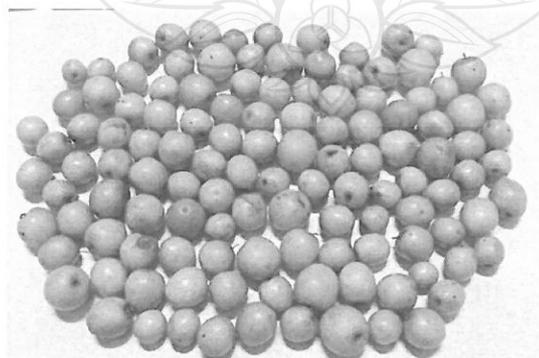
ผลการวิจัย

4.1 การสกัดสารเมือกจากผลพุทรา

สกัดสารเมือกจากผลพุทรา โดยวิธีของ Thanatcha and Pranee, 2011 โดยเก็บตัวอย่างพุทรา จากภายในมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง (ภาพที่ 4-1 และ 4-2) บ่มให้สุก ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 9 วัน นำมาสกัดด้วยน้ำ และตกตะกอนด้วยเอทานอล แล้วจึงนำตะกอนที่ได้ไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Freeze Dryer (ภาพที่ 4-3) ชั่งน้ำหนักผงแห้งที่ได้มาคำนวณร้อยละของผลผลิตจากการสกัดเมื่อเทียบกับน้ำหนักพุทราสด จากการสกัดจำนวน 3 ครั้ง ได้ $0.59 \pm 0.03\%$



ภาพที่ 4-1 ต้นพุทรา



ภาพที่ 4-2 ผลพุทรา



ภาพที่ 4-3 ผงเมือกจากผลพุดรา

4.2 คุณสมบัติของสารเมือกจากผลพุดรา

4.2.1 ตรวจสอบสารคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำยาทดสอบ Molish

ผลทดสอบสารเมือกจากผลพุดราพบผลบวกโดยปรากฏวงแหวนสีส้มแดง ดังภาพที่ 4-4 แสดงว่าในผงเมือกพุดรา มีสารคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบอยู่

ภาพที่ 4-4 ผลทดสอบคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำยาทดสอบ Molish

4.2.2 ทดสอบการพองตัว โดยวิธี Bed volume technique

ผลทดสอบการพองตัวของสารเมือกจากผลพุดราแสดงดังตารางที่ 4-1 ผลการทดสอบพบว่าสารเมือกจากผลพุดราพองตัวในน้ำได้ดีที่สุด รองลงมาคือ propylene glycol แต่สารเมือกจากผลพุดราไม่พองตัวใน ethanol และ methanol

ตารางที่ 4-1 ผลทดสอบการพองตัวของสารเมือกจากผลพุทรา

ตัวทำละลาย	เปอร์เซ็นต์การพองตัว (%)
น้ำ	50.00
Ethanol	0
Methanol	0
Propylene glycol	33.33

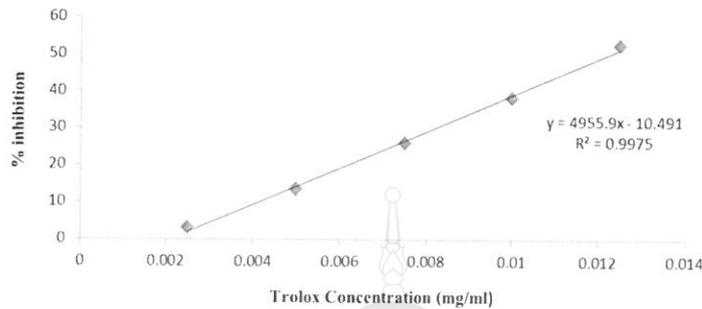
4.2.3 วัด pH

สารเมือกจากผลพุทรา ที่ความเข้มข้น 0.01 g/ml มีค่า pH 5.47 ± 0.06

4.3ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมือกจากผลพุทรา

4.3.1 วิธี DPPH scavenging assay

วิธี DPPH เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดย DPPH• เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm มีสีม่วงอมน้ำเงิน เมื่อถูก reduce ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH• เปลี่ยนเป็น DPPH-H) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm มีค่าลดลง ผลการทดสอบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถคำนวณ % inhibition และนำมา plot กราฟมาตรฐานได้ดังภาพที่ 4-5 จากค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบสามารถคำนวณ % inhibition ของสารละลายเมือกพุทรา ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ได้ $15.30 \pm 0.28\%$ เมื่อนำค่า % inhibition มาคำนวณโดยแทนค่าในสมการกราฟเส้นตรง จากการคำนวณสรุปได้ว่าสารเมือกจากผลพุทรา 1 g มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 208.16 ± 2.30 mg/ml (208.16 ± 2.30 mg TEAC/g extract)

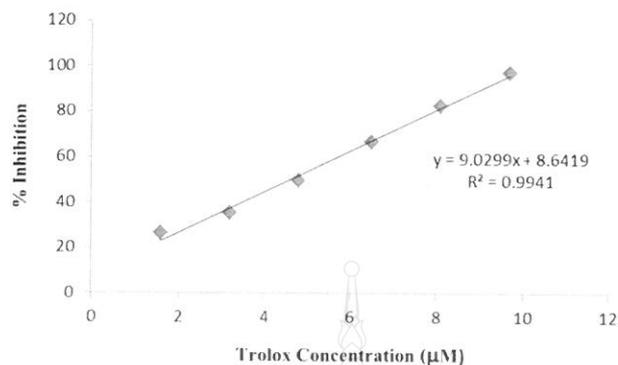


ภาพที่ 4-5 กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ

โดยปกติแล้วสภาวะที่เหมาะสมในการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH มักใช้ ethanol หรือ methanol เป็นตัวทำละลาย (Lin *et al.*, 2005) แต่เนื่องจากสารเมือกจากผลพุทราไม่ละลายใน ethanol และ methanol ผู้วิจัยจึงได้ปรับสภาวะการทดลองโดยใช้ตัวทำละลายเป็น DMSO ซึ่งละลาย DPPH ได้ดี (Ruiz-Terán *et al.*, 2008) และสามารถละลายสารสกัดเมือกพุทราได้ แต่เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือมากขึ้นผู้วิจัยจึงได้เพิ่มการทดลองโดยใช้วิธีวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ซึ่งสภาวะการทดลองสามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสารเมือกจากผลพุทราได้

4.3.2 วิธี ABTS

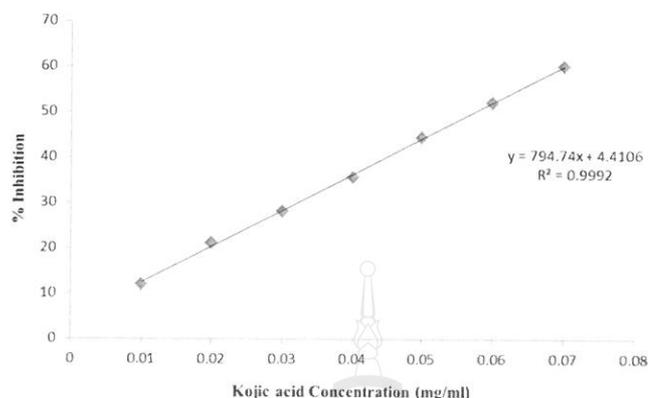
วิธี ABTS เป็นการศึกษาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยให้สารต้านอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับ $ABTS^{\cdot+}$ ที่เตรียมโดยทำปฏิกิริยา ABTS กับ $K_2S_2O_8$ มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm มีสีเขียว เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มของสีเขียวจะลดลง สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm มีค่าลดลง ผลการทดสอบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถคำนวณ % inhibition และนำมา plot กราฟมาตรฐานได้ดังภาพที่ 4-6 จากค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบสามารถคำนวณ % inhibition ของสารเมือกจากผลพุทราที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ได้ $74.65 \pm 0.14\%$ เมื่อนำค่า % inhibition มาคำนวณโดยแทนค่าในสมการกราฟเส้นตรง จากการคำนวณสรุปได้ว่าสารสกัดเมือกพุทรา 1 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 226.33 ± 0.48 mM (226.33 ± 0.48 mM TEAC/g extract)



ภาพที่ 4-6 กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.4 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน tyrosine ไปเป็น dihydroxyphenylalanine (DOPA) และเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน DOPA เป็น DOPA quinone ในกระบวนการผลิตเม็ดสีเมลานิน การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำได้โดยให้เอนไซม์ไทโรซิเนสเร่งการเปลี่ยน L-DOPA เป็น DOPA quinone ซึ่งสามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 475 nm สารฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจะยับยั้งการเกิด DOPA quinone ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm มีค่าลดลง ผลการทดสอบกับสารมาตรฐาน Kojic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถคำนวณ % inhibition และนำมา plotกราฟมาตรฐานได้ดังภาพที่ 4-7 จากค่าดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบสามารถคำนวณ % inhibition ของสารเมือกจากผลพุทราได้ $54.64 \pm 2.13\%$ เมื่อนำค่า % inhibition มาคำนวณ โดยแทนค่าในสมการกราฟเส้นตรง จากการคำนวณสรุปได้ว่าสารเมือกจากผลพุทรา 1 mg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Kojic acid $63.20 \pm 2.68 \mu\text{g/ml}$



ภาพที่ 4-7 กราฟมาตรฐานแสดง % inhibition ของ Kojic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ

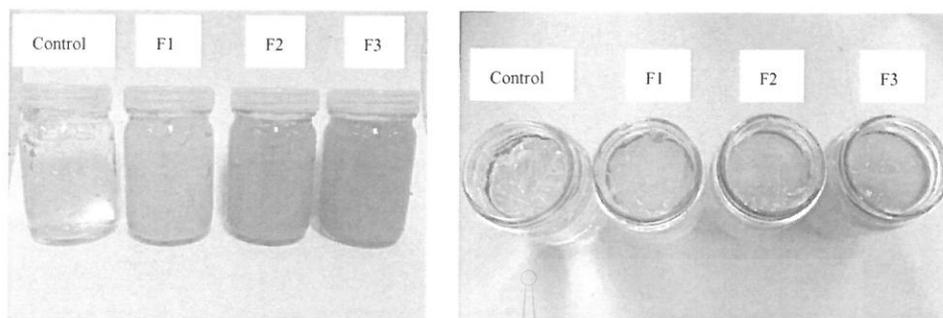
4.5 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas spp.* และ *Candida albican* โดยสารละลายเมือกพุทราที่ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 mg/ml พบว่าสารเมือกจากผลพุทราไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยจากผลการทดลองจะพบ clear zone เฉพาะในกลุ่มสาร antibiotic เท่านั้น ผลการทดสอบแสดงดังภาพผนวก ก

4.6 การพัฒนาเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทราและการศึกษาความคงตัว

4.6.1 การพัฒนาเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา

นำสารเมือกจากผลพุทรา มาเตรียมเป็นเจลที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05 (Formula 1 หรือ F1), 0.10 (Formula 2 หรือ F2) และ 0.15 (Formula 3 หรือ F3) %w/w ได้สูตรตำรับแสดงดังภาพที่ 4-8 ศึกษาคุณสมบัติของเจลที่พัฒนาได้ เช่น ความหนืด, pH และสีของผลิตภัณฑ์ โดยสีผลิตภัณฑ์ วัดด้วยระบบ $L^*a^*b^*$ ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบ 3 มิติ โดยที่แกน L^* แสดงถึงความสว่าง (lightness) จากค่า $+L^*$ แสดงถึงสีขาว จนถึง $-L^*$ แสดงถึงสีดำ แกน a^* แสดงถึงแกนสีจากสีเขียว ($-a^*$) จนถึงแดง ($+a^*$) ส่วนแกน b^* แสดงถึงแกนสีจากสีน้ำเงิน ($-b^*$) ไปเหลือง ($+b^*$) ส่วน ΔE^* จะคำนวณจากความแตกต่างของสีเมื่อเทียบกับสูตร control โดยใช้สูตร $\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$ ผลการทดสอบพบว่าแต่ละสูตรมีคุณสมบัติแสดงดังตารางที่ 4-2



ภาพที่ 4-8 เจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา

ตารางที่ 4-2 แสดงคุณสมบัติของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา

สูตร	ความหนืด (cP) ^a	pH	สีของผลิตภัณฑ์			
			L*	a*	b*	ΔE^{*b}
Control	17,753.53±70.23	6.85±0.01	20.44±2.40	-0.14±0.08	0.03±0.25	-
Formula 1	16,300±140 ^c	6.87±0.02 ^c	21.45±3.86	-0.23±0.19	-0.08±0.20	1.03
Formula 2	13,930±60.83 ^c	6.88±0.02 ^c	21.62±3.96	-0.21±0.11	-0.04±0.16	1.18
Formula 3	11,860±103.92 ^c	7.29±0.01 ^c	21.87±1.75	0.05±0.09	-0.39±0.78	1.51

^a: Needle No.6, 50 rpm, 20 sec

^b: $\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$ โดยเปรียบเทียบกับสูตร control

^c: มีความแตกต่างจากสูตร Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 4-2 พบว่า สูตร Control ซึ่งไม่มีสารเมือกจากผลพุทรา มีความหนืดมากที่สุด ตามด้วยสูตร Formula 1, Formula 2 และ Formula 3 ตามลำดับ โดยความหนืดของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา มีความแตกต่างจากสูตร Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ผลการทดลองแสดงว่าคุณสมบัติของสารเมือกจากผลพุทรา ไม่สามารถใช้เป็นสารก่อเจลเพื่อลดปริมาณ Carbopol ultreze 10[®] ได้ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในสูตรและลดปริมาณ Carbopol ultreze 10[®] จะทำให้ความหนืดของสูตรลดลง ส่วนค่า pH ของ Formula 2 และ Formula 3 มีค่ามากกว่าสูตร Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า L*, a และ b พบว่า เมื่อเพิ่มสารสกัดจากผลพุทราในสูตรจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความเข้มมากขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับสูตร Control เมื่อพิจารณาค่า ΔE ระหว่างสูตร Control กับเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทราพบว่าสีของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา มี

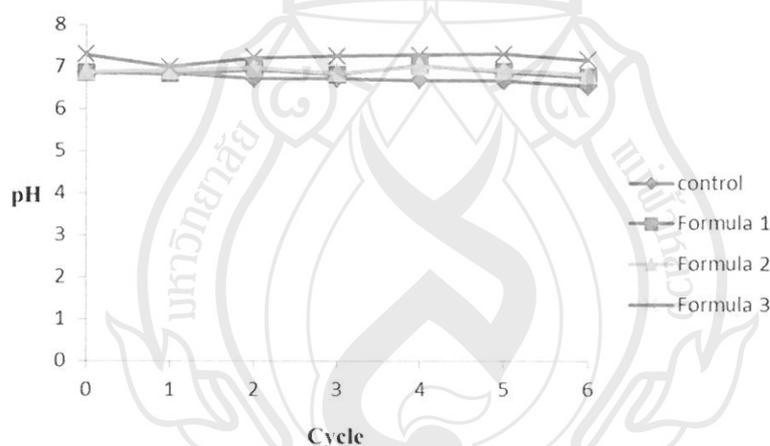
ความแตกต่างกับสูตร Control ที่ไม่มีสารสกัด (ΔE มากกว่า 1) โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในสูตรจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มมากขึ้น

4.6.2 การศึกษาความคงตัวของเจลที่มีส่วนผสมของสารเมือกจากผลพุทรา

4.6.2.1 ทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating-Cooling test โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ โดยแต่ละรอบจะวัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH, ความหนืด และสี

1) การเปลี่ยนแปลง pH

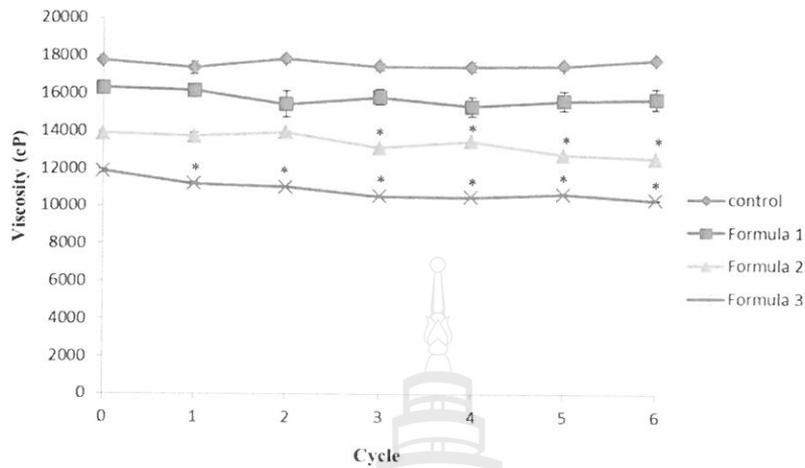
ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราแสดงดังภาพที่ 4-9 พบว่าค่า pH ของผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวจำนวน 6 รอบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ pH เริ่มต้น



ภาพที่ 4-9 การเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา

2) การเปลี่ยนแปลงความหนืด

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราพบว่าสูตร Control และ Formula 1 ผ่านการทดสอบความคงตัวจำนวน 6 รอบ แต่สูตร Formula 2 และ Formula 3 มีค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Cycle 0) แสดงดังภาพที่ 4-10



ภาพที่ 4-10 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา

(*: ค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น, $p < 0.05$)

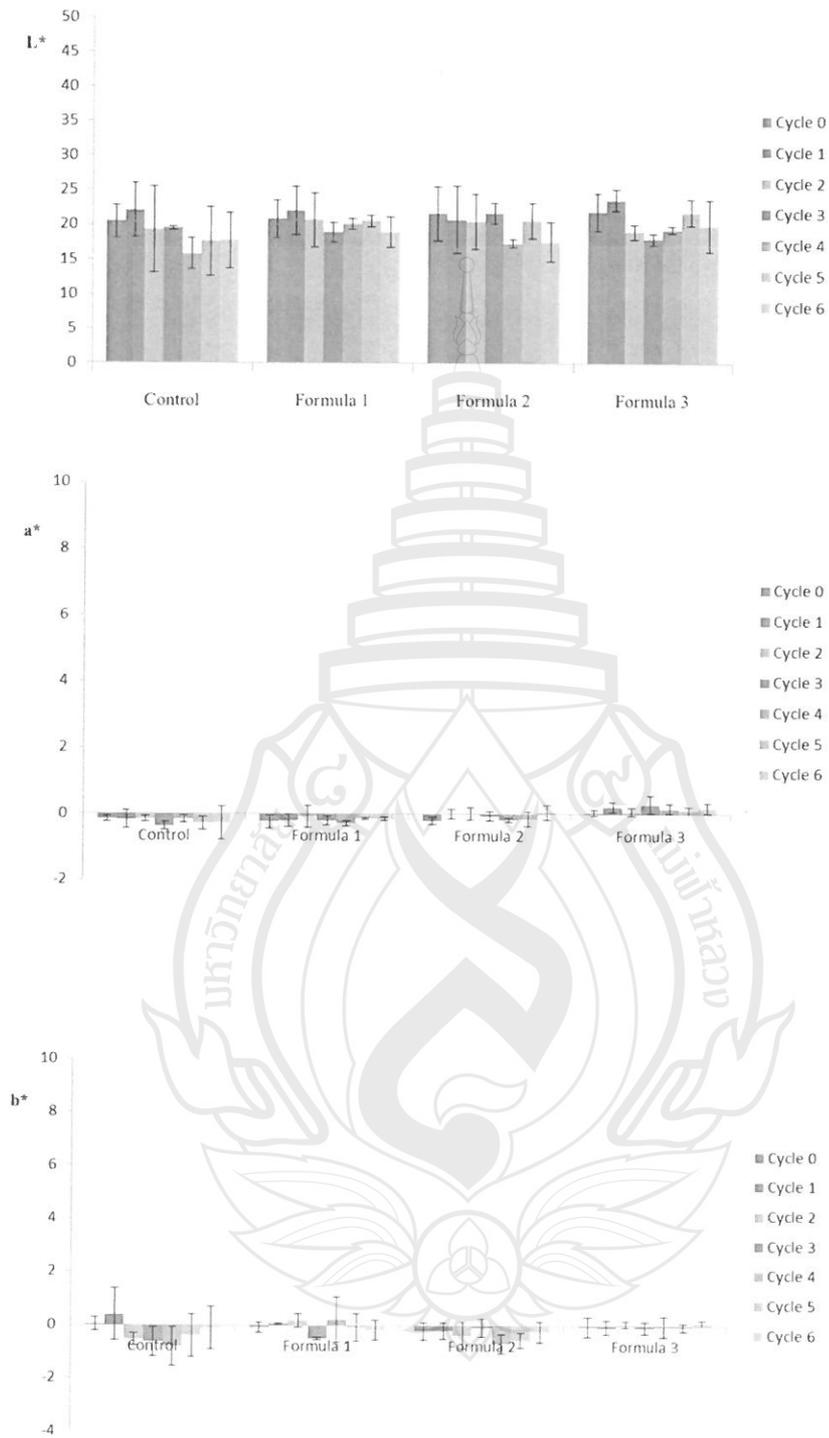
3) การเปลี่ยนแปลงสี

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา แสดงดังภาพที่ 4-11 พบว่าค่า L^* , a^* และ b^* ของผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวจำนวน 6 รอบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น (Cycle 0)

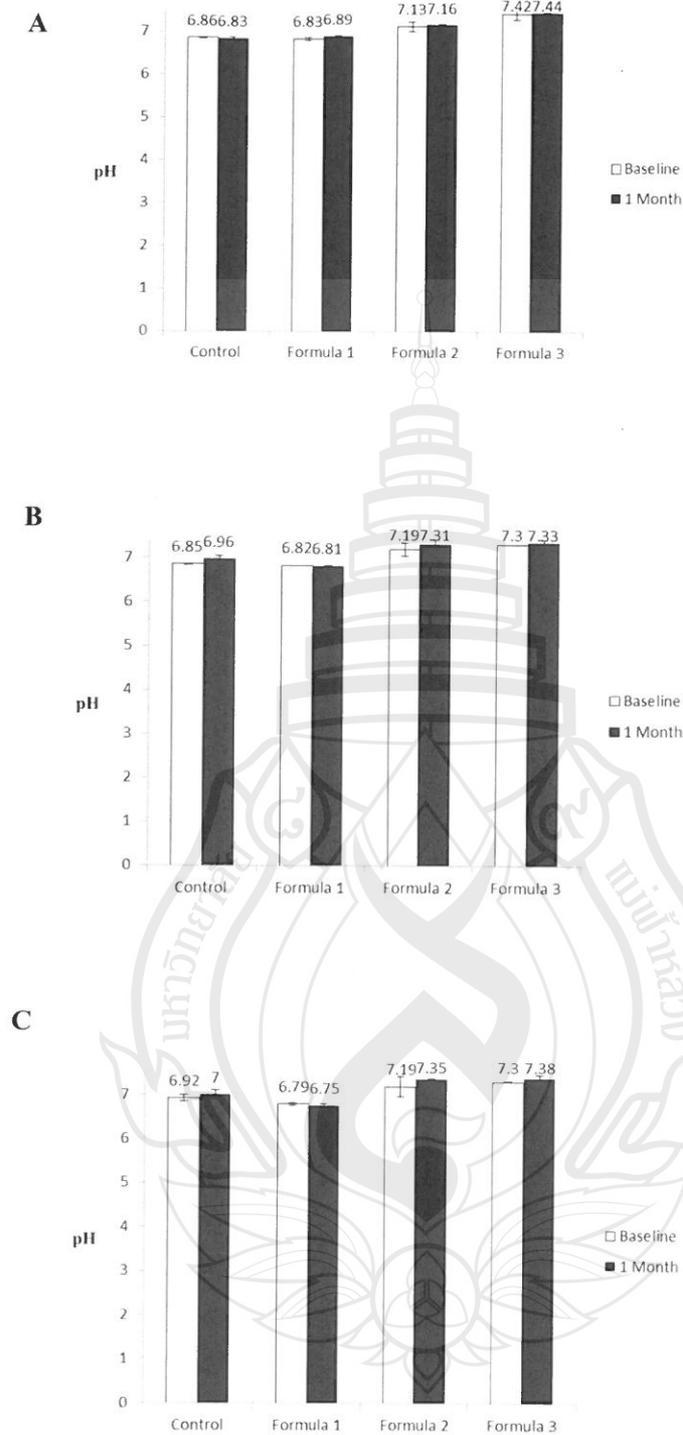
4.6.2.2 ทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C , อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน วัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH, ความหนืด และสี

1) การเปลี่ยนแปลง pH

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา แสดงดังภาพที่ 4-12 พบว่าค่า pH ของผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวเป็นเวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C , อุณหภูมิห้อง และ 45°C ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ pH เริ่มต้น (Baseline)



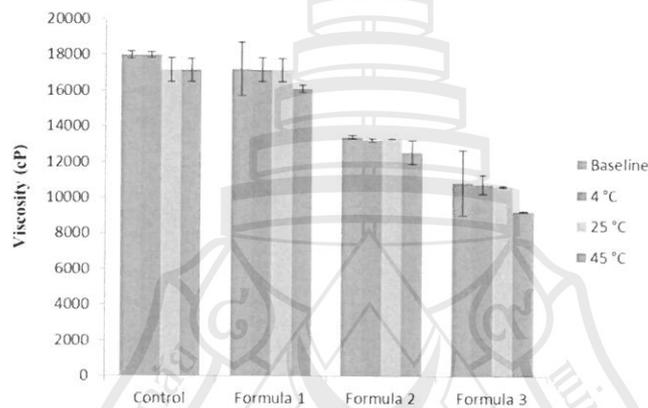
ภาพที่ 4-11 การเปลี่ยนแปลงค่า L* a* และ b* ของเจลที่ผสมสารเมื่ออกจากผลพุทรา



ภาพที่ 4-12 การเปลี่ยนแปลง pH ของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือนในสภาวะ 4°C (A), อุณหภูมิห้อง (B) และ 45°C (C)

2) การเปลี่ยนแปลงความหนืด

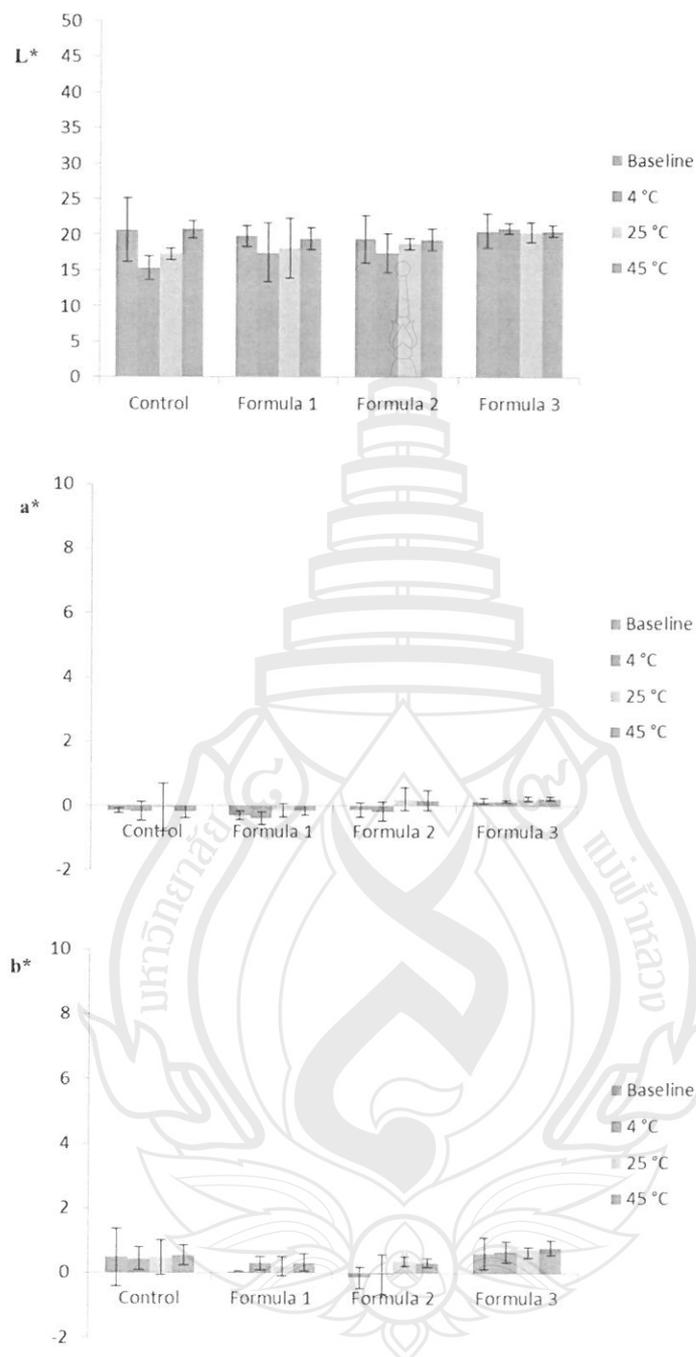
ผลการศึกษการเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา แสดงดังภาพที่ 4-13 พบว่าค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์แต่ละสูตรเมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวเป็นเวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C และอุณหภูมิห้อง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Baseline) และเมื่อเก็บเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ค่าความหนืดมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Baseline) แต่เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติแล้วพบว่าต่างกันแบบไม่มีนัยสำคัญ



ภาพที่ 4-13 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C

3) การเปลี่ยนแปลงสี

ผลการศึกษการเปลี่ยนแปลงสีของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทรา พบว่าค่า L* a* และ b* ของผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวเป็นเวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น (Baseline) แสดงดังภาพที่ 4-14



ภาพที่ 4-14 การเปลี่ยนแปลงของ ค่า L* a* b* ของเจลที่ผสมสารเมื่อกจากผลพุทราเมื่อเก็บที่เวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีสมมุติฐานว่าสารเมือกจากพุทราอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารเมือกจากผลพุทราและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา รวมถึงนำสารเมือกจากผลพุทราไปทำเป็นผลิตภัณฑ์เจล และศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

สารเมือกจากผลพุทราเตรียมโดยการสกัดด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอทานอล และนำไปเตรียมเป็นผงแห้งโดยวิธี Freeze dry จากการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัด พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ (50%) สารเมือกจากผลพุทรา 1 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging assay เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 208.16 ± 2.30 mg/ml (208.16 ± 2.30 mg TEAC/g extract) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบโดยวิธี ABTS เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox 226.33 ± 0.48 mM (226.33 ± 0.48 mM TEAC/g extract) นอกจากนี้สารเมือกจากผลพุทรา 1 mg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Kojic acid 63.20 ± 2.68 μ g/ml แต่สารสกัดเมือกจากผลพุทราไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อนำสารเมือกจากผลพุทราไปเตรียมเป็นเจลที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารเมือกจากผลพุทราในสูตรทำให้ความหนืดของสูตรลดลง และสีของผลิตภัณฑ์เข้มมากขึ้น

ผลทดสอบความคงตัวของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราด้วยวิธี Heating-Cooling test จำนวน 6 รอบ พบว่าเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราที่ความเข้มข้น 0.05%w/w มีความคงตัวดีที่สุด โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่า pH, ความหนืด และสี ตลอดระยะเวลาทดสอบ นอกจากนี้เจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราทั้ง 3 สูตรยังมีความคงตัวเมื่อทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน

5.2 การอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้สกัดสารเมือกจากผลพุทราด้วยน้ำและตกตะกอนโดยเอทานอลแล้วจึงนำไปเตรียมเป็นผงแห้ง สารเมือกจากผลพุทราเมื่อละลายน้ำจะมีลักษณะเป็นเมือก (Ravindrakullai-reddy and Manjunath, 2013) จากการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดด้วยน้ำยาทดสอบ Molish พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต (Kulkarni *et al.*, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า ผลพุทราประกอบด้วยสารเมือกจำนวนมากซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลีแซคาไรด์ที่ละลายน้ำ มีขนาดโมเลกุล 2000 kDa (Zhao *et al.*, 2007) น้ำตาลที่พบประกอบด้วย L-arabinose, D-glucose, L-rhamnose, D-xylose และ galacturonic acid ในสัดส่วนที่ต่างกัน (Saenz *et al.*, 2004) นอกจากนี้การศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารเมือกจากผลพุทรา พบว่าสารเมือกจากพุทราประกอบด้วยสารกลุ่มฟีนอล, แทนนิน, ฟลาโวนอยด์ แต่ไม่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ สารเมือกที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นสูงและพองตัวในน้ำ จากการตั้งสมมุติฐานว่าสารเมือกจากพุทราอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ผู้วิจัยจึงได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการต้านเชื้อจุลินชีพ ผลการทดสอบพบว่าสารเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH scavenging assay แต่ค่าที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากการทดสอบโดยวิธี DPPH ตัวอย่างควรละลายได้ในเอทานอลหรือเมทานอล (Lin *et al.*, 2005) แต่สารเมือกพุทราไม่ละลายในตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด จึงได้ทดสอบโดยละลาย DPPH ใน DMSO (Ruiz-Terán *et al.*, 2008) ซึ่งสามารถละลายสารเมือกได้ด้วย และเพื่อความถูกต้องของข้อมูล ผู้วิจัยจึงได้เพิ่มการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ซึ่งในสภาวะทดสอบจะใช้ทดสอบกับสารทดสอบที่ละลายน้ำได้ (สุนีย์, 2552) จากผลการทดสอบพบว่าสารเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ผลการทดสอบที่ได้สอดคล้องกับผลวิจัยของ Sangeethapriya and Siddhuraju, 2014 ที่พบว่าสารเมือกจากผลพุทรา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเนื่องมาจากในสารเมือกประกอบด้วย สารกลุ่ม polyphenols (25.54 mg GAE/g mucilage) โดยสารกลุ่ม polyphenols ที่มีรายงานพบในผลพุทราได้แก่ caffeic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, ferrulic acid และ *p*-coumaric acid (Muchuweti *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าในเนื้อพุทรา มีปริมาณวิตามินซี (19.54-99.49 mg/100g) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูงอีกด้วย (Koley *et al.*, 2011)

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารเมือกจากผลพุทราพบว่า สารเมือกจากผลพุทรา มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูง โดยฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารเมือกจากผลพุทราอาจมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมือกพุทรา (Sangeethapriya and Siddhuraju, 2014) มีงานวิจัยระบุว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มักออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยการจับกับโลหะ Copper ตรงบริเวณ active site ของเอนไซม์ทำให้เกิดการ

ขัดขวางการจับกันระหว่างเอนไซม์และสับสเตรต (substrate) หรือสารนั้นอาจเป็นสารที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในกระบวนการสร้างเมลานินได้ (Matsuura *et al.*, 2006) นอกจากนี้การที่สารเมื่อมีสารกลุ่ม polyphenols เป็นองค์ประกอบมาก หมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในสาร polyphenols จะสามารถจับกับบริเวณ active site ของเอนไซม์เป็นกลไกที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ (Sangeethapriya and Siddhuraju, 2014)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมื่อกจากผลพุทราพบว่า สารสกัดเมื่อกจากผลพุทราไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ในขณะที่งานวิจัยก่อนหน้านี้มีการพบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผลพุทรา *Ziziphus Lotus* (L.) Desf และ *Zizyphus jujube* เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (Ahmad *et al.*, 2011 และ Rsaissi *et al.*, 2013) ซึ่งวิธีการสกัดแตกต่างจากการสกัดในงานวิจัยนี้ที่สกัดด้วยน้ำ และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ใช้สารสกัดหยาบในการทดสอบ

เมื่อนำสารเมื่อกจากผลพุทรามาเตรียมเป็นเจลที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.05, 0.10 และ 0.15 %w/w พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณสารเมื่อกจากผลพุทราในสูตรและลดปริมาณสารก่อเจลสังเคราะห์ (Carbopol ultreze 10[®]) ทำให้ความหนืดของสูตรลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรพื้นฐานที่ไม่มีสารสกัดเมื่อกจากผลพุทรา โดยสูตรที่มีสารสกัดเข้มข้น 0.05 %w/w จะมีความหนืดมากที่สุดตามด้วยสูตรที่มีสารสกัด 0.10 และ 0.15 %w/w ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงว่าสารเมื่อกจากผลพุทราไม่สามารถใช้เป็นสารก่อเจลเพื่อลดปริมาณสารก่อเจลสังเคราะห์ได้ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในสูตรจะทำให้ความหนืดของสูตรลดลง ส่วนค่า pH ของ Formula 2 และ Formula 3 มีค่ามากกว่าสูตร Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของ Carbopol ultreze 10[®] ที่ถูก neutralized ด้วย triethanolamine มีสัดส่วนลดลงทำให้เหลือ triethanolamine ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาในสูตรส่งผลให้ pH ของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น (Islam *et al.*, 2004) นอกจากนี้สารสกัดยังทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับสูตรพื้นฐานที่ไม่มีสารสกัด โดยมีความแตกต่างของสี ΔE มากกว่า 1 (Habekost, 2013) โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดในสูตรจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มมากขึ้น

ผลทดสอบความคงตัวของเจลที่ผสมสารเมื่อกจากผลพุทราด้วยวิธี Heating-Cooling test โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ โดยแต่ละรอบจะวัดความเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ เช่น pH, ความหนืด และสี ผลการทดสอบพบว่าเจลที่ผสมสารเมื่อกจากผลพุทรามีความคงตัวดีโดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่า pH, และสี ตลอดระยะเวลาทดสอบ แต่ผลวัดการเปลี่ยนแปลงความหนืดของเจลที่ผสมสารเมื่อกจากผล

พุทธาพบว่าสูตร Control และ Formula 1 ผ่านการทดสอบความคงตัวจำนวน 6 รอบ แต่สูตร Formula 2 และ Formula 3 ที่มีสารสกัดเมือกจากผลพุทรามากขึ้นจะมีค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Cycle 0) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากข้อเสียดังกล่าวที่สารเมือกจากพืช จะมีความหนืดลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน (Ravindrakullai-reddy and Manjunath, 2013) นอกจากนี้เจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราซึ่งมีความคงตัวเมื่อทดสอบโดยเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 4°C, อุณหภูมิห้อง และ 45°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี และ pH โดยค่าความหนืดของเจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราเมื่อเก็บเป็นเวลา 1 เดือน ในสภาวะ 4°C และอุณหภูมิห้อง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Baseline) แต่เจลที่ผสมสารเมือกจากผลพุทราที่เก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ค่าความหนืดมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับค่าความหนืดเริ่มต้น (Baseline) เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติแล้วพบว่าค่าความหนืดที่ลดลงต่างกันแบบไม่มีนัยสำคัญ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thanatcha และ Pranee, 2011 ที่พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความหนืดของสารเมือกจากผลพุทราจะลดลง เนื่องมาจากอุณหภูมิจะทำให้โพลิเมอร์เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (random coil structure)

จากผลวิจัยสรุปได้ว่าสารเมือกจากผลพุทราที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ผลิตภัณฑ์ชะลอวัย และผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาว โดยผลิตภัณฑ์จะมีความคงตัวดี แต่อย่างไรก็ตามผลจากงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถใช้สารเมือกจากผลพุทรามาทดแทนสารก่อเจลสังเคราะห์ได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลวิจัยไปใช้

จากผลงานวิจัยสามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ผลิตภัณฑ์ชะลอวัย และ ผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาวได้

5.3.2 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยเพิ่มเติม

ในการทำวิจัยเพิ่มเติมควรศึกษาถึงปริมาณที่เหมาะสมในการใส่ในผลิตภัณฑ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่น เช่น โลชั่น ครีม และเซรัม เป็นต้น นอกจากนี้ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นด้วยเพื่อให้แน่ใจได้ว่าผลิตภัณฑ์นั้นๆ ยังคงคุณสมบัติตามต้องการ รวมถึงการนำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบความพึงพอใจในผู้ใช้ต่อไป



เอกสารอ้างอิง

- ประจักษ์ ศรียะพันธ์. (2504). การศึกษาลักษณะพันธุ์พุทรา 5 พันธุ์. วิทยานิพนธ์กสิกรรมและสัตวบาลบัณฑิต แผนกวิชาพืชกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชินนภา ชัชวาล, นาฏศิจี นวลแก้ว, ศรีสมพร ปรีเปรม, สุพัตรา ปรุศุพัฒนา และ อรุณศรี ปรีเปรม (2553). คุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของสารสกัดเมือกจากลำต้นผักปลังและการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เจล. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 6, 104-112.
- ลัดขณา เหมาะหมาย. (2545). การแยก การควบคุมคุณภาพ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสารเมือกเมล็ดแมงลัก. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเวท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- อัญญารัตน์ สกลวีระ. (2546). การศึกษากรรมวิธีการสกัดผงวานหางจรเข้และสมบัติในการรักษาความชุ่มชื้น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- บุญล้อม สิบหมื่นเปี่ยม. (2550). การพัฒนาเจลให้ความชุ่มชื้นผิวจากสารสกัดมะขาม. การศึกษาโดยอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.
- ลัดดา กาญจนเศรษฐี โภคิน. (2554). การพัฒนาเจลให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนังที่มีส่วนผสมของผงบุก. การศึกษาโดยอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.
- นุศรา วอนพระพร. (2010). พุทรา สวนพฤกษศาสตร์ โรงเรียนราชประชานุเคราะห์ 30. สืบค้นเมื่อ 1 มิถุนายน 2554, จาก <http://suanrpk.wordpress.com/2010/08/12/051-%E0%B8%9E%E0%B8%B8%E0%B8%97%E0%B8%A3%E0%B8%B2/>
- สุนีย์ ชาญณรงค์, ชาวลิณี อัสวเหม, ปวีณา ว่องตระกูล, ฤดี เสาวคนธ์ และ ھرรษา มหามงคล. (2552) เครื่องสำอางเพื่อความงามและสุขภาพ. (หน้า 63-81). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กรุงเทพเวชสาร
- สำนักคณะกรรมการอาหารและยา, กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค (2553). ข้าวเพื่อสื่อมวลชน ข้าวแจก 56ปีงบประมาณ 2553 (26 พฤษภาคม 2553).
- ปัทมาวดี เสตะกัณณะ, ธิดารัตน์ บุญรอด และ จารีย์ บันสิทธิ์ (2542). การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสมุนไพรไทย. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 41, 381-393.

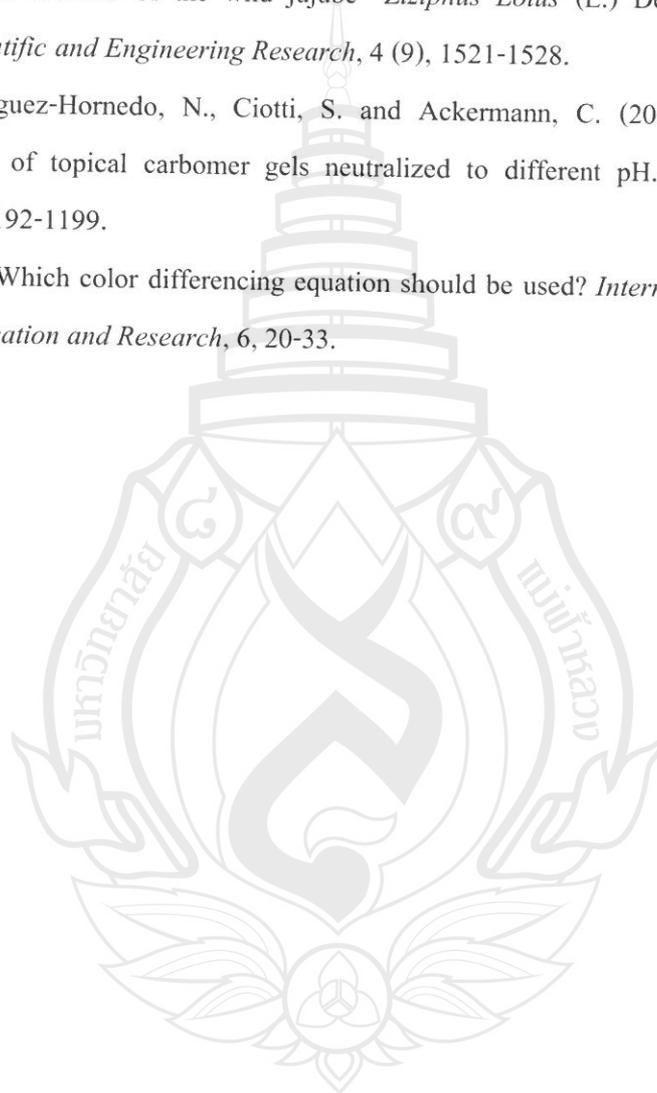
- พิมพ์ร ถีลาพรพิธิษฐ์. (2554) เอกสารประกอบปฏิบัติการ เรื่อง การเตรียมเจล มาส์ก สารละลายและ สารละลายแขวนตะกอน หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.
- Jain, V.C., Jani, G.K., Patel, M.J., Vithalani, D.A. and Shah, D.P. (2007). Evaluating mucilage from *Aloe Barbadensis miller* as a pharmaceutical excipient for sustained-release matrix tablets. *Pharmacology Technology*, 31, 90-98.
- Kulkarni, G.T., Gowthamarajan, K. and Rao, B.G. (2002). Evaluation of binding property of *Plantago ovata* and *Trigonella foenum* Gracecum mucilage. *Indian Drugs*, 39, 422-425.
- Kulkarni, G.T., Gowthamarajan, K., Kumar, M.N.S. and Suresh, B. (2002). Gums and mucilages: therapeutic and pharmaceutical applications. *Natural Product Radiance*, 1, 10-17.
- Zhao, Z., Dai, H., Wu, X., Chang, H, Gao, X., Liu, M and Tu, P. (2007). Characterization of a pectic polysaccharide from the fruit of *Ziziphus jujube*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 374-376.
- Thanatcha, R. and Pranee, A. (2011) Extraction and characterization of mucilage in *Ziziphus mauritiana* Lam. *International Food Research Journal*, 18, 201-212.
- Saenz, C., Sepulveda, E. and Matsushiro, B. (2004). *Opuntia* spp mucilage's: functional component with industrial perspective. *Journal of Arid Environments*, 57, 275-290.
- Jin-wei, L., Shao-dong, D. and Xiao-lin, D. (2005). Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, 40, 3607-3613.
- William, C.E. (1996). *Carbohydrate*. In: *Trease and Evans' Pharmacognosyl* (4th ed.). (pp.192-197). United Kingdom: WB Saunders Co. Ltd.
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C. and Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 81-86.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggebte, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Chan, E.C.W., Lim, Y.Y. and Wong, L.F. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, 109, 477-483.

- Ravindrakullat-reddy, M. and Manjunath, K. (2013). Pharmaceutical applications of natural gums, mucilages and pectins – a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 1233-1239.
- Leung, A.Y. and Foster, S. (1996). *Encyclopedia of common natural ingredients- Used in food, drugs and cosmetics* (2nd ed.). (pp. 98-99). New York: A Wiley-Interscience Publication.
- Capek, P., Toman, R, Rosik, J. and Kardosova, A. (1987). Polysaccharides from the roots of the marshmallow (*Althaea officinalis* L., var. *Robusta*): structural features of an acidic polysaccharide. *Carbohydrate Research*, 164, 443-452.
- Wynn, R.L. (2005). Aloe vera gel: update for dentistry. *General Dentistry*, 6-9.
- Dracelos, Z.D. (2001). Botanicals as topical agents. *Clinical Dermatology*, 19, 474-477.
- Hou, W.C., Hsu, F.L. and Lee, M.H. (2003). Yam (*Dioscorea batatas*) tuber mucilage exhibited antioxidant activities in vitro. *Planta Medica*, 68, 1072-1076.
- Fu, Y.C., Ferng, L.H. and Huang, P.Y. (2006). Quantitative analysis of allantoin and allantoic acid in yam tuber, mucilage, skin and bulbil of the *Dioscorea* species. *Food Chemistry*, 94, 541-549.
- Kumar, R., Patil, M.B., Patil, S.R. and Paschapur, M.S. (2009). Evaluation of *Abelmoschus Esculentus* mucilage as suspending agent in paracetamol suspension. *International Journal of PhamTech Research*, 1, 658-665.
- Sepu'lvuda, E., Sa'enz, C., Aliaga, E. and Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*, 68, 534-545.
- Mehta, K.K., Patel, H.H., Patel, N.D., Vora, C.N. and Patel, N.J. (2010). Comparative evaluation of natural and synthetic superdisintegrant for promoting nimesulide dissolution for fast dissolving technology. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2, 102-108.
- Patel, D.M., Prajapati, D.G. and Patel, N.M. (2007). Seed mucilage from *Ocimum americanum* Linn. as disintegrant in tablets : separate and evaluate. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 431-435.
- Ruangchakrpet, S. and Anprung, P. (2002). Production of *Ocimum canum* Sims. seed mucilage powder. *Food*, 32, 144-153.

- Li, J.W., Fan, L.P., Ding, S.D. and Ding, X.L. (2007). Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry*, 103, 454-460.
- Dahiru, D. and Obidoa, O. (2008). Evaluation of the antioxidant effects of *Ziziphus mauritiana* Lam. leaf extracts against chronic ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *African Journal Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5, 39-45.
- Diallo, D. Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K. and Maïga, M. (2004). Study of the chemical compounds of *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) leaves, used traditionally in the treatment of diabetes in Mali. *Comptes Rendus Chimie*, 7, 1073 – 1080.
- Morton, J. (1987) *Indian Jujube Fruits of warm climates*. (pp. 272–275). Miami, Florida.
- Lin, S.Y., Liu, H.Y., Lu, Y.L. and Hou, W.C. (2005). Antioxidant activities of mucilages from different Taiwanese yam cultivars. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 183-188.
- Ruiz-Terán, F., Medrano-Martínez, A. and Navarro-Ocaña, A. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of plant extracts used in traditional medicine in Mexico. *African Journal of Biotechnology*, 7, 1886-1893.
- Vardhan, A., Khan, S. and Pandey, B. (2014). Screening of plant parts for anti-tyrosinase activity by tyrosinase assay using mushroom tyrosinase. *Indian Journal Science Research*, 4, 134-139.
- Dreger, M. and Wielgus, K. (2013). Application of essential oils as natural cosmetic preservatives. *Herba Polonica*, 59, 142-156.
- Rajeh, M.A.B., Zuraini, Z., Sasidharan, S., Latha, L.Y. and Amutha, S. (2010). Assessment of *Euphorbia hirta* L. leaf, flower, stem, and root extracts for their antibacterial and antifungal activity and brine shrimp lethality. *Molecules*, 15, 6008-6018.
- Kunicha-Styczynska, A., Sikora, M. and Kalembe, T. (2009). Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1903-1911.
- Lipipun, V., Nantawanit, N. and Pongsamart, S. (2002). Antimicrobial activity (*in vitro*) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 24, 31-38.

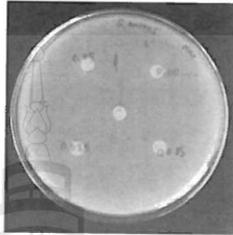
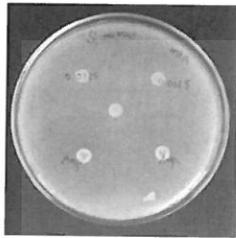
- Kantachumpoo, A. and Chirapart, A. (2010). Components and antimicrobial activity of polysaccharides extracted from Thai Brown seaweeds. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 44, 220-233.
- Parth, P. (2013). Modern pharmaceutical analysis. *Seminar on Analysis of Cosmetic*. Retrived, Febuary 25, 2015, from <http://www.slideshare.net/parth241989/analysis-of-cosmetic>.
- Badi, K.A. and Khan, S.A. (2014). Formulation, evaluation and comparison of the herbal shampoo with the commercial shampoos. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 4, 301-305.
- Tarun, J., Susan, J., Suria, J., Susan, V.J. and Criton, S. (2014). Evaluation of pH of bathing soaps and shampoos for skin and hair care. *Indian Journal of Dermatology*, 59, 442-444.
- Sangeethapriya, M. and Siddhuraju, P. (2014). Health related functional characteristics and antioxidant potential of mucilage (dietary fiber) from *Zizyphus mauritiana* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3, 79-88.
- Pisoschi, A.M., Cheregi, M.C. and Danet, A.F. (2009). Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*, 14, 480-493.
- Koley, T.K., Kaur, C., Nagal, S., Walia, S. and Jaggi, S. (2011). Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk.). *Arabian Journal of Chemistry*, doi: 10.1016/j.arabic.2011.11.005
- Liao, H., Dong, W., Shi, X., Liu, H. and Yuan, K. (2012). Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacognosy Magazine*, 8(30), 156-161.
- Enujiugha, V.N., Talabi, J.Y., Malomo, S.A. and Olagunju, A.I. (2012). DPPH radical scavenging capacity of phenolic extracts from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). *Food and Nutrition Sciences*, 3, 7-13.
- Muchuweti, M., Genda, G., Ndhlala, A.R. and Kasiyamhuru, A. (2005). Sugar, organic acid and phenolic compound of *Zizyphus mauritiana* Lamk. fruit. *Europeon Food Research Technology*. 221, 570-574.
- Matsuura, R., Ukeda, H. and Sawamura, M. (2006). Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2309-2313.

- Admad, B., Khan, I., Bashir, S., Azam, S. and Hussain, F. (2011). Screening of *Zizyphus jujuba* for antibacterial, phytotoxic and haemagglutination activities. *African Journal of Biotechnology*, 10, 2514-2519.
- Rsaissi, N., Kamili, E.L., Bencharki, B., Hillali, L. and Bouhache, M. (2013). Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube "*Ziziphus Lotus* (L.) Desf. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4 (9), 1521-1528.
- Isalam, M.T., Rodri'guez-Hornedo, N., Ciotti, S. and Ackermann, C. (2004). Rheological characterization of topical carbomer gels neutralized to different pH. *Pharmaceutical Research*, 21, 1192-1199.
- Habekost, M. (2013). Which color differencing equation should be used? *International Circular of Graphic Education and Research*, 6, 20-33.

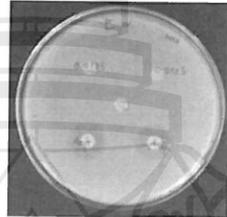
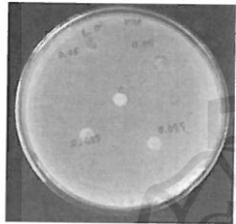


ภาคผนวก

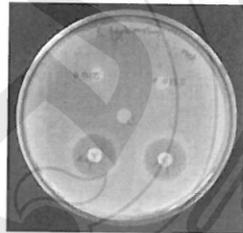
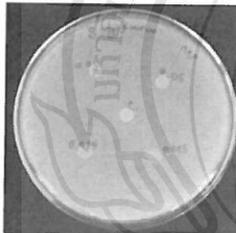
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา



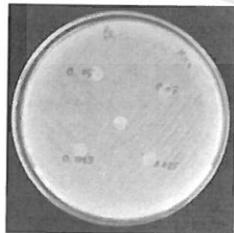
Staphylococcus aureus TISTR 1466



Escherichia coli TISTR 780

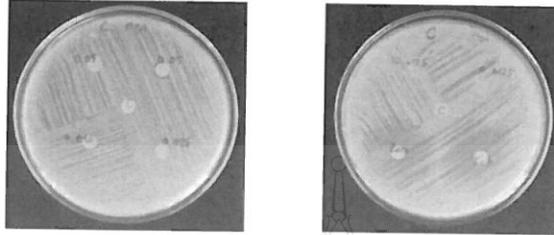


Salmonella typhimurium TISTR 292



Pseudomonas aeruginosa TISTR 781

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารเมือกจากผลพุทรา (ต่อ)



Candida albicans TISTR 5779



- **Narunan Wuttisin**, Somdet Srichairatanakool, Udompun Khansuwan, Protective effects of green tea and black tea against oxidative stress-induced lysis in red blood cells. The 10th National Conference on Thalassemia in Thailand, Jul 29-30, 2004, Bangkok, Thailand.

Conference attendances

- Apr 6-8, 2011 "International Conference The 3rd Biochemistry and Molecular Biology (BMB) Conference From Basic to translational Research for a Better Life", Thailand
- Aug 25, 2010 "Plant Stem Cell in Cosmetics", Thailand
- Dec 17-18, 2009 : ต่อยอดภูมิปัญญาพัฒนางานวิจัยประยุกต์ใช้สมุนไพรวัยเยาว์, National Science and Technology Development Agency (NSTDA) Annual Conference, Thailand
- Mar 20, 2009 : Hi-shear Mixing Technology
- Dec 15-16, 2008 : The 1st SFRR-Thai Meeting and International Workshop on Advances of Free Radicals, Oxidative Stress and Their Evaluation Methods, Thailand
- Oct 13-14, 2008 : The A-Z of Organizing international conventions, Bitech Conventional Center
- Oct 9-11, 2007: Biotechnica, Hannover, Germany.
- Sep 6-7, 2006 : International Factory Automation System Show 2006, Korea.
- Oct 4-7, 2005 : Protein Chip Based ELISA, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand
- Mar 31- Apr 2, 2004 : The 10th Conference on AIDS and Flow Cytometry, Thailand
- Mar 25-28, 2003 : The 9th Conference on AIDS and Flow Cytometry, Thailand

8. ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โปรดระบุชื่อเรื่องผลงาน ชื่อวารสาร ตามระบบสากล

Wuttisin, N., Boonmak, J., Thaipitak, V., Thitilertdecha, N. and Kittigowittana, K. Anti-tyrosinase Activity of Orange Peel Extract and Cosmetic Formulation. The 2nd International Conference on Agriculture and Agro-industry 2014

Kornkirati, K., Wuttisin, N. and Kittigowittana, K. (2013) Factors influencing working-aged people in Krathum Baen district, Samut Sakhon Province to buy skin-whitening cosmetics. *Journal of Community Development and Life Quality*, 2, 51-62.

