b.114498

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่เพื่อเป็นสารสำคัญในเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอย

Preparation of standardized Litchi peels extract as an active ingredient in anti-wrinkle cosmetics

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

กิติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วย ทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 และข้อเสนอแนะจากคณะอนุกรรมการติดตามและประเมินผลความก้าวหน้างานวิจัย กลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพและความงาม มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ซึ่งกลุ่มผู้วิจัยขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คุณวิไล ดวงใจ เจ้าหน้าที่ประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ซึ่งได้ช่วยในการติดต่อประสานงาน และจัดทำเอกสารต่างๆ ตลอดช่วงเวลาการดำเนินการวิจัย

ท้ายที่สุดนี้ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จะเป็นต้นแบบของการเตรียมสารสกัดมาตรฐานจากพืชเพื่อประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอาง และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของประเทศอีกทางหนึ่ง

มยุรี กัลยาวัฒนกุล
ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

บทสรุปผู้บริหาร

การใช้สมุนไพรเพื่อเป็นยา อาหาร เครื่องสำอางได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน โดยพัฒนารูปแบบการใช้ประโยชน์ การบรรจุ การแปรรูป และการทำผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรให้ทันสมัยสอดคล้องกับวิถีชีวิตสมัยใหม่ เพื่อแข่งขันในตลาดโลกได้ และจะเป็นการนำรายได้เข้าประเทศในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม มากกว่าการส่งออกในรูปวัตถุดิบซึ่งมีมูลค่าน้อยกว่า การพัฒนาวัตถุดิบในรูปสารสกัดที่ควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยการควบคุมปริมาณสารสำคัญให้มีปริมาณที่แน่นอนในทุกครั้งของการผลิตเรียกว่า "Standardized products หรือ สารสกัดมาตรฐาน"

จากข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมา กลุ่มผู้วิจัยคาดว่าสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารสำคัญ ในกลุ่มเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอย แต่ยังขาดข้อมูลในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดตลอดจนปริมาณสารสำคัญ ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ เตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม หาชนิดและปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิค ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญในสารสกัดพืช อีกทั้งศึกษาคุณสมบัติพื้นฐาน ทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี ของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ เพื่อพัฒนาเป็นสารสกัดมาตรฐานในเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอยจากธรรมชาติต่อไป

ผลการศึกษาวิจัย ได้ข้อมูลสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate ซึ่งให้ปริมาณร้อยละของผลผลิต 1.10 % w/w มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงสุด (357.891 ± 1.640 mg GAE/g extract) ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยค่า $r_{DPPH,TPC}$ = 0.4310, $r_{ABTS,TPC}$ = 0.8865 และ $r_{FRAP,TPC}$ = 0.9902 มีปริมาณสารสำคัญ คือ gallic acid (0.224 ± 0.006 g/kg extract), rosmarinic acid (0.145 ± 0.040 g/kg extract) และ quercetin (0.150 ± 0.025 g/kg extract) และสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลาย คือ propylene glycol และ glycerin นอกจากนี้ สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate รูปแบบของแข็งที่ระเหยตัวทำลายออกจนหมดและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4 °C เป็นเวลา 3 เดือนมีความคงตัวดีที่สุด ซึ่งแสดงปริมาณฟีนอลิครวม 354.57 ± 7.42 mg GAE/g extract และเมื่อเก็บสารสกัดไว้ในรูปแบบสารละลายที่อุณหภูมิ 45 °C มีความคงตัวต่ำที่สุดซึ่งแสดงปริมาณฟีนอลิครวม 217.69 ± 43.19 mg GAE/g extract

การศึกษาวิจัยนี้ จึงเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มมูลค่าให้กับลิ้นจี่ ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของจังหวัดเชียงราย โดยนอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อระบบอุตสาหกรรมการเกษตรแล้วยังครอบคลุมถึงอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและส่งผลดีต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศโดยรวม นอกจากนี้ยังได้มีการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยบางส่วนในวารสาร Pharmaceutical Biology, Volume 50, หน้า 1384-1390 ในปี 2012 ซึ่งเป็นประโยชน์โดยรวมต่อการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติในระดับนานาชาติ

ชื่อโครงการวิจัย การเตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่เพื่อเป็นสารสำคัญในเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอย

คณะผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

บทคัดย่อ

สารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate ให้ปริมาณร้อยละของผลผลิต 1.10 % w/w มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงสุด (357.891 ± 1.640 mg GAE/g extract) ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยค่า $r_{DPPH,TPC} = 0.4310$, $r_{ABTS,TPC} = 0.8865$ และ $r_{FRAP,TPC} = 0.9902$ มีปริมาณสารสำคัญ คือ gallic acid (0.224 ± 0.006 g/kg extract), rosmarinic acid (0.145 ± 0.040 g/kg extract) และ quercetin (0.150 ± 0.025 g/kg extract) และสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลาย คือ propylene glycol และ glycerin เมื่อทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate รูปแบบของแข็งที่ระเหยตัวทำลายออกจนหมด และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีดีที่สุด มีปริมาณฟีนอลิครวม 354.57 ± 7.42 mg GAE/g extract ส่วนเมื่อเก็บสารสกัดไว้ในรูปแบบสารละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C มีความคงตัวต่ำที่สุด แสดงปริมาณฟีนอลิครวม 217.69 ± 43.19 mg GAE/g extract

คำสำคัญ: ลิ้นจี่/ สารสกัดมาตรฐาน/ ความคงตัวทางกายภาพ/ความคงตัวทางเคมี

Research title Preparation of standardized Litchi peels extract as an active ingredient in anti-wrinkle cosmetics

Researchers Asst. Prof. Dr. Nattaya Lourith
Asst. Prof. Dr. Mayuree Kanlayavattanakul

Abstract

Standardized litchi peels ethyl acetate extract with the extractive yield of 1.10 % contained the highest total phenolic contents (357.891 ± 1.640 mg GAE/g extract). The active principle content was in harmony with antioxidant activity as $r_{FRAP,TPC}$= 0.9902, $r_{ABTS,TPC}$ = 0.8865 and $r_{DPPH,TPC}$ = 0.4310. Gallic acid was determined as the main active (0.224 ± 0.006 g/kg extract), followed by rosmarinic acid (0.145 ± 0.040 g/kg extract) and quercetin (0.150 ± 0.025 g/kg extract). This standardized extract was easily dissolved in propylene glycol and glycerin. Furthermore, the standardized extract was evaluated on stability under heating cooling cycle and various temperature conditions for 3 months. The extract in form of powder that completely evaporated to dryness, was physical and chemical stable particularly under 4 °C with total phenolic contents of 354.57 ± 7.42 mg GAE/g extract. The extract solution kept under 45 °C was found to be the worst storage condition revealed by total phenolic contents at 217.69 ± 43.19 mg GAE/g extract.

Keywords: *Litchi chinensis*/ Litchi/ standardized extract/ physical stability/ chemical stability

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	**บทนำ**	
	1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2	**แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	
	2.1 ลิ้นจี่	3
	2.2 การเตรียมสารสกัดสมุนไพร	4
	2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3	**ระเบียบวิธีวิจัย**	
	3.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate	6
	3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม	6
	3.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC	7
	3.4 การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่	7
	3.5 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี ของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่	7
	3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์	8
บทที่ 4	**ผลการวิจัย**	
	4.1 ผลการเตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่	9
	4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวม	10
	4.3 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC	11
	4.4 ผลการศึกษาคุณสมบัติพื้นฐาน	12
	4.5 ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี	13

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 5	**สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ**	
	5.1 สรุปผลการวิจัย	18
	5.2 ข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง		20
ประวัตินักวิจัย		23

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 4-1	ตัวอย่างลิ้นจี่ ข้อมูลพันธุ์ แหล่งที่มา และช่วงเวลาในการจัดเก็บ	9
ตารางที่ 4-2	ปริมาณผลผลิตของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่	9
ตารางที่ 4-3	คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่	13

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2-1	ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ	4
ภาพที่ 4-1	ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ	10
ภาพที่ 4-2	HPLC chromatogram ของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc และสารมาตรฐาน	11
ภาพที่ 4-3	สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate (LC_70%EtOH_EtOAc)	12
ภาพที่ 4-4	ลักษณะภายนอกของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในสภาวะเร่ง	14
ภาพที่ 4-5	ลักษณะภายนอกของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ	14
ภาพที่ 4-6	ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในสภาวะเร่งแบบ heating cooling	16
ภาพที่ 4.7	ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในช่วงเวลาและสภาวะต่าง ๆ	17

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การใช้สมุนไพรเพื่อเป็นยา อาหาร เครื่องสำอางได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน โดยพัฒนารูปแบบการใช้ประโยชน์ การบรรจุ การแปรรูป และการทำผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรให้ทันสมัยสอดคล้องกับวิถีชีวิตสมัยใหม่ ประกอบกับยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทย เพื่อให้มีคุณภาพทัดเทียมกับของต่างประเทศ สามารถแข่งขันในตลาดโลกได้ และจะเป็นการนำรายได้เข้าประเทศในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม (Value-added products) มากกว่าการส่งออกในรูปวัตถุดิบซึ่งมีมูลค่าน้อยกว่าการพัฒนาวัตถุดิบในรูปสารสกัดที่ควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยการควบคุมปริมาณสารสำคัญให้มีปริมาณที่แน่นอนในทุกครั้งของการผลิตเรียกว่า "Standardized products หรือ สารสกัดมาตรฐาน" (วิภัทรา ศุภะจินดา, 2550)

สารสกัดมาตรฐานนี้ นอกจากจะมีความคงตัวทางกายภาพซึ่งสามารถสังเกตได้ภายนอกแล้ว จะต้องมีความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญเพื่อให้คงประสิทธิภาพของสารสกัดนั้น และต้องมีความปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองอันเนื่องมาจากการสลายตัวของสารสำคัญกลายเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดอันตรายอื่น ๆ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของสารสำคัญเหล่านี้ จึงมีความจำเป็นต่อศักยภาพและประสิทธิภาพรวมถึงความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติที่เตรียมได้ (Tiedtke, 2006; Mitsui, 1997) และหากสารสกัดธรรมชาติเหล่านั้นเตรียมได้จากแหล่งหรือวิธีการที่ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบกับสิ่งแวดล้อม หรือเป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรอย่างยั่งยืนที่มักจะเรียกว่า ecological friendly หรือ sustainable material ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ได้รับความนิยมอย่างสูงทั่วโลกในปัจจุบัน (Todd, 2004) เช่น การนำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือเหลือจากการบริโภคผลไม้ซึ่งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Leong and Shui, 2002; Song and Barlow, 2004) มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพต่าง ๆ รวมถึงเครื่องสำอาง เช่น เปลือกมังคุด (เอเชียนไลฟ์, 2011) เมล็ดองุ่น (ladymarketonline, 2011) และเปลือกเมล็ดลำไย (Prema Herb, 2013) เป็นต้น

ข้อมูลของกลุ่มผู้วิจัยซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ประจำปี 2553 พบว่า สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่เป็นพิษต่อ Vero cells (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553) และต่อยอดงานวิจัยโดยความร่วมมือกับศูนย์นาโน-

เทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ พบว่าสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate มีความสามารถในการต้านและป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระต่อ Normal human skin fibroblast (NHF) cells และไม่เกิดความเป็นพิษต่อ NHF cells (Osponpant, 2010)

จากข้อมูลดังกล่าวเบื้องต้น กลุ่มผู้วิจัยคาดว่าสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารสำคัญ ในกลุ่มเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอยแต่ยังขาดข้อมูลในการควบคุมคุณภาพของสารสกัด ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ เตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่โดยการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม หาชนิดและปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิค ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญในสารสกัดพืช อีกทั้งศึกษาคุณสมบัติพื้นฐาน ทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี ของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ เพื่อพัฒนาเป็นสารสำคัญในเครื่องสำอางลดเลือนริ้วรอยจากธรรมชาติต่อไปในเชิงพาณิชย์

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวมในสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่
2. เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิคในสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่
3. เพื่อศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่สำหรับใช้ในเครื่องสำอาง
4. เพื่อทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

เตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิที่เพาะปลูกในจังหวัดเชียงราย ศึกษาปริมาณฟีนอลิครวม วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิคในสารสกัดด้วย HPLC ศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานสำหรับใช้ในเครื่องสำอาง และทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่

บทที่ 2

แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลิ้นจี่

ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis*) เป็นพืชในวงศ์ Sapindaceae เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ปลูกมากในภาคเหนือของประเทศ เช่น จังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ นิยมรับประทานทั้งเป็นผลสด และลิ้นจี่ในน้ำเชื่อม และน้ำลิ้นจี่ (Zhang, et al., 2004) ส่งผลให้มีเปลือกลิ้นจี่ ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปลิ้นจี่ จำนวนมาก ซึ่งมีความเหมาะสมเพื่อที่จะศึกษาแนวทางในการใช้ประโยชน์จากเศษวัสดุเหลือทิ้งนี้ เนื้อผลลิ้นจี่ประกอบด้วย วิตามิน และแร่ธาตุ (de Pascual-Teresa and Sanchez-Ballesra, 2008; Liu, et al., 2007) สำคัญต่อร่างกาย

พันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกในประเทศไทยสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ตามแหล่งการปลูกดังนี้

1. กลุ่มพันธุ์ที่ปลูกทางภาคเหนือ เป็นพันธุ์ที่ต้องการภูมิอากาศที่เย็นและยาวนานก่อนการออกดอก ได้แก่พันธุ์ฮงฮวย จักรพรรดิ กิมเจง โอวเฮีย และกวางเจา เป็นต้น
2. กลุ่มพันธุ์ที่ปลูกในภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคตะวันตก ส่วนใหญ่ต้องการภูมิอากาศที่หนาวเย็นไม่นานก็สามารถชักนำให้ออกดอกได้ ได้แก่ พันธุ์ค่อม กะโหลกใบยาว และสำเภาแก้ว เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2013)

ลิ้นจี่พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คือ พันธุ์จักรพรรดิ ที่ปลูกในจังหวัดเชียงราย มีลักษณะผลโต ออกดอกประมาณเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ ผลแก่ปลายเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม ขนาดผลกว้าง 4.4 เซนติเมตร ยาว 4.2 เซนติเมตร ผลหนัก 40-50 กรัม หนามไม่แหลม เปลือกหนาเมื่อแก่จัดสีชมพูแดง เนื้อผลหนา 1.1 เซนติเมตร ความหวานประมาณ 18%

ภาพที่ 2-1 ลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ (Modernmom, 2013)

2.2 การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

การนำสมุนไพร หรือสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งมีศักยภาพที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ รวมถึงเครื่องสำอางนั้น (Kapoor et al., 2009; White, 1996) จะต้องเตรียมสมุนไพรนั้นในรูปแบบของสารสกัดมาตรฐาน ซึ่งมีความคงตัวทางกายภาพซึ่งสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงภายนอก ยืนยันถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดจากความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญ ซึ่งจะต้องไม่มีการสลายตัวอันจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงปริมาณของสารสำคัญ และทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพลดลงตามไปด้วย นอกจากนี้จะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของสารสำคัญนั้นไปเป็นสารอื่นซึ่งอาจก่อให้เกิดการระคายเคือง หรือมีความเป็นพิษได้ ซึ่ง Good Manufacturing Practices (GMPs) ในการกำหนดและควบคุมคุณภาพ ของสารสกัดสมุนไพรนั้นจะต้องควบคุมตั้งแต่ความจำเพาะของพืช วิธีการปลูกและเก็บเกี่ยว ตลอดจนวิธีการเตรียมสารสกัด และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงการวิเคราะห์สารสำคัญ เพื่อให้ได้สารสกัดมาตรฐานที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพตรงตามความต้องการในการประยุกต์ใช้ และมีความปลอดภัยโดยการจัดทำมาตรฐานของสารสกัดสามารถทำได้โดยการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะและความบริสุทธิ์ (Agriculture and Agri-Food Canada, 2004; Ahmad, 2006; Evans, 2002; World Health Organization, 2003) โดยการศึกษาลักษณะทางเภสัชเวทของพืชสมุนไพรที่นำมาสกัด และวิเคราะห์ทางเคมีเป็นการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของพืชนั้น นอกจากนี้การวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งรวมถึงการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และความเป็นพิษ (Palanisamy, et al., 2011) ยังใช้เป็นตรวจสอบมาตรฐานด้านความบริสุทธิ์ของสารสกัดนั้นได้เช่นกัน (Agriculture and Agri-Food Canada, 2004; Ahmad, 2006; Evans, 2002; World Health Organization, 2003; Palanisamy, et al., 2011) และในการนำสารสกัดมาตรฐานมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง นอกจากจะต้องทราบปริมาณสารสำคัญ ความปลอดภัยและฤทธิ์ทางชีวภาพแล้ว ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในตำรับ

เครื่องสำอาง ปริมาณของสารสกัดที่สามารถละลายได้ และความคงตัวในสภาวะกรด-ด่าง ของสารสกัดมาตรฐานนั้น เป็นคุณสมบัติพื้นฐานที่ต้องทำการศึกษาก่อนนำมาเตรียมเป็นตำรับเครื่องสำอาง (Cunningham, 2001) และเมื่อนำสารสกัดมาตรฐานที่ทราบคุณสมบัติพื้นฐานมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์จะได้เครื่องสำอางที่มีความคงตัว มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพตามความคาดหมายในการตั้งตำรับ

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เมล็ดลิ้นจี่พบสารในกลุ่ม Anthocyanins คือ Cyanidin-3-rutinoside สารกลุ่ม Oligomeric procyanidins คือ Epi-catechin-(4β→8, 2-(β→O→7)-Epicatechin และ (-)-Epicatechin และ Procyanidin A ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (de Pascual-Teresa, 2008; Liu, et. al., 2007; Zhang, et. al., 2004) นอกจากนี้มีรายงานสารกลุ่มฟีนอลิค ที่พบในเมล็ดลิ้นจี่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Prasad, et al., 2009)

ส่วนเปลือกลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553) และมีฤทธิ์ต้านและป้องกันอนุมูลอิสระใน NHF cells (Osponpant, 2010) นอกจากนี้สารสกัดยังมีความปลอดภัยเหมาะสำหรับประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรมเนื่องจากไม่มีความเป็นพิษต่อ Vero cells และ NHF cells (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553; Osponpant, 2010)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มี วัตถุประสงค์เตรียมการเตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกผลลิ้นจี่ เพื่อเป็นโดยแสดงรายละเอียดวิธีการดำเนินการวิจัย ดังนี้

3.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553)

จัดหาลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิที่เพาะปลูกในเขตจังหวัดเชียงราย บันทึกช่วงเวลาในการจัดเก็บแยกเฉพาะส่วน เปลือกผลลิ้นจี่ และนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 45 °C หลังจากนั้นนำไปบดให้มีขนาดอนุภาคเล็กลงและบันทึกน้ำหนักแห้งของเปลือกผลที่ได้ เตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ ด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

3.1.1 แช่เปลือกลิ้นจี่ด้วย 70% EtOH ในสัดส่วน 1:3 (w/v) ในขวดรูปชมพู่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยใช้เครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 3 ครั้ง

3.1.2 ลดปริมาตรของเหลวที่ได้ด้วยเครื่อง Rotary evaporator ให้เหลือปริมาตรประมาณ 150 ml แบ่งของเหลวที่ลดปริมาตรได้ออกเป็นสองส่วน

3.1.3 ส่วนหนึ่งนำไปสกัดแยกด้วยวิธี Liquid-liquid extraction หรือ Partition ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ คือ *n*-hexane และ ethyl acetate ตามลำดับ ขจัดตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดส่วนต่างๆ คือ LC_70%EtOH_hex.extract, LC_70% EtOH_EtOAC extract และ LC_70% EtOH_aq. extract

3.1.4 อีกส่วนหนึ่งนำไปขจัดตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดคือ LC_70% EtOH extract

3.1.5 นำสารสกัดที่เตรียมได้ คือ สารสกัด LC_70% EtOH, LC_70%EtOH_hex., LC_70% EtOH_EtOAC และ LC_70% EtOH_aq. ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวมต่อไป

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม (Lourith, et al., 2009)

3.2.1 เตรียมสารมาตรฐาน คือ gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ใน methanol

3.2.2 เตรียมสารทดสอบใน methanol

3.2.3 ให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ในระบบที่มีสารละลาย 7.5% sodium carbonate และน้ำกลั่น เป็นเวลา 60 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

3.2.4 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid แสดงในรูป g ของ gallic acid equivalent/ g ของสารสกัด (g GAE/g extract)

3.2.5 คัดเลือกสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC ต่อไป

3.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC (Pongpunyayuen and Lourith, 2011)

3.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐานทั้งสิ้น 3 ชนิด ได้แก่ gallic acid, rosmarinic acid และ quercetin

3.3.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่มฟีนอลิคดังกล่าวในสารสกัด

3.4 การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ (Lourith, et al., 2009)

3.4.1 สมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น และ pH

3.4.2 ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ

3.4.3 ความคงตัวต่อสภาวะความเป็นกรด–ด่าง

3.5 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ (Chuarienthong, et. al., 2010; Futrakul, et. al., 2010)

3.5.1 ประเมินความคงตัวทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น และ pH เป็นต้น

3.5.2 ประเมินความคงตัวทางเคมี

ของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ ก่อนและหลังการเก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆดังนี้

- เก็บที่ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกับ 45 °C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ จำนวนทั้งสิ้น 7 รอบ
- เก็บที่อุณหภูมิห้อง 4 °C และ 45 °C เป็นเวลา 1 2 และ 3 เดือน

3.6 วิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์

รวบรวมผลการทดสอบ วิเคราะห์ข้อมูลด้วย SPSS version 11.5 ด้วยสถิติ t-test, ANOVA test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และจัดทำรายงาน

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่

ตารางที่ 4-1 ตัวอย่างลิ้นจี่ ข้อมูลพันธุ์ แหล่งที่มา และช่วงเวลาในการจัดเก็บ

ตัวอย่างพืช	พันธุ์	แหล่ง	ช่วงเวลาการเก็บ	น้ำหนักเปลือกแห้ง (กรัม)
เปลือกลิ้นจี่	จักรพรรดิ	ตลาดเทศบาล อ. เมือง จ. เชียงราย	เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2555	70.30

จากตารางที่ 4-1 แสดงปริมาณเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ บดแห้ง ปริมาณ 70.30 กรัม ซื้อจากตลาดเทศบาล อ. เมือง จ. เชียงราย ในช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 นำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เพื่อเตรียมสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วนต่าง ๆ

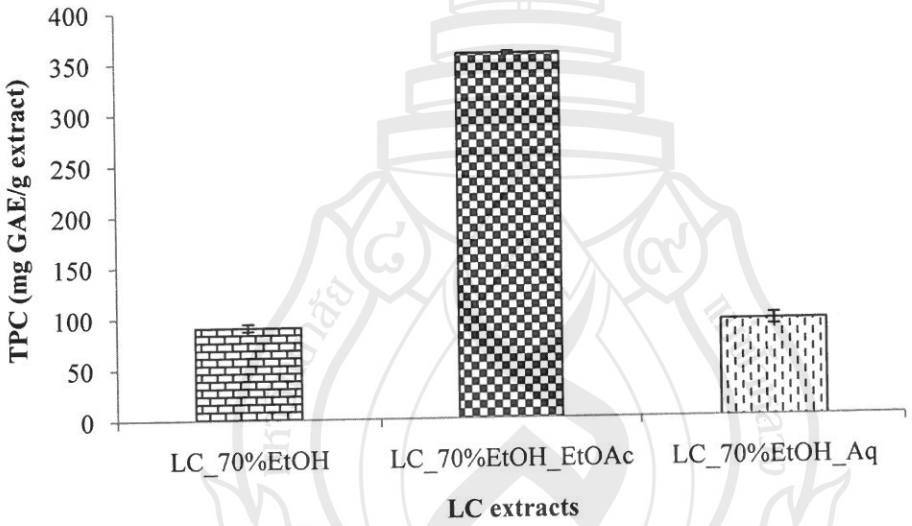
ตารางที่ 4-2 ปริมาณผลผลิตของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่

สารสกัด	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิตต่อน้ำหนักแห้ง (%w/w)
70% EtOH	10.19	14.50
70% EtOH_hex.	0.98	1.40
70% EtOH_EtOAc	0.77	1.10
70% EtOH_Aq.	7.07	10.05

จากตารางที่ 4-2 แสดงปริมาณผลผลิตของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วนต่าง ๆ และนำสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate (LC_70% EtOH_EtOAc) ซึ่งแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p *value* < 0.05) และไม่เป็นพิษต่อ Vero cells (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553) และมีความสามารถในการต้านและป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระต่อ NHF cells และไม่เกิดความเป็นพิษต่อ NHF cells (Osponpant, 2010) ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวม เปรียบเทียบกับสาร

สกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน 70% ethanol (LC_70% EtOH) และ aqueous (LC_70% EtOH_aq.) ส่วน hexane (LC_70% EtOH_hex.) นั้น ไม่ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวม เนื่องจากเป็นส่วนที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารสกัดส่วนอื่น ๆมาก (มยุรี กัลยาวัฒนกุล และคณะ, 2553) สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆที่สารสกัดส่วน hexane มีขั้วต่ำ สามารถละลายน้ำหรือตัวทำละลายกลุ่ม ethanol ได้น้อยแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำและมักไม่พบสารกลุ่มฟีนอลิคเป็นองค์ประกอบ (Kanlayavattanakul and Lourith, 2011)

4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวม



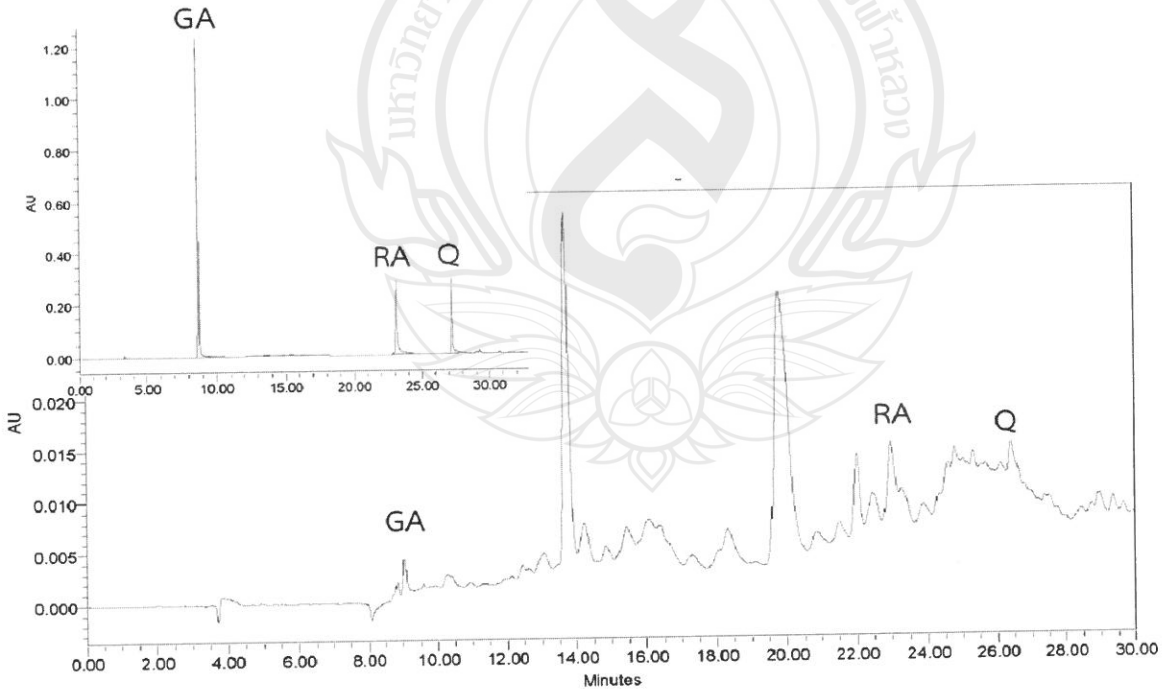
ภาพที่ 4-1 ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

จากภาพที่ 4-1 พบว่า สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc (357.89 ± 1.64 mg GAE/ g extract) แสดงปริมาณฟีนอลิครวมสูงกว่าสารสกัด LC_70%EtOH (90.55 ± 3.60 mg GAE/ g extract) และ LC_70%EtOH_Aq (94.23 ± 5.58 mg GAE/ g extract) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p *value* < 0.05) ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ คือ LC_70%EtOH_EtOAc แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (IC_{50} = 2.288 ± 0.063 μg/ml), ABTS (IC_{50} = 7.137 ± 0.021 μg/ml) และ FRAP ($EC_{1mMFeSO4}$ = 8013.183 ± 58.804 μg/ml) สูงกว่าสารสกัดส่วนอื่น ๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p *value* < 0.05) จึงคัดเลือกสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณฟีนอลิครวมสูงที่สุด ถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสำคัญด้วย HPLC ต่อไป

4.3 ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC

นำสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ 3 ชนิด คือ gallic acid, rosmarinic acid และ quercetin ซึ่งสารเหล่านี้กำลังได้รับความสนใจในทางเภสัชกรรม รวมถึงเครื่องสำอางเนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (Kroon and Williamson, 1999; Shahidi and Chandrasekara, 2010) และ gallic acid เป็นสารกลุ่มฟีนอลิคที่มีรายงานว่าพบในเปลือกผลลิ้นจี่ที่ปลูกในประเทศจีน (Zhang, et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่รายงานเกี่ยวกับ rosmarinic acid และ quercetin ซึ่งเป็น hydroxycinnamic derivative ที่มีกระบวนการชีวสังเคราะห์เดียวกับ gallic acid ในเปลือกผลลิ้นจี่มาก่อน โดยสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐานทั้งสิ้น 3 ชนิด ด้วย HPLC คือ mobile phase ที่เป็นของผสมระหว่าง acetronitrile และ 3% aqueous acetic acid

จากภาพที่ 4-2 พบสารสำคัญในสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc คือ gallic acid, rosmarinic acid และ quercetin ปริมาณ 0.224 ± 0.006, 0.145 ± 0.040 และ 0.150 ± 0.025 g/kg ของสารสกัด ตามลำดับ เพิ่มเติมจากกลุ่มของ anthocyanins ที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ (Zhang, et. al., 2004)



ภาพที่ 4-2 HPLC chromatogram ของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc และสารมาตรฐาน

4.4 ผลการศึกษาคุณสมบัติพื้นฐาน

4.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัด

ภาพที่ 4-3 สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate (LC_70%EtOH_EtOAc)

จากภาพที่ 4-3 สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลเข้มปนแดง

4.4.2 ผลการละลายในตัวทำละลาย และความเป็นกรด-ด่างของสารสกัด

นอกจากฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบหลักของสารสกัดแล้ว ความสามารถในการละลายและความคงตัวเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่ต้องทำการศึกษา ก่อนนำสารสกัดมาผสมในเครื่องสำอาง (Antignac, et al., 2011) ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาความสามารถในการละลายและทดสอบความเป็นกรด-ด่างของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc โดยเตรียมตัวทำละลายคือ propylene glycol หรือ glycerin ซึ่งเป็นสารที่นิยมใช้ในเครื่องสำอางทั่วๆไป ปริมาณ 10 g แล้วเติมสารสกัด ลงไป 10 mg คนให้เข้ากันจนสารละลายใส ค่อยๆเติมสารสกัดลงไปเรื่อยๆครั้งละ 5 mg จนสารละลายเริ่มอิ่มตัว สังเกตพบว่า มีอนุภาคสีน้ำตาลขนาดเล็กๆแขวนลอยอยู่ในสารละลาย ให้ตั้งทิ้งไว้ หากอนุภาคเล็กๆในสารละลายหายไป จึงค่อยๆเติมสารสกัดลงไปครั้งละ 5 mg คนให้เข้ากัน เมื่อครบ 24 ชั่วโมง หากยังพบอนุภาคเล็กๆยังลอยในสารละลายแสดงว่าสารละลายอิ่มตัวนั้นแล้ว จากนั้นบันทึกปริมาณรวมสารสกัดเปลือกเงาะส่วน ethyl acetate ก่อนการเติมสารสกัดครั้งสุดท้าย ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการละลายสูงสุดของสารสกัดในตัวทำละลาย และคำนวณเป็นร้อยละของการละลายสูงสุดของสารสกัดในตัวทำละลายนั้นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่

สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ (LC_70%EtOH_EtOAc extract)	ตัวทำละลาย ปริมาณ 10 g	
	Glycerin	Propylene glycol
ปริมาณสารสกัด (mg)	40	50
ค่า pH	4.58 ± 0.05	4.32 ± 0.02
ลักษณะสารละลาย	สารละลายใส สีส้มแดง	สารละลายใส สีส้มแดง
ร้อยละของสารสกัดในตัวทำละลาย	0.4	0.5

จากตารางที่ 4-3 สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc สามารถละลายได้สูงสุด ใน propylene glycol และ glycerin ได้ร้อยละ 0.5 และ 0.4 (w/w) ตามลำดับ โดยสารละลายที่ได้มีลักษณะใส สีเหลืองน้ำตาล มีค่า pH อยู่ในช่วง 4.32-4.58 และให้กลิ่นหอมอ่อน ๆ ของลิ้นจี่

4.5 ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี

การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc นั้น ได้เตรียมสารสกัดเป็น 2 รูปแบบ คือ

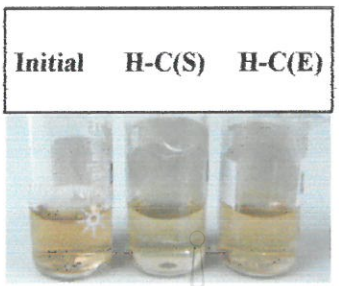
- รูปแบบสารสกัดที่ระเหยตัวทำละลายออกทั้งหมด มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลเข้มปนแดง ไม่มีกลิ่น ดังรูป 4-2
- รูปแบบสารสกัดที่ละลายด้วยตัวทำละลาย คือ absolute ethanol มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีส้มแดง

โดยนำสารสกัดทั้งสองรูปแบบเก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ และศึกษาความคงตัวทางกายภาพและเคมี

4.5.1 ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

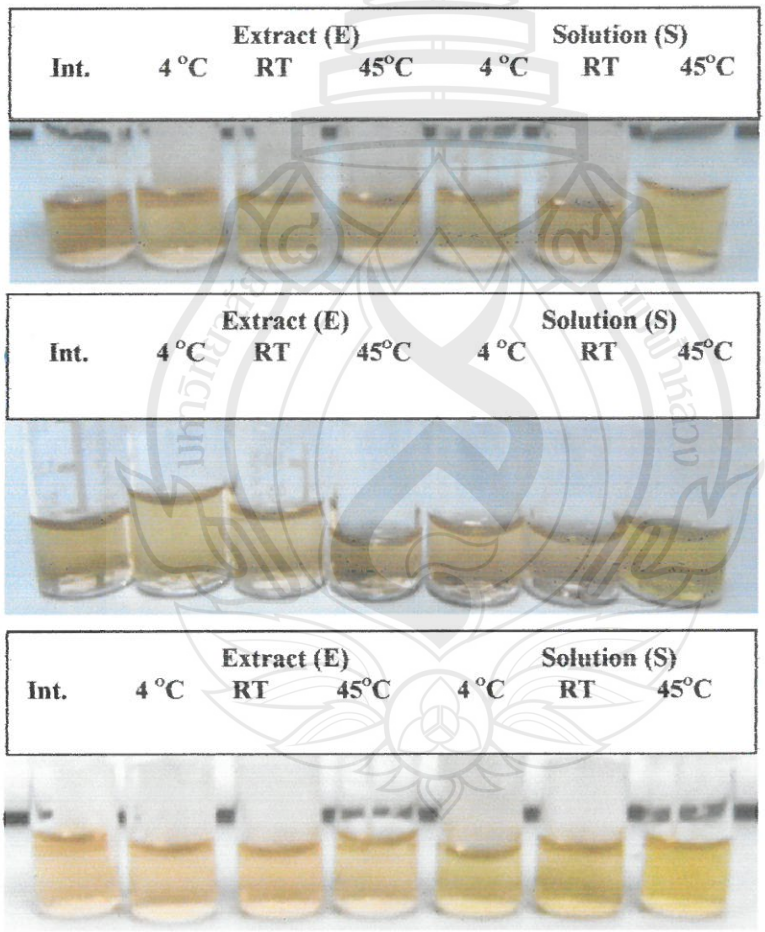
4.5.1.1 ในสภาวะเร่ง (heating cooling)

สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ซึ่งเก็บไว้ที่เวลาเริ่มต้นและภายใต้สภาวะเร่ง พบว่า สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง เมื่อนำมาละลายในตัวทำละลาย คือ absolute ethanol พบว่ามีสีส้มแดงใกล้เคียงกับสารสกัดเริ่มต้น ส่วนสารสกัดที่เก็บในรูปแบบสารละลาย มีสีส้มจางลงเมื่อเทียบกับสารละลายของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่เริ่มต้น ดังแสดงในภาพที่ 4-4



ภาพที่ 4-4 ลักษณะภายนอกของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในสภาวะเร่ง

4.5.1.2 ในช่วงเวลา 1 และ 3 เดือน ที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C



ภาพที่ 4-5 ลักษณะภายนอกของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ที่เวลาเริ่มต้นและเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C พบว่า สารสกัด

LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง เมื่อนำมาละลายในตัวทำละลาย คือ absolute ethanol พบว่า มีสีส้มแดงใกล้เคียงกับสารสกัดเริ่มต้นกว่าสารสกัดในรูปแบบของสารละลาย โดยเฉพาะที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน ที่ อุณหภูมิ 4 °C และสีของสารละลายจะซีดจางลงจนเป็นสีเหลือง เมื่อเวลาผ่านไปในช่วง 2 และ 3 เดือน โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 45 °C

4.5.2 ผลการทดสอบความคงตัวทางเคมี

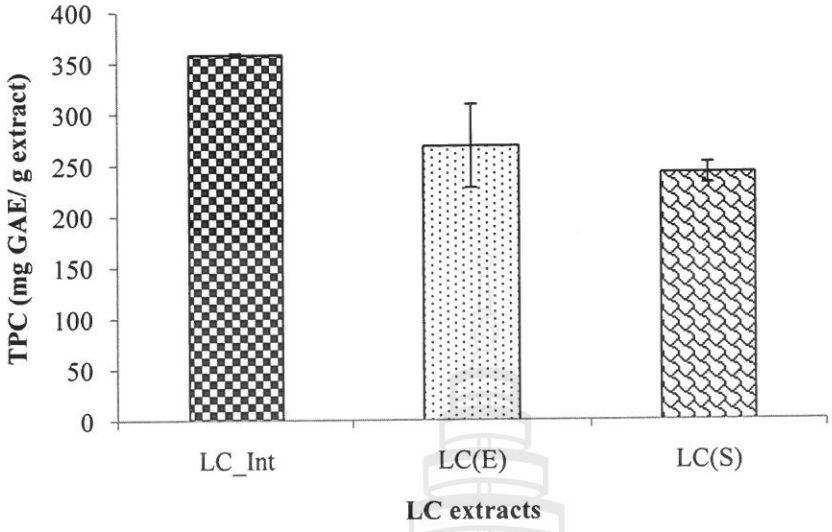
การนำสารสกัดธรรมชาติไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางต้องศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัย นอกเหนือจากการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ และการระคายเคืองในผิวหนัง โดยทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญ รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพ (Antignac, et al., 2011) จึงทำการทดสอบความคงตัวทางเคมีของสารสกัดโดยการเก็บในรูปแบบที่เป็นสารสกัด และสารสกัดละลายในตัวทำละลาย คือ absolute ethanol ภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ (Arabshashi, et al., 2007; Chang, et al., 2006; Juntachote, et al., 2007)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิครวม และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยค่า $r_{DPPH,TPC} = 0.4310$, $r_{ABTS,TPC} = 0.8865$ และ $r_{FRAP,TPC} = 0.9902$ นั่นคือ หากสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc มีปริมาณฟีนอลิครวมสูง จะแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงด้วย ดังนั้นจึงเลือกวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิครวม เป็นวิธีในการทดสอบความคงตัวทางเคมีของสารสกัด อีกทั้งเป็นวิธีการที่สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้ง่าย เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ UV spectrophotometer ราคาไม่แพง เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง HPLC

4.5.2.1 ผลการทดสอบความคงตัวทางเคมีของสารสกัดด้วยการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม

4.5.2.1.1 ในสภาวะเร่ง (heating cooling)

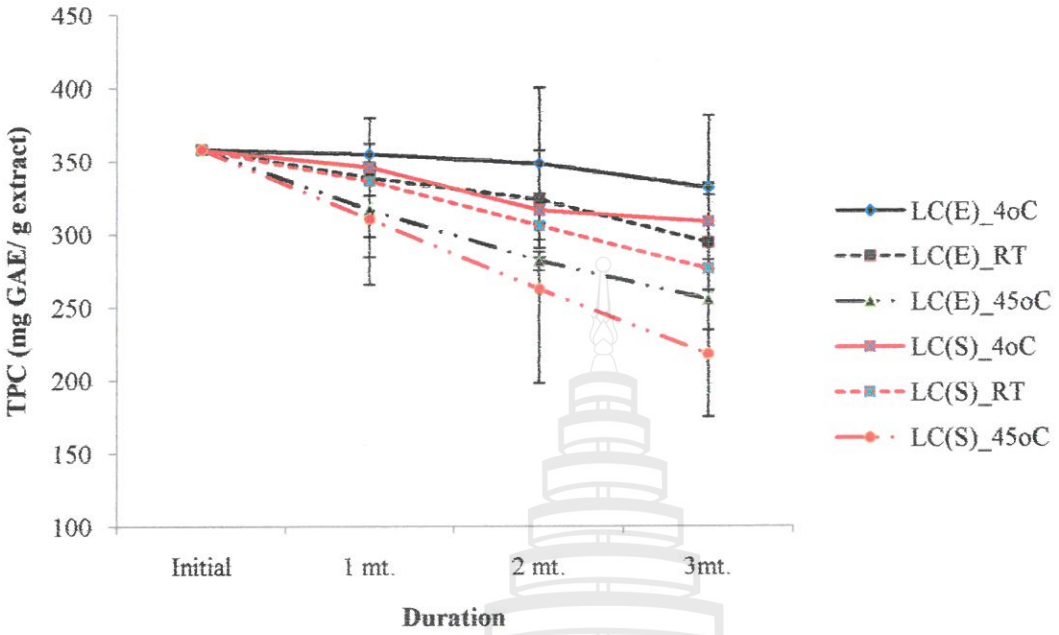
ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ที่เวลาเริ่มต้นและหลังจากการเก็บสารสกัดทั้ง 2 รูปแบบภายใต้สภาวะเร่ง พบว่า สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง มีความคงตัวดีกว่าสารสกัดที่เก็บในรูปแบบสารละลาย (ภาพที่ 4-6)



ภาพที่ 4-6 ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในสภาวะเร่งแบบ heating cooling

4.5.2.1.2 ในช่วงเวลา 1 และ 3 เดือน ที่สภาวะ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C

จากภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง (E) และสารละลาย (S) ที่เวลาเริ่มต้นและเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C อุณหภูมิห้อง และ 45 °C พบว่า สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc ในรูปแบบของแข็ง มีความคงตัวด้านเคมี ดีกว่าสารสกัดในรูปแบบของสารละลาย โดยเฉพาะที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 °C มีความคงตัวสูงที่สุด (TPC = 354.57 ± 7.42 mg GAE/g extract) เนื่องจากแสดงปริมาณฟีนอลิครวมใกล้เคียงกับสารสกัดเริ่มต้น (TPC = 357.89 ± 1.64 mg GAE/g extract) ส่วน สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc รูปแบบสารละลาย ที่อุณหภูมิ 45 °C เก็บเป็นเวลา 3 เดือน (TPC = 217.69 ± 43.19 mg GAE/g extract) มีปริมาณฟีนอลิครวมลดลงมากที่สุด



ภาพที่ 4.7 ปริมาณฟีนอลิครวมของสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ในช่วงเวลาและสภาวะต่าง ๆ

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าการเก็บสารสกัดในรูปแบบของแข็งที่ระเหยตัวทำละลายออกจนหมด สามารถรักษา สารสำคัญ ดีกว่า การเก็บในรูปแบบของสารละลาย เช่นเดียวกับการทดสอบในสมุนไพรชนิดอื่น และการเก็บสารสกัดในสภาวะอุณหภูมิต่ำ จะช่วยให้สารสกัดมีความคงตัวดี เช่นเดียวกัน (Arabshashi, et al., 2007; Chang, et al., 2006; Juntachote, et al., 2007)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้สารสกัดมาตรฐาน LC_70%EtOH_EtOAc ซึ่งให้ปริมาณผลผลิต 1.10 % w/w มีปริมาณฟีนอลิครวมสูงสุด (357.891 ± 1.640 mg GAE/g extract) ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยค่า $r_{DPPH,TPC}$ = 0.4310, $r_{ABTS,TPC}$ = 0.8865 และ $r_{FRAP,TPC}$ = 0.9902 มีปริมาณสารสำคัญ คือ gallic acid (0.224 ± 0.006 g/kg extract), rosmarinic acid (0.145 ± 0.040 g/kg extract) และ quercetin (0.150 ± 0.025 g/kg extract) และสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลาย คือ propylene glycol และ glycerin นอกจากนี้ สารสกัด LC_70%EtOH_EtOAc มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีดีที่สุด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4 °C รองลงมาคือ อุณหภูมิห้อง และ มีความคงตัวต่ำ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 °C ทั้งในรูปสารสกัดของแข็งและในรูปสารละลาย โดยวิธีการเตรียมและการควบคุมคุณภาพสารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ที่พัฒนาขึ้น และนำเสนอในการวิจัยนี้ มีความถูกต้อง ให้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี และมีต้นทุนเหมาะสมกับระบบเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมในประเทศไทย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.1 การเตรียมสารสกัดในรูป semi-purified extract โดยการ partition ด้วย ethyl acetate ทำให้สารสกัดเปลือกผลลิ้นจี่ส่วน ethyl acetate (LC_70%EtOH_EtOAc) ซึ่งแสดงปริมาณฟีนอลิครวมและฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธีการนี้เป็นรูปแบบหนึ่งในการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรมที่เรียกว่า pressurized flow solvent และสามารถเตรียมสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น เพิ่มความคงตัว และความปลอดภัยของสารสกัดธรรมชาติ (Antignac, et al., 2011) เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย 70% ethanol เพียงขั้นตอนเดียว ซึ่งให้ร้อยละของผลผลิตสูงกว่าสารสกัดในรูปแบบ semi-purified extract แต่ไม่ได้แสดงถึงคุณภาพหรือปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์อย่างแท้จริง ดังแสดงจากปริมาณฟีนอลิครวม อีกทั้งต้องใช้ปริมาณที่สูงกว่าในการผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับสารสกัดรูปแบบ semi-purified extract แต่อาจก่อนให้เกิดความไม่คงตัวและความไม่เข้ากันในผลิตภัณฑ์ รวมถึงความเสี่ยงต่อการระคายเคืองผิวเพราะใช้ในปริมาณ

สูง ดังนั้นหากวิเคราะห์ในแง่ความคุ้มค่าและต้นทุนการผลิตสารสกัด semi-purified extract หรือ LC_70%EtOH_EtOAc น่าจะเป็นรูปแบบที่มีความคุ้มค่าและเกิดประโยชน์แก่การนำไปใช้จริงมากกว่า

5.2 การควบคุมคุณภาพของสารสกัดสามารถใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิครวม เนื่องจากมีความสอดคล้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีโดยเฉพาะการต้านอนุมูลอิสระกลุ่ม secondary oxidants ซึ่งมักเกิดในเซลล์ ($r_{ABTS,TPC} = 0.8865$ และ $r_{FRAP,TPC} = 0.9902$) ดังที่นำเสนอในงานวิจัย ทั้งนี้การวิเคราะห์สารสำคัญในด้านปริมาณฟีนอลิครวม ยังเป็นที่ยอมรับและมักใช้ในการ standardization สารสกัดจากสมุนไพรทดแทนการวิเคราะห์สารสำคัญด้วย HPLC ซึ่งมีต้นทุนที่สูงกว่า (Antignac, et al., 2011)

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. ลิ้นจี่. http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=38 (Accessed on July 11, 2013).

มยุรี กัลยาวัฒนกุล, ณัฐยา เหล่าฤทธิ์, อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย. การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกผลลิ้นจี่ สละ และเปลือกเมล็ดละมุด. รายงานวิจัยงบประมาณสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงประจำปีงบประมาณ 2553. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. 2553.

วิภัทรา ศุภะจินดา. การพัฒนาและประเมินผลทางคลินิกของสารสกัดมาตรฐานผลฟักข้าว. งานค้นคว้าโดยอิสระ. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. เชียงราย (2550).

เอเชียนไลฟ์. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและความงาม. http://catoon18.blogspot.com/2009_10_01_archive.html (Accessed on May 28, 2011).

Agriculture and Agri-Food Canada. Good practices for plant identification for the herbal industry. British Columbia, Canada (2004).

Ahmad, I., Aqi, F., Owais, M. (eds.) Modern phytomedicine. Wiley: Weinheim, Germany (2006).

Antignac, E., Nohynek, G.J., Re, T., Clouzeau, J., Toutain, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food Chem. Toxicol*. **49**, 324-341 (2011).

Arabshashi, D.S., Devi, D.V., Urooj, A. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem*. **100**, 1100-1105 (2007).

Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M.S.S., Ho, W.K.K. Effect of storage temperature on phenolicsstability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chem*. **98**, 426-430 (2006).

Chuarienthong, P., Lourith, N., Leelapornpisid, P. Clinical efficacy comparison of anti-wrinkle cosmetics containing herbal flavonoids. *Int. J. Cosmet. Sci*. **32**, 99-106 (2010).

Cunningham, W.J. Anti-wrinkle Products. In: Handbook of Cosmetic Science and Technology, Marcel Dekker Inc.: New York, USA, 453-550 (2001).

de Pascual-Teresa S, Sanchez-Ballesra MT. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem Rev.* **7**: 281-299 (2008).

Evans, W.C. Trease and Evans: Pharmacognosy (15 ed). Elsevier: Toronto, Canada (2002).

Futrakul, B., Kanlayavatanakul, M., Krisdaphong, P. Biophysics evaluation of polysaccharide gel from durian's fruit hulls for skin moisturizer. *Int. J. Cosmet. Sci.* **32**, 211-215 (2010).

Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F. The effect of dried galangal powder and its ethanolic extracts on oxidative stability in cooked ground pork. *LWT.* **40**, 324-330 (2007).

Kapoor, V.K., Dureja, J., Chadha, R. Herbals in the control of ageing. *Drug Discov. Today* **14**, 992-998 (2009).

Kroon, P.A., Williamson, G. Hydroxycinnamates in plants and food: Current and future perspectives. *J. Sci. Food Agric.* **79**, 355-361 (1999).

Ladymarketonline. สารสกัดจากเมล็ดองุ่นและมะเขือเทศผิวสวยใสสุขภาพดี. http://www.ladymarketonline.com/product-855 (Accessed on May 28, 2011).

Leong, L.P., Shui, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore market. *Food Chem.* **76**, 69-75 (2002).

Liu L, Xie B, Cao S, Yang E, Xu X, Guo, S. A-type procyanidins from *Litchi chinensis* pericarp with antioxidant activity. *Food Chem.* **105**, 1446-1451 (2007).

Lourith, N., Kanyalavattanakul, M., Chanpirom, S. Free radical scavenging efficacy of Tamarind seed coat and its cosmetics application. *J. Health Res.* **23**, 159-162 (2009).

Mitsui, T. New cosmetic science. Elsevier: Tokyo, Japan (1997).

Modernmom. ลิ้นจี่มีสรรพคุณป้องกันโรคตับ. http://www.healthcorners.com/2011/article.php?id=5503&groups=health_forum#.Ud52wdLwnqE (Accessed on July 11, 2013).

Osponpant. D. Antioxidant activities and cytotoxicity of Litchi peel extracts. Special project in Bachelor of Science in Cosmetic Science. Mae Fah Luang University. (2010).

Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T., Sivapalan, V., Subramaniam, T.,

Helme, M.H. Standardized extract of *Syzygium aqueum*: a safe cosmetic ingredient. *Int. J. Cosmet. Sci.* **33**, 269-275 (2011).

Prasad, K.N., Yang, B., Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., Jiang, Y. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food Chem.* **116**, 1-7 (2009).

Prema Herb. Thailand Research Longan. http://researchlongan.wordpress.com/สารสกัดเมล็ดลำไย (Accessed on July 11, 2013).

Pongpunyayuen, P., Lourith, N. Radical scavenging activity and phenolic compounds in Rambutan peels extracts. *In*: Pure and Applied Chemistry International Conference 2011. Bangkok, Thailand, January 5-7 (2011).

Shahidi, F., Chandrasekara, A. Hydroxycinnamates and their *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities. *Phytochem. Rev.* **9**, 147-170 (2010).

Song, Y.Y., Barlow, P.J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem.* **88**, 411-417 (2004).

Tiedtke, J. Information requirements for botanical cosmetic ingredients. *Cosmetic Sci. Technol.* 15-21 (2006).

Todd, A.M. The Aesthetic Turn in Green Marketing: Environmental Consumer Ethics of Natural Personal Care Products. *Ethics Environ.* **9**, 86-102 (2004).

White, I.R. Plant products in perfumes and cosmetics. *Sem. Dermatol.* **15**, 78-82 (1996).

World Health Organization. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. Geneva, Switzerland (2003).

Zhang, Z., Xuequn, P., Yang, C., Ji, Z., Jiang, Y. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. *Food Chem.* **84**, 601-604 (2004).

Zhang, D., Quantick, P.C., Grigor, J.M. Changes in phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. *Postharv. Bio. Technol.* **19**, 165-172 (2000).

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล
สังกัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ต. ท่าสุด อ. เมือง จ. เชียงราย 57100
โทรศัพท์ 0-5391-6832 โทรสาร 0-5391-6931
E-mail: mayuree@mfu.ac.th

ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย (ตั้งแต่ปี คศ. 2012 – ปัจจุบัน)

1. Lourith N, Kanlayavattanakul M, Siriluk Pongpunyayuen P, Chaiwarith J. Characterization of arbutin and kojic acid in *Naringi crenulata.* Household and Personal care Today 1: 20-21, 2012.

2. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Sunscreen liquid foundation containing *Naringi crenulata* powder. Adv. Mat. Res. 506: 583-586, 2012.

3. **Kanlayavattanakul M**, Rodchuea C, Lourith N. Moisturizing effect of alcohol-based hand rub containing okra polysaccharide. Int. J. Cosmet. Sci. 34: 280-283, 2012.

4. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Thanaka loose powder and liquid foundation preparations. Household and Personal care Today 2: 30-32, 2012.

5. Lourith N, **Kanlayavattanakul M.** Antioxidant color of purple glutinous rice (*Oryza sativa*) color and its stability for cosmetic application. Adv. Sci. Lett. 17: 302-305, 2012.

6. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Biologically active phenolics in seed coat of three sweet *Tamarindus indica* varieties grown in Thailand. Adv. Sci. Eng. Med. 4: 511-516, 2012.

7. **Kanlayavattanakul M**, Ospondpant D, Ruktanonchai U, Lourith N. Biological activity assessment and phenolic compounds characterization from the fruit pericarp of *Litchi chinensis* for cosmetic application. Pharm. Biol. 50: 1384-1390, 2012.

8. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Spent coffee as a rich source of antioxidant appraisal for cosmetic applications. Adv. Sci. Eng. Med. 5: 173-176, 2013.

9. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. J. Oleo Sci. 62: 235-240, 2013.

10. Lourith N, **Kanlayavattanakul M.** Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. Agro Food Hi-Tech. 24: 56-58, 2013.

11. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N, Ospondpant D, Ruktanonchai U, Pongpunyayuen S, Chansriniyom C. Salak plum peel extract as a safe and efficient antioxidant appraisal for cosmetics. Biosci. Biotecnol. Biochem. 77: 1068-1074, 2013.

12. Lourith N, **Kanlayavattanakul M.** Appraisal of Thai glutinous rice husk for health promotion products. J. Cereal Sci. 57: 343-347, 2013.

13. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Antioxidant activity and stability of natural colour recovered from Roselle juice production. Agro Food Hi-Tech (will be published in Sep/Oct issue, 2013).

บทความวิชาการ (ตั้งแต่ปี คศ. 2008 – ปัจจุบัน)

1. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Carboxymethylglucan in cosmetics. Thai Pharm. Health Sci. J. 3: 378-382, 2008.

2. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Natural surfactants used in cosmetics : glycolipids. Int. J. Cosmet. Sci. 31: 255-261, 2009.

3. **Kanlayavattanakul M**, Lourith N. Lipopeptides in cosmetics. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 1-8, 2010.

4. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Oral malodor and active ingredients for treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 32: 321-329, 2010.

5. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Therapeutic agents and herbs in topical application for acne treatment. Int. J. Cosmet. Sci. 33: 289-297, 2011.

6. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Body malodours and their topical treatment agents. Int. J. Cosmet. Sci. 33: 298-311, 2011.

7. Lourith N, **Kanlayavattanakul M**. Hair loss and herbs for treatment. J. Cosmet. Sci. (in press).

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์

สังกัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ต. ท่าสุด อ. เมือง จ. เชียงราย 57100

โทรศัพท์ 0-5391-6834 โทรสาร 0-5391-6931

E-mail: nattayal@mfu.ac.th

ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย (ตั้งแต่ปี คศ. 2012 – ปัจจุบัน)

1. Charoennit P., **Lourith N**. Validated UV-spectrophotometric method for the evaluation of the efficacy of makeup remover. Int. J. Cosmet. Sci. 34: 190-192, 2012.

2. **Lourith N**., Kanlayavattanakul M., Siriluk Pongpunyayuen P., Chaiwarith J. Characterization of arbutin and kojic acid in *Naringi crenulata.* Household and Personal care Today 1: 20-21, 2012.

3. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Sunscreen liquid foundation containing *Naringi crenulata* powder. Adv. Mat. Res. 506: 583-586, 2012.

4. Kanlayavattanakul M., Rodchuea C., **Lourith N**. Moisturizing effect of alcohol-based hand rub containing okra polysaccharide. Int. J. Cosmet. Sci. 34: 280-283, 2012.

5. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Thanaka loose powder and liquid foundation preparations. Household and Personal care Today 2: 30-32, 2012.

6. **Lourith N**., Kanlayavattanakul M. Antioxidant color of purple glutinous rice (*Oryza sativa*) color and its stability for cosmetic application. Adv. Sci. Lett. 17: 302-305, 2012.

7. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Biologically active phenolics in seed coat of three sweet *Tamarindus indica* varieties grown in Thailand. Adv. Sci. Eng. Med. 4: 511-516, 2012.

8. Kanlayavattanakul M., Ospondpant D., Ruktanonchai U., **Lourith N**. Biological activity assessment and phenolic compounds characterization from the fruit pericarp of *Litchi chinensis* for cosmetic application. Pharm. Biol. 50: 1384-1390, 2012.

9. Kanlayavattanakul M., **Lourith N**. Spent coffee as a rich source of antioxidant appraisal for cosmetic applications. Adv. Sci. Eng. Med. 5: 173-176, 2013.

10. **Lourith N**., Kanlayavattanakul M. Antioxidant activities and phenolics of *Passiflora edulis* seed recovered from juice production residue. J. Oleo Sci. 62: 235-240, 2013.

11. **Lourith N**., Kanlayavattanakul M. Antioxidant and stability of dragon fruit peel colour. Agro Food Hi-Tech. 24: 56-58, 2013.

12. Kanlayavattanakul M., **Lourith N.**, Ospondpant D., Ruktanonchai U., Pongpunyayuen S., Chansriniyom C. Salak plum peel extract as a safe and efficient antioxidant appraisal for cosmetics. Biosci. Biotecnol. Biochem. 77: 1068-1074, 2013.

13. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Appraisal of Thai glutinous rice husk for health promotion products. J. Cereal Sci. 57: 343-347, 2013.

14. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Hair loss and herbs for treatment. J. Cosmet. Sci. (in press).

15. **Lourith N.**, Kanlayavattanakul M. Antioxidant activity and stability of natural colour recovered from Roselle juice production. Agro Food Hi-Tech (will be published in Sep/Oct issue, 2013).

มหาวิทยาลัย
แม่ฟ้าหลวง