



ฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *FERONIELLA LUCIDA* FRUIT

RESIDUE EXTRACTS FOR COSMETIC UTILIZATION

จุไรรัตน์ มารัตน์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *FERONIELLA LUCIDA* FRUIT

RESIDUE EXTRACTS FOR COSMETIC UTILIZATION

จุไรรัตน์ มารัตน์

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดจากผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *FERONIELLA LUCIDA* FRUIT

RESIDUE EXTRACTS FOR COSMETIC UTILIZATION

จุไรรัตน์ มารัตน์

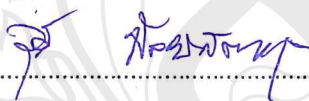
การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

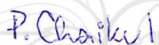
2565

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ



ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี กัลยาวัฒนกุล)



อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวดี ไชยกุล)



กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรวิทย์ วิทยุ บุญพิสุทธิพันธ์)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระในหัวข้อฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดจากผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยได้รับความกรุณาให้คำแนะนำและความช่วยเหลือตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภัทวดี ไชยกุล ที่ให้ความเมตตากรุณาและเสียสละเวลาอันมีค่าที่ให้คำปรึกษา ให้ความรู้ตั้งแต่ขั้นพื้นฐานและความรู้ต่าง ๆ มากมายในทุกขั้นตอนและช่วยเหลือการทำวิจัยให้คำแนะนำในการแก้ไขปรับปรุง และตรวจเล่มสมบูรณ์ จนการค้นคว้าอิสระนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.บงอร เกียรติธนากร คุณศศิธร เกียรติธนากร คุณสาคร เกียรติธนากร บริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ สนับสนุนและเป็นกำลังใจสำคัญ จนการค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ และนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการจัดเตรียมอุปกรณ์ สารเคมี ความพร้อมของห้องปฏิบัติการ รวมทั้งให้คำแนะนำในการทดลอง

ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ ปริญญาโท สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และกำลังใจในการค้นคว้าอิสระ ในครั้งนี้จนสำเร็จ

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า การค้นคว้าอิสระฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อหน่วยงานและผู้ที่สนใจศึกษาในเรื่องที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งมีส่วนช่วยเหลือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ต่อไป

จุไรรัตน์ มารัตน์

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ

ฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดจากผลมะสังเพื่อใช้ประโยชน์ทาง
เครื่องสำอาง

ชื่อผู้เขียน

จุไรรัตน์ มารัตน์

หลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรเครื่องสำอาง)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภักดี ไชยกุล

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี
กายภาพ ความคงตัวของสารสกัด และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส สารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ
ในอัตราส่วนร้อยละ 95, 70 และ 50 ด้วยวิธีหมักแช่ ค่าร้อยละสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95, 70
และ 50 มีค่าเท่ากับ 0.77 ± 0.21 , 1.38 ± 0.20 และ 2.35 ± 0.17 ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพ
ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยว ปริมาณ
ฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95,
70 และ 50 มีค่าเท่ากับ 89.46 ± 2.47 , 108.57 ± 2.36 ; 94.10 ± 1.99 , 71.68 ± 0.62 และ 88.48
 ± 2.35 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด, 67.46 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลเคอซีตินต่อกรัม
สารสกัด ตามลำดับ การทดสอบความคงตัวของสารสกัดภายใต้สภาวะเร่งด้วยการเก็บที่อุณหภูมิ
45 องศาเซลเซียส สลับกับที่ 4 องศาเซลเซียส จำนวน 5 รอบ พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีความคง
ตัวทางกายภาพ และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มี
นัยสำคัญเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น ขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างของสารสกัดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น
โดยสารสกัดสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีค่าไม่แตกต่างกับค่าเริ่มต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบ
ด้วยวิธีดีพีพีเอช พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 ในการยับยั้ง
อนุมูลอิสระร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 680.29 ± 5.52 , 593.81 ± 13.09 และ 665.91 ± 4.39
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วย

เอทานอลร้อยละ 95, 70 และ 50 ความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 9.79 ± 2.21 , 38.45 ± 2.23 และ 13.13 ± 1.38 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้สามารถนำมาใช้ เปรียบเทียบกากผลมะสัง ซึ่งเป็นผลผลิตเหลือทิ้งในโรงงานอุตสาหกรรม เป็นวัตถุดิบที่มีมูลค่าเพิ่มสำหรับใช้ ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

คำสำคัญ: กากผลมะสัง, ปริมาณฟีนอลิกรวม, ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม,ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส



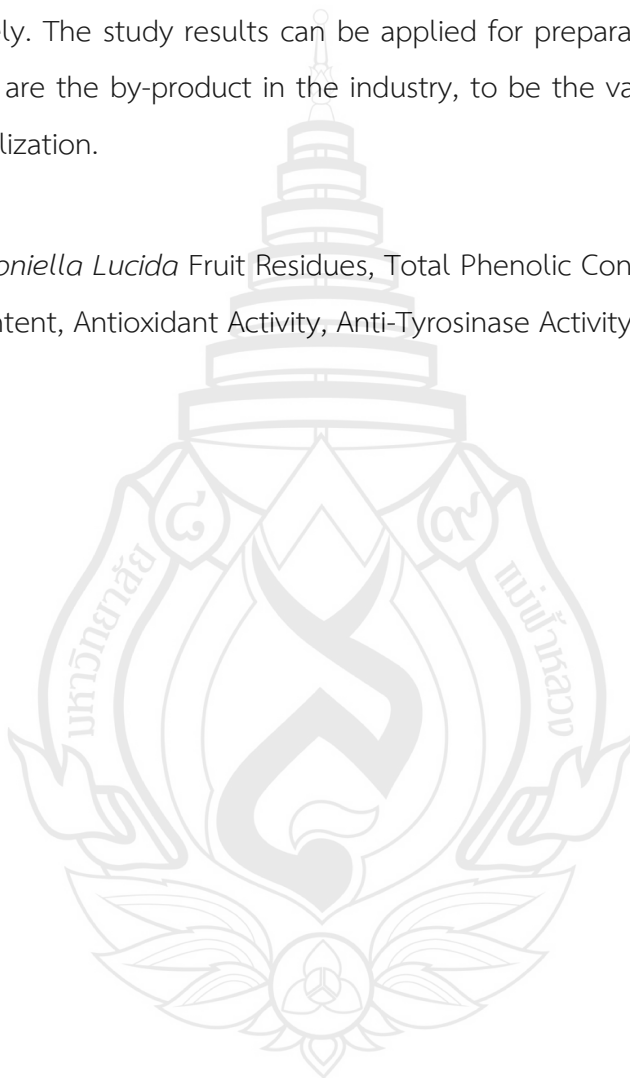
Independent Study Title	Biological Activities of <i>Feroniella Lucida</i> Fruit Residue Extracts for Cosmetic Utilization
Author	Jurairath Marath
Degree	Master of Science (Cosmetic Science)
Advisor	Asst. Prof. Puxvadee Chaikul, Ph. D.

ABSTRACT

The objectives of this study were to prepare the *Feroniella lucida* fruit residue extracts as well as to evaluate the physicochemical properties, the stability under the accelerated condition, and the biological activities, including antioxidant and anti-tyrosinase activities. The *F. lucida* fruit residue extracts were extracted by maceration using the aqueous ethanol in 3 ratios, including 95, 70 and 50%, as solvents. The extraction yields of extract with 95, 70 and 50% were 0.77 ± 0.21 , 1.38 ± 0.20 , and $2.35 \pm 0.17\%$, respectively. The physical characteristics of three extracts were the semi-solid compounds, viscous, brown to dark brown color with acidic odor. Total phenolic and flavonoid contents of *F. lucida* fruit residue extracts prepared by 95, 70 and 50% were 89.46 ± 2.47 , 108.57 ± 2.36 ; 94.10 ± 1.99 , 71.68 ± 0.62 and 88.48 ± 2.35 mg gallic acid equivalent/g extract, 67.46 ± 0.14 mg quercetin equivalent/g extract, respectively. The stability testing of extracts conducted at the accelerated condition by keep at 45°C and 4°C for 5 cycles was shown the stable physical characteristics of three extracts with the non-significant change of total phenolic contents compared to the initial values. The pH value of extracts was more acidic, in which pH of extract prepared with 95% was not difference compared to the initial value. For antioxidant activity performed by DPPH assay, the concentrations of

extract that scavenged free radicals by 50% were 680.29 ± 5.52 , 593.81 ± 13.09 and 665.91 ± 4.39 $\mu\text{g/ml}$ for extracts prepared with 95, 70 and 50%, respectively. The anti-tyrosinase activity of *F. lucida* fruit residue extracts tested at 2 mg/ml was shown 9.79 ± 2.21 , 38.45 ± 2.23 and $13.13 \pm 1.38\%$, for extractes prepared with 95, 70 and 50%, respectively. The study results can be applied for preparation of *F. lucida* fruit residues, which are the by-product in the industry, to be the value-added ingredient for cosmetic utilization.

Keywords: *Feroniella Lucida* Fruit Residues, Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Antioxidant Activity, Anti-Tyrosinase Activity



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
อักษรย่อและสัญลักษณ์	(12)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของปัญหาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	
2 ทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 มะสัง (<i>Feroniella lucida</i> ; <i>Citrus lucida</i>)	3
2.2 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง	6
2.3 การหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด	8
2.4 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัด	8
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	10
3.1 สารเคมีและวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย	10
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้	11
3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	11

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	15
4.1 การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง	15
4.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ	16
4.3 การทดสอบความคงตัวทางเคมีกายภาพ	21
4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด	22
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	25
5.1 สรุปผลการวิจัย	25
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
รายการอ้างอิง	27
ประวัติผู้เขียน	32

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ค่าการละลายของสารตามเกณฑ์ตำรับ	9
4.1 ร้อยละการสกัดสารสกัดกากผลมะสังด้วยตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำใน อัตราส่วนต่าง ๆ	16
4.2 การละลายสารสกัดกากผลมะสัง	17
4.3 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดกากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบ ความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง	21
4.4ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากผลมะสังและวิตามินซี	23
4.5 ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดกากผลมะสัง	24

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 มะสัง	3
2.2 โครงสร้างสารสำคัญในผลมะสัง	5
2.3 การเปลี่ยนแปลงสีของอนุมูลอิสระ DPPH ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	7
4.1 กากผลมะสัง	15
4.2 สารสกัดกากผลมะสัง (ก) FLF_95% (ข) FLF_70% และ (ค) FLF_50%	16
4.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 10 – 125 mg/ml	18
4.4 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดกากผลมะสัง	19
4.5 สารละลายมาตรฐานแควอซิทิน ความเข้มข้น 50 – 250 mg/ml	20
4.6 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดกากผลมะสัง	20
4.7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดกากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบ ความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง	22

อักษรย่อและสัญลักษณ์

mg/mL	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
µg/mL	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mL	มิลลิลิตร
nm	นาโนเมตร
µl	ไมโครลิตร
mM	มิลลิโมลาร์
ppm	ส่วนในล้านส่วน
UV	แสงอัลตราไวโอเลต
%	ร้อยละ
g	กรัม
°C	องศาเซลเซียส



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหาและความสำคัญ

มะสัง (*Feroniella lucida*; *Citrus lucida*) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางในวงศ์ Rutaceae มีสรรพคุณทางยา เช่น ฤทธิ์ลดไข้ ฤทธิ์ลดอาการท้องอืดเฟ้อ ฤทธิ์สมานแผล และบำรุงร่างกาย เป็นต้น นำมาใช้เป็นอาหารและส่วนประกอบในตำรับยาไทยและตำรับยาพื้นบ้าน (Mabberley, 2010) ผลมะสัง มีสีเขียว ผิวเปลือกนอกเป็นตุ่ม ๆ คล้ายมะกรูด แต่ลูกแป้นคล้ายผลมะนาว เปลือกแข็งและหนามาก ภายในผลมะสังมีเมล็ดจำนวนมากคล้ายเมล็ดฝรั่ง และมีรสเปรี้ยว ขำ (มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553; Tangkay, 2563) เนื่องจากผลมะสังมีกลิ่นหอม จึงมีการสกัดน้ำมันหอมระเหยมาทำการศึกษา พบว่า น้ำมันจากผลมะสังมีสีเหลืองอ่อน ประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญ คือ decyl acetate, dodecenyl acetate, carbonylic compounds, sesquiterpenoids, decanal, caryophyllene epoxide และ decan-1-ol มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Haemophilus influenzae* และมีความปลอดภัยต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากปอด (lung fibroblast cells) โดยมีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ร้อยละ 50 (Inhibition concentration at 50%; IC₅₀) เท่ากับ 182.52 ± 1.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) (Houdkova et al., 2018) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากผลมะสังมีกลิ่นหอม สามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้ จึงมีการเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากผลมะสังในระดับอุตสาหกรรม ด้วยการกลั่นผลมะสังโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ทั้งนี้ หลังการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะมีกากผลมะสังเหลือทิ้งจากโรงงานปริมาณมาก

รายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนต่าง ๆ ของมะสัง พบว่า สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ $100 \mu\text{g/ml}$ (Supudompol, 2009) สารสกัดจากกิ่งและราก มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation inhibitor) ฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านมาเลเรีย และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *M. tuberculosis* (Phuwanpraisirisan et al., 2007; Sripisut et al., 2011; Sripisut et al., 2012) สารสกัดจากใบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity, วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) และวิธี

β -carotene bleaching activity (Somdee et al., 2016) ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากกากผลไม้สังเพื่อการใช้ประโยชน์เชิงสุขภาพและเครื่องสำอาง

ในการศึกษา จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมสารสกัดจากกากผลไม้สังที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในเครื่องสำอาง

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อเตรียมสารสกัดจากผลไม้สัง ประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารสำคัญของสารสกัด ตลอดจนความคงตัวของสารสกัด

1.2.2 เพื่อประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากผลไม้สังที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากผลไม้สัง การประเมินสารสำคัญในสารสกัด คือ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัด ตลอดจนความคงตัวของสารสำคัญในสารสกัดด้วยวิธี heating-cooling cycle จำนวน 5 รอบ การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 วิธีเตรียมสารสกัดจากผลไม้สังที่เตรียมจากกากเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

1.4.2 ข้อมูลสารสกัดจากผลไม้สัง ได้แก่ ปริมาณสารสำคัญ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความคงตัวของสารสกัดได้สถานะแรง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อการพัฒนาและประยุกต์ใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพและเครื่องสำอาง

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 มะสัง (*Feroniella lucida*; *Citrus lucida*)

เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง แสดงในภาพที่ 1 มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ คือ ผักสัง (มุกดาหาร), หมากกะสัง มะสัง (ภาคกลาง), กะสัง (ภาคใต้), หมากสังและกระสัง เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae (Medthai, 2557)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะสัง มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินโดนีเซีย เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ มีความสูงของต้นประมาณ 5-15 เมตร ลำต้นแตกกิ่งก้านชานกับลำต้นหรือออกตั้งฉากกับลำต้น ต้นมีกิ่งก้านจำนวนมาก เปลือกต้นเป็นร่องเล็ก ๆ เปลือกแตกเป็นเกล็ดรูปลี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร ต้นแก่เป็นสีเทาถึงดำ ตามลำต้นและกิ่งก้านมีหนามแหลมยาว และแข็งตรง ยาวประมาณ 1-5 เซนติเมตร ที่กิ่งอ่อนมีขนขึ้นปกคลุม ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด และวิธีการปักชำกิ่ง เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุยที่อุดมสมบูรณ์ มีความชุ่มชื้นอย่างสม่ำเสมอ ชอบแสงแดดจัด และควรปลูกไว้กลางแจ้ง พบขึ้นได้ทางภาคอีสาน ภาคกลาง และภาคใต้ โดยจะขึ้นตามป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง ป่าโคก พุงนา



ผลมะสัง



เมล็ดในผลมะสัง

ภาพที่ 2.1 มะสัง

ลักษณะของใบ เป็นใบประกอบแบบขนนกชั้นเดียวหรือสองชั้น ปลายใบคี่ ก้านใบยาวประมาณ 5-12 เซนติเมตร เรียงตัวกันแบบสลับหรือเป็นกระจุกประมาณ 2-3 ก้าน ใน 1 ช่อใบย่อยจะเกิดเป็นคู่ ๆ เรียงตัวกันแบบตรงข้าม มีจำนวน 3-5 คู่ ก้านใบย่อยมีความยาวประมาณ 5-10 มิลลิเมตร ลักษณะของใบย่อยเป็นรูปไข่กลับหรือรูปรี ปลายใบแหลมค่อนข้างมนหรือเว้าเข้าเล็กน้อย โคนใบแหลม ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 0.5-1.5 เซนติเมตรและยาวประมาณ 1-3 เซนติเมตร ผิวใบเรียบเป็นมัน ด้านท้องใบเห็นต่อมน้ำมันกระจายชัดเจน

ดอกออกเป็นช่อกระจุกตามกิ่งหรือตามซอกใบคล้าย ๆ ดอกกระถินเป็นพุ่ม ๆ มีสีขาวก้านช่อดอกยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร ส่วนก้านดอกย่อยยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร โคนก้านมีใบประดับ 1 ใบ ลักษณะเป็นรูปรีหรือรูปไข่ปลายแหลมขนาดกว้างประมาณ 1.5-2 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 2.5-3 มิลลิเมตร กลีบดอกมี 5 กลีบ กลีบเป็นสีขาวแยกจากกัน ลักษณะของกลีบดอกเป็นรูปไข่กลับหรือรูปใบหอก ปลายกลีบแหลม โคนกลีบตัดตรง มีขนาดกว้างประมาณ 0.7-1 เซนติเมตรและยาวประมาณ 1.4-1.8 เซนติเมตร ส่วนกลีบเลี้ยงดอกมี 5 กลีบ ติดกันเล็กน้อยที่ฐาน ส่วนปลายกลีบแยกเป็น 5 แฉก เป็นกลีบสีเขียวแกมเหลือง ลักษณะเป็นรูปรีหรือรูปไข่ กว้างประมาณ 3-4 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 5-7 มิลลิเมตร ดอกมีเกสรเพศผู้ประมาณ 15-20 อัน โคนก้านชูอับเรณูติดกันประมาณ 1/5 ส่วนของความยาวก้าน ปลายก้านแยกจากกัน ก้านชูอับเรณูเป็นสีขาวยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร อับเรณูติดบนก้านแบบ Basifix สีเหลืองแกมสีน้ำตาลอ่อน ยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ส่วนเกสรเพศเมียมี 1 ก้าน รังไข่ superior ovary สีเขียว ลักษณะเป็นรูปโดมทรงกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ก้านเกสรอวบ มีขนาดกว้างประมาณ 1.5-2.5 มิลลิเมตรและยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ยอดเกสรจะเรียวเล็กกว่าก้านเกสรเล็กน้อย รังไข่ 5-6 ห้อง มีออวุลจำนวนมาก สามารถออกดอกได้ตลอดปี

ผลมีลักษณะกลม เป็นสีเขียวคล้ายผลมะนาว มีขนาดประมาณ 4-12 เซนติเมตร เมื่อแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เปลือกผลแข็งและหนามาก มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร เปลือกมีกลิ่นหอม ภายในผลมีเมล็ดจำนวนมาก ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปยาวรี โดยผลจะมีรสเปรี้ยว สามารถนำมาใช้แทนมะนาวได้

2.1.2 สรรพคุณ

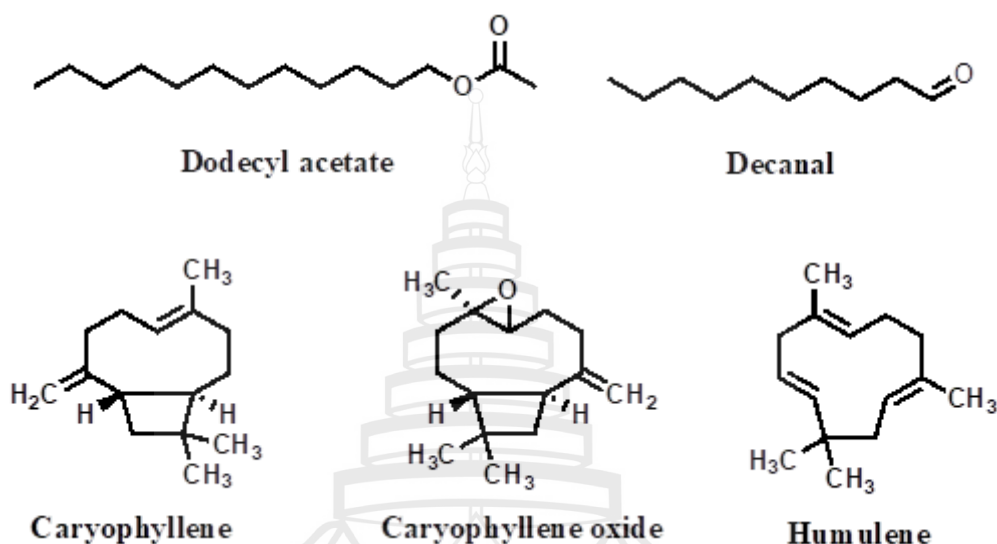
2.1.2.1 ใบมีรสฝาดมัน สรรพคุณเป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยแก้ท้องเดิน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ และสมานแผล

2.1.2.2 รากและผลอ่อนเป็นยาแก้ไข้ ตำรายาไทยจะใช้รากนำมาต้มกับน้ำดื่มหรือฝนกับน้ำกินเป็นยาแก้ไข้

2.1.2.3 แก่นมะสังใช้ร่วมกับแก่นมะขาม ใช้ต้มกับน้ำดื่มขณะอยู่ไฟ

2.1.3 สารสำคัญในสารสกัดผลมะสัง

สารสำคัญในสารสกัดผลมะสัง ได้แก่ dodecyl acetate, decanal, caryophyllene, caryophyllene oxide และ humulene แสดงโครงสร้างในภาพที่ 2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างสารสำคัญในผลมะสัง

2.1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชลิดา อนุพันธ์ (2558) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะสัง โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบและเปลือกผลด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ และสกัดสารสำคัญจากราก เปลือกลำต้น เปลือกผล เนื้อในผลและใบ ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ ผลการทดสอบ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ดีที่สุด และมีค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/mL) ส่วนเปลือกผลสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต มีค่า MBC เท่ากับ 25.00 mg/mL น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผล มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยมีค่า MBC 12.50 mg/mL ส่วนเปลือกผลสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยมีค่า MBC 12.50 mg/mL ส่วนเนื้อในผลสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Salmonella typhimurium* โดยมีค่า MBC 12.50 mg/mL น้ำมันหอมระเหยจากใบและเปลือกผลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* เท่ากันและมีค่า MBC 25.00 mg/mL ส่วนเปลือกผลสกัดด้วยเฮกเซน มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยมีค่า MBC 25.00 mg/mL และน้ำมันหอมระเหยจาก

เปลือกผล มีค่า MBC 12.50 mg/mL น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Aspergillus niger* และมีค่า MBC 25.00 mg/mL

สิทธิเดช สมบุญ (2549) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้น และเปลือกมะสัง โดยสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟี พบว่า สารสกัดลำต้น ประกอบด้วยสารกลุ่ม furanocoumarins คือ feroniellin A, psoralen, bergapten, isopimpinellin, anisolactone, 2',3'-epoxyanisolactone, marmesin, feroniellin B, และ feroniellin C ส่วนสารสกัดเปลือกมะสังพบสารกลุ่ม triterpenoid คือ feroniellin C, feroniellin D, feroniellin E, สารกลุ่ม *N*-methylantranilic ester triterpenoid และสาร isovaleric acid ester triterpenoid เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ acetylcholinesterase และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Hela cells และ KB cells พบว่า isopimpinellin, marmesin, feroniellin A, feroniellin C, feroniellin B และ สารกลุ่ม *N*-methylantranilic ester triterpenoid มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.500 mg/mL และสาร isovaleric acid ester triterpenoid มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง Hela cells ที่ $IC_{50} = 8.2 \mu\text{g/mL}$ ขณะที่สารกลุ่ม *N*-methylantranilic ester triterpenoid, feroniellin D และ feroniellin E มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง KB cells สูงที่ $IC_{50} = 5.2, 4.1$ และ $3.4 \mu\text{g/mL}$

2.2 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

2.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

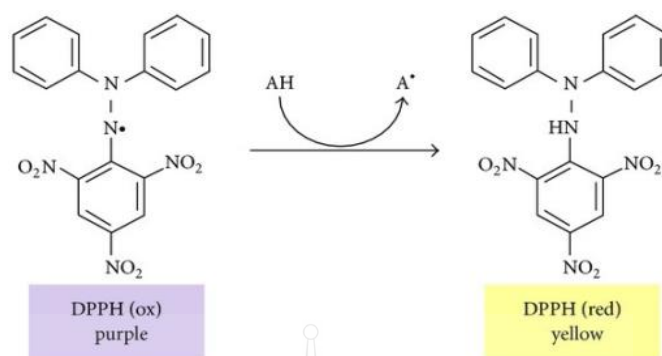
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay หรือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเป็นสารสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (nm) เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับ สารต้านอนุมูลอิสระ (AH) จะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยการทำการทดลองดังกล่าวจะเปรียบเทียบกับ สารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในสมการ (Kanlayavattanakul et al., 2018)

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = [1 - (As/Ac)] * 100$$

โดย

Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง



ที่มา Teixeira et al. (2013)

ภาพที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงสีของอนุมูลอิสระ DPPH ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome formation โดยใช้ *L*-DOPA เป็นสารตั้งต้น และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ เช่น กรดโคจิก ในการทดสอบเอนไซม์ไทโรซิเนสจะเปลี่ยนสารตั้งต้น *L*-DOPA เป็น Dopachrome ซึ่งเป็นสารสีน้ำตาลและมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 nm ประเมินความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ของสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน และคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (% Tyrosinase inhibition) ดังแสดงในสมการ (Kanlayavattanakul et al., 2018)

$$\text{Tyrosinase inhibition activity (\%)} = [(A-B)/A \times 100]$$

โดย

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

2.3 การหาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด

2.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

ปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric (Folin & Ciocalteu, 1927) โดยศึกษาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิก ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และสารละลายตัวอย่าง ความเข้มข้น 1 mg/ml นำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent และ 7.5% Na_2CO_3 ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในสารละลายตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐานกรดแกลลิก และรายงานปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วย มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

2.3.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบอินทรีย์จำพวกโพลีฟีนอล (polyphenols) มีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลรวมอยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำ โดยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย เช่น ด้านอนุมูลอิสระ และด้านการอักเสบ เป็นต้น การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ทดสอบโดยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น rutin, catechin และ quercetin และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 512 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากกราฟของสารมาตรฐานในการทดสอบ (Zhishen et al., 1999)

2.4 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัด

2.4.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

2.4.1.1 ลักษณะภายนอก สี กลิ่นของสารสกัด

2.4.1.2 ประเมินค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของสารสกัด โดยเตรียมสารสกัดในรูปสารละลาย และวัดค่าความเป็นกรดต่างด้วย pH meter

2.4.2 การทดสอบการละลาย

ทดสอบความสามารถในการละลายของสารสกัดในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ น้ำ เอทานอล กลีเซอริน และโพรพิลีนไกลคอล โดยชั่งสารสกัด จำนวน 1 mg ในหลอดทดลอง ขนาด 10 ml จำนวน 4 หลอด เติมตัวทำละลายแต่ละชนิด ปริมาตร 1 ml ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมสารสกัดในหลอดกับตัวทำละลาย โดยใช้เครื่อง Vortex mixer ช่วยผสม หากสารสกัดละลายตัวไม่สมบูรณ์ หรือมีตะกอน ให้เติมตัวทำละลายเพิ่มในหลอดทดลอง ครั้งละ 1 ml จนสารสกัดและตัวทำละลายละลายเข้ากันอย่างสมบูรณ์ แล้วแปลผลค่าการละลาย ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ค่าการละลายของสารตามเภสัชตำรับ

ค่าการละลายของสาร	ส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ละลายตัวอย่าง 1 ส่วน
Very soluble	< 1
Freely soluble	1 -10
Soluble	10 -30
Sparingly soluble	30-100
Slightly soluble	100 -1000
Very Slightly soluble	1000 -10000
Practically insoluble	> 10000

ที่มา United States Pharmacopeial Convention (2011)

2.4.3 การทดสอบความคงตัวจากสารสกัดภายใต้สภาวะเร่ง

ประเมินลักษณะภายนอก ลักษณะทางเคมีกายภาพ คือ ค่า pH และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารทดสอบ ณ ค่าเริ่มต้น แล้วเก็บสารทดสอบในสภาวะเร่งด้วยวิธี Heating-cooling cycle โดยเก็บสารทดสอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสลับมาเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ จำนวนทั้งหมด 5 รอบ เมื่อครบเวลาประเมินสารทดสอบเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น (อรัญญา มโนสรั้อย, 2540)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต, ประเทศ
3.1.1 กากพลมะสัง	
3.1.2 Ethanol	RCI Labscan, Thailand
3.1.3 95% Ethanol	TSL Chemical Co.,Ltd. Thailand
3.1.4 Gallic acid	Merck [®] , Germany
3.1.5 Folin-Ciocalteu reagent	Merck [®] , Germany
3.1.6 Sodium carbonate	Ajax Finechem [®] , Australia
3.1.7 Quercetin	Merck [®] , Germany
3.1.8 Sodium nitrite	RCI Labscan, Thailand
3.1.9 Aluminum chloride	Sigma Aldrich, USA
3.1.10 Sodium hydroxide	RCI Labscan, Thailand
3.1.11 Kojic acid	Acros Organics, Thailand
3.1.12 Mushroom tyrosinase	Sigma Aldrich, USA
3.1.13 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA)	Sigma Aldrich, USA
3.1.14 Potassium dihydrogen phosphate	Merck [®] , Germany
3.1.15 Di-Potassium hydrogen phosphate	Merck [®] , Germany
3.1.16 Ascorbic acid	Fluka, USA
3.1.17 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma Aldrich, USA

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต, ประเทศ
3.2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง	XB2200C	Precisa, Switzerland
3.2.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง	XT220A	Precisa, Switzerland
3.2.3 pH Mete	B200	Qis, Netherlands
3.2.4 Microplate reader	SPECTROstar-Nano	BMG Labtech, Germany
3.2.5 UV-Vis spectrophotometer		GENESYS 10S Thermo Fisher Scientific, USA
3.2.6 Hot air oven Einrichtungen	Stericell 55TM	MMM Medicenter GmbH, Germany
3.2.7 Micropipette	Across TM	Ohaus, USA
3.2.8 Rotary evaporator	N-1000V-WD	Eyela, Japan
3.2.9 Vortex mixer	VXMNAL	Ohaus, USA
3.2.10 Electric mixer grinder	HR2118	Philips, Netherlands
3.2.11 Ultrasonic bath	690DAE	Crest Ultrasonics, USA
3.2.12 Refrigerators	SSJ-230U	Sharp, Japan
3.2.13 Freezer		Norlake Scientific, USA
3.2.14 Erlenmeyer flask		Duran, Germany
3.2.15 Round bottom flask		Duran, Germany
3.2.16 Beaker		Duran, Germany
3.2.17 Glass stirring rod		Duran, Germany

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเตรียมสารสกัดกากผลมะลิ่ง

3.3.1.1 การเตรียมพืช

เก็บกากผลมะลิ่งที่สกัดน้ำมันหอมระเหยแล้วจากโรงงาน ตากแดดให้แห้ง และนำไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบด

3.3.1.2 การสกัดสารสกัดจากผลมะสัง

ซึ่งผงจากผลมะสังใน Erlenmeyer flask เติมตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วนต่าง ๆ จำนวน 3 อัตราส่วน คือ เอทานอลกับน้ำ 50 ต่อ 50 (50%), 70 ต่อ 30 (70%) และ 95 ต่อ 5 (95%) โดยสัดส่วนน้ำหนักพืชต่อตัวทำละลาย คือ 1 ต่อ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักตัวอย่างพืชที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง และระเหย ตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ คำนวณ ค่าร้อยละการสกัด และเก็บสารสกัดไว้ในตู้เย็น ทำการสกัดซ้ำทั้งหมด จำนวน 3 ซ้ำ ต่อชนิด ตัวทำละลาย

3.3.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

3.3.2.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

ประเมินลักษณะภายนอก สี กลิ่นของสารสกัด ตลอดจนค่าการละลายในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอล (Absolute ethanol) โพรพิลีนไกลคอล กลีเซอริน และ 10% เอทานอล และค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เมื่อเตรียมสารสกัด ความเข้มข้น 1 mg/mL โดยวัดค่า pH ด้วย pH meter จำนวน 3 ซ้ำ ต่อชนิดของสารสกัด

3.3.2.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

1. ปริมาณฟีนอลิกรวม

การทดสอบดัดแปลงจาก Kanlayavattanukul et al. (2018) โดยเตรียม สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกในน้ำ ความเข้มข้น 150, 125, 100, 80, 60, 50, 40, 30, 20 และ 10 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดในตัวทำละลาย ความเข้มข้น 1 mg/mL ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และสารสกัด ลงในหลอดทดลอง ขนาด 10 ml จำนวน 400 μl และตัวทำละลายที่ละลายกรดแกลลิกและสารสกัด (blank) จำนวน 400 μl เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent ในหลอดทดลองแต่ละหลอด ปริมาตร 2,000 μl ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ในหลอดทดลอง จำนวน 1,600 μl และผสมสารละลายให้เข้ากัน วางสารละลายผสมในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทดสอบแต่ละตัวอย่างสารสกัด จำนวน 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดย เปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และรายงานในรูป mg GAE/g extract

2. ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การทดสอบดัดแปลงจาก Zhishen et al. (1999) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน เควอซีตินในเอทานอล ความเข้มข้น 250, 225, 200, 175, 150, 125, 100, 75 และ 50 mg/ml และสารสกัดในตัวทำละลาย ความเข้มข้น 2 mg/ml ปิเปตสารละลายมาตรฐาน เควอซีติน และ สารสกัด ลงในหลอดทดลอง ขนาด 10 ml จำนวน 1,500 ml และตัวทำละลายที่ละลายสารสกัด (blank) จำนวน 1500 ml เติมสารละลาย 5% โซเดียมไนไตรท์ ลงในหลอดทดลอง จำนวน 500 ml ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย 2% อะลูมิเนียมคลอไรด์ ลงในหลอดทดลอง จำนวน 750 ml ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ลงในหลอดทดลอง จำนวน 750 ml ผสมให้เข้ากัน วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน เควอซีติน และ รายงานในรูป mg QE/g extract

3.3.3 การทดสอบความคงตัวทางเคมีกายภาพ

ประเมินสารสกัดจากผลมะสัง โดยประเมินลักษณะภายนอก ค่า pH และปริมาณฟีนอลิก รวมของสารสกัด ณ ค่าเริ่มต้น และซังสารสกัด จำนวน 5 กรัม ในขวดสีชา นำขวดสารสกัดไป ทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ด้วยวิธี Heating -Cooling cycle โดยเก็บขวดสารสกัดที่ อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสลับมาเก็บที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ จำนวนทั้งหมด 5 รอบ เมื่อครบเวลา ประเมินลักษณะทางเคมีกายภาพเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น (อรัญญา มโนสร้อย, 2540)

3.3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.3.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

การทดสอบดัดแปลงจาก Kanlayavattanakul et al. (2018) โดยเตรียมสารละลาย กากผลมะสังและสารควบคุมเชิงบวกวิตามินซี ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปตสารทดสอบและสารละลาย DPPH (0.004%) ในเอทานอล อย่างละ 100 μ l ลงใน 96-well plate บ่มสารผสมในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการทดสอบ 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารทดสอบ ดังสมการและรายงานผลในรูปร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (IC₅₀)

$$\% \text{ DPPH inhibition} = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

โดย

Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบ

3.3.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบดัดแปลงจาก Kanlayavattanakul et al. (2018) โดยเตรียมสารละลายกากผลไม้แห้ง และสารควบคุมเชิงบวกกรดโคจิก ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปตสารทดสอบและสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส ลงใน 96-well plate เขย่าให้เข้ากัน บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย L-Dopa จำนวน 50 μ l และบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังสมการ

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

โดย

Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

3.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

ข้อมูลการทดลอง นำเสนอในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างข้อมูลแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) และ Tukey's test โดยค่า p น้อยกว่า 0.05 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 4

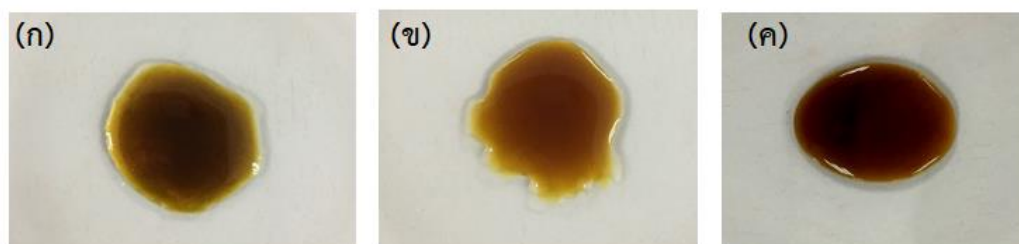
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การเตรียมสารสกัดกากผลมะสัง

กากผลมะสังที่สกัดน้ำมันหอมระเหยออกแล้ว แสดงในภาพที่ 4.1 นำมาเตรียมเป็นสารสกัดกากผลมะสังโดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วนแตกต่างกัน 3 อัตราส่วน ได้แก่ เอทานอล 50%, 70% และ 95% ได้สารสกัด คือ FLF_50%, FLF_70% และ FLF_95% ตามลำดับ แสดงภาพสารสกัดในภาพที่ 4.2 สารสกัดที่เตรียมได้มีลักษณะทางกายภาพกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีความหนืด มีกลิ่นเปรี้ยวจากกรดที่เป็นองค์ประกอบในพืช ค่าร้อยละการสกัดแสดงในตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 กากผลมะสัง



ภาพที่ 4.2 สารสกัดกากผลมะสัง (ก) FLF_95% (ข) FLF_70% และ (ค) FLF_50%

ตารางที่ 4.1 ร้อยละการสกัดสารสกัดกากผลมะสังด้วยตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ

สารสกัด	อัตราส่วนของเอทานอลกับน้ำ	ร้อยละการสกัด
FLF_95%	95 กับ 5	0.77 ± 0.21^b
FLF_70%	70 กับ 30	1.38 ± 0.20^b
FLF_50%	50 กับ 50	2.35 ± 0.17^a

หมายเหตุ a,b แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

สารสกัดกากผลมะสังที่เตรียมจากตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ 50% มีค่าร้อยละการสกัดสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับค่าร้อยละการสกัดของสารสกัดจากเอทานอล 70% และ 95% โดยร้อยละการสกัดของสารแตกต่างกัน อาจเป็นผลจากการละลายของสารสำคัญในกากผลมะสังสามารถละลายเข้ากับตัวทำละลายที่ใช้สกัดได้แตกต่างกัน จึงทำให้มีค่าร้อยละการสกัดต่างกัน (Albuquerque et al., 2017)

4.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

4.2.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

สารสกัดมีลักษณะทางกายภาพเป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยวจากกรดที่เป็นองค์ประกอบในผลมะสัง ผลการทดสอบการละลายในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือน้ำกลั่น, เอทานอล (Absolute ethanol), โพรพิลีนไกลคอล, กลีเซอริน และ 10% เอทานอล แสดงในตารางที่ 4.2 การละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย จะได้สารละลายใสเมื่อสารสกัดสามารถละลาย

เข้ากับตัวทำละลายที่ทดสอบได้ดี ซึ่งความสามารถในการละลายของสารสกัดในตัวทำละลาย ขึ้นกับลักษณะของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยตัวทำละลายที่มีสภาวะเหมาะสมใกล้เคียงกับสภาวะของสารสำคัญในสารสกัดตามธรรมชาติ จะสามารถละลายสารสกัดได้ดี (Schein, 1990)

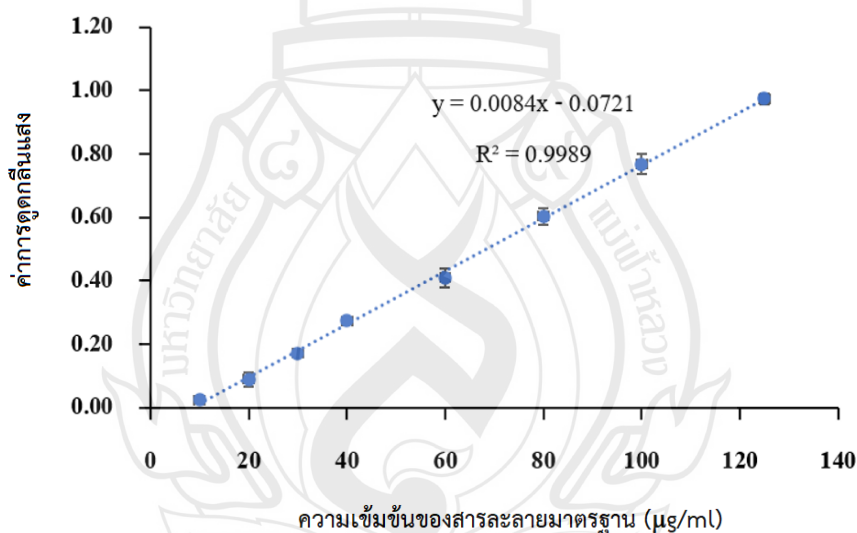
ตารางที่ 4.2 การละลายสารสกัดจากผลมะสัง

สาร	ปริมาตรตัวทำละลาย (ml) และค่าการละลาย				
	น้ำ	เอทานอล	โพรพิลีน-ไกลคอล	กลีเซอริน	10% เอทานอล
1 mg/mL					
FLF_95%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
FLF_70%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
FLF_50%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
2 mg/mL					
FLF_95%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
FLF_70%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
FLF_50%	1	1	1	1	1
	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble	Very soluble
5 mg/mL					
FLF_95%	4	3	4	3	6
	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble
FLF_70%	2	3	2	6	1
	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Very soluble
FLF_50%	2	1	2	3	1
	Freely soluble	Very soluble	Freely soluble	Freely soluble	Very soluble
10 mg/mL					
FLF_95%	11	8	5	5	5
	Soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble
FLF_70%	5	5	2	6	5
	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble
FLF_50%	5	2	2	5	5
	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble	Freely soluble

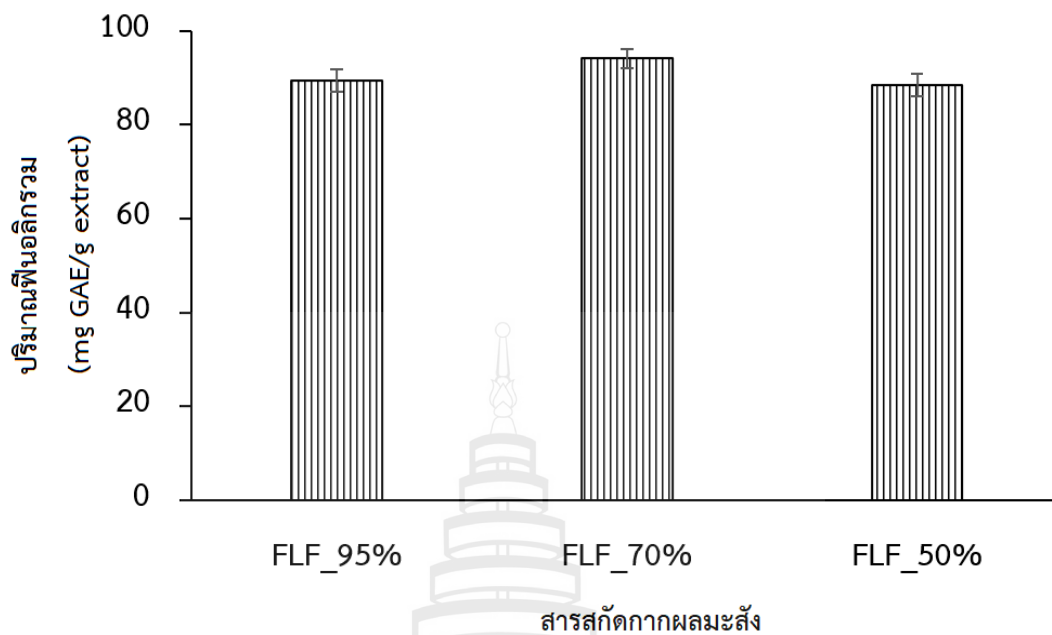
4.2.2 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

4.2.2.1 ปริมาณฟีนอลิกรวม

กราฟสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก แสดงในภาพที่ 4.3 และปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสัง แสดงในภาพที่ 4.4 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสัง มีปริมาณอยู่ในช่วง 88.48 - 94.10 mg GAE/g extract โดยปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน (ค่า $p > 0.05$) เมื่อคำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมต่อน้ำหนักผลมะสังแห้ง (dry powder) พบว่า ในการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดต่ำกว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในรายงานการศึกษาโดย Tangkanakul et al. (2005) ที่เตรียมสารสกัดมะสังจากดอกสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดดอกมีปริมาณฟีนอลิก รวม 34.51 ± 1.14 mg GAE/g ดอกสด (fresh vegetable) โดยปริมาณฟีนอลิกที่แตกต่างกันในสารสกัดอาจเป็นผลจากส่วนของตัวอย่างพืชในการศึกษา แหล่งเพาะปลูกพืชในการศึกษา ตลอดจนวิธีเตรียมสารสกัด (He et al., 2020)



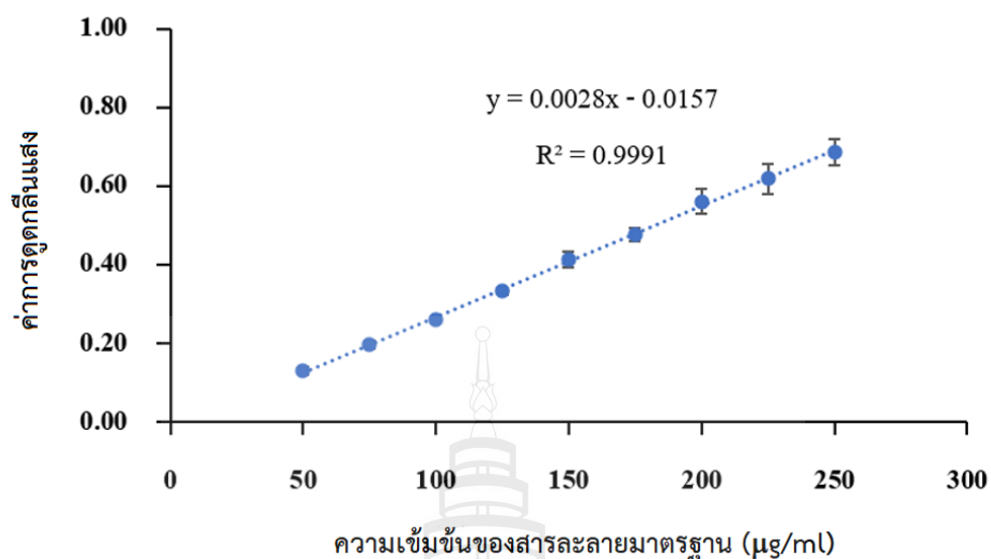
ภาพที่ 4.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 10 – 125 mg/ml



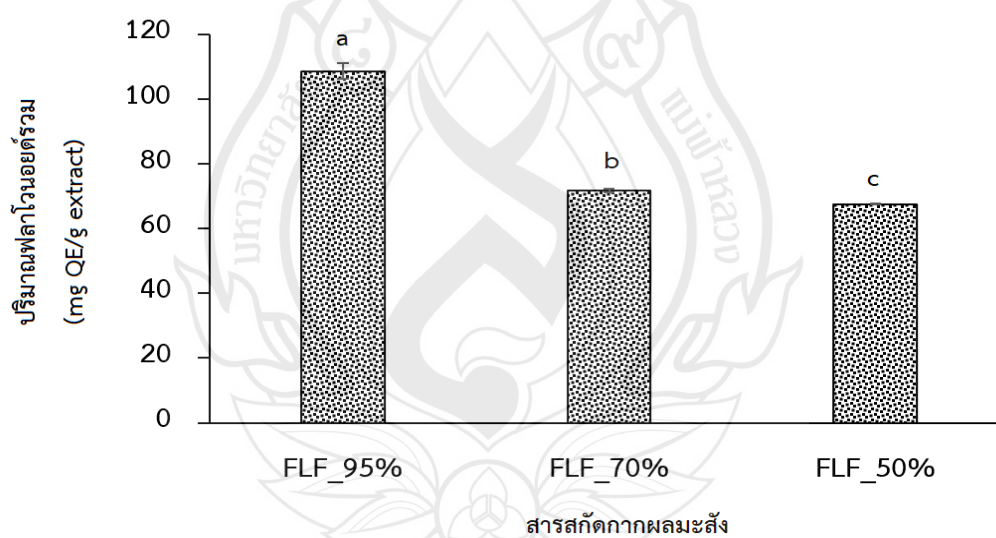
ภาพที่ 4.4 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสัง

4.2.2.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารละลายมาตรฐานเคออสติน แสดงในภาพที่ 4.5 และ ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากผลมะสัง แสดงในภาพที่ 4.6 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากผลมะสัง อยู่ในช่วง 67.46 – 108.57 mg QE/g extract โดยปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัด FLF_95% มีปริมาณสูงกว่าสารสกัด FLF_70% และ FLF_50% อย่างมีนัยสำคัญ ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นผลจากความสามารถในการละลายสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในกากผลมะสังของตัวทำละลาย คือ เอทานอล 95% มีค่าสูงกว่าเอทานอล 70% และ 50% ตามลำดับ ทั้งนี้ โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว สามารถละลายได้ดีในเอทานอลมากกว่าน้ำ เนื่องจากน้ำมีความเป็นขั้วสูงกว่า ดังนั้น สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จึงสามารถละลายได้ดีและพบจำนวนมากในตัวทำละลายที่มีเอทานอลเป็นส่วนประกอบปริมาณสูง (รวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จิรมั่นคง, 2549; สมหมาย ปะติติงโ, 2553)



ภาพที่ 4.5 สารละลายมาตรฐานเควอซีติน ความเข้มข้น 50 – 250 mg/ml



ภาพที่ 4.6 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากผลมะสัง

4.3 การทดสอบความคงตัวของเคมีกายภาพ

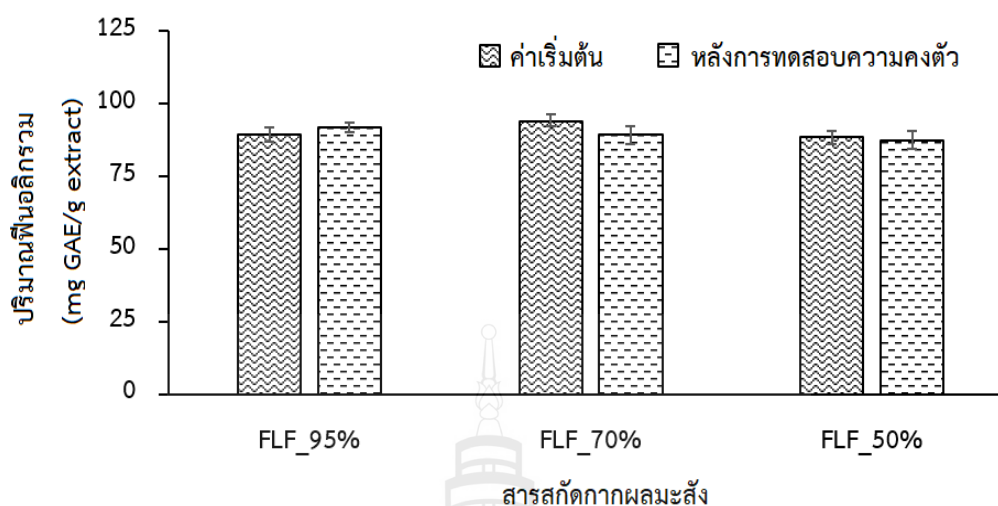
ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด และปริมาณฟีนอลิกรวม ประเมิน ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งด้วย Heating-cooling cycle จำนวน 5 รอบ แสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.8 โดยลักษณะทางกายภาพ สีและกลิ่นของสารสกัดไม่แตกต่างกัน ค่า pH ของสารสกัดด้วยเอทานอล 70% และ 50% มีค่าลดลงและแตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) ส่วนค่า pH ของสารสกัดด้วยเอทานอล 95% มีค่าลดลง แต่ไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น ขณะที่ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหลังการทดสอบความคงตัวมีค่าเปลี่ยนแปลง แต่ไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง

สารสกัด	ลักษณะทางกายภาพ	สี	กลิ่น	ค่า pH ¹
ค่าเริ่มต้น				
FLF_95%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.52 ±0.01
FLF_70%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.64±0.03
FLF_50%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.77±0.03
หลังการทดสอบความคงตัว				
FLF_95%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.49±0.02
FLF_70%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.46±0.03**
FLF_50%	เหนียวหนืด	น้ำตาล-น้ำตาลเข้ม	เปรี้ยว	3.21±0.03**

หมายเหตุ ¹ ความเข้มข้นของสารละลาย มีค่าเท่ากับ 1 mg/mL

** แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.001$ เมื่อเปรียบเทียบค่าของสารสกัด ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัว



ภาพที่ 4.7 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสัง ณ ค่าเริ่มต้น และหลังการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง

ผลการทดสอบความคงตัวทางเคมีกายภาพของสารสกัดจากผลมะสัง พบว่า สารสกัดจากผลมะสังสกัดด้วยเอทานอล 70% และ 50% มีค่า pH ที่ไม่คงตัว โดยมีค่าลดลงแตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเกิดจากการสลายตัวของสารสำคัญโดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิร้อนสลับเย็น (45 และ 4°C) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดทั้งลักษณะทางกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมี (De Beer et al., 2018)

4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะสัง ทดสอบเปรียบเทียบกับวิตามินซี สารควบคุมเชิงบวกในการทดสอบ แสดงค่าในตารางที่ 4.4 โดย FLF_70% สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่า FLF_50% และ FLF_95% อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ส่วนวิตามินซี มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดจากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

ตารางที่ 4.4ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะสังและวิตามินซี

สารสกัด	ความเข้มข้นของสารทดสอบในการ ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 50 (IC ₅₀) (µg/ml)
FLF_95%	680.29 ± 5.52 ^c
FLF_70%	593.81 ± 13.09 ^b
FLF_50%	665.91 ± 4.39 ^c
วิตามินซี	5.21 ± 0.48 ^a

หมายเหตุ a,b,c แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะสัง สอดคล้องกับการศึกษาโดย Tangkanakul et al. (2005) และ Somdee et al. (2016) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกมะสัง และ ใบมะสัง ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกมะสัง มีค่า 25.34 ± 0.34 mg สมมูล *t*-butylated hydroxyanisole/g ดอกสด ส่วนสารสกัดใบมะสัง 0.2 ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $8.35 \pm 2.15\%$ ทดสอบด้วย DPPH radical scavenging assay โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะสัง อาจเป็นผลจากปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด ทั้งนี้ รายงานการศึกษาก่อนหน้าระบุ ความสัมพันธ์ของสารกลุ่มฟีนอลิกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชหลายชนิด ตลอดจนฤทธิ์ของสารในการป้องกันโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น (Chatatikun & Chiabchalard, 2017)

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนส เป็นเอนไซม์สำคัญในการสร้างเม็ดสีเมลานิน ซึ่งการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารสำคัญในเครื่องสำอางสำหรับลดการสร้างเม็ดสีผิว โดยฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดจากผลมะสัง FLF_70% และ FLF_50% ทดสอบที่ความเข้มข้น 5 และ 2 mg/ml ส่วน FLF_95% ทดสอบที่ความเข้มข้น 2.5 และ 2 mg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ละลายในตัวทำละลายในการทดสอบ (10% เอทานอล) ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.5 โดยสารสกัดจากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ต่ำ และมีปัญหาเรื่องการละลายในตัวทำละลายที่ทดสอบ จึงไม่สามารถหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ต้านฤทธิ์ของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC₅₀) ได้ ซึ่งสารสกัดความเข้มข้น 2 mg/ml FLF_70% มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์สูงกว่า FLF_95% และ FLF_50% อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกรดโคจิก ซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวกในการศึกษา มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์สูงกว่า

สารสกัดกากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ โดยความเข้มข้น 0.05 mg/ml มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ ร้อยละ 65.16 ± 1.75 โดยฤทธิ์ต้านเอนไซม์ของสารสกัดกากผลมะสัง อาจเป็นผลจากสารกลุ่มฟีนอลิก ร่วมกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัด ซึ่งสารกลุ่มฟีนอลิก เป็นสารที่พบปริมาณสูงในพืชและสัมพันธ์กับฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายในสิ่งมีชีวิต ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารทุติยภูมิที่พบในพืช และมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านรังสีอัลตราไวโอเล็ต ฤทธิ์ต้านอักเสบ และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น (Chatatikun & Chiabchalard, 2017)

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดกากผลมะสัง

สาร	ความเข้มข้น(mg/mL)	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
FLF_95%	2.00	9.79 ± 2.21^b
	2.50	14.51 ± 1.19
FLF_70%	2.00	38.45 ± 2.23^a
	5.00	35.91 ± 2.83^a
FLF_50%	2.00	13.13 ± 1.38^b
	5.00	15.52 ± 2.25^b
กรดโคจิก	0.02	48.06 ± 1.56
	0.05	65.16 ± 1.75

หมายเหตุ a, b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ระหว่างกลุ่มทดสอบ เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นเท่ากัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัย สามารถสรุปเป็นข้อ ๆ ดังนี้

5.1.1 การเตรียมสารสกัดจากผลมะสัง สกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลกับน้ำ ในอัตราส่วน 95, 70 และ 50% ได้สารสกัด FLF_95%, FLF_70% และ FLF_50% ตามลำดับ โดยค่าร้อยละการสกัดของ FLF_50% มีค่าสูงกว่า FLF_70% ($p=0.002$) และ FLF_95% ($p<0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ

5.1.2 การทดสอบทางเคมีกายภาพของสารสกัดจากผลมะสัง พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หนืด สีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยว ประกอบด้วยสารกลุ่มฟีนอลิกและสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยปริมาณ ฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากผลมะสังทั้ง 3 ชนิด มีค่าไม่แตกต่างกัน ขณะที่ FLF_95% มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่า FLF_70% ($p<0.001$) และ FLF_50% ($p<0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ

5.1.3 การทดสอบความคงตัวทางเคมีกายภาพของสารสกัดจากผลมะสังภายใต้สภาวะเร่ง พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีความคงตัวทางกายภาพ โดยลักษณะภายนอก สี และกลิ่นของสารสกัด หลังการทดสอบแบบเร่งไม่แตกต่างจากลักษณะตอนเริ่มต้น ค่า pH ของ FLF_95% มีค่าลดลง แต่ไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น ขณะที่ FLF_70% และ FLF_50% มีค่าลดลงและแตกต่างจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) ส่วนปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด หลังการทดสอบแบบเร่ง มีค่าไม่แตกต่างจากปริมาณฟีนอลิกรวมเริ่มต้น ($p>0.05$)

5.1.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ได้แก่

5.1.4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วย DPPH assay พบว่า FLF_70% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} ต่ำสุด และแตกต่างจาก FLF_95% ($p < 0.001$) และ FLF_50% ($p < 0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ

5.1.4.2 ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า FLF_70% มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่า FLF_50% ($p < 0.001$) และ FLF_95% ($p < 0.001$) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 2 mg/ml

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาชนิดของสารสำคัญในสารสกัดจากผลมะสัง เพื่อใช้เป็นสารสำคัญในการเตรียมและการควบคุมคุณภาพสารสกัดสำหรับใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

5.2.2 ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารสกัดจากผลมะสัง เพื่อการใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ทางเครื่องสำอาง

5.2.3 ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจาก Hydrolat ซึ่งเป็น by-product ในกระบวนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากผลมะสังในอุตสาหกรรมเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างครบวงจร

รายการอ้างอิง



รายการอ้างอิง

- ชลิดา อนุพันธ์. (2558). *ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะสัง* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี.
- มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2553). *ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์: มะสัง*.
<http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=96>
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จิ่งมันคง. (2549). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดพืช สมุนไพรไทยบางชนิด*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- สมหมาย ปะติตังโฆ. (2553). การต้านอนุมูลอิสระและการต้านการเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดพญาวานร. *วารสารมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติวิชาการ*, 14(27), 123 – 136.
- สิทธิเดช สมบุญ. (2549). *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้นและเปลือกมะสัง* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรัญญา มโนสร้อย. (2540). *เครื่องสำอาง (เล่มที่ 1)*. คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Rodrigues, A., Curran, T. P., Barros, L., . . . Ferreira, I. C. (2017). Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, 95, 404-415.
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2017). Thai plants with high antioxidant levels, free radical scavenging activity, anti-tyrosinase and anti-collagenase activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1-9.

- De Beer, D., Pauck, C. E., Aucamp, M., Liebenberg, W., Stieger, N., van der Rijst, M., . . . Joubert, E. (2018). Phenolic and physicochemical stability of a functional beverage powder mixture during storage: Effect of the microencapsulant inulin and food ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 2925-2934.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73, 627-650.
- He, C., Li, Z., Liu, H., Zhang, H., Wang, L., & Chen, H. (2020). Chemical compositions and antioxidant activity of adlay seed (*Coixlachryma jobi* L.) oil extracted from four main producing areas in China. *Journal of Food Science*, 85, 123-131.
- Houdkova, M., Urbanova, K., Daskocil, I., Rondevaldova, J., Novy, P., Nguon, S., . . . Kokoska, L. (2018). *In vitro* growth-inhibitory effect of Cambodian essential oils against pneumonia causing bacteria in liquid and vapour phase and their toxicity to lung fibroblasts. *South African Journal of Botany*, 118, 85-97.
- Kanlayavattanakul, M., Lourith, N., & Chaikul, P. (2018). Biological activity and phytochemical profiles of *Dendrobium*: A new source for specialty cosmetic materials. *Industrial Crops and Products*, 120, 61-70.
- Mabberley, D. J. (2010). The species of *Citrus* (Rutaceae) with pinnate leaves. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 55, 73-74.
- Medthai. (2557). มะลั่ง สรรพคุณและประโยชน์ของต้นมะลั่ง 9 ข้อ. <https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%AA%E0%B8%B1%E0%B8%87/>
- Phuwapraisirisan, P., Surapinit, S., Jeenapongsa, R., Tip-Pyang, S., & Kokpol, U. (2007). Feroniellin B, a new highly potent human platelet aggregation inhibitor from *Feroniella lucida*. *Phytotherapy Research*, 21, 485-487.

- Schein, C. H. (1990). Solubility as a function of protein structure and solvent components. *Biotechnology (N Y)*, 8, 308-317.
- Somdee, T., Mahaweerawat, U., Phadungkit, M., Yangyuen, S., Laowachirasuwan, P., Sungthong, B., . . . Khumphuwang, J. (2016). Antioxidant compounds and activities in selected fresh and blanched vegetables from Northeastern Thailand. *Chiang Mai Journal of Science*, 43, 834-844.
- Sripisut, T., Cheenpracha, S., & Laphookhieo, S. (2011). Chemical constituents from the roots of *Feroniella lucida*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 13, 556-560.
- Sripisut, T., Phakhodee, W., Ritthiwigrom, T., Cheenpracha, S., & Laphookhieo, S. (2012). Lucidafuranocoumarins B and C from the twigs of *Feroniella lucida*: Absolute configurations of lucidafuranocoumarin C. *Phytochemistry Letters*, 5, 309-312.
- Supudompol B. (2009). Composition and anti-mycobacterial activity of the essential oil of *Feroniella lucida* (Scheff.) swing, *Journal of Essential Oil Research*, 21(6), 561-562.
- Tangkanakul, P., Trakoontivakorn, G., & Jariyavattanavijit, C. (2005). Extracts of Thai indigenous vegetables as rancid inhibitor in a model system. *Kasetsart Journal (Natural Sciences)*, 39(2), 274-283.
- Tangkay. (2563). มะสัง. <https://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=poungchompoo&month=05-2015&date=08&group=49&blog=66>
- Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., & Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview. *BioMed Research International*. Article ID 251754. <https://doi.org/10.1155/2013/251754>

- United States Pharmacopeial Convention. (2011). *The national formulary : NF 29*.
<https://www.worldcat.org/title/united-states-pharmacopeia-2011-usp-34-the-national-formulary-nf-29/oclc/723055458>
- Zhishen J., Mengcheng T., & Jianning, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

