

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ไทโรซิเนส

Efficiency of *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn crude extracts for tyrosinase inhibition

สุพัตรา ม่วงงาม^{1*} ศศมล ผาสุข² และ ปณณรภัส ถกลภักดี³

¹นักศึกษา ²ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ³อาจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี 13180

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ย หาอัตราส่วน ที่เหมาะสมของสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ยที่เสริมฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส นำไปพัฒนา เจลล้างหน้าจากสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ย ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ยมีปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 45.21 และ 38.24 $\mu\text{g/ml}$ และ มีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 33.76 และ 22.08 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับสารสกัดหยาบพญาชาพบกลุ่มสารหลัก สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ ,ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ส่วนสารสกัดหยาบลูกเดี๋ยพบ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ และ ฟลาโวนอยด์ สารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ยมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC_{50} เท่ากันคือ 0.28 อัตราส่วนของสารสกัดหยาบพญาชาและลูกเดี๋ยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส คือ 1:1 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.18 mg/ml เจลล้างหน้า มีสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นสารสกัดเล็กน้อย เกิดฟองกับน้ำได้ดี และมีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.7

Abstract

The objectives of this research were to study chemical composition of crude extract from *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn, to determine the appropriate ratio of crude extract between *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn, to develop a facial washing gel derived from crude extract from *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn. The results showed that the crude extracts from *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn had the total phenolic at 45.21 and 38.24 $\mu\text{g/ml}$ respectively. Whereas, the total tannin from *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and *Coix lacryma-jobi* Linn was 33.76 and 22.08 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The steroids-terpene, flavonoid and alkaloid were found in the crude extract of *Naringi crenulata* (Roxb.)Nicolson. The Steroids-terpene and flavonoid was found in crude extract of *Coix lacryma-jobi* Linn. IC_{50} of the tyrosinase inhibition was 0.28 mg/ml. The ratio of the crude extract could inhibition the enzyme tyrosinase was 1:1 with the IC_{50} 0.18 mg/ml. The facial washing gel had red-brown colour with slightly smell from the extract with stable bubble. In addition the pH of the product was 6.7

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบ พญาชา ลูกเดี๋ย ไทโรซิเนส

Keywords : Crude Extract, *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson, *Coix lacryma-jobi* Linn ,tyrosinase.

*ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ su_naja7@hotmail.com โทร. 08 8379 1727

1. บทนำ

ในปัจจุบันประชาชนต้องเผชิญกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ รั้งสีอัลตราไวโอเล็ต สารเคมี คิววันพิษ ความร้อนประกอบกับความเครียดจากปัญหาการงาน ครอบครัว สภาวะสังคมและเศรษฐกิจที่ตกต่ำ อันเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาวิธรรอย จุดต่างดำ ความหมองคล้ำโดยเฉพาะผิวหนังเป็นอวัยวะที่พบเห็นการเปลี่ยนแปลงการเกิดวิธรรอย จุดต่างดำ ความหมองคล้ำ มีกระ และเม็ดสีผิวได้ง่ายกว่าส่วนอื่น หากมีวิธีการใดที่จะช่วยสามารถชะลอหรือหยุดการเปลี่ยนแปลงนั้นได้ย่อมเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง โดยผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กับผิวหนังในปัจจุบันมีทั้งส่วนผสมจากสารเคมีโดยตรงและสารสกัดจากธรรมชาติ แต่เครื่องสำอางที่กำลังเป็นที่นิยมใช้กันคือเครื่องสำอางที่ผลิตมาจากสารสกัดจากธรรมชาติ ผู้วิจัยจึงมีความคิดที่จะสนับสนุนให้มีการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางโดยพืชที่นำมาศึกษาในครั้งนี้คือพญาและลูกเต๋อย

พญา (Naringi crenulata (Roxb.) Nicolson) หรือ กระแจะ เป็นสมุนไพรอยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นสมุนไพรที่พบได้ในประเทศแถบเอเชียอาคเนย์ มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือเป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้น ตามลำต้น และกิ่งก้านมีหนามแหลมยาว กลิ่นหอมเย็น จากข้อมูลสรรพคุณพบว่า ส่วนลำต้นสามารถใช้ในการรักษาโรคผิวหนัง รากใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ ใบใช้แก้ลมบ้าหมู ผล บำรุงร่างกาย (เนตรนา เพ็ญศรี, 2550) นอกจากนี้ชาวพม่ายังใช้เนื้อไม้ นำมาบด ผน หรือทำให้เป็นผงละเอียด มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ใช้ทาผิวหนัง ทำให้ผิวเนียนสวย เป็นส่วนผสมหลักในเครื่องประทินผิวแบบโบราณหลายชนิด ใช้ผสมในเครื่องหอม ที่เรียกว่า “กระแจะตะนาว” นิยมใช้กันมากในประเทศพม่า

ลูกเต๋อย (Coix lacryma-jobi Linn) หรือเต๋อย เป็นธัญพืชอยู่ในวงศ์ Poaceae โดยมีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว เม็ดจะออกกลมรี รสชาติออกมันเล็กน้อยมีคุณค่าทางอาหารสูง ประโยชน์ในตำรายาจีนกล่าวว่า ลูกเต๋อย รสขมจัด เย็น แก้อ่อนใน บำรุงไต ม้าม ปอด กระเพาะอาหาร ขับปัสสาวะ รวมทั้งบำรุงเลือดลมในสตรีหลังคลอด รักษาอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเสีย แก้ไข้ เหน็บชา ชักกระตุก สตรีตกขาวมากกว่าปกติ สารสกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์จากรากหรือเมล็ดเต๋อย มีฤทธิ์ทำให้การหมุนเวียนของเลือดที่ผิวหนังดีขึ้น (จิราภรณ์ ชัยศิริเจริญกุล, 2552)

จากข้อมูลข้างต้นที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าทั้งพญาและลูกเต๋อยมีสรรพคุณทางด้านผิวหนังกล่าวคือพญามีสรรพคุณบำรุงผิวพรรณทำให้ผิวเนียนสวย ส่วนลูกเต๋อยมีฤทธิ์ทำให้การหมุนเวียนของเลือดที่ผิวหนังดีขึ้น จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษากลุ่มสารสำคัญของพืชทั้งสองชนิดนี้ โดยทำการศึกษาทดลองเกี่ยวกับประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดหยาบพญาและลูกเต๋อย ซึ่งยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัยมาก่อนและยังเป็นการส่งเสริมสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในการมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่สามารถนำไปใช้ในชีวิตประจำวันได้ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรให้เกิดประโยชน์สูงสุดอีกประการหนึ่ง

1.1 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.1.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากพญาและลูกเต๋อย

1.1.2 เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดหยาบพญาและลูกเต๋อยที่เสริมฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.1.3 เพื่อพัฒนาเจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากพญาและลูกเต๋อย

1.2 ขอบเขตการวิจัย

1.2.1 พญาที่นำมาใช้ในครั้งนี้ได้จากส่วนที่เป็นเนื้อไม้แก่ต้นพญาที่บดเป็นผง

1.2.2 ลูกเต๋อยที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากเมล็ดลูกเต๋อยแก่จัดทั้งเมล็ด

1.2.3 องค์ประกอบทางเคมีที่ศึกษาใช้เทคนิค TLC fingerprints วิเคราะห์กลุ่มสารหลักที่เป็นองค์ประกอบในพญาและลูกเต๋อยได้แก่ สารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์และสารฟลาโวนอยด์

1.2.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธีโดปาโครม

2. วิธีการทดลอง

การวิจัยมุ่งเน้นศึกษาในประเด็นหลักคือฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณสารฟีนอลิก แทนนิน สารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งแต่ละขั้นตอนมี รายละเอียดดังนี้

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเอทานอลจากพญายาและลูกเดือย

ซังพญายา 3,000 กรัม และเมล็ดลูกเดือย 3,000 กรัม แล้วบรรจุด้วยผ้าขาวบางแล้วแช่ลงในเอทานอล ปริมาตร 3,000 มิลลิลิตรเทใส่ขวดโหลแก้ว ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์มและกระดาษฟรอยด์ให้สนิทนำไปเขย่าด้วย เครื่องเขย่า (shaker) ในที่มืดและทิ้งไว้ประมาณ 2 สัปดาห์นำไปกรองโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง นำสารที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน แล้วนำมาทำให้แห้งอีกครั้งด้วยการทำให้แห้งแบบเย็น จะได้สารสกัดหยาบ

2.2 การหาปริมาณสารฟีนอลิกและแทนนิน

เตรียมสารละลายมาตรฐานแกลลิกและแทนนิกเข้มข้น 1,000 ppm และ 100 ppm และเจือจางจนมีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแกลลิกและแทนนิก ตามวิธีของ Hoe et al. (2003) นำสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV ที่ความยาวคลื่น 748 นาโนเมตร (A_{748}) หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดพญายาและลูกเดือยจากกราฟมาตรฐาน

2.3 การวิเคราะห์หากกลุ่มสารหลักด้วย TLC fingerprints

กลุ่มสารหลักในการวิเคราะห์หาด้วยเทคนิค TLC fingerprints ประกอบด้วยกลุ่มหลักดังนี้ สารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และสารฟลาโวนอยด์

2.3.1 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ (steroids-terpens)

2.3.1.1 ซังพญายาและลูกเดือยอย่างละ 5 กรัม เติมหะเสน 25 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาทีกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซะล้าง (rinse) กระดาษกรองด้วยเฮกเซน 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส

2.3.1.2 นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง

2.3.1.3 นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน (เบต้า-ซีโตสเตอรอล) spot บนแผ่น TLC แล้วใส่ลงถึงที่มี mobile phase คือ Ethyl acetate : Hexane (2:10) ตั้งทิ้งให้ mobile phase ซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 เซนติเมตรนำแผ่น TLC พ่นด้วยน้ำยาวานิลิน-กรดซัลฟูริกตรวจดูแถบสารภายใต้รังสี UV ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

2.3.2 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids)

2.3.2.1 ซังพญายาและลูกเดือยอย่างละ 5 กรัม เติมนอร์มอล กรดซัลฟูริก 100 มิลลิลิตร เขย่า 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซะล้างกระดาษกรองด้วย 0.1 นอร์มอล กรดซัลฟูริก 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ทำให้เป็นด่าง โดยเติม 5% แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จนได้ pH 8-9 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (3 ครั้ง ปริมาตรแต่ละครั้ง 40 มิลลิลิตรนาน 10 นาที) ในกรวยแยกรวมสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มมาจัดน้ำที่ปนอยู่โดยกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสบนกระดาษกรองเบอร์ 41 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส

2.3.2.2 นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง

2.3.2.3 นำสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน(ควินินซัลเฟต) spot บนแผ่น TLC แล้วใส่ลงในถังทำ TLC ที่มี mobile phase คือ Chloroform : Methanol : Water (30:7:1) ตั้งทิ้งให้ mobile phase ซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร นำแผ่น TLC พ่นด้วยน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสี UV ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

2.3.3 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

2.3.3.1 ชั่งผงพญายาและลูกเต๋อยอย่างละ 10 กรัม เติมน้ำเมทานอล 40 มิลลิลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทิ้งให้เย็นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซะล้าง กระดาษกรองด้วย เมทานอล 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส

2.3.3.2 นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง

2.3.3.3 นำสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน (รูทีน) spot บนแผ่น TLC แล้วใส่ลงในถังทำ TLC ที่มี mobile phase คือ Ethanol : Formic acid : Acetic acid : water (9:1:1:1:2.4) ตั้งทิ้งให้ mobile phase ซึมขึ้นไปบนแผ่น TLC เป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสี UV ความยาวคลื่น 254 nm

2.4 การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีขั้นตอนที่สำคัญได้แก่ การเตรียมสารละลายตัวอย่าง การเตรียมสารละลายมาตรฐาน การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส และการเตรียมสารละลาย L-DOPA จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิกตามรายละเอียดต่อไปนี้

2.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

นำสารสกัดพญายาและลูกเต๋อยมาชั่งชนิดละ 0.010 กรัม ละลายด้วยเอทานอล เข้มข้น 20% เขย่า นาน 30 นาที ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอลเข้มข้น 20% ให้ได้ความเข้มข้น 200, 160, 120, 80 และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก โดยเติมลงในจานหลุมทดสอบดังรายละเอียดด้านล่าง

เติมสารละลาย A, B, C และ D แยกกันลงในจานหลุม (microtitre plate) (ทำซ้ำ 3 ซ้ำ) ได้แก่

A (control) :	- สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส	50 ไมโครลิตร
	- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8)	150 ไมโครลิตร
	- 20% เอทานอล	50 ไมโครลิตร
B (blank of A) :	- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8)	150 ไมโครลิตร
	- 20%เอทานอล	50 ไมโครลิตร
C (test sample) :	- สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส	50 ไมโครลิตร
	- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8)	150 ไมโครลิตร
	- สารละลายตัวอย่าง ใน 20% เอทานอล	50 ไมโครลิตร
D (blank of C) :	- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8)	150 ไมโครลิตร
	- สารละลายตัวอย่างใน 20% เอทานอล	50 ไมโครลิตร

เขย่าให้สารละลายผสมกันดี แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุมจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม

2.4.3 การคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

2.4.3.1 คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = \left[\frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} \right] \times 100$$

โดย A, B C และ D คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ระหว่างค่าที่วัดได้ก่อนการบ่มและหลังบ่มแล้ว 2 นาที ($A_2 \text{ min} - A_0 \text{ min}$)

2.4.3.2 การคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟ

การหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50%) ใช้โปรแกรม Excel สร้างกราฟเส้นตรงระหว่างค่า $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) กับ % Lethality (แกน y) คำนวณโดยแทนค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า IC_{50}

2.5 การหาค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อย

ซึ่งสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยในอัตราส่วน พญายา : ลูกเต๋อย อัตราส่วน 1:1 นำมาผสมให้เข้ากันแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิกและคำนวณหาค่า IC_{50} เกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

2.6 การทำผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้า

การทำผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าทำได้โดยนำส่วนผสมของสารในตำรับการทำเจลล้างหน้าที่ได้มาเติมสารสกัดหยาบพญายา : ลูกเต๋อย อัตราส่วน 1:1 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีที่สุดผสมลงในตำรับเจลล้างหน้า

2.7 การทดสอบสมบัติบางประการของเจลล้างหน้าผสมสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อย

สมบัติบางประการของเจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมจากสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยประกอบด้วยสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมี และสมบัติความคงตัว โดยมีวิธีการทดสอบ ดังนี้

2.7.1 สมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น การเกิดฟองกับน้ำ และลักษณะของเนื้อเจล ทดสอบโดยการนำเจลล้างหน้ามาตรวจสอบด้วยประสาทสัมผัส

2.7.2 สมบัติทางเคมี ทดสอบโดยการวัดค่าความเป็นกรด-เบสของเจลล้างหน้า

2.7.3 ทดสอบความคงตัวของเจลล้างหน้าทดสอบโดยนำเจลล้างหน้าผสมสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันคือ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง (25-32 องศาเซลเซียส) และ อุณหภูมิ 2- 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการสกัดพญายาและลูกเต๋อยด้วยเอทานอล

การสกัดสารจากพญายาและเมล็ดลูกเต๋อยบดละเอียดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบพญายามีลักษณะเป็นยางเหนียวสีน้ำตาลแดงส่วนสารสกัดหยาบเมล็ดลูกเต๋อยมีลักษณะเป็นของเหนียวหนืดสีเขียวมีน้ำมันเล็กน้อยและเมื่อพิจารณาร้อยละผลผลิตพบว่าสารสกัดหยาบพญายามีค่า 22.24 สารสกัดลูกเต๋อยมีค่า 12.09

3.2 การหาปริมาณฟีนอลิกและแทนนินทั้งหมดของสารสกัดพญายาและลูกเต๋อย

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพญายาและลูกเต๋อยโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อย

ชนิดของสาร	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
สารสกัดพญายา	45.12	45.22	45.28	45.21
สารสกัดลูกเต๋อย	38.25	38.26	38.23	38.24

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดพญายาและลูกเต๋อย

ชนิดของสาร	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
สารสกัดพญายา	33.79	33.73	33.75	33.76
สารสกัดลูกเต๋อย	22.04	22.08	22.12	22.08

จากตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยมีค่าเท่ากับ 45.21 และ 38.24 ppm ตามลำดับและจากตารางที่ 2 ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยมีค่าเท่ากับ 33.76 และ 22.08 ppm ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบพญายาพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบลูกเต๋อย

3.3 ผลการวิเคราะห์หาส่วนผสมสารหลักด้วย TLC fingerprints

ผลการวิเคราะห์ส่วนผสมสารหลักด้วยเทคนิค TLC fingerprints พบว่าสารสกัดหยาบพญายาพบกลุ่มสารหลัก สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์, ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ส่วนสารสกัดหยาบลูกเต๋อยพบ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ และ ฟลาโวนอยด์ และจากการสังเกตผลของแถบสีจากแผ่น TLC พบว่าแถบสีของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยมีแถบสีที่ขึ้นตรงกันหลายจุดแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยมีองค์ประกอบของสารที่มีความคล้ายกัน

3.4 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

ประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบพญายา ลูกเต๋อยและสารสกัดหยาบพญายาผสมลูกเต๋อยในอัตราส่วน 1:1 เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก แสดงดังตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของกรดโคจิก สารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อย

% การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส			
สารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	พญายา	ลูกเต๋อย	พญายาผสมลูกเต๋อย อัตราส่วน 1:1
60.00	23.33	31.51	31.50
70.00	40.00	39.73	46.57
86.67	46.67	50.68	52.05
93.33	53.33	58.90	61.64
96.67	76.67	63.01	87.67

ตารางที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเต๋อยเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก

ค่า IC_{50} (mg/ml)			
สารละลายมาตรฐานกรดโคจิก	พญายา	ลูกเต๋อย	พญายาผสมลูกเต๋อย อัตราส่วน 1:1
0.03	0.28	0.28	0.18

จากตารางที่ 3 และ 4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบพญายามีค่าเท่ากับสารสกัดหยาบลูกเต๋อยแต่เมื่อนำสารสกัดหยาบของพญายาและลูกเต๋อยมาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 จะพบว่าประสิทธิภาพการ

ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าสารสกัดพญาและลูกเต๋อยอย่างเดี่ยว แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพญาและลูกเต๋อยเสริมฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงขึ้น

3.5 ผลการศึกษาสมบัติบางประการของเจลล้างหน้าผสมสารสกัดพญาและลูกเต๋อย

การพัฒนาเจลล้างหน้าผสมสารสกัดจากสารสกัดพญาและลูกเต๋อยเป็นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้า ผลการทดสอบสมบัติบางประการ พบว่าเจลล้างหน้ามีลักษณะทางกายภาพคือสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นสารสกัดเล็กน้อย เจลมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อนำไปทดสอบละลายน้ำเกิดฟองกับน้ำได้ดี มีสภาพความเป็นเบสที่ระดับ pH เท่ากับ 6.7 และเมื่อนำไปทดสอบความคงตัวพบว่าอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปไม่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของเจลล้างหน้า

4.สรุป

สารสกัดพญาและลูกเต๋อยพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญได้แก่ ฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมดโดยสารสกัดพญาพบปริมาณสารฟีนอลิกและแทนนินทั้งหมดมากกว่าลูกเต๋อยเล็กน้อย ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารด้วยเทคนิค TLC fingerprints พบว่าสารสกัดพญาพบกลุ่มสารหลัก ได้แก่ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์, ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ส่วนสารสกัดพญาพบ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ และ ฟลาโวนอยด์ สารสกัดพญาและลูกเต๋อยมีประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:1 ในส่วนของผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดพญาและลูกเต๋อยมีลักษณะเจลเป็นเนื้อเดียวกันสีน้ำตาลแดงมีกลิ่นสารสกัดเล็กน้อย เกิดฟองกับน้ำได้ดี มีสภาพความเป็นเบสที่ระดับ pH เท่ากับ 6.7

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยและขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือวิเคราะห์ และให้ความช่วยเหลือในการใช้ห้องปฏิบัติการ ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

- ปารมี จิตต์ทำนอง .2549. สารต้านไทโรซิเนสในส่วนสกัดทานาคา . กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บุปผาชาติ พตด้วง และมณีนรัตน์ มีพลอย.2549 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของเถาสีรินธรวัดลี
(สามสิบสองประดง). ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ.2544. เครื่องสำอางสำหรับผิวหน้า.ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม.เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
สุพัตรา ฤกษ์สมโภชน์.2550.การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยวิธีโคพาโครม.ปทุมธานี. มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
กฤติยา สุธรรมรัตน์.2546. ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของอนุพันธ์ไพริดิโน.กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล
เนตรนภา เพ็ญศรี.2550. การพัฒนาโลชั่นกันแดดจากสารสกัดแอลกอฮอล์กระเจา.กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล
จิราภรณ์ ชัยสิริเจริญกุล .2552. องค์ประกอบทางเคมีและโครงสร้างของลูกเต๋อย และผลของกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนต่อคุณสมบัติทางเคมีและเคมีกายภาพของแป้งลูกเต๋อย.นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
จินดาพร คงเดช.2551.การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชเพื่อใช้เครื่องสำอาง . กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี
ธนธร รจนากุล .2549. การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นรียอยจากสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง.เชียงใหม่:มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Yang, S-H., Peng, J., Lui, W-B. and Lin, J.2008. Effect of adlay species and rice flour ratio on the

- physiochemical properties and texture characteristic of adlay-based extrudates. *J.Food Eng.* 84: 489-494
- Sirois J, Miller R. The Mechanism of The Scopoletin-Induced Inhibition of The Peroxidase Catalyzed Degradation of Indole-3-acetate¹. Received for Publication 1972; 49: 1012-8.
- Masuda, T., Odaka, Y., Ogawa, N., Nakamoto, K., and Kuninaga, H., 2008, "Identification of 'geranic acid, a tyrosinase inhibitor in lemongrass (*Cymbopogon citrates*)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 56.No,2 pp. 597-601
- Aruna P, Fred R, Eugene M. Antioxidant Activity. A publication of Medallion lab. Available from: <http://www.medallionlabs.com/file.aspx?FileID=56>. [Accessed 2007 Mar 11].
- Ratnayake Bandara, B.M., A.A. Leslie Gunathilaka., E.M. Kithsiri Wijeratne and N.K.B. Adikaram (1988) Antifungal constituents from *Limonia acidissima*. *Planta Medica* 4, 374-375.