



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงใต้แขนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ
Development of Underarm Nourishing Serum from Licorice Root extract

โดย

นสภ. น้ำเพชร	ศรีวะสุทธิ์	รหัสบัณฑิต 62210070
นสภ. พิมระพี	เผือกผ่อง	รหัสบัณฑิต 62210094
นสภ. อธิชา	วิฤชรางกุล	รหัสบัณฑิต 62210133

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2566

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงใต้แขนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

Development of Underarm Nourishing Serum from Licorice Root extract

โดย

นสภ. น้ำเพชร	ศรีวะสุทธิ์	รหัสนิสิต 62210070
นสภ. พิมระพี	เผือกผ่อง	รหัสนิสิต 62210094
นสภ. อธิชา	วิฤชรางกุล	รหัสนิสิต 62210133

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2566

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

ปัจจุบันพืชสมุนไพรและสารสกัดจากธรรมชาติเป็นที่น่าสนใจในการนำมาพัฒนาต่อยอด นอกจากใช้เป็นอาหารหรือยาแล้ว พืชสมุนไพรหลายชนิดยังนิยมนำมาใช้เป็นสารสำคัญ ออกฤทธิ์ในเครื่องสำอาง การศึกษาวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะนำรากชะเอมเทศซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในหลาย ๆ ด้าน มีการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น จึงนำฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวมาพัฒนาต่อยอดในการตั้งตำรับเซรั่มที่มีสารสกัดจากรากชะเอมเทศเพื่อใช้บำรุงผิวได้วงแขน

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะมีประโยชน์สำหรับผู้สนใจนำไปพัฒนาสูตรตำรับเซรั่มบำรุงผิวได้วงแขนและต่อยอดในการทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่น ๆ ให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป

คณะผู้วิจัย

วันที่ 18 มีนาคม 2566

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2566

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | | |
|-----------------|-------------|---------------|
| 1. นสภ. น้ำเพชร | ศรียะสุทธิ์ | รหัส 62210070 |
| 2. นสภ. พิมระพี | เผือกผ่อง | รหัส 62210094 |
| 3. นสภ. อธิชา | วิเศษรางกูล | รหัส 62210133 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ผศ.ดร.ญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ
2. ผศ.ดร.ญ.ธัญชนก ศิริรักษ์

บทคัดย่อ

รากชะเอมเทศ มีสาร glabridin ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากฤทธิ์ทางชีวภาพข้างต้นของรากชะเอมเทศจึงนำ พัฒนาเป็น ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดรากชะเอมเทศ สารสกัดรากชะเอมเทศ ได้มาจากการสกัดรากชะเอมเทศด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที จะได้สารสกัดแห้งสีเหลืองน้ำตาล มีค่า %yield เท่ากับ 10.45% เมื่อหาปริมาณสาร glabridin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่า มีปริมาณ glabridin เท่ากับ 189.1 มิลลิกรัม/กรัม ของสารสกัด และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 0.38 ± 0.0016 มิลลิกรัมสมมูลของแกลลิกแอซิดต่อกรัมของสารสกัด และ 0.72 ± 0.0030 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดรากชะเอมเทศยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.432 ± 0.0004 mg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ IC_{50} มากกว่า 3.1 mg/mL และยังพบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 20 mg/mL มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone เท่ากับ 8 มิลลิเมตร ในการพัฒนาเซรั่ม พบว่าสูตรตำรับ F9 ซึ่งมีส่วนประกอบของสารสกัดรากชะเอมเทศ 0.1 g, carbopol 940 0.13 g, propylene glycol 6%, phenoxyethanol 1%, 95% ethanol 5%, triethanolamine และน้ำ เป็นตำรับเซรั่มที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากทำให้ได้ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์สีเหลืองใส มีความหนืดเหมาะสม ปลอดภัยใช้ได้ง่าย เกลี่ยง่ายล้างออกได้ง่าย และมีค่า pH ที่เหมาะสม เมื่อนำมาประเมินความคงตัวของตำรับเซรั่มพบว่าตำรับคงตัวได้ดีที่สุดในสภาวะอุณหภูมิห้องและเก็บให้พ้นแสง ดังนั้นจาก

ผลการศึกษานี้สามารถนำไปเป็นแนวทางเพื่อต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจาก
สารสกัดรากชะเอมเทศได้ในอนาคต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก.....*ทศพร ภิษฐ์*

Senior Project Academic Year 2022

: Development of Underarm Nourishing Serum from Licorice Root extract

By

- | | | |
|------------------|-----------------|-------------|
| 1. Miss Namphet | Sriwasut | ID 62210070 |
| 2. Miss Pimrapee | Pueakpong | ID 62210094 |
| 3. Miss Aticha | Wikitsarangkool | ID 62210133 |

Advisor:

1. Dr. Thanchanok Sirirak Ph.D
 2. Dr. Nadechanok Jiangseubchatveera Ph.D
-

ABSTRACT

Glabridin, found in licorice root, has antibacterial, antityrosinase, and antioxidant properties. Because of these biological properties, licorice roots are interested in using licorice root extract to create an underarm nourishing serum. The licorice roots are extracted with ethanol at 50 °C for 60 minutes to get the licorice root extract. With a yield of 10.45%, the dried yellowish-brown extract was produced. By using the HPLC method, the glabridin was discovered to be 189.1 mg/g of extract. Results showed that the total flavonoid and phenolic content were, respectively, 0.72 ± 0.0030 mg quercetin equivalents/g extract and 0.38 ± 0.0016 mg gallic acid equivalents/g extract. Furthermore, the licorice root extract showed antioxidant activity with an IC₅₀ value of 0.432 ± 0.0004 mg/mL, antityrosinase activity with an IC₅₀ value greater than 3.1 mg/mL, and growth inhibition of *Staphylococcus aureus* with a diameter of 8 millimeters for 20 mg/mL of the root extract. The optimal formula for serum formation is F9, which includes 0.1g licorice root extract, 0.13 g carbopol 940, 6% propylene glycol, 1% phenoxyethanol, 95% ethanol as 5%, triethanolamine, and water. The serum has a clear yellow appear, a proper viscosity, is easily dispersed, is easy to wipe off, and has a suitable pH. After evaluating the serum formula's stability, it was discovered that room temperature and light protection

are the ideal conditions for it to remain stable. This study may serve as guidelines for the future development of licorice root extract-based underarm nourishment serums.

Major Advisor.....*Natechank Jongsuebhatveera*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวิระ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ผศ.ดร.ภญ.ธัญชนก ศิริรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำเสนอแนวทางการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนได้ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มจนวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ คณะผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณนางสาวพัชรินทร์ สิมมา ที่ได้สละเวลาให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยมาโดยตลอด และขอขอบคุณเพื่อนผู้ร่วมดำเนินงานวิจัย ที่ช่วยสืบค้นข้อมูลวางแผนการทำงาน และร่วมกันดำเนินงานอย่างตั้งใจ จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

น้ำเพชร ศรีวะสุทธิ์

พิมพ์พี เผือกผ่อง

อธิชา วิฤทธารามกุล

สารบัญ

คำนำ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญ	1
สมมติฐาน	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
กรอบแนวคิด.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
1. เชื้อเอมเทศ	5
1.1 การสกัดพิษสมุนไพร.....	15
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดรากชะเอมเทศ.....	17
2. Tyrosinase and tyrosinase inhibitor.....	20
2.1 กระบวนการสร้างและควบคุมเม็ดสีเมลานิน (Melanogenesis and its regulation).....	20
3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.....	21
4. องค์ประกอบของผิวหนังและผิวไต้หวัน.....	22
4.1 โครงสร้างและหน้าที่ของผิวหนัง.....	22
4.2 กลไกการเกิดกลืนบริเวณไต้หวัน.....	23
4.3 ขนไต้หวันและการเกิดกลืนตัว.....	23
5. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์.....	23
5.1 Dilution susceptibility test	24
5.2 Agar diffusion test (disc diffusion test และ hole-plate diffusion)	25

5.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดชะเอมเทศ.....	25
6. ผลฤทธิ์ของรังสีแกมมาและรูปแบบผลฤทธิ์ในปัจจุบัน	26
6.1 ผลฤทธิ์ของรังสีแกมมาและรูปแบบผลฤทธิ์ในปัจจุบัน	26
7.ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเซรัม	26
7.1 ข้อดีของเซรัม.....	27
7.2 การทดสอบความคงตัวของเซรัม.....	27
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	28
1 อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	28
2. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	29
2.1 วิธีการตรวจเอกลักษณ์ผงรากชะเอมเทศโดยใช้กล้องจุลทรรศน์.....	29
2.2 วิธีสกัดสารจากรากชะเอมเทศ	29
2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ	30
2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	31
2.5 การทดสอบหาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ในสารสกัดรากชะเอมเทศ.....	31
2.6 การทดสอบปริมาณ total phenolic ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent.....	32
2.7 Antibacterial activity test.....	33
2.8 Antityrosinase activity test.....	33
2.9 การตั้งตำรับ	34
2.10 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของเซรัม	35
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	36
1. ผลการตรวจเอกลักษณ์ผงรากชะเอมเทศ.....	36
1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ.....	36
1.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการส่องกล้องจุลทรรศน์	37
2. ผลการสกัดรากชะเอมเทศ	39
3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ glabridin ด้วยเทคนิค HPLC.....	39
4. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	42

ญ

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	42
4.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid contents).....	43
4.3 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolics contents).....	44
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus ด้วยวิธี Disk diffusion	44
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ antityrosinase activity test	45
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา.....	69
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก.....	81

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงความแตกต่างและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของชะเอมเทศและชะเอมไทย	5
ตารางที่ 2 แสดงสารประกอบทางเคมีและฤทธิ์ในทางชีวภาพของรากชะเอมเทศ	10
ตารางที่ 3 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของ glabridin.....	15
ตารางที่ 4 แสดงส่วนประกอบของเซรัมสารสกัดชะเอมเทศ	34
ตารางที่ 5 อัตราส่วน mobile phase ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ glabridin	39
ตารางที่ 6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone (มิลลิเมตร)	45
ตารางที่ 7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศ	47
ตารางที่ 8 ส่วนประกอบและปริมาณสารที่ใช้ในแต่ละสูตรตำรับ	49
ตารางที่ 9 แสดงลักษณะทางกายภาพของตำรับเซรัมตำรับ F1 - F15.....	60
ตารางที่ 10 แสดงตารางการทดสอบความคงตัวของเซรัมสารสกัดรากชะเอมเทศ	68

สารบัญภาพ

รูปที่ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย	4
รูปที่ 2 แสดงภาพตัดขวางรากชะเอมเทศ	6
รูปที่ 3 แสดงภาพตัดขวางของรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์	7
รูปที่ 4 แสดงภาพผงรากชะเอมเทศ.....	7
รูปที่ 5 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	7
รูปที่ 6 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	7
รูปที่ 7 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	8
รูปที่ 8 ลักษณะรากชะเอมเทศ	36
รูปที่ 9 ลักษณะรากชะเอมเทศหลังปั่นบดลดขนาด	36
รูปที่ 10 Starch grains.....	37
รูปที่ 11 Group of fibers	37
รูปที่ 12 Calcium oxalate prisms	37
รูปที่ 13 Thin walled parenchyma	38
รูปที่ 14 Large vessels.....	38
รูปที่ 15 ลักษณะสารสกัดรากชะเอมเทศ.....	39
รูปที่ 16 Chromatogram ของสารมาตรฐาน glabridin.....	40
รูปที่ 17 chromatogram เปรียบเทียบระหว่าง major peak ของสารสกัดรากชะเอมเทศ	41
รูปที่ 18 กราฟมาตรฐานสาร glabridin แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟ (AUC)	42
รูปที่ 19 ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดรากชะเอมเทศ.....	43
รูปที่ 20 กราฟมาตรฐานสารมาตรฐาน quercetin	43
รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานสารมาตรฐาน gallic acid.....	44
รูปที่ 22 ภาพผลการทดสอบ Disk diffusion.....	45
รูปที่ 23 กราฟฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐาน kojic acid	46

รูปที่ 24 ลักษณะการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 3.10 mg/mL ใน 96-well microplate	48
รูปที่ 25 ภาพการเกิดตะกอนของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 10 mg/mL ใน 96-well microplate	48
รูปที่ 26 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F1.....	51
รูปที่ 27 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F2.....	51
รูปที่ 28 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F3.....	52
รูปที่ 29 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F4.....	52
รูปที่ 30 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F5.....	53
รูปที่ 31 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F6.....	53
รูปที่ 32 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F7.....	54
รูปที่ 33 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F8.....	54
รูปที่ 34 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F9.....	55
รูปที่ 35 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F10	55
รูปที่ 36 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F11	56
รูปที่ 37 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F12	56
รูปที่ 38 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F13	57
รูปที่ 39 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F14	57
รูปที่ 40 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F15	58
รูปที่ 41 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซรัมสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 1 g (ตำรับที่ F15)... 58	
รูปที่ 42 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซรัมสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.1 g ใน Carbopol 940 (ตำรับที่ F9) และ Carbopol Ultrez 21 (ตำรับที่ F11) 0.13 g	59
รูปที่ 43 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซรัมสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.5 g ใน Carbopol 940 (ตำรับที่ F12) และ Carbopol Ultrez 21 (ตำรับที่ F14) 0.13 g	59

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ผลิตภัณฑ์ทางด้านความงามที่มีส่วนผสมจากสมุนไพรกำลังเป็นที่นิยมเป็นอย่างมาก⁽¹⁾ โดยพืชสมุนไพรต่าง ๆ เข้ามามีบทบาทในการมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เนื่องจากสมุนไพรค่อนข้างมีความปลอดภัยสูงหากใช้ถูกวิธีจะมีประโยชน์สามารถทดแทนสารเคมีได้⁽²⁾ ซึ่งชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) นับเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเนื่องจากมีประโยชน์ที่หลากหลายและมีงานวิจัยที่การศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของชะเอมเทศแพร่หลายมากยิ่งขึ้น

ชะเอมเทศ จัดเป็นไม้พุ่มมีรากขนาดใหญ่จำนวนมาก เนื้อในรากมีสีเหลืองอ่อน ผิวเรียบเป็นเส้นใย รสหวานขมชุ่ม ทำให้ชุ่มคอ แก้ไอ ขับเสมหะ ช่วยให้ประจำเดือนมาปกติ โดยส่วนที่นิยมนำมาใช้ คือ รากชะเอมเทศ ซึ่งมีสารสำคัญออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งก่อให้เกิดกลิ่นกายได้ว่องไว⁽³⁾ ฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibitor) จากสารสำคัญ glabridin ในรากชะเอมเทศที่สามารถลดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินช่วยให้ผิวขาวกระจ่างใสขึ้น⁽⁴⁾ ฤทธิ์ชะลอการงอกของเส้นขนโดยลดเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ dermal papilla⁽⁵⁾ และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากสรรพคุณข้างต้นของรากชะเอมเทศจึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีองค์ประกอบของสารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งผลิตภัณฑ์ทางด้านความงาม ถือเป็นธุรกิจที่เติบโตเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก ดังจะเห็นได้จากข้อมูลของศูนย์พยากรณ์ เศรษฐกิจ และธุรกิจ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย ได้จัดอันดับธุรกิจ โดยบริการทางการแพทย์และความงามอยู่อันดับหนึ่งติดต่อกันมาเป็นเวลาหลายปี สาเหตุสำคัญมาจากผู้คนในยุคปัจจุบันทั้งเพศชายและเพศหญิงในทุกช่วงวัยต่างให้ความสนใจเกี่ยวกับเรื่องสุขภาพ ความงาม ผิวพรรณ รวมทั้งการดูแลตัวเองมากขึ้น เนื่องจากความกังวลในภาพลักษณ์และบุคลิกภาพ ต้องการสร้างความมั่นใจและภาพลักษณ์ที่ดีให้แก่มั่นใจ ซึ่งการดูแลรักษาความสะอาดของร่างกายให้ปราศจากกลิ่นตัวก็ถือว่าเป็นส่วนหนึ่งในการส่งเสริมภาพลักษณ์ที่ดี ดังนั้นผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญและมีความนิยมเป็นอย่างมาก มีการศึกษาและพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายออกมาหลากหลายรูปแบบ โดยผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายและบำรุงผิวได้ว่องไวในท้องตลาดมักอยู่ในรูปแบบของโรลออน สเปรย์ หรือครีม ซึ่งปัญหาของรูปแบบผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักล้างออกได้ยาก

ทั้งคราบเหลืองที่เสื่อม และอาจส่งผลให้ผิวไต้หวันแขนกล้าขึ้นได้จากการแพ้สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์⁽⁶⁾ รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อผิวไต้หวันแขนจึงควรให้ความสบายกับผิวมากกว่ารูปแบบผลิตภัณฑ์ข้างต้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์ชนิดครีมที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่า เนื้อสัมผัสบางเบา และไม่หลงเหลือความมันบนผิวหนัง จึงมีความน่าสนใจในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวไต้หวันแขนที่มีสารสกัดจากรากชะเอมเทศ แต่การศึกษาและพัฒนาตำรับชนิดนี้ยังมีอยู่น้อยในปัจจุบันชะเอมเทศจัดเป็นไม้พุ่มมีรากขนาดใหญ่จำนวนมาก เนื้อในรากมีสีเหลืองอ่อน ผิวเรียบเป็นเส้นใย รสหวานขมชุ่ม ทำให้ชุ่มคอ แก้ไอ ขับเสมหะ ช่วยให้ประจำเดือนมาปกติ โดยส่วนที่นิยมนำมาใช้ คือ รากชะเอมเทศ ซึ่งมีสารสำคัญออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งก่อให้เกิดกลิ่นกายไต้หวันแขน⁽³⁾ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibitor) จากสารสำคัญ glabridin ในรากชะเอมเทศที่สามารถลดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินช่วยให้ผิวขาวกระจ่างใสขึ้น⁽⁴⁾ ฤทธิ์ชะลอการงอกของเส้นขนโดยลดเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ dermal papilla⁽⁵⁾ และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากสรรพคุณข้างต้นของรากชะเอมเทศ จึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีองค์ประกอบของสารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งผลิตภัณฑ์ทางด้านความงาม ถือเป็นธุรกิจที่เติบโตเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก ดังจะเห็นได้จากข้อมูลของศูนย์พยากรณ์ เศรษฐกิจ และธุรกิจ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย ได้จัดอันดับธุรกิจ โดยบริการทางการแพทย์และความงามอยู่อันดับหนึ่งติดต่อกันมาเป็นเวลาหลายปี สาเหตุสำคัญมาจากผู้คนในยุคปัจจุบันทั้งเพศชายและเพศหญิงในทุกช่วงวัยต่างให้ความสนใจเกี่ยวกับเรื่องสุขภาพ ความงาม ผิวพรรณ รวมทั้งการดูแลตัวเองมากขึ้น เนื่องจากความกังวลในภาพลักษณ์และบุคลิกภาพ ต้องการสร้างความมั่นใจและภาพลักษณ์ที่ดีให้แก่ตนเอง ซึ่งการดูแลรักษาความสะอาดของร่างกายให้ปราศจากกลิ่นตัวก็ถือว่าเป็นส่วนหนึ่งในการส่งเสริมภาพลักษณ์ที่ดี ดังนั้นผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญและมีความนิยมเป็นอย่างมาก มีการศึกษาและพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายออกมาหลากหลายรูปแบบ โดยผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายและบำรุงไต้หวันแขนในท้องตลาดมักอยู่ในรูปแบบของโรลออน สเปรย์ หรือครีม ซึ่งปัญหาของรูปแบบผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักล้างออกได้ยาก ทั้งคราบเหลืองที่เสื่อม และอาจส่งผลให้ผิวไต้หวันแขนกล้าขึ้นได้จากการแพ้สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์⁽⁶⁾ รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อผิวไต้หวันแขนจึงควรให้ความสบายกับผิวมากกว่ารูปแบบผลิตภัณฑ์ข้างต้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์ชนิดครีมที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่า เนื้อสัมผัสบางเบา และไม่หลงเหลือความมันบนผิวหนัง จึงมีความน่าสนใจในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวไต้หวันแขนที่มีสารสกัดจากรากชะเอมเทศ แต่การศึกษาและพัฒนาตำรับชนิดนี้ยังมีอยู่น้อยในปัจจุบัน

ดังนั้นจากประโยชน์ของสารสกัดรากชะเอมเทศที่กล่าวไปแล้วข้างต้น คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจพัฒนารูปแบบเสริมบำรุงไตวังแฉนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ เพื่อให้ได้ตำรับเสริมบำรุงไตวังแฉนที่มีปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมในการออกฤทธิ์ มีคุณลักษณะทางกายภาพที่ดี และมีความคงตัว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากรากชะเอมเทศ
2. เพื่อหาปริมาณ glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ
3. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับเสริมบำรุงไตวังแฉนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ
4. เพื่อประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับเสริมบำรุงไตวังแฉนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

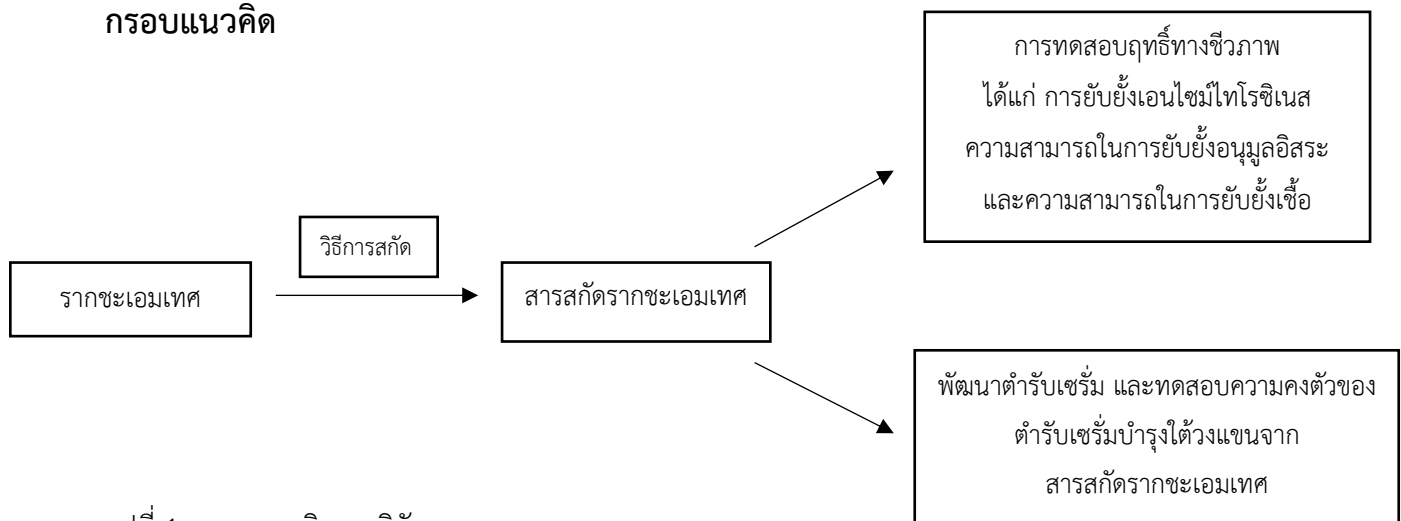
สมมติฐาน

1. สารสกัดรากชะเอมเทศ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย
2. สารสกัดจากรากชะเอมเทศมี glabridin เป็นองค์ประกอบ
3. สารสกัดรากชะเอมเทศมีความคงตัวในตำรับเสริม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ
2. ทราบปริมาณ glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ
3. ได้ตำรับเซรัมบำรุงผิวจากสารสกัดรากชะเอมเทศที่มีลักษณะทางกายภาพและความคงตัวดี

กรอบแนวคิด



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ชะเอมเทศ

ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) อีกชื่อคือ ชะเอมจีน หรือ กำเ้า เป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Glycyrrhiza* วงศ์ Leguminosae เป็นพืชสมุนไพรจำพวกเถา ลำต้นยาวประมาณ 1-2 เมตร ใบเป็นใบประกอบรูปขนนก มีใบย่อยประมาณ 9-17 ใบ ก้านใบย่อยสั้นมาก แผ่นใบรูปไข่สีเขียวอมเหลือง ดอกออกเป็นช่อ กลีบดอกสีม่วงอ่อน ฝักมีลักษณะแบน ส่วนที่นำมาใช้เป็นเครื่องยาได้มาจากรากและลำต้นใต้ดิน มีลักษณะเรียวยาวรูปกระสวยยาวประมาณ 15 - 30 เซนติเมตร อาจยาวได้ถึง 1 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 - 20 เซนติเมตร เปลือกหุ้มรากด้านนอกสีน้ำตาลอมแดง หรือสีน้ำตาลแก่ เนื้อเปลือกหยาบมีเส้นใยมากเนื้อในรากมีสีเหลืองอ่อน ผิวเรียบเป็นเส้นใย รสหวานชุ่ม ออกขมเล็กน้อย มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ⁽³⁾ ซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจทำให้เกิดความสับสนกับชะเอมไทย ที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน ดังนั้นสามารถแยกความแตกต่างและพิสูจน์เอกลักษณ์ระหว่างชะเอมเทศกับชะเอมไทยได้ดังตารางที่ 1 ตารางที่ 1 แสดงความแตกต่างและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของชะเอมเทศและชะเอมไทย

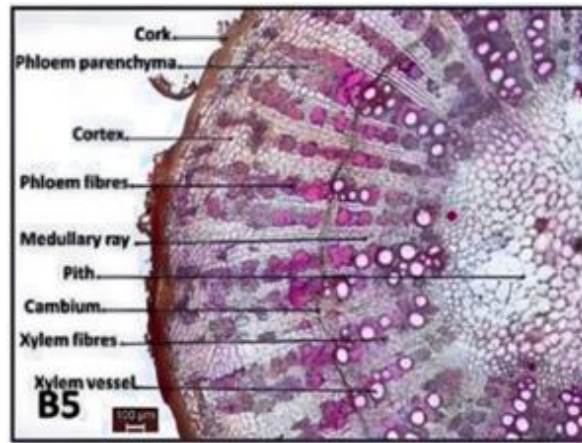
พืช	ชะเอมเทศ	ชะเอมไทย ⁽⁷⁾
ส่วนที่นำมาใช้	รากและลำต้นใต้ดิน	เถา เนื้อไม้
ชื่อวงศ์	วงศ์ Leguminosae	
ลักษณะพืชภายนอก	เปลือกหุ้มรากด้านนอกสีน้ำตาลอมแดงหรือสีน้ำตาลแก่ เนื้อเปลือกหยาบ	เถามีตุ่มหนามด้าน ๆ ขนาดเล็กตามเปลือกไม้ผิวขรุขระสีน้ำตาล
ลักษณะภายใน	เนื้อในรากสีเหลืองอ่อน ผิวเรียบเป็นเส้นใย มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ผงรากมีสีเหลืองครีม	เนื้อไม้สีเหลืองอ่อน ๆ

พืช	ชะเอมเทศ	ชะเอมไทย ⁽⁷⁾
รูปลักษณะพืช		

การตรวจสอบผงรากชะเอมเทศด้วยกล้องจุลทรรศน์สังเกตพบว่ามีผลึกปริซึมและมีเศษสีน้ำตาลทองจำนวนเล็กน้อย พบท่อ xylem เรียงกันเป็นตาข่าย (รูปที่ 5 B7) มีเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) ผนังค่อนข้างบาง ภายในบรรจุเม็ดแป้งอยู่เต็มเซลล์ (รูปที่ 5 B9) โดยพบเม็ดแป้ง (starch grains) ส่วนมากเป็น ชนิดเดี่ยว (simple) มีรูปร่างรีหรือรูปไข่ยาวขนาดเล็กมีขนาดประมาณ 3-12 ไมครอน (รูปที่ 5 B7-B10) เนื้อเยื่อที่พบมาก ได้แก่ เซลล์เส้นใยมีผลึก (crystals fibers) ผนังที่ไม่มีสารลิกนิน (lignin) หรือมีลิกนินน้อย ภายในเซลล์เส้นใย (fibers) มีผลึกรูปเหลี่ยมแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate crystals) อยู่ต่อกันเป็นแถบ⁽⁸⁾



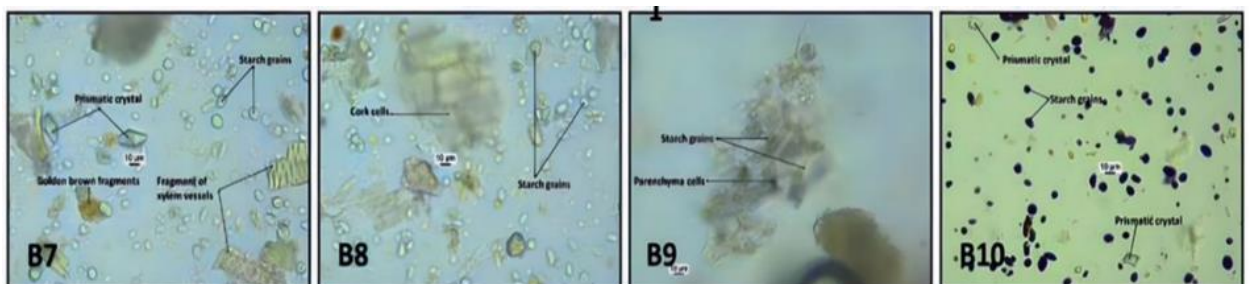
รูปที่ 2 แสดงภาพตัดขวางรากชะเอมเทศ



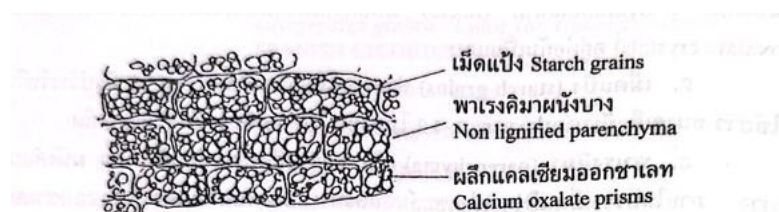
รูปที่ 3 แสดงภาพตัดขวางของรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์



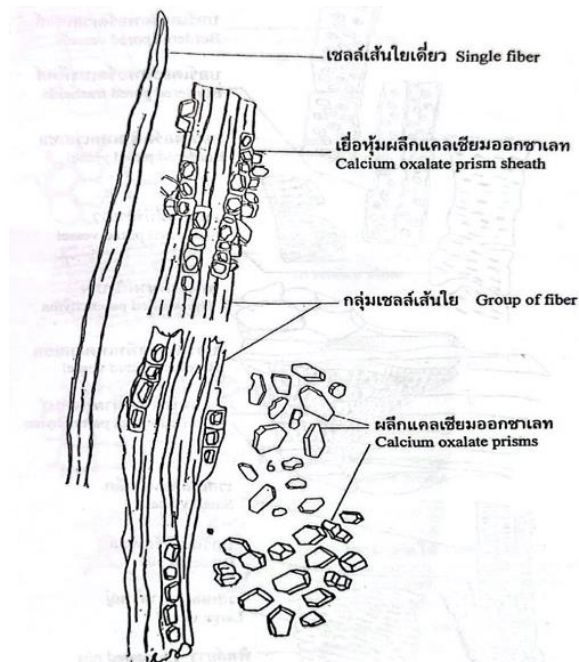
รูปที่ 4 แสดงภาพผงรากชะเอมเทศ



รูปที่ 5 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 6 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 7 แสดงภาพเนื้อเยื่อรากชะเอมเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ลักษณะทางกายภาพและเคมีที่ดีควรมีปริมาณความชื้น⁽⁹⁾ ไม่เกิน 12% w/w ปริมาณเถ้ารวม ไม่เกิน 7% w/w ปริมาณสาร glycyrrhizic acid ไม่น้อยกว่า 2% w/w ปริมาณสาร glycyramarin ไม่น้อยกว่า 1% w/w

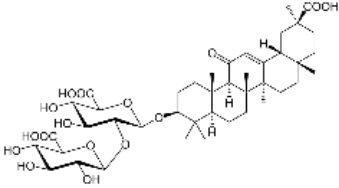
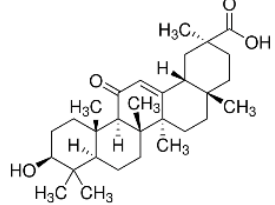
ชะเอมเทศมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการแก้อาการ ทำให้ชุ่มคอ เนื่องจากเนื้อในรากและเหง้าของชะเอมเทศมีสารกลีไซไรซิกแอซิด (glycyrrhizic acid) หรือ กลีไซไรซิน (glycyrrhizin) หรือ GA ซึ่งเป็นสารที่ให้รสหวานมากกว่าน้ำตาลทรายถึง 50 เท่า⁽¹⁰⁾ นิยมนำมาใช้ในการแต่งกลิ่นรสหวาน ผสมในยาบรรเทาอาการไอและขับเสมหะ ยาอมต่าง ๆ หรือผสมในยาที่รับประทานยาก นอกจากนี้ในตำรายาไทยยังระบุสรรพคุณของรากชะเอมเทศไว้ว่ามีฤทธิ์เป็นยาระบายอ่อน ๆ ขับลม แก้อาการท้องอืด แน่นท้อง ขับเสมหะ ขับน้ำคาวปลา บำรุงร่างกาย บำรุงหัวใจให้ชุ่มชื้น แก้ไข้ สงบประสาท บำรุงกล้ามเนื้อให้เจริญ ขับเลือดเน่า แก้กามโรค รักษาอาการเจ็บคอ

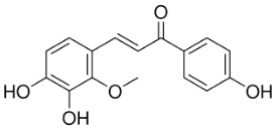
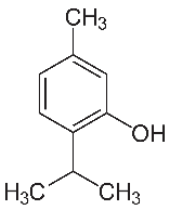
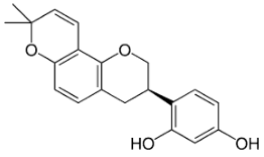
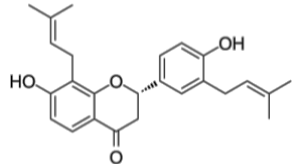
ในบัญชียาจากสมุนไพรที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิม ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ ระบุการใช้รากชะเอมเทศในตำรับ “ยาเล็ดงาม” มีสรรพคุณบรรเทาอาการปวดประจำเดือน ช่วยให้ประจำเดือนมาเป็นปกติ⁽³⁾

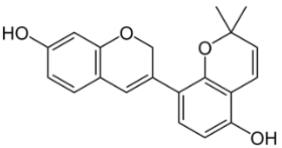
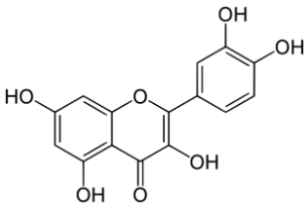
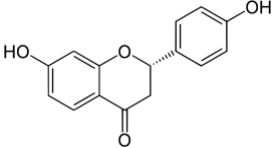
ในรากชะเอมเทศ 100 g ให้พลังงาน 375 kcal มีปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 93.55 g น้ำ 6.3 g ไฟเบอร์ 0.2 g ไขมัน 0.05 g แคลเซียม 3 mg โซเดียม 50 mg โพแทสเซียม 37 mg ฟอสฟอรัส 4 mg แมกนีเซียม 2 mg เหล็ก 0.13 mg และซิงค์ 0.05 mg⁽¹¹⁾

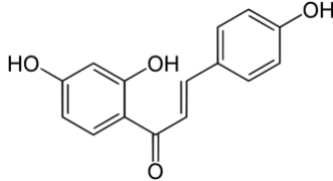
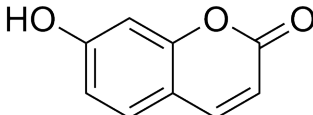
นอกจากรากชะเอมเทศจะมีสารอาหารและแร่ธาตุมากมายแล้ว ยังมีสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้รากชะเอมเทศมีฤทธิ์ทางชีววิทยา ดังแสดงในตารางที่ 2 จากการศึกษาพบสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิในรากชะเอมเทศประมาณ 400 ชนิด โดยพบสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มากที่สุดถึง 300 ชนิด⁽¹²⁾ เช่น ลิกวิริติเจนิน (liquiritigenin) ไอโซลิกวิริติเจนิน (isoliquiritigenin) กลาบรีดิน (glabridin) กลาบรีน (glabrene) เควอร์ซีทีน (quercetin) ฟอร์โมนอนเนติน (formononetin) เป็นต้น รองลงมาพบสารประกอบในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์⁽¹³⁾ (triterpenoids) เช่น กลีไซริซิกแอซิด (glycyrrhizic acid)⁽¹⁴⁾ สามารถเปลี่ยนไปเป็นกลีไซริทินิกแอซิด (glycyrrhetinic acid) ได้ในร่างกายมนุษย์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบทุติยภูมิอื่น ๆ ได้แก่ สารประกอบในกลุ่มชาลโคน (chalcones) เช่น ลิโคชาลโคนบี (licochalcones B), ลิโคชาลโคนดี (licochalcones D) สารประกอบในกลุ่มคูมาริน (coumarins) เช่น อัมเบลลิเฟอรอน (umbelliferone), ไกลซีคูมาริน (glycycoumarin) และกลีไซรอล (glycyrol) เป็นต้น โดยปริมาณสารสำคัญที่พบจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของชะเอมเทศ⁽¹⁵⁾

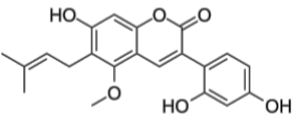
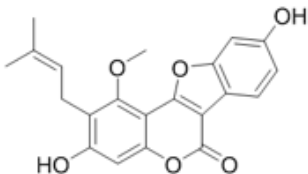
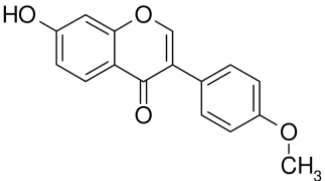
ตารางที่ 21 แสดงสารประกอบทางเคมีและฤทธิ์ในทางชีวภาพของรากชะเอมเทศ

ชื่อสาร	สารประกอบทางเคมี	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	โครงสร้างทางเคมี	เอกสารอ้างอิง
Glycyrrhizic acid	Triterpenoid saponin	- ต้านการอักเสบ - ต้านอนุมูลอิสระ - ยับยั้งเชื้อไวรัส ได้แก่ HIV, <i>Herpes simplex</i>, <i>Enterovirus</i>, <i>Influenza</i> และ SARS-related coronavirus - ยับยั้งการเกาะติดของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ในกระเพาะอาหาร - ลดการทำงานของเซลล์เดอร์มัลแปปิลลา		(16-23)
Glycyrrhetic acid	Triterpenoid saponin	- ต้านการอักเสบ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Staphylococcus epidermidis</i> - ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส		(21, 24, 25)

Licochalcones B	Chalcones	- ต้านอนุมูลอิสระ - ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม เซลล์มะเร็งตับระยะปฐมภูมิ เซลล์มะเร็งช่องปาก		(26-29)
Thymol	Monoterpenes	- ต้านการอักเสบ - ต้านอนุมูลอิสระ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย <i>Streptococcus iniae</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>S. aureus</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i> - ต้านเซลล์มะเร็ง		(30, 31)
Glabridin	Flavonoids	- ต้านการอักเสบ - ต้านอนุมูลอิสระ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i> - ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส		(32-35)
Glabrol	Flavonoids	- ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i> - มีฤทธิ์ทำให้ง่วง		(34, 36)

Grabrene	Flavonoids	- ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i> - มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน - ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส		(37, 38)
Quercetin	Flavonoids	- ต้านการอักเสบ - ต้านอนุมูลอิสระ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i> - มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด - ลดความดันโลหิต		(34, 39, 40)
Liquiritigenin	Flavonoids	- ต้านการอักเสบ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S. aureus</i> - ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งตับ - ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส		(34, 41)

Isoliquiritigenin	Flavonoids	-ต้านการอักเสบของระบบประสาท - ต้านอนุมูลอิสระ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย Methicillin-Resistant <i>S.aureus</i> - ยับยั้งเซลล์มะเร็งตับอ่อน		(34, 42, 43)
Umbelliferone	Coumarins	- ต้านการอักเสบ - ต้านอนุมูลอิสระ - ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i> - ต้านเซลล์มะเร็งกล่องเสียง, มะเร็งตับ - มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงในผู้ป่วยเบาหวาน		(44)

Glycycomarin	Coumarins	- ต้านการอักเสบ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> - ต้านเซลล์มะเร็งตับปฐุมภูมิ		(45)
Glycyrol	Coumarins	- ต้านการอักเสบ - ต้านเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร		(45, 46)
Formononetin	Isoflavones	- ต้านอนุมูลอิสระ - ต้านเชื้อแบคทีเรีย <i>S.aureus</i> - ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส - ต้านเซลล์มะเร็ง ลำไส้ใหญ่, มะเร็งเต้านม, มะเร็งต่อม ลูกหมาก, มะเร็งปอด		(38, 47-50)

เห็นได้ว่าสารสำคัญออกฤทธิ์ของรากชะเอมเทศที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสารที่สำคัญและพบได้มากที่สุดในกลุ่มนี้ คือ glabridin มักนิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อบำรุงผิวเนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสม

สารสกัดที่ได้จากรากชะเอมเทศที่มีสาร glabridin จะสลายตัวเมื่อโดนแสงและที่อุณหภูมิมากกว่า 60 °C ค่า pH ที่เหมาะสมคือน้อยกว่า 7 ⁽³³⁾ ดังแสดง ในตารางที่ 3 ตารางที่ 2 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของ glabridin ⁽⁵¹⁾

สูตรโมเลกุล	จุดหลอมเหลว	จุดเดือด	การละลาย	การเก็บรักษา
C ₂₀ H ₂₀ O ₄	154-155 °C	518.6±50.0 °C	ไม่ละลายในน้ำละลายใน organic solvent เช่น ethyl alcohol, methanol และ DMSO เป็นต้น	เก็บให้ห่างจาก ความร้อน ประกายไฟ เก็บในภาชนะที่ ปิดสนิท ป้องกัน แสง อุณหภูมิห้อง

1.1 การสกัดพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย คือ การแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในสมุนไพร โดยใช้ความมีขั้วของตัวทำละลายกับสารสำคัญในพืช จะต้องเลือกตัวทำละลายในการสกัดโดยใช้หลักการ like dissolve like ซึ่งตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกันกับสารสำคัญจะสามารถสกัดสารสำคัญออกมาได้ โดยการเลือกตัวทำละลายมีหลักการดังนี้

- (1) เลือกตัวทำละลายที่สกัดสารออกมาได้มากที่สุด และไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
- (2) หากสารที่ต้องการแยกมีสารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ ควรเลือกตัวทำละลายที่ละลายสารสำคัญที่ต้องการออกมาได้มากกว่าตัวอื่น
- (3) แยกสารที่ไม่ต้องการออกไปและแยกสารที่ต้องการออกจากตัวทำละลาย
- (4) ถ้าต้องการแยกสี ตัวทำละลายต้องไม่มีสี ถ้าต้องการแยกกลิ่นตัวทำละลายจะต้องไม่มีกลิ่น
- (5) ไม่มีพิษ จุดเดือดต่ำ และแยกตัวออกสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย

(6) ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกับสารที่นำมาสกัด มีราคาถูก ⁽⁵²⁾

1.1.1 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชมีดังนี้ ⁽⁵³⁾

(1) Maceration (การแช่หมัก) วิธีการนี้จะได้สารสกัดเป็นผงแห้งหยาบ โดยนำส่วนของพืชที่ต้องการสกัดใส่ลงในภาชนะ จากนั้นแช่หมักด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ปิดฝาและตั้งทิ้งไว้โดยมีการเขย่าขวดเป็นระยะ วิธีนี้จะใช้เวลานานและใช้ตัวทำละลายมาก แต่เหมาะกับสารที่ไม่ทนความร้อน

(2) Infusion วิธีการเหมือนการแช่หมัก โดยจะสมุนไพรมัดในลักษณะผงละเอียด ใส่ในภาชนะสะอาด และใส่ตัวทำละลายสามารถใช้เป็นตัวทำละลายร้อนหรือเย็นก็ได้ และตั้งทิ้งไว้ระยะเวลาสั้น ๆ วิธีนี้เหมาะกับสารที่ละลายน้ำได้ดี

(3) Digestion เป็นการสกัดที่ใช้ความร้อนปานกลางในการสกัด โดยนำสมุนไพรมัดใส่ในภาชนะสะอาด ใส่ตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไป จากนั้นนำไปให้ความร้อนประมาณ 50 °C วิธีการนี้เหมาะกับสารที่ละลายได้ง่าย

(4) Percolation จะใช้ภาชนะลักษณะพิเศษ เรียกว่า percolator เป็นแก้วรูปทรงกรวยแคบ ก้นเปิด โดยนำพืชที่เป็นผง นำไปทำให้ชุ่มด้วยตัวทำละลายในภาชนะสะอาด จากนั้นใส่ตัวทำละลายลงไป ผสมและทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ percolator และตั้งทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายไหลผ่านเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วไขนําสารสกัดออกมาเป็นปริมาตร 75% ของตัวทำละลายทั้งหมด

(5) Soxhlet extraction หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า continuous hot extraction โดยใช้เครื่องมือเรียกว่า soxhlet extractor ประกอบด้วย round bottom flask, extraction chamber, siphon tube และ condenser อยู่ด้านบน โดยจะทำการพืชมัดในหลอด หรือผงสมุนไพรมัดก็ได้ โดยจะใส่อยู่ในผ้าสะอาดหรือกระดาษกรองที่มิดแน่น โดยจะให้ความร้อน solvent ที่อยู่ใน round bottom flask จนระเหยขึ้นไปสู่ condenser และควบแน่นกลับมาเป็นตัวทำละลายดังเดิมและเมื่อตัวทำละลายสูงถึงระดับของ siphon ก็จะเกิดกระบวนการ กาลักน้ำและทำให้ตัวทำละลายไหลกลับมาที่ round bottom flask และใช้ในการสกัดสารต่อไปอย่างต่อเนื่อง วิธีการนี้เหมาะกับสารที่ทนความร้อนได้ดีและสามารถสกัดสารปริมาณมากได้โดยใช้ solvent ปริมาณไม่มาก

(6) Microwave-assisted extraction เป็นวิธีการที่อาศัย dipole rotation และ ionic transfer โดยการแทนที่ของประจุไอออนที่มีอยู่ในตัวทำละลายและสมุนไพรมัด เหมาะกับการสกัดสารจำพวก flavonoids โดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่มีความถี่ 2,450 Hz และใช้พลังงานอยู่ที่ 600-700 W เหมาะกับการสกัดสารที่มีขั้ว ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ใช้ตัวทำละลายน้อย ประหยัดเวลา ได้ผลลัพธ์

ในการสกัดที่สูงเหมาะกับ phenolic compound และ flavonoids หากเป็นสารจำพวก anthocyanins จะสลายตัวหากใช้วิธีการนี้ในการสกัด

(7) Ultrasound-assisted extraction วิธีการนี้สกัดโดยใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงโดยมีความถี่มากกว่า 20 KHz ในการทำให้เซลล์ของพืชแตกออก เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวเพื่อให้ตัวทำละลายสามารถแพร่ผ่านได้ วิธีการนี้ต้องทำให้พืชแห้งก่อนสกัด นำมาบดเป็นผงละเอียด จากนั้นผสมลงในตัวทำละลายและใส่ลงใน ultrasonic extractor ข้อดี คือ เหมาะกับสารตัวอย่างปริมาณน้อย ลดเวลาในการสกัดและได้ปริมาณสารสกัดเยอะ ข้อเสีย วิธีการนี้ทำซ้ำได้ยาก ใช้พลังงานเยอะ อาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวได้จากการเกิด free radical

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดรากชะเอมเทศ

การศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างสารสกัดรากชะเอมเทศด้วยวิธี soxhlet extraction และ cold maceration⁽⁵⁴⁾ งานวิจัยนี้ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบ antimicrobial activity ของสารสกัดจากรากชะเอมเทศ จากวิธีการสกัด soxhlet และ cold broth dilution method ค่าเฉลี่ย minimum inhibitory concentration (MIC) ของวิธีการ cold maceration และ soxhlet extraction เท่ากับ 1.8 และ 3.8 mg/mL ตามลำดับ โดยสารที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธีมี phytochemical test ที่เหมือนกัน ดังนั้นวิธีการสกัดด้วย cold maceration ให้ผลในการยับยั้งเชื้อที่ดีกว่าวิธีการสกัดด้วย soxhlet extraction โดยข้อจำกัดของงานวิจัยคือใช้เชื้อ *Streptococcus mutans* เพียงชนิดเดียวในการทดสอบ

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณ glycyrrhizic acid และ glabridin⁽⁵⁵⁾ จากวิธีการสกัดด้วยวิธี dipping เปรียบเทียบกับวิธีการ ultrasonic extract พบว่าการสกัดด้วย วิธีการ dipping ที่เวลา 60 นาทีขึ้นไป อุณหภูมิ 50 °C จะได้ปริมาณของ glycyrrhizic acid เท่ากับ 2.39 mg/g และ glabridin คือ 0.92 mg/g และวิธีการ ultrasonic extraction จะได้ปริมาณ glycyrrhizic acid เท่ากับ 2.0 mg/g และ glabridin 0.375 mg/g ผลการทดลองสรุปว่า การสกัดด้วยวิธีการ dipping ให้ปริมาณของ glycyrrhizic acid และ glabridin สูงกว่าวิธีการสกัดแบบ ultrasonic extraction

การศึกษาการสกัดสาร liquiritin, glycyrrhizic acid และ glabridin จากรากชะเอมเทศ⁽⁴⁾ เมื่อนำรากชะเอมเทศมาสกัดด้วยวิธี dipping ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20, 30, 60, 120, 150 และ 240 นาที ตามลำดับ พบว่าเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดคือไม่เกิน 120 นาที และการสกัดด้วยวิธี ultrasonic เป็นเวลา 2, 5, 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ พบว่าปริมาณสาร liquiritin และ glabridin ที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงในช่วง 10-30 นาที เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดทั้งสองแบบ พบว่าการสกัดด้วยวิธี

ultrasonic ให้ปริมาณสาร liquiritin และ glabridin น้อยกว่าวิธีการสกัดแบบ dipping ทั้งยังใช้พลังงานมากกว่าด้วย ดังนั้นการสกัดด้วยวิธี ultrasonic จึงไม่เหมาะสมสำหรับการสกัดสาร liquiritin และ glabridin ทั้งสองวิธีสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำและ methanol ปริมาตร 20, 50, 70 และ 100 mL ตามลำดับ พบปริมาณสารสกัด glycyrrhizic acid มากที่สุดเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำเนื่องจาก glycyrrhizic acid เป็นสารที่มีขี้วมก และปริมาณของ liquiritin กับ glabridin พบมากที่สุดเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็น 100% methanol เท่ากับ 0.29 mg/g และ 0.70 mg/g ตามลำดับ

การศึกษาความสามารถการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรากชะเอมเทศด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน⁽⁵⁶⁾ งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (แช่หมักที่อุณหภูมิ 50 °C เวลา 60 นาที) เทียบกับวิธีการสกัดแบบ super critical fluid โดยใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ ethanol, methanol และ ethyl acetate เปรียบเทียบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 25, 50 และ 75% v/v ตามลำดับ การทดสอบ phytochemical screening activity ได้แก่ total phenolic content และ total flavonoid content พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลาย จะมีปริมาณของ phenolic compound สูงขึ้น โดย 75% ethanol มีปริมาณ total phenolic และ total flavonoid เฉลี่ยสูงที่สุดคือ 8.97 ± 31.49 mg gallic acid equivalents (GAE)/ g และ 2.86 ± 9.85 mg catechin equivalents (CE)/ g ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรากชะเอมเทศพบว่า สารสกัดที่สกัดด้วย ethanol มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย methanol และ ethyl acetate ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบหาปริมาณ total phenolic และ total flavonoid ของสารสกัดที่สกัดด้วย ethanol การทดสอบหาปริมาณสารสำคัญ glycyrrhizin และ glabridin ด้วย HPLC analysis จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วย conventional method (solvent extraction) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ สารสกัดรากชะเอมเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol 25%, 50% และ 75% ได้ปริมาณ glabridin เท่ากับ 0.87 ± 0.024 , 0.95 ± 0.013 และ 1.13 ± 0.010 mg/g licorice ตามลำดับ สารสกัดรากชะเอมเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol 25%, 50% และ 75% ได้ปริมาณ glabridin เท่ากับ 0.78 ± 0.013 , 0.85 ± 0.015 และ 0.92 ± 0.021 mg/g licorice ตามลำดับ สารสกัดรากชะเอมเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate 25%, 50% และ 75% ได้ปริมาณ glabridin เท่ากับ 0.72 ± 0.011 , 0.74 ± 0.028 และ 0.78 ± 0.012 mg/g licorice ตามลำดับ ดังนั้นจากการทดลองนี้พบว่าตัวทำละลาย 75% ethanol สามารถสกัด glabridin ได้ปริมาณสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตัวทำละลายอื่น ๆ ได้แก่ methanol และ ethyl acetate

จากการศึกษาผลของควมมีขั้วของ ตัวทำละลายต่อปริมาณผลได้ของ total flavonoid โดยเน้น สาร glabridin จากการสกัดรากชะเอมเทศ⁽⁵⁷⁾ จากผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่สามารถสกัด glabridin ออกมาได้ปริมาณสูงสุดเรียงตามลำดับ ดังนี้ dichloromethane, ethyl acetate, acetone, ethanol และน้ำ แต่ในการสกัดด้วย ethyl acetate จะไม่พบสาร glycyrrhizin ในทุกตัวทำละลายที่เหลือ ส่วนการสกัดด้วย dichloromethane ไม่พบสาร glycyrrhizin ในการสกัดจากตัวทำละลายที่เหลือ ในครั้งที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับ polarity index ของตัวทำละลาย โดย dichloromethane มี polarity index ต่ำสุดจึงสามารถสกัด glabridin ได้ปริมาณมากที่สุด เนื่องจากคุณสมบัติของ glabridin เป็นสารที่ไม่มีขั้ว

การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัว glabridin จาก *Glycyrrhiza glabra*⁽⁵⁸⁾ งานวิจัยนี้ศึกษา 7 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การสลายตัวของ glabridin ได้แก่ อุณหภูมิ แสง ความชื้น pH ตัวทำละลาย oxygen และปฏิกิริยา oxidation ซึ่งการศึกษาปัจจัยตัวทำละลาย ได้แก่ methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate, methylene dichloride, chloroform และ propylene glycol เตรียมโดยใช้รากชะเอมเทศ 25 mg ละลายในตัวทำละลาย 100 mL ปิดปากภาชนะแล้วเก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 45 วัน พบว่า methanol เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด มี glabridin content เท่ากับ $30.0 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$ และ relative standard deviation (RSD) เท่ากับ 2.3% รองลงมาคือ acetone มี glabridin content เท่ากับ $31.5 \pm 3.7 \mu\text{g/mL}$ และ RSD เท่ากับ 3.2% propylene glycol มี glabridin content เท่ากับ $30.0 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$ และ RSD เท่ากับ 3.6% ethyl acetate มี glabridin content เท่ากับ $31.6 \pm 3.9 \mu\text{g/mL}$ และ RSD เท่ากับ 4.1%, ethanol มี glabridin content เท่ากับ $29.9 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ และ RSD เท่ากับ 4.3% แต่ glabridin ไม่คงตัวในตัวทำละลาย methylene dichloride และ chloroform เนื่องจาก glabridin มีหมู่แทนที่ hydroxy 2 หมู่บน benzene ring ซึ่งจะสลายตัวเมื่ออยู่ในรูปที่แตกตัวเป็นไอออนใน protonic solvent การศึกษาปัจจัยสภาวะ pH พบว่า glabridin ในสารละลายสภาวะกรด (pH 1) และสภาวะเบส (pH 13) คงตัวน้อยกว่าสารละลายสภาวะกลาง (pH 7) และการศึกษาปัจจัยอุณหภูมิที่ pH 8 พบว่า glabridin คงตัวดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 °C ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมเพื่อลดการสลายตัวของ glabridin จึงควรเก็บในสภาวะที่มีมืด แห้ง และบรรจุในภาชนะปิดสนิทป้องกันอากาศเข้า

การศึกษายุทธวิธีการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและการลดลงของเม็ดสีเมลานินจากสารสกัด *Artocarpus lakoocha* และ *Glycyrrhiza glabra*⁽⁵⁹⁾ งานวิจัยนี้ใช้ผงแห้งของ *A. lakoocha* (Al) และ รากของ *G. glabra* (Gg) อย่างละ 1 kg ละลายในตัวทำละลาย 70% ethanol หรือ 95% ethanol ปริมาตร 5 L สกัดโดยการหมักข้ามคืน ซึ่ง Al หมักที่อุณหภูมิห้อง Gg หมักที่อุณหภูมิ 48 °C จากนั้นกรอง

และระเหยแห้งโดยลดความดัน ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 °C พบว่าได้ %yield ของสารสกัดหยาบ Al ที่ละลายในตัวทำละลาย 70% ethanol (Al70) และ 95% ethanol (Al95) มีปริมาณเท่ากับ 9.70% และ 8.68% ตามลำดับ สารสกัดหยาบ Gg ที่ละลายในตัวทำละลาย 70% ethanol (Gg70) และ 95% ethanol (Gg95) มีปริมาณเท่ากับ 8.46% และ 8.15% ตามลำดับ จากนั้นหาปริมาณ total flavonoid โดย aluminium chloride assay พบว่าสารสกัด Gg มี flavonoid มากกว่าสารสกัด Al โดย Gg70 และ Gg95 มีปริมาณเท่ากับ 5.87 ± 0.56 และ 9.20 ± 0.84 mg quercetin equivalent (QE) equivalent/g extract ตามลำดับ เมื่อนำ Gg70 และ Gg95 มาวิเคราะห์ด้วย UHPLC พบว่ามี peak ของ glabridin ขึ้นที่ 8.84 นาที และมีความเข้มข้น glabridin ของสารสกัด Gg70 เท่ากับ 5.56 ± 0.11 mg/g และ Gg95 เท่ากับ 12.48 ± 0.48 mg/g ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการสกัดรากชะเอมเทศด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol จะได้ปริมาณ glabridin มากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 70% ethanol

2. Tyrosinase and tyrosinase inhibitor

2.1 กระบวนการสร้างและควบคุมเม็ดสีเมลานิน (Melanogenesis and its regulation) ⁽⁶⁰⁾

กระบวนการสร้างเมลานินเกิดจากแสงแดดหรือรังสียูวีเป็นตัวกระตุ้นทำให้ไฟโบรบลาสต์หลั่งสารต่าง ๆ ออกมาได้แก่ cytokines, growth factors และ inflammatory factors รวมถึงการกระตุ้นให้เซลล์เมลานोไซต์สร้างไนตริกออกไซด์มากขึ้น ก่อให้เกิดการสร้างเม็ดสีเมลานิน โดยการส่งสัญญาณภายในเซลล์ต่อกันเป็นทอด ๆ ผ่านเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิเดสที่มีคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้างของโปรตีนที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ ซึ่งในปัจจุบันตลาดยา อาหารเสริม และเครื่องสำอางต่างให้ความสำคัญกับเอนไซม์ชนิดนี้เพื่อหาสารสำคัญที่สามารถยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานิน ทั้งนี้กลไกการควบคุมให้ร่างกายมีการสร้างเม็ดสีเมลานินลดลงมีได้หลายกลไก ได้แก่ การยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรซิเนส การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส TRP-1, TRP-2 และ/หรือ peroxidase การเร่งการผลัดเซลล์ผิวหน้า การยับยั้งการขนส่งเมลานินโซม การยับยั้งกระบวนการอักเสบ และการดักจับอนุมูลอิสระ

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง Tyrosinase inhibitor activity ของสารสกัดจากรากชะเอมเทศ

จากงานวิจัยของ Nerya O. และคณะ ⁽⁶¹⁾ ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดรากชะเอมเทศ พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.9 μ g/mL ในการยับยั้งการออกซิเดชันของเอนไซม์ไทโรซิเนส และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 53 μ g/mL ในการยับยั้งการออกซิเดชันของ L-DOPA ด้วยเอนไซม์ โดยสารสกัดที่สกัดได้นั้นมี glabridin เป็นองค์ประกอบโดยประมาณคือ 10%w/w

และจากงานวิจัยพบว่าสารประกอบที่พบได้ในรากชะเอมเทศ ได้แก่ glabridin, glabrene และ isoliquiritigenin เป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้ง monophenolase มากที่สุด โดยมี IC_{50} เท่ากับ 0.09, 3.5 และ 8.1 μM ตามลำดับ และฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์เมลานินในเซลล์เมลานोไซต์ของมนุษย์พบว่า glabridin, isoliquiritigenin, glabrene มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.4, 4.73, 6.68 $\mu g/mL$ ตามลำดับ

จากงานวิจัยของ วารุณี และคณะ⁽⁶²⁾ ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดรากชะเอมเทศโดยทำการสกัดแยกสารสำคัญ glabridin จากรากชะเอมเทศออกมาเป็นสารบริสุทธิ์ และทำการเปรียบเทียบ antityrosinase activity พบว่า glabridin ที่ความเข้มข้น 0.33 mg/mL มี %inhibition อยู่ที่ 99.80% และมีค่า IC_{50} เท่ากับ $18.53 \pm 0.79 \mu M$ ซึ่งมี %inhibition สูงกว่า kojic acid ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน โดยที่ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 0.33 mg/mL นั้น kojic acid มี %inhibition เท่ากับ 76.41 % และมี IC_{50} เท่ากับ $147.6 \pm 14.3 \mu M$

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (oxidant)⁽⁶³⁾ เป็นสารที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอนเดี่ยว 1 ตัว ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ สารอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์ หากสารอนุมูลอิสระไม่ถูกยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อนุมูลอิสระก็จะทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกายซึ่งอาจทำให้เกิดการแก่ก่อนวัยเป็นต้น ชะเอมเทศมีสาร glabridin ซึ่งมีฤทธิ์ potent antioxidant

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay⁽⁶³⁾ จากผงชะเอมเทศน้ำหนักแห้ง 50 g ในตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วน 1:2 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ rotary evaporator ละลายสารสกัดตัวอย่างพีชอีกครั้งด้วยเอทานอล 5 mL ได้น้ำหนักสารสกัด 0.7591 g ร้อยละของผลิตภัณฑ์ (%yield) 0.61% จากนั้นทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดชะเอมเทศมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 77.90 ± 3.70

การศึกษาฤทธิ์ Antioxidant ของราก *Glycyrrhiza glabra* สกัดด้วยเมทานอล โดยวิธีการ DPPH⁽⁶⁴⁾ จากการทดลองพบว่ามีฤทธิ์ antioxidant อยู่ในช่วง inhibitory concentration (IC_{50}) $588 \pm 0.86 \mu g/mL$ ถึง $2,190 \pm 1.73 \mu g/mL$.

การศึกษาฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัด Heat-Treated Licorice (Wongam, *Glycyrrhiza glabra* x *G. uralensis*)⁽⁶⁵⁾ โดยศึกษาผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชะเอมเทศก่อนและหลังจากให้ความร้อน 130 °C โดยวิธี ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) diammonium salt) และ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) จากการศึกษาพบว่า สารสกัดชะเอมเทศมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเมื่อโดนความร้อนจะมีฤทธิ์มากขึ้น

4. องค์ประกอบของผิวหนังและผิวหนังแว่น

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกาย โดยคิดเป็นน้ำหนักประมาณ 16% ของน้ำหนักตัวมีลักษณะแตกต่างกันตามแต่ละส่วนของร่างกายทั้งในโครงสร้างความหนาและสีผิว

4.1 โครงสร้างและหน้าที่ของผิวหนัง

ผิวหนังประกอบด้วย 3 ชั้น คือ

4.1.1 ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) เป็นชั้นของผิวหนังที่ปกคลุมอยู่บนสุด

ประกอบไปด้วยเซลล์ที่มีการเกิดเจริญเติบโตพัฒนาการ และตายลอกหลุดออกไปจากร่างกายตลอดเวลา

4.1.2 ชั้นหนังแท้ (Dermis หรือ corium) เป็นชั้นที่อยู่ใต้ชั้นหนังกำพร้า ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และระบบเส้นเลือด หน้าที่ของชั้น dermis คือทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น (elasticity) ทนแรงยืดผิวหนังได้ (Tensile strength) ปกป้องร่างกายจากอันตราย (mechanical injury) อุ้มน้ำไว้ (binds water) เพื่อจุดประสงค์ในการควบคุมสมดุลความร้อนของร่างกาย (Thermal regulation) และเป็นประสาทรับสัมผัสต่าง ๆ (receptor of sensory stimuli)⁽⁶⁶⁾

4.1.3 ชั้นไขมัน (Subcutaneous tissue) เป็นชั้นที่อยู่ใต้อ่อนสุดของผิวหนัง มักประกอบด้วยเซลล์ไขมัน โปรตีน คอลลาเจน และหลอดเลือดต่าง ๆ จำนวนมาก ทำหน้าที่ป้องกันแรงกระแทกให้กับอวัยวะภายใน ผิวหนังแว่นหรือรักแร้เป็นส่วนที่มีความบอบบาง ประกอบด้วยต่อมเหงื่อและรูขุมขนจำนวนมาก โดยประกอบไปด้วยต่อมเหงื่อ 2 ชนิด ได้แก่ eccrine ที่ผลิตเหงื่อลักษณะใส ไม่มีสีและกลิ่น ส่วน apocrine จะผลิตเหงื่อที่มีลักษณะขุ่น หนืดและไม่มีกลิ่น เมื่อเกิดการหลั่งเหงื่อจะเข้าสู่รากขนและรวมกับไขมันก่อนออกมาสู่ผิวหนังบริเวณรูขุมขน ร่างกายของแต่ละคนจะมีต่อม apocrine มากน้อยต่างกัน ยิ่งมีมากจะทำให้เกิดกลิ่นกายที่ไม่พึงประสงค์ได้

4.2 กลไกการเกิดกลิ่นบริเวณใต้รักแร้

การเกิดกลิ่นตัวเกิดจากสาร diacetyl (2,3-butanedione) ซึ่งเกิดจากการเมแทบอลิซึมของ organic acid ที่อยู่ในเหงื่อของมนุษย์โดยแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *S. aureus* ที่อาศัยอยู่บนผิวหนังบริเวณรักแร้ หนีงศีรษะ และเท้า เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้เกิดกลิ่นกายที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวจะช่วยลดการเกิดกลิ่นตัวได้⁽⁶⁷⁾

4.3 ขนใต้รักแร้และการเกิดกลิ่นตัว

จากการงานวิจัยทางคลินิกของ Anthony Lanzalaco และคณะ ได้ศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดขนด้วยวิธีต่าง ๆ เทียบกับไม่กำจัดขนเลยในการส่งผลต่อการเกิดกลิ่นตัว ทำการทดลองในผู้ชาย Caucasian อายุ ตั้งแต่ 18-49 ปี โดยวิธีการกำจัดขน ได้แก่ เล็มด้วยกรรไกร การเลเซอร์กำจัดขน การแว็กซ์ และไม่มีการกำจัดขน พบว่าการกำจัดขนด้วยวิธีการเลเซอร์และการแว็กซ์ขน สามารถลดการเกิดกลิ่นได้อย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการไม่กำจัดขนออก ดังนั้นการกำจัดขนจึงถือเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยในการลดกลิ่นตัว เนื่องจากขนถือเป็นบริเวณในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และยังหมักหมม กลิ่นและเหงื่อได้อีกด้วย นอกนี้ปัญหาของขนใต้รักแร้ที่สำคัญ คือการที่มีสีขนใต้รักแร้ที่คล้ำ อาจทำให้เกิดความไม่มั่นใจ โดยเฉพาะในเพศหญิงที่มีความใส่ใจในเรื่องความสวยความงาม การที่ขนใต้รักแร้มีสีที่คล้ำนั้น เกิดได้จากหลายปัจจัยเช่น การแพ้สารเคมี น้ำหอม สารกันเสีย หรือยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียบางชนิด ทำให้เกิดการระคายเคืองผิว เกิดการกระตุ้นการสร้างเม็ดสี และทำให้เกิดรอยดำตามมา หรือเกิดจากการเสียดสีของขนใต้รักแร้

5. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์⁽⁶⁸⁾

Antibacterial activity หรือ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ หมายถึง ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือฆ่าจุลินทรีย์ การทดสอบความไวในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรตาม the national committee for clinical laboratory standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิด ของเชื้อ รวมทั้งปัจจัยต่าง ๆ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น รวมทั้งการอ่าน และการแปลผล เพื่อให้สามารถอ่าน และการแปลผลถูกต้อง โดยกำหนดการแปลผลดังนี้

minimal inhibitory concentration (MIC) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ และ minimal lethal concentration (MLC) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อได้ หรือ minimal bactericidal concentration (MBC) ซึ่งเป็นค่าที่เฉพาะเจาะจงกว่า โดย MIC จะทำการเจือจางสารสมุนไพร ให้มีความเข้มข้นต่างกันไม่เกิน 1 หรือ 2 ความเข้มข้น ($MLC/MIC \leq 4$) ซึ่งการเลือกรูปแบบ และวิธีการทดสอบมีปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึง ก็คือ ลักษณะของงาน ชนิดของเชื้อทดสอบ จำนวนเชื้อทดสอบ ชนิดของยาทดสอบและจำนวนยาทดสอบ โดยวิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อยา มีวิธีการหลักอยู่ 2 รูปแบบ ได้แก่ dilution susceptibility test และ agar diffusion test

5.1 Dilution susceptibility test หรือ การทดสอบ MIC เป็นการทดสอบเชิงปริมาณเพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ทำลายเชื้อได้ รวมทั้งเชื้อชนิด anaerobe แบ่งเป็น

5.1.1 Broth dilution test เป็นการทดสอบที่สามารถทราบได้ทั้ง MIC และ MBC ของสมุนไพรนั้น ๆ วิธีการคือ จะทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีสารสกัดสมุนไพรผสมอยู่ โดยหากทำการทดลองในหลอดทดลอง จะเรียกว่า macrodilution วิธีการทำคือ เจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) ในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า ไปเรื่อย ๆ จนปริมาตรสุดท้ายในหลอด เท่ากับ 0.5 มล. และต้องมีหลอดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพรด้วย แต่หากทำใน microtiter plate 96-well จะเป็นการทดลองชนิด microdilution ทำการเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 2 เท่าเช่นเดียวกัน และให้มีหลอดควบคุมเป็น broth ที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพรด้วย ให้ในแต่ละหลุมมีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร อ่านค่า MIC ด้วยการดูความขุ่นด้วยตาเปล่า หรือจะใช้สารที่สามารถบ่งชี้ การเจริญเติบโตของเชื้อร่วมด้วยก็ได้ เช่น tetrazolium dye ได้แก่ tetrazolium red, thiazolyl blue หรือ *p*-lodonitrotetrazolium violet (INT) ซึ่ง INT จะรวดเร็วและมีความแม่นยำมากที่สุด

5.1.2 Agar dilution test

หลักการทดสอบคล้ายกับ broth dilution method ต่างกันตรงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะทำการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้นและถาดเชื้อลงบน อาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ สามารถหาค่า MIC ได้ แต่ไม่สามารถหา MLC ได้ วิธีการทำคือ นำ stock solution มาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ความเข้มข้นเป็น 10 เท่า ของความเข้มข้น

ที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ใน agar medium ซึ่งหลอมไว้ (45-50 °C) ส่วนการเตรียม ขนาดเชื้อ ด้วยวิธีการเดียวกับที่ทำใน broth dilution test แต่เจือจางขนาดเชื้อ ลงให้ได้ ขนาดเชื้อซึ่งเมื่อแต่ละลงบน agar แล้วให้ได้เชื้อประมาณ 1×10^4 ตัวต่อจุดเมื่อแต่ละเชื้อลงบน agar ทดสอบแล้วต้องทิ้ง ให้ซึมหมด ก่อนคำว่า plate นำไปบ่มที่ 35-37 °C นาน 16-20 ชั่วโมง (เชื้อที่เจริญช้าอาจให้นานมากกว่า 48 ชั่วโมง) แล้วอ่านค่า MIC ที่ความเข้มข้นที่จะ ต้องไม่มีเชื้อขึ้นเลย

5.2 Agar diffusion test (disc diffusion test และ hole-plate diffusion)

เตรียมเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว วัดความเข้มข้นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อ แบคทีเรียที่เหมาะสมจากนั้น spread เชื้อบน Mueller-Hinton agar และนำกระดาษกรองปลอดเชื้อ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. ในสารละลายสกัดสมุนไพรวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรทำกลุ่มควบคุม คือ กระดาษ กรองปลอดเชื้อที่จุ่มในตัวทำละลายสมุนไพรด้วย หยดสารละลายสมุนไพรลงไป ประมาณ 40 μ L/หลุม บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกที่ใช้ disc ยาปฏิชีวนะที่ทราบปริมาณยาที่แน่นอน การแปลผลของวิธีนี้ จะสามารถบอกได้เพียงว่าสมุนไพรที่ความเข้มข้นนั้น ๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มาก หรือน้อยตามขนาดของบริเวณใสเท่านั้น และอาจใช้การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญของเชื้อที่เกิดจากยาปฏิชีวนะมาตรฐานได้ วิธีการทดสอบ microbicidal activity มักทำต่อจาก MIC โดยนำความเข้มข้นที่มากกว่า MIC ขึ้นไป นำมา streak ลงบน agar plate จากนั้นนำไปบ่ม โดยผลจะต้องไม่มีเชื้อขึ้นเลยหรือเกือบไม่มีเลย (99.9% ของเชื้อถูกฆ่า)

5.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดชะเอมเทศต่อเชื้อ *S. aureus* ที่เจริญ แบบอิสระโดยใช้วิธี disc diffusion method และทดสอบเชื้อ *S. aureus* ที่เจริญแบบไบโอฟิล์ม ด้วยวิธี macrobroth dilution method เพื่อหา MIC และ MBC เปรียบเทียบกับยา vancomycin พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.78 mg/mL ทำให้เกิดโซนยับยั้ง (inhibition zone) เท่ากับ 6.15 และ 0.05 mm ค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.78 mg/mL และ 1.56 mg/mL ตามลำดับ การทดสอบการทำลายเชื้อในไบโอฟิล์ม ใช้สารสกัดชะเอมเทศความเข้มข้น 50 mg/mL ไม่สามารถทำลายเชื้อได้หมด แต่ให้ผลใกล้เคียงกับการใช้ยา vancomycin 0.03 mg/mL ⁽⁶⁹⁾

6. ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายและรูปแบบผลิตภัณฑ์ในปัจจุบัน

6.1 ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายและรูปแบบผลิตภัณฑ์ในปัจจุบัน ⁽⁷⁰⁾

6.1.1 ผลิตภัณฑ์ลดเหงื่อ (Antiperspirant) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำขึ้นสำหรับใช้กับรักแร้ ฝ่ามือ ฝ่าเท้า หรือบริเวณอื่น ๆ ของร่างกายเพื่อลดเหงื่อ มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ สารลดเหงื่อ เช่น อะลูมิเนียมคลอโรไฮเดรต สารประกอบเชิงซ้อน อะลูมิเนียมคลอโรไฮเดรตซ์ พอลิเอทิลีนไกลคอล สารเคมีเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับรูขุมขนเพื่อระงับการทำงานของต่อมเหงื่อทำให้ได้วงแขนแห้งขึ้น

6.1.2 ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย (Deodorant) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำขึ้นสำหรับใช้กับรักแร้ ฝ่ามือ ฝ่าเท้า หรือบริเวณอื่นๆของร่างกายเพื่อระงับกลิ่นกาย โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ สารระงับกลิ่นกาย เช่น ไตรโคซาน สารระงับการเกิดกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย โดยโรลออนชนิดนี้ มักจะมีส่วนผสมของสารป้องกันแบคทีเรียและน้ำหอมผสมอยู่

6.1.3 ผลิตภัณฑ์ลดเหงื่อและระงับกลิ่นกาย (Antiperspirant and deodorant) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำขึ้นสำหรับใช้กับรักแร้ ฝ่ามือ ฝ่าเท้า หรือบริเวณอื่น ๆ ของร่างกายเพื่อลดเหงื่อ และระงับกลิ่นกาย ซึ่งเป็นการผสมผสานของสารลดการขับเหงื่อและสารระงับกลิ่นกายเข้าไว้ด้วยกัน

7. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเซรั่ม

ผลิตภัณฑ์เซรั่ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทหนึ่งซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่เข้มข้น เนื้อจะเป็นเจลหรือเป็นอิมัลชันก็ได้ เนื้อสัมผัสแต่ละตัวจะต่างกันไปแล้วแต่สารออกฤทธิ์ สามารถซึมผ่านผิวหนังชั้นนอกลงไปสู่ผิวหนังชั้นในโดยทำปฏิกิริยากับเซลล์ผิวหนังชั้นแท้ ทำให้ชุ่มชื้น ใสตึง กระชับ ไม่มัน โดยไม่มีผลข้างเคียงใด ๆ ซึ่งบางตำราอาจจัดอยู่ในเวชสำอาง เนื้อเซรั่ม ประกอบด้วย ซิลิโคน น้ำ เป็นองค์ประกอบหลัก สารบัฟเฟอร์ (buffering agent) ได้แก่ sodium citrate, boric acid เป็นต้น รวมทั้งพอลิเมอร์ (polymer) เป็นสารเพิ่มความหนืด ได้แก่ poloxamer 188, sodium alginate, gelatin, carbomer เป็นต้น และสารสำคัญต่าง ๆ ที่ออกฤทธิ์ในด้านการรักษาบำรุง และเพื่อเพิ่มความสวยงาม ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์จะคล้ายกับเจลที่สามารถระเหยไ การซึมลงสู่ผิวหนังใกล้เคียงกับเจล

7.1 ข้อดีของเซรั่ม⁽⁷¹⁾ คือ สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้อย่างรวดเร็ว เนื้อสัมผัสบางเบา และไม่หลงเหลือความมันลื่นบนผิวหนัง มีสารสำคัญออกฤทธิ์ได้ในปริมาณที่สูง และออกฤทธิ์ได้หลายวัตถุประสงค์ ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังชั้นลึกได้ และให้ความชุ่มชื้น สามารถออกฤทธิ์ และได้ผลลัพธ์ทางด้านประสิทธิภาพของสารสำคัญได้อย่างรวดเร็ว

7.2 การทดสอบความคงตัวของเซรั่ม โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่ ทางกายภาพและเคมี

7.2.1 การทดสอบทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความหนืด มีหน่วยเป็นเซนติพอยต์ (cP) โดยใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์วัด ได้แก่ เครื่องวัดค่าความหนืดแบบด้านการหมุน (Rotational Brookfield) การใช้สายตาสังเกต และต้องไม่มีหรือมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ตามที่กำหนด

7.2.2 การทดสอบทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในตำรับโดยใช้ pH meter ในการวัด การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธี heating and cooling cycle (4 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในเครื่องทำความเย็น สลับกับ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในเครื่อง incubator⁽⁷²⁾

บทที่ 3

วิธีการดำเนินวิจัย

1. อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.1 อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี

- 1.1.1 กล้องจุลทรรศน์ (Nikon ECLIPSE E200, USA)
- 1.1.2 High speed multi-function mill (ARTC, China)
- 1.1.3 Rotary evaporator (IKA VC10, Germany)
- 1.1.4 Freeze dry (CHRIST, Germany)
- 1.1.5 HPLC (SHIMADZU, Japan)
- 1.1.6 pH meter (METTLER TOLEDO, Singapore)
- 1.1.7 Microplate reader (FLUOstar Omega, Singapore)
- 1.1.8 Hot air oven (Memmert, Germany)
- 1.1.9 รากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) (ร้านขายยาศรีทองโฮสอ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี)
- 1.1.10 Iodine water
- 1.1.11 Phloroglucinol solution
- 1.1.12 95% Ethanol (RCI Labscan, Thailand)
- 1.1.13 Methanol (Honeywell, Korea)
- 1.1.14 Glabridin 4.5% (MySkinRecipes, Thailand)
- 1.1.15 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Tokyo Chemical Industry)
- 1.1.16 L-ascorbic acid 5 mg/10 mL (TCI, Japan)
- 1.1.17 Quercetin (Tokyo Chemical Industry)
- 1.1.18 Gallic acid (Tokyo Chemical Industry)
- 1.1.19 10% $AlCl_3$ (KEMAUS, Australia)
- 1.1.20 Carbopol Ultrez 21 (MySkinRecipes, Thailand)
- 1.1.21 Carbomer 940 (MySkinRecipes, Thailand)
- 1.1.22 Propylene glycol (KC, Thailand)

- 1.1.23 Phenoxyethanol (MySkinRecipes, Thailand)
- 1.1.24 Triethanolamine (MySkinRecipes, Thailand)
- 1.1.25 Kojic acid (ACROS, UK)
- 1.1.26 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck, Germany)
- 1.1.27 50% DMSO
- 1.1.28 Tyrosinase enzyme
- 1.1.29 Phosphate buffer
- 1.1.30 L-DOPA

2. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

2.1 วิธีการตรวจเอกลักษณ์ผงรากชะเอมเทศโดยใช้กล้องจุลทรรศน์⁽⁷³⁾

- 2.1.1 ตักผงรากชะเอมเทศกระจายตัวในน้ำกลั่น จากนั้นเลือกผงรากชะเอมเทศวางลงบนแผ่นสไลด์เล็กน้อย กระจายผงรากชะเอมเทศด้วยเข็มเข็ม
- 2.1.2 หยดน้ำกลั่นลงบนผงรากชะเอมเทศ 1-2 หยด
- 2.1.3 ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover slip) โดยวางขอบด้านหนึ่งทำมุมกับแผ่นสไลด์ 60° โดยให้ขอบแผ่นปิดสไลด์สัมผัสกับสารละลาย จากนั้นค่อย ๆ ปล่อยปิดสไลด์ลงช้า ๆ เพื่อไล่ฟองอากาศหากยังมีฟองอากาศให้ใช้แท่งแก้วคนกวดเบา ๆ บนกระจกปิดสไลด์ ใช้กระดาษทิชชูซับสารละลายที่ล้นออกมาจากส่วนของกระจกปิดสไลด์
- 2.1.5 นำตัวอย่างผงรากชะเอมเทศที่เตรียมได้ไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์
- 2.1.6 สังเกตลักษณะเนื้อเยื่อที่พบ
- 2.1.7 เปลี่ยนน้ำยาย้อมผงรากชะเอมเทศจากน้ำกลั่นเป็น iodine water และ phloroglucinol solution แล้วทำตามขั้นตอนข้างต้น

2.2 วิธีสกัดสารจากรากชะเอมเทศ

- 2.2.1 บดรากชะเอมเทศ 500 กรัมด้วยเครื่อง high speed multi-function mill
- 2.2.2 ชั่งรากชะเอมเทศบดละเอียด น้ำหนัก 5 กรัม (เทคนิค 4 ตำแหน่ง)
- 2.2.3 ผสมผงรากชะเอมเทศในตัวทำละลายโดยใช้อัตราส่วนผงรากชะเอมเทศ 5 กรัม ต่อตัวทำละลาย 95% ethanol⁽⁵⁹⁾ 25 มิลลิลิตร

- 2.2.4 ปิดปากปิกเกอร์ด้วยพาราฟิล์ม
- 2.2.5 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 60 นาที ^(55, 74)
- 2.2.6 กรองสารสกัดด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ผ่าน Büchner funnel
- 2.2.7 นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator จนไม่เหลือตัวทำละลาย ethanol
- 2.2.8 นำไประเหยแห้งด้วย freeze dryer ให้แห้งสนิท
- 2.2.9 นำไปชั่งหาปริมาณน้ำหนักสารสกัดแห้ง
- 2.2.10 คำนวณหา %yield จากสมการ

$$\%yield = (\text{น้ำหนักสารสกัดแห้ง} / \text{น้ำหนักของผงรากชะเอมเทศก่อนการสกัด}) \times 100$$

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ

- 2.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐาน glabridin
 - 1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน glabridin ความเข้มข้น 0.5 mg/mL โดยนำสารมาตรฐาน glabridin ความเข้มข้น 4.5% w/v ปริมาตร 56 μ L ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วย methanol
 - 2) เจือจางสารละลายมาตรฐานให้ได้ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 mg/mL ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
 - 3) นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะดังนี้ ⁽⁵⁵⁾
 Injection volume: 20 μ L
 Stationary phase: C18 reversed-phase column (VertiSep™ GES HPLC column, 4.6 x 150 mm, 5 μ m)
 Mobile phase: methanol-water (70:30 % v/v, containing 0.1% TFA)
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Temperature: room temperature
 Wavelength of UV-detector: 254 nm
 สร้างกราฟมาตรฐานโดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของ glabridin และพื้นที่ใต้กราฟ
- 2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสาร glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ
 - 1) ชั่งสารสกัดรากชะเอมเทศ 0.5 g ละลายใน methanol ให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/mL
 - 2) นำไปกรองผ่าน nylon syringe filter ขนาด 0.45 μ m

- 3) วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะในข้อ 2.3.1
- 4) คำนวณหาปริมาณสาร glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ⁽⁷⁵⁾

- 2.4.1 เตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่ง DPPH 6.6 mg ผสมใน ethanol 100 mL
- 2.4.2 เตรียมสารมาตรฐาน ascorbic acid 0.5 mg/mL ใน absolute ethanol ให้ได้ 8 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.30 และ 0.5 mg/mL
- 2.4.3 ปิเปตสารละลายและ reagent ลงใน 96-well microplate ดังนี้
 - 1) Positive control : DPPH 180 μ L + ethanol 20 μ L
 - 2) Sample standard : ascorbic acid 20 μ L + DPPH 180 μ L
 - 3) Blank : ascorbic acid 20 μ L + EtOH 180 μ L
- 2.4.4 Incubate ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
- 2.4.5 นำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 520 nm
- 2.4.6 คำนวณหา DPPH scavenging ตามสูตร $(A_c - A_s) / A_c \times 100$
 เมื่อ A_c คือ การดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ทำปฏิกิริยาทั้งหมด ยกเว้นสารตัวอย่าง หรือสารมาตรฐาน และ A_s คือ การดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง หรือสารมาตรฐาน
- 2.4.7 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ %DPPH scavenging คำนวณหา ค่า half-maximum inhibition concentration (IC_{50})
- 2.4.8 เตรียมสารตัวอย่าง stock solution 10 mg/mL แล้ว dilute ให้ได้ 8 ความเข้มข้น คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 mg/mL
- 2.4.9 ปิเปตสารละลายและ reagent ลงใน 96 micro well plate ดังนี้
 - 1) Positive control : DPPH 180 μ L + ethanol 20 μ L
 - 2) Sample : sample 20 μ L + DPPH 180 μ L
 - 3) Blank : sample 20 μ L + ethanol 180 μ L
- 2.4.10 ทำการทดลองเหมือนข้อ 2.4.4 - 2.4.7

2.5 การทดสอบหาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ในสารสกัดรากชะเอมเทศ ⁽⁷⁶⁾

- 2.5.1 เตรียม stock solution สารมาตรฐาน quercetin ให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/mL และ dilute ให้ได้ 8 ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานดังนี้ 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, และ 100 μ g/mL

- 2.5.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/mL
- 2.5.3 ปิเปตสารละลายและ reagent ลงใน 96-micro well plate ดังนี้
- 1) Control : ethanol 50 μ L + 10% AlCl₃ 10 μ L + 95% ethanol 150 μ L + 1 M sodium acetate 10 μ L
 - 2) Standard : สารมาตรฐาน 50 μ L + 10% AlCl₃ 10 μ L + 95% ethanol 150 μ L + 1 M sodium acetate 10 μ L
 - 3) Sample : sample 50 μ L + 10% AlCl₃ 10 μ L + 95% ethanol 150 μ L + 1 M sodium acetate 10 μ L
 - 4) Blank sample : sample 50 μ L + 95% ethanol 170 μ L
 - 5) Blank std : std 50 μ L + 95% ethanol 170 μ L
- 2.5.4 ผสมสารละลายให้เข้ากันดีแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 40 นาที
- 2.5.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 415 nm ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
- 2.5.6 คำนวณปริมาณมิลลิกรัมของ quercetin ที่เทียบเท่ากับกรัมของสารสกัด (mg QE/g) โดยใช้กราฟมาตรฐาน

2.6 การทดสอบปริมาณ total phenolic ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent ⁽⁷⁷⁾

- 2.6.1 เตรียม stock solution สารมาตรฐาน gallic acid ให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/mL และเจือจางให้ได้ 8 ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานดังนี้ 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 μ g/mL
- 2.6.2 เตรียมสารละลายตัวอย่าง ความเข้มข้น 10 mg/mL
- 2.6.3 ปิเปตสารละลายและ reagent ลงใน 96-well microplate ดังนี้
- 1) Blank control : 20 μ L 95% ethanol + 50 μ L Folin-Ciocalteu's reagent + 80 μ L Na₂CO₃
 - 2) Standard : 20 μ L gallic acid + 50 μ L Folin-Ciocalteu's reagent + 80 μ L Na₂CO₃
 - 3) Samples : 20 μ L sample + 50 μ L Folin-Ciocalteu's reagent + 80 μ L Na₂CO₃
 - 4) Blank sample : 20 μ L sample + 130 μ L 95% ethanol
 - 5) Blank standard : 20 μ L gallic acid + 130 μ L 95% ethanol
- 2.6.4 ผสมสารละลายให้เข้ากันดีแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที

- 2.6.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 765 nm ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ
- 2.6.7 นำมาคำนวณปริมาณมิลลิกรัมของ gallic acid ที่เทียบเท่ากับกรัมของสารสกัด (mg GAE/g) โดยใช้กราฟมาตรฐาน

2.7 Antibacterial activity test ⁽⁷⁸⁾

- 2.7.1 ปรับความเข้มข้นเชื้อ *S. aureus* ให้มีค่าเท่ากับ McFarland standard no. 0.5 (1×10^8 CFU) ด้วยเครื่อง Densitometer (DEN-1, Labnet international, Latvia)
- 2.7.2 ใช้ sterile cotton swab จุ่มลงในหลอดตัวอย่างเชื้อบิดปลายสำลึกับข้างหลอดทดลอง เพื่อกำจัดเชื้อส่วนเกินออกไป
- 2.7.3 ป้ายเชื้อทดสอบลงบนผิวหน้า MH agar ถี ๆ ให้ทั่วทั้ง 3 ระบาย วางจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอจนกระทั่งผิวหน้าอาหารแห้ง แต่ไม่เกิน 15 นาที
- 2.7.4 ใช้ปากคีบปลายแหลม จุ่ม 70% แอลกอฮอล์ ลนไฟรอจนกระทั่งปากคีบเย็นดีแล้วจึงคีบ antibiotic disc ชนิดต่าง ๆ วางลงบนผิวหน้าอาหาร (เว้นระยะห่างระหว่างแผ่นดิสก์ และระยะห่างระหว่างขอบจานให้เหมาะสม) กดเบา ๆ ด้วยปากคีบให้แผ่นดิสก์แนบติดกับผิวหน้าอาหาร ให้เสร็จภายใน 15 นาที
- 2.7.5 อบจานอาหารที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้วยไม้บรรทัดของบริเวณที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ หน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.8 Antityrosinase activity test ⁽⁷⁹⁾

- 2.8.1 เตรียมสารตัวอย่างใน 50% DMSO โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 30 mg/mL
- 2.8.2 นำสารตัวอย่าง ปริมาตร 20 μ L ผสมกับ mushroom tyrosinase 50 μ L (ความเข้มข้นเอนไซม์สุดท้ายคือ 500 U/mL) จากนั้นใส่ 80 μ L ของ 20 mM phosphate buffer (pH 6.8) ทำการทดลองใน 96 micro well plate
- 2.8.3 บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที
- 2.8.4 เติมสารละลาย 0.85 mM L-DOPA ปริมาตร 50 μ L และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 20 นาที
- 2.8.5 นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 nm ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้ kojic acid เป็น positive control เตรียมความเข้มข้นทั้งหมด 8 ความเข้มข้นได้แก่ 0.50, 0.25, 0.13, 0.06, 0.031, 0.016, 0.0078 และ 0.0039 mg/mL ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.8.6 นำไปคำนวณ %inhibition ดังสมการ

$$\%inhibition = [(A_{control} - (A_{sample} - A_{blank}))/A_{control}] \times 100$$

โดย $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของ control ที่ไม่ใส่ kojic acid

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของ sample หรือ kojic acid

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของ sample หรือ kojic acid ที่ไม่ใส่เอนไซม์ tyrosinase

2.9 การตั้งตำรับ⁽⁷²⁾

ตำรับเซิร์มสำหรับการศึกษานี้มีส่วนประกอบดังตารางที่ 4 มีขั้นตอนการเตรียมดังต่อไปนี้

2.9.1 แบ่งน้ำออกเป็น 3 ส่วนใส่ลงในบีกเกอร์ นำบีกเกอร์ที่ 1 ใส่ น้ำ เพื่อละลาย carbopol ultrez 21/carbopol 940 พร้อมกับคนจนพองตัวสมบูรณ์

2.9.2 เติม propylene glycol และน้ำที่ซังไว้ ลงบีกเกอร์ที่ 2 จากนั้นคนผสมให้เข้ากัน

2.9.3 เติม phenoxyethanol 1% และน้ำที่ซังไว้ ลงบีกเกอร์ที่ 3 จากนั้นคนผสมให้เข้ากัน

2.9.4 นำสารละลายในบีกเกอร์ที่ 2 และ 3 ผสมลงในบีกเกอร์ที่ 1 แล้วเติมสารสกัดรากชะเอมเทศที่ละลายด้วย 95% ethanol จากนั้นคนผสมจนละลายหมด

2.9.5 จากนั้นปรับความเป็นด่างให้แก่ตำรับด้วย triethanolamine ให้มีค่า pH ช่วง 5.5 - 6.5 ตารางที่ 4 แสดงส่วนประกอบของเซิร์มสารสกัดชะเอมเทศ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	หน้าที่ในตำรับ
<i>Glycyrrhiza glabra</i> extract	10 %w/w ⁽²⁹⁾	Active ingredient
Carbopol Ultrez 21 /Carbopol 940	0.1 - 0.5 %w/w	Gelling agent
Propylene glycol	6 mL	Humectant
Phenoxyethanol	1 mL	Preservative
95% ethanol	5.00 mL	Viscosity decreasing agent
Water	q.s. to 100 mL	Vehicle
Triethanolamine	-	pH adjustment

2.10 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของเซรั่ม⁽⁷²⁾

- 2.10.1 ทดสอบความคงตัวของเซรั่มในสภาวะเร่ง โดยใช้วิธี heating-cooling cycle โดยนำตำรับเซรั่มใส่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 cycle ทำการทดสอบทั้งหมด 6 cycles
- 2.10.2 ทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิ 4 °C, 45 °C และอุณหภูมิห้องในที่มืดและที่สว่าง เป็นเวลา 3 สัปดาห์
- 2.10.3 ทำการประเมินลักษณะทางกายภาพ โดยสังเกตการตกตะกอน สี และกลิ่นของตำรับ
- 2.10.4 วัดความเป็นกรด-ด่างของเซรั่มสารสกัดรากชะเอมเทศด้วย pH meter ตัวอย่างละ 3 ซ้ำทั้งก่อนและหลังกระบวนการทดสอบความคงตัว

บทที่ 4

ผลการวิจัย

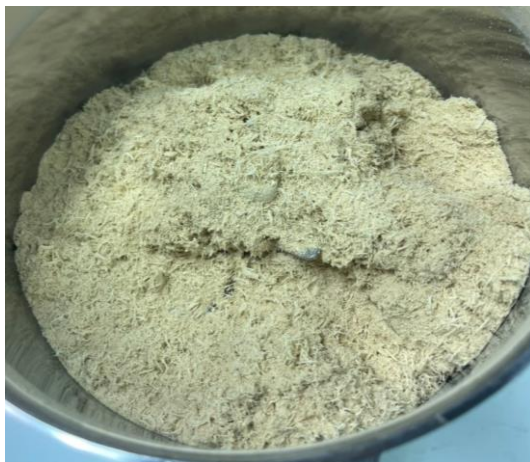
1. ผลการตรวจเอกลักษณ์ผงรากชะเอมเทศ

1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ

การศึกษารากชะเอมเทศซึ่งมาในรูปแบบตัดแว่น เปลือกหุ้มรากด้านนอกสีน้ำตาลอมแดง เนื้อรากด้านในมีสีเหลืองอ่อนและมีลายเป็นวง ดังรูปที่ 8 เมื่อนำมาปั่นบดลดขนาดจะมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองครีม ดังรูปที่ 9



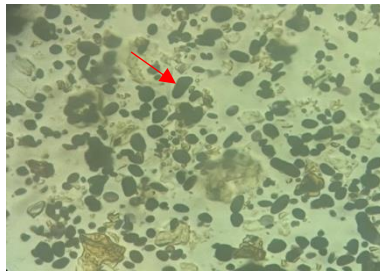
รูปที่ 8 ลักษณะรากชะเอมเทศ



รูปที่ 9 ลักษณะรากชะเอมเทศหลังปั่นบดลดขนาด

1.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยการส่องกล้องจุลทรรศน์

นำผงรากชะเอมเทศมาศึกษาคุณลักษณะเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เทียบกับการศึกษาของ Kumar และคณะ (2022) เมื่อย้อมตัวอย่างด้วย iodine water พบเมล็ดแป้ง (starch grains) จำนวนมากดังรูปที่ 10 เมื่อย้อมตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นพบกลุ่มของไฟเบอร์ (group of fibers) ดังรูปที่ 11 ผลึกแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate prisms) ดังรูปที่ 12 และ large vessels ดังรูปที่ 14 แต่เมื่อย้อมด้วย phloroglucinol solution เพื่อดูการติดสีของผนังเซลล์ที่มีลิกนินเป็นส่วนประกอบซึ่งไม่พบการติดสีของลิกนิน ดังรูปที่ 13



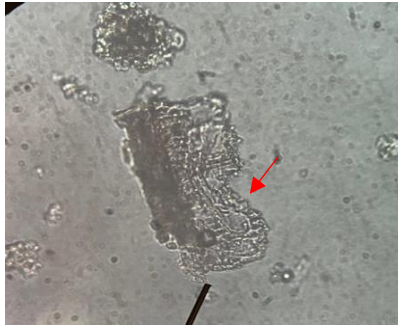
รูปที่ 10 Starch grains



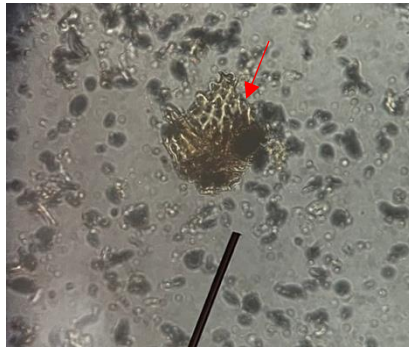
รูปที่ 11 Group of fibers



รูปที่ 12 Calcium oxalate prisms



รูปที่ 13 Thin walled parenchyma



รูปที่ 14 Large vessels

2. ผลการสกัดรากชะเอมเทศ

สารสกัดรากชะเอมเทศมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองน้ำตาลอ่อน (รูปที่ 15) มีกลิ่นหอมของไม้รากชะเอมเทศ เมื่อทำการสกัดด้วย 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:5 พบว่าได้ %yield เท่ากับ 10.45%



รูปที่ 15 ลักษณะสารสกัดรากชะเอมเทศ

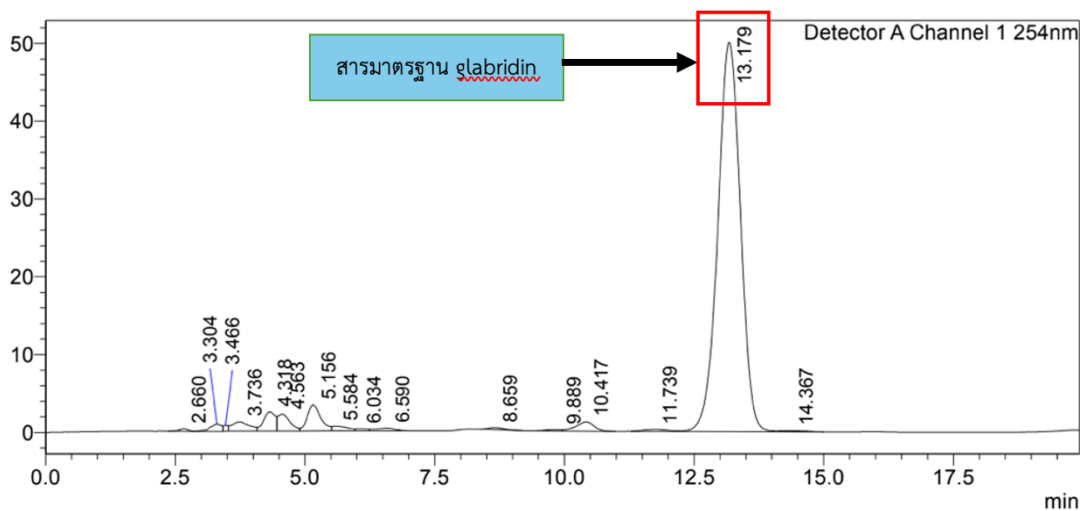
3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ glabridin ด้วยเทคนิค HPLC

ในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ พบว่าสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ กำหนดให้ mobile phase ได้แก่ methanol และน้ำ ผสมกับ 0.1% TFA อัตราส่วน 70:30 โดยใช้ระบบ gradient elution ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราส่วน mobile phase ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ glabridin

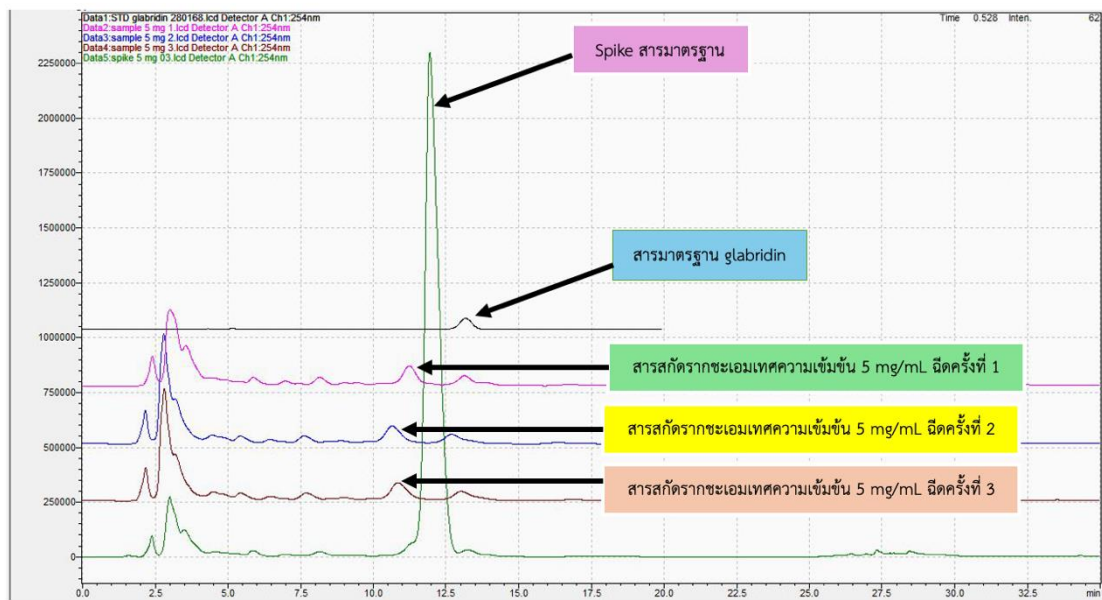
เวลา (นาที)	อัตราส่วน mobile phase (methanol : น้ำ)
0.00-15.00	70 : 30
15.00-35.00	100 : 0

และจากผลการศึกษาพบว่าสารมาตรฐาน glabridin ปรากฏพีคที่ retention time เท่ากับ 13.179 นาที ดังรูปที่ 16



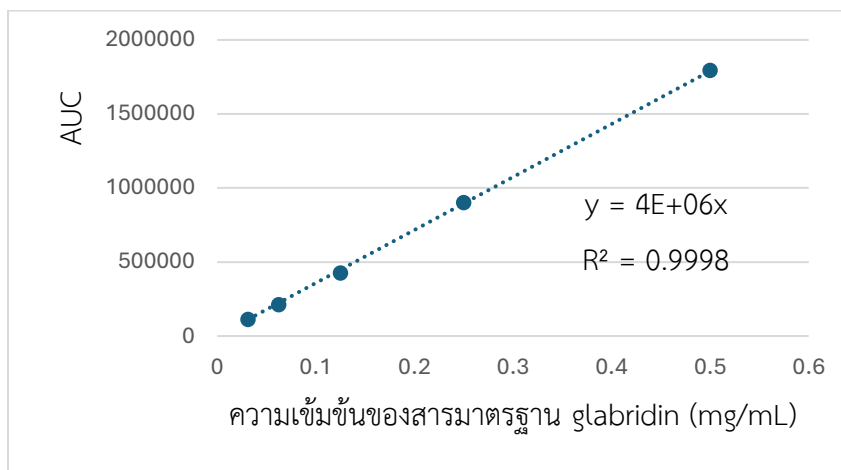
รูปที่ 16 Chromatogram ของสารมาตรฐาน glabridin

เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ chromatogram ของสารสกัดรากชะเอมเทศโดยใช้ความเข้มข้น 5 mg/mL และทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ พบว่ามี major peak ของสารสกัดรากชะเอมเทศปรากฏ retention time ที่ 11.237, 10.648 และ 10.853 นาที ตามลำดับ ซึ่งไม่สอดคล้องกับ major peak ของสารมาตรฐาน glabridin จึงทำการ spike สารมาตรฐานเพื่อยืนยัน peak ของ glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศ พบว่า major peak ของสารสกัดรากชะเอมเทศมีลักษณะกราฟที่สูงขึ้นและชัดเจนมากขึ้น ดังรูปที่ 17 ดังนั้นจึงสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า สารสกัดรากชะเอมเทศมีสารสำคัญ glabridin เป็นองค์ประกอบ



รูปที่ 17 chromatogram เปรียบเทียบระหว่าง major peak ของสารสกัดรากชะเอมเทศ

จากนั้นนำสารมาตรฐาน glabridin มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณสาร glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศโดยใช้สารมาตรฐาน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 mg/mL ได้กราฟเส้นตรงที่มีสมการเส้นตรงคือ $y = 4E+06x$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9998 ดังรูปที่ 18 นำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณสาร glabridin ในรากชะเอมเทศความเข้มข้น 5 mg/mL โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จากผลการทดลองจะได้ค่า area under the curve (AUC) เฉลี่ย คือ 3,781,866.667 จากนั้นแทนค่าลงในสมการเส้นตรง พบว่าในสารสกัดรากชะเอมเทศ 5 mg/mL มีปริมาณ glabridin คือ 0.9455 mg/mL

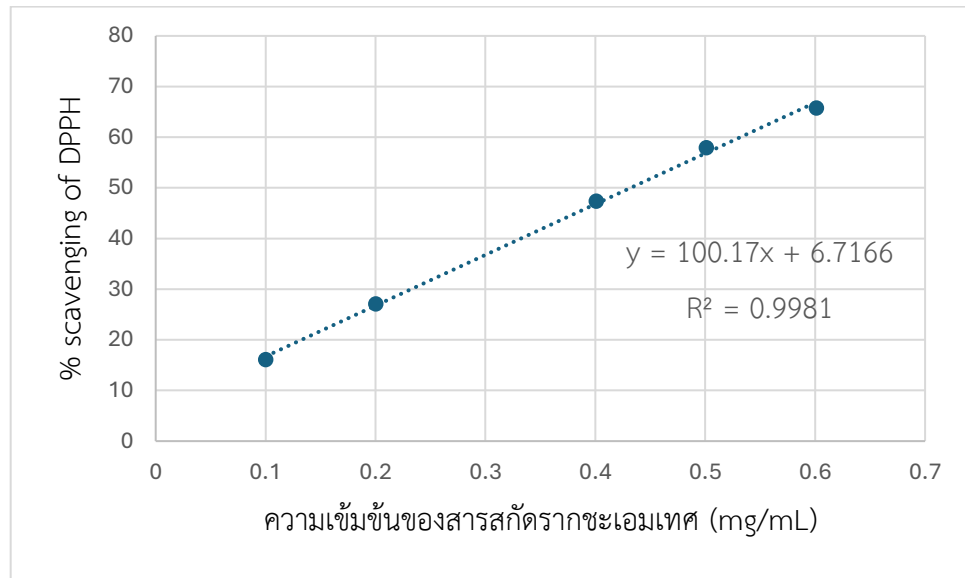


รูปที่ 18 กราฟมาตรฐานสาร glabridin แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟ (AUC)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

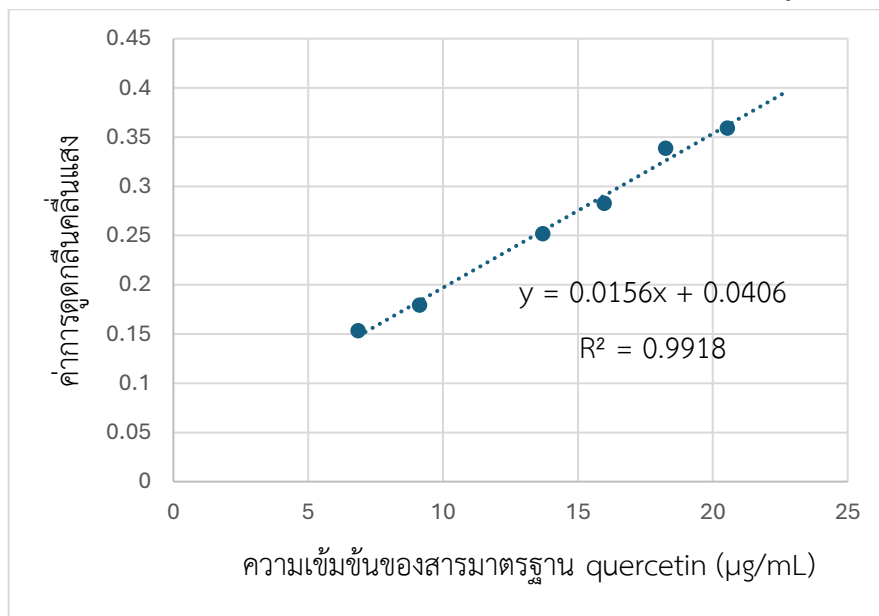
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยศึกษาความเข้มข้น 8 ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 10 mg/mL จากการศึกษาค้นคว้าได้สมการเส้นตรงคือ $y = 100.17x + 6.7166$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9981 จากนั้นนำมาคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดรากชะเอมเทศซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.432 ± 0.0004 mg/mL ดังรูปที่ 19 โดยมี ascorbic acid เป็น positive control มีค่า IC_{50} เฉลี่ยเท่ากับ 0.007 ± 0.0004 mg/mL



รูปที่ 19 กราฟในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดรากชะเอมเทศ

4.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid contents)

การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเพื่อหาปริมาณ total flavonoid contents ของสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยใช้สารมาตรฐาน quercetin นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 20

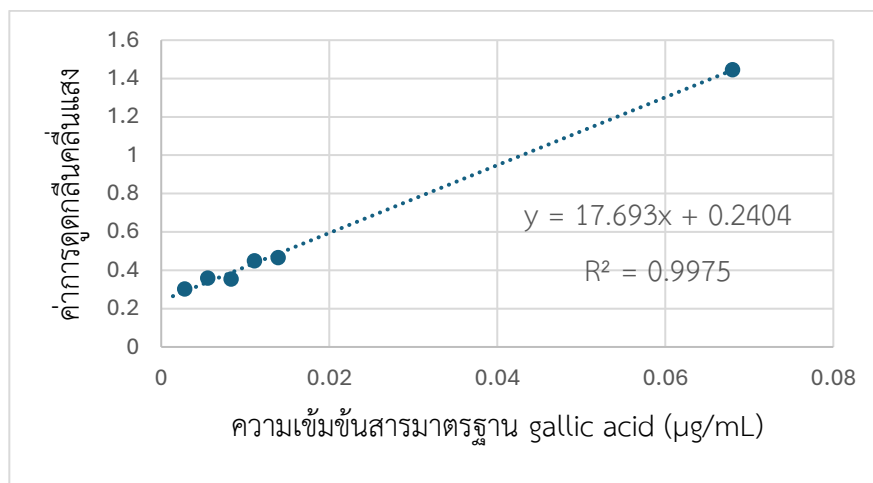


รูปที่ 20 กราฟมาตรฐานสารมาตรฐาน quercetin

จะได้สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0156x + 0.0406$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9918 จากนั้นนำมาคำนวณปริมาณ total flavonoids โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมีปริมาณ total flavonoids 0.72 ± 0.0030 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด (mg QE/g extract)

4.3 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolics contents)

การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเพื่อหาปริมาณ total flavonoid contents ของสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยใช้สารมาตรฐาน gallic acid นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 21



รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานสารมาตรฐาน gallic acid

ได้สมการเส้นตรง คือ $y = 17.693x + 0.2404$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9975 จากนั้นนำมาคำนวณ ปริมาณ total phenolic โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมีปริมาณ total phenolic คือ 0.38 ± 0.0016 มิลลิกรัมสมมูลของแกลลิกเอซิดต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

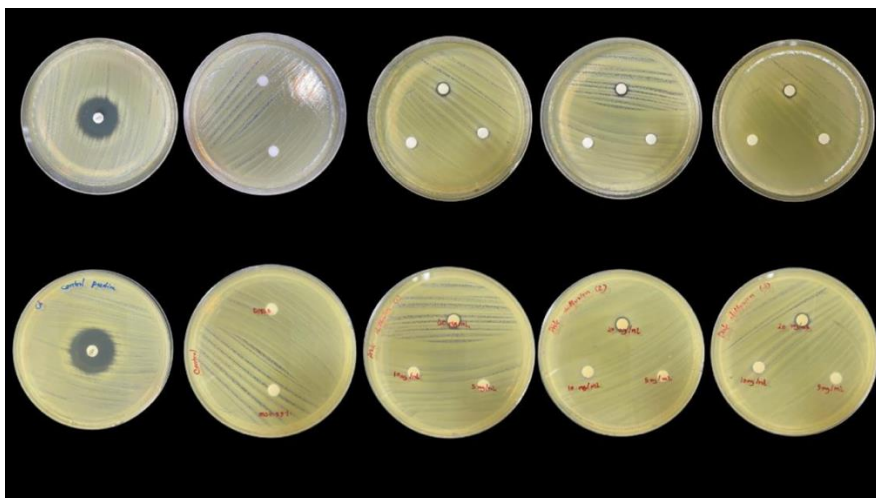
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion จำนวน 3 ความเข้มข้นได้แก่ 20, 10 และ 5 mg/mL พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 20 mg/mL มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone เท่ากับ 8 มิลลิเมตร ในขณะที่ความเข้มข้น 10 mg/mL และ 5 mg/mL ไม่ปรากฏ inhibition zone และชุดควบคุม chloramphenicol

มีเส้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone เท่ากับ 25 มิลลิเมตร และไม่ปรากฏ Inhibition zone ในชุดควบคุม DMSO 100% และ NSS 0.85% ดังตารางที่ 6 และรูปที่ 22 ตารางที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone (มิลลิเมตร)

Organism	No. Strains	Control							Test concentration								
<i>S. aureus</i>	ATCC19213	DMSO			NSS			Chlo	20 mg/mL			10mg/mL			5 mg/mL		
		100%			0.85%												
		0	0	0	0	0	0	25	8	8	8	0	0	0	0	0	0

กำหนดให้ Chlo คือ Chloramphenicol

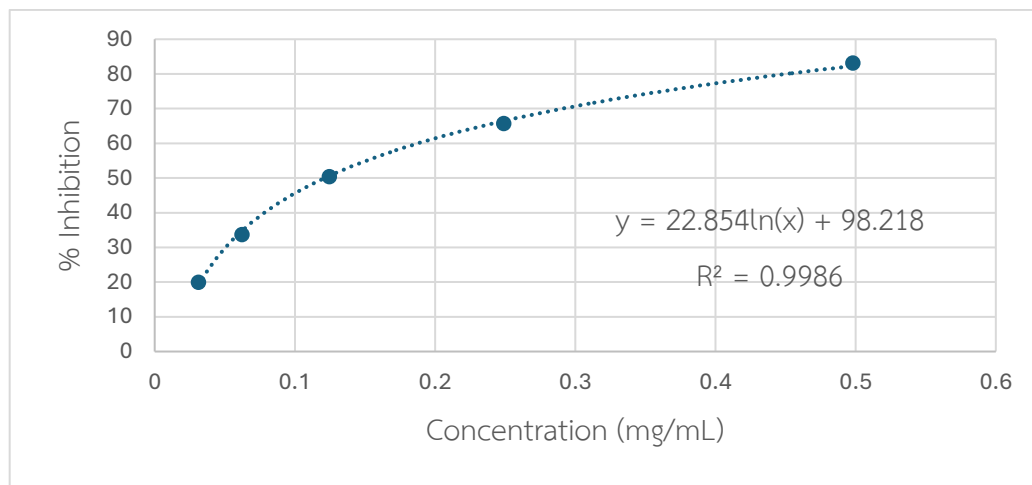


รูปที่ 22 ภาพผลการทดสอบ Disk diffusion

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ antityrosinase activity test

จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยติดตามการดูดกลืนคลื่นแสงของปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่นแสง 492 nm และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณ %inhibition เกลี่ย จากนั้นนำไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน ดังรูปที่ 23 จะได้สมการ คือ $y = 22.854 \ln(x) + 98.218$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9986 แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับ %inhibition เป็นแบบ non-linearity จากนั้นนำสมการดังกล่าวมาคำนวณ %inhibition และค่า IC_{50} ของสารสกัดรากชะเอมเทศ

โดยเมื่อเปรียบเทียบผลความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศกับ สารมาตรฐาน kojic acid ดังตารางที่ 7 พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศ ความเข้มข้น 1.02 mg/mL สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการสร้างเม็ดสี ได้ที่ %inhibition เท่ากับ 32.05 ± 1.05 ดังนั้นในการทดลองจึงเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดรากชะเอมเทศเป็น 3.10 และ 10 mg/mL เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสว่าสัมพันธ์กับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นหรือไม่ โดยพบว่า ความเข้มข้น 3.10 mg/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเพิ่มมากขึ้น ดังรูปที่ 24 โดยจะเห็นได้ว่าการจางลงของเม็ดสีเมลานิน แต่ที่สารสกัดความเข้มข้น 10 mg/mL หลังจากใส่เอนไซม์ไทโรซิเนสแล้วเกิดการตกตะกอน ดังรูปที่ 25 จึงทำให้ไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนคลีนแสงของสารสกัดได้

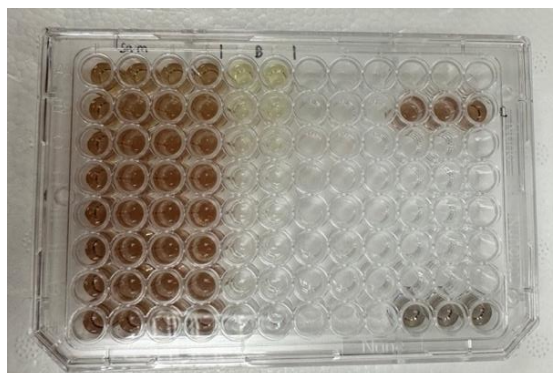


รูปที่ 23 กราฟฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐาน kojic acid

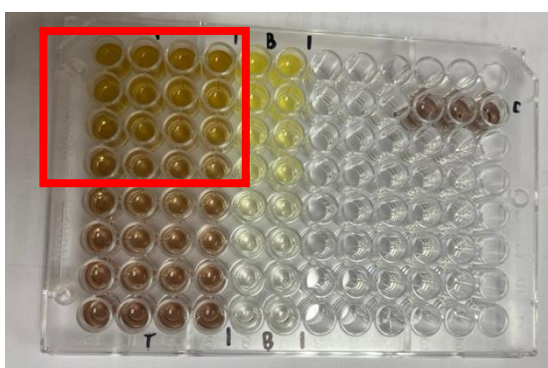
จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยติดตามการดูดกลืนคลีนแสงของปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่นแสง 492 nm และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณ %inhibition เฉลี่ย จากนั้นนำไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานดังรูปที่ 23 จะได้สมการ คือ $y = 22.854\ln(x) + 98.218$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9986 ซึ่งจากรูปที่ 23 แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับ %inhibition เป็นแบบ non-linearity จากนั้นนำสมการดังกล่าวมาคำนวณ %inhibition และค่า IC_{50} ของสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศ

สารทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/mL)	%inhibition	IC ₅₀ (mg/mL)
สารสกัดรากชะเอมเทศ	1.02	32.05 ± 1.05	>3.10
	3.10	47.46 ± 0.43	
	10	-	
Kojic acid	0.498	80.71 ± 1.89	0.12 ± 0.0023
	0.249	68.35 ± 1.87	
	0.1245	49.83 ± 0.43	
	0.06225	32.97 ± 0.55	
	0.031125	20.31 ± 1.68	



รูปที่ 24 ลักษณะการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 3.10 mg/mL ใน 96-well microplate



รูปที่ 25 ภาพการเกิดตะกอนของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 10 mg/mL ใน 96-well microplate

4.5.1 การเตรียมตำรับเซรัมพื้นฐานและการพัฒนาตำรับเซรัมที่มีส่วนผสมจากสารสกัดรากชะเอมเทศ
ตารางที่ 8 ส่วนประกอบและปริมาณสารที่ใช้ในแต่ละสูตรตำรับ

ส่วนประกอบของตำรับ	Formulation							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
สารสกัดรากชะเอมเทศ (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbopol 940 (g)	0.50	0.25	0.13	0.10	-	-	-	-
Carbopol Ultrez 21 (g)	-	-	-	-	0.50	0.25	0.13	0.10
Propylene glycol (mL)	6	6	6	6	6	6	6	6
Phenoxyethanol (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1
95% Ethanol (mL)	5	5	5	5	5	5	5	5
TEA (mL)	qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs
Water qs to (mL)	100	100	100	100	100	100	100	100
pH	6.02	5.83	6.00	6.41	5.85	6.17	6.14	6.34

ส่วนประกอบของตำรับ	Formulation						
	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
สารสกัดรากชะเอมเทศ (g)	0.1	0.1	0.1	0.5	0.5	0.5	1
Carbopol 940 (g)	0.13	-	-	0.13	-	-	-
Carbopol Ultrez 21 (g)	-	0.10	0.13	-	0.10	0.13	0.10
Propylene glycol (mL)	6	6	6	6	6	6	6
Phenoxyethanol (mL)	1	1	1	1	1	1	1
95% Ethanol (mL)	5	5	5	5	5	5	5
TEA (mL)	qs	qs	qs	qs	qs	qs	qs
Water qs to (mL)	100	100	100	100	100	100	100
pH	6.02	6.20	6.06	5.74	6.11	5.87	6.30

จากการพัฒนาตำรับเซรัมพื้นฐานโดยมี carbopol 940 (ตำรับ F1, F2, F3 และ F4) และ carbopol ultrez 21 (ตำรับ F5, F6, F7 และ F8) เป็นสารเพิ่มความหนืดให้กับตำรับ พบว่าตำรับเซรัมที่ใช้ carbopol 940 เมื่อปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมด้วย triethanolamine

คือช่วง pH 5.5-6.5 (ปรับค่า pH ให้ใกล้เคียง 6) ตำรับ F1 เนื้อผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความหนืดมาก และพองตัวเป็นเจลใส เกาผิวได้ดี ไหลได้น้อยดังรูปที่ 26 ตำรับ F2 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยลง จากตำรับ F1 พองตัวเป็นเจลใส เกาผิวได้ดี ไหลได้น้อยดังรูปที่ 27 ตำรับ F3 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืด น้อยกว่าตำรับ F2 พองตัวเป็นเจลใส เกาผิวได้ดี ไหลได้มากขึ้นดังรูปที่ 28 ตำรับ F4 เนื้อผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีความหนืดน้อยที่สุด เกาผิวเล็กน้อย ไหลได้ดีดังรูปที่ 29



รูปที่ 26 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F1



รูปที่ 27 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F2



รูปที่ 28 แสดงลักษณะของเซรั่มตำรับที่ F3



รูปที่ 29 แสดงลักษณะของเซรั่มตำรับที่ F4

ตำรับเซรั่มที่ใช้ carbopol ultrez 21 เมื่อปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ตำรับ F5 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืดมาก พองตัวเป็นเจลขุ่นและจับตัวกันเป็นก้อน เกาะผิวได้ดี ไหลได้น้อยมากดังรูปที่ 30 ตำรับ F6 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยกว่าตำรับ F5 พองตัวเป็นเจล เกาะผิวได้ดี ไหลได้น้อยดังรูปที่ 31 ตำรับ F7 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยกว่าตำรับ F6 พองตัวเป็นเจล เกาะผิวได้เล็กน้อย ไหลได้ดีขึ้นดังรูปที่ 32 ตำรับ F8 เนื้อผลิตภัณฑ์มีความหนืดน้อยที่สุด เกาะผิวได้เล็กน้อย ไหลได้ดีดังรูปที่ 33



รูปที่ 30 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F5



รูปที่ 31 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F6



รูปที่ 32 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F7



รูปที่ 33 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F8

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของสารให้ความหนืดทั้งสองชนิดพบว่า carbopol ultrez 21 ตำรับ F7 และ F8 carbopol 940 ตำรับ F3 มีความหนืดที่เหมาะสมจึงเลือกตำรับเซิร์มพื้นฐานดังกล่าวมาทำการปรับเปลี่ยนสัดส่วนสารสกัดรากชะเอมเทศในตำรับเพื่อหาปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมและมีความคงตัวในตำรับที่ดี

โดยปริมาณของสารสกัดที่ใช้คือ 0.1 g (ตำรับ F9, F10 และ F11) ตำรับ F9 ให้เนื้อผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองใส ไม่ตกตะกอน ดังรูปที่ 34, 35 และ 36 ตามลำดับ ความหนืดในทุกตำรับ ลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับตำรับเซรัมพื้นฐาน



รูปที่ 34 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F9

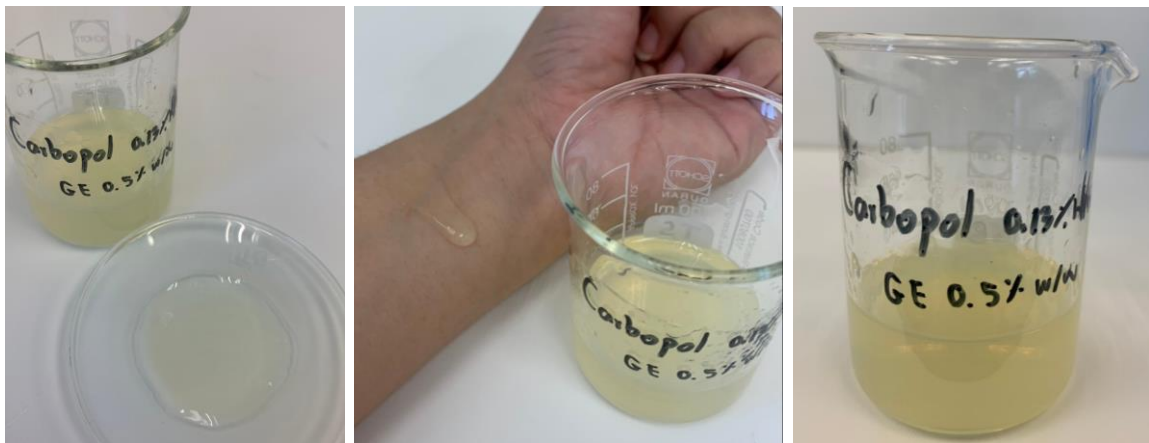


รูปที่ 35 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F10



รูปที่ 36 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F11

ส่วนปริมาณสารสกัด 0.5 g (ตำรับ F12, F13 และ F14) ให้เนื้อผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองเข้มขึ้น ไม่มีการตกตะกอน ดังรูปที่ 37, 38 และ 39 ตามลำดับ ความหนืดในทุกตำรับลดลงเมื่อเทียบกับตำรับเซรัมพื้นฐาน และหนืดน้อยกว่าตำรับเซรัมที่มีสารสกัด 0.1 g



รูปที่ 37 แสดงลักษณะของเซรัมตำรับที่ F12



รูปที่ 38 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F13

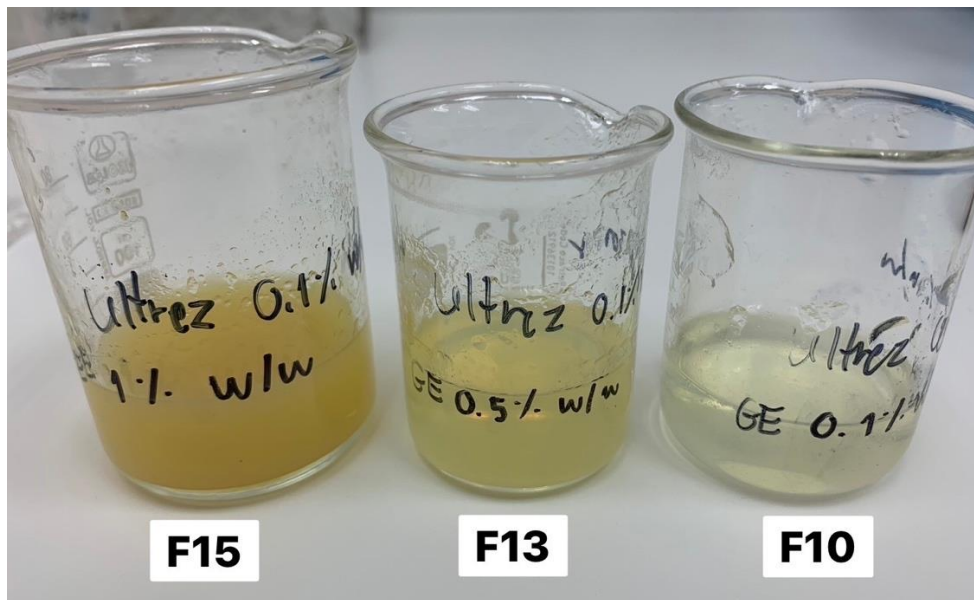


รูปที่ 39 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F14

ส่วนปริมาณสารสกัด 1 g (ตำรับ F15) เนื้อผลิตภัณฑ์ไม่มีความหนืด ไหลได้ดีมาก มีสีเหลืองเข้มและขุ่นที่สุดดังรูปที่ 41 เมื่อเทียบกับตำรับ F10 และ F13 ดังรูปที่ 42 เห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดรากชะเอมเทศ จะทำให้ตำรับที่ได้มีความหนืดลดลงมีสีเหลืองเข้มและขุ่นมากขึ้น



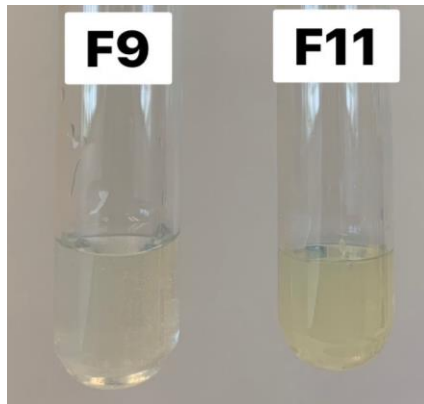
รูปที่ 40 แสดงลักษณะของเซิร์มตำรับที่ F15



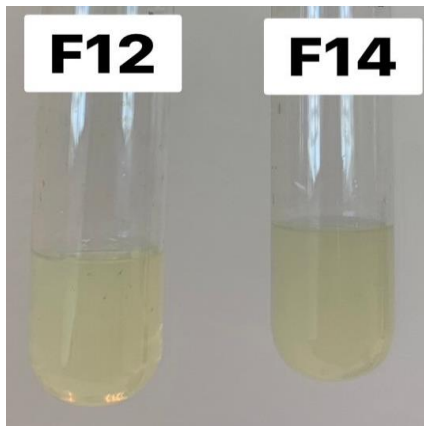
รูปที่ 41 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซิร์มสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 1 g (ตำรับที่ F15)

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของเซิร์มสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.1 g ในสารเพิ่มความหนืดที่ต่างกันคือ carbopol 940 (ตำรับ F9) และ carbopol ultrez 21 (ตำรับ F11) พบว่าตำรับ F9 มีลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์ที่ใสกว่าตำรับ F11 ดังรูปที่ 42 โดยทั้งสองตำรับมีความหนืดใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของเซิร์มสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.5 g (F12 และ F14) พบว่าตำรับ F12 มีลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์ที่ใสกว่าตำรับ F14 ดังรูปที่ 43 โดยทั้งสองตำรับมีความหนืดที่ใกล้เคียงกันแต่มีความหนืดน้อยกว่าตำรับที่มีสารสกัดรากชะเอมเทศ 0.1 g (F9 และ F11)

จะเห็นว่าตำรับที่ใช้ carbopol 940 เป็นสารเพิ่มความหนืด ให้ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์ที่มีความใส โปร่งแสงมากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ carbopol ultrez 21 และสารสกัดรากชะเอมเทศที่ความเข้มข้น 0.1 g/g ให้ความหนืดที่เหมาะสม ไม่เหลวจนเกินไปเมื่อเทียบกับสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.5 g/g



รูปที่ 42 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซรั่มสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.1 g ใน Carbopol 940 (ตำรับที่ F9) และ Carbopol Ultrez 21 (ตำรับที่ F11) 0.13 g



รูปที่ 43 แสดงลักษณะเปรียบเทียบของเซรั่มสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.5 g ใน Carbopol 940 (ตำรับที่ F12) และ Carbopol Ultrez 21 (ตำรับที่ F14) 0.13 g

ดังนั้นตำรับเซรั่มที่เหมาะสมที่สุดคือตำรับ F9 เนื่องจากมีลักษณะผลิตภัณฑ์และเนื้อสัมผัสที่ดี สีเหลืองใสสวยงาม มีความหนืดเหมาะสม ปาดลงบนผิวได้ง่าย เคลี่ยง่ายและล้างออกได้ง่าย ค่า pH ที่ได้มีความเหมาะสมคือ 6.02 จึงนำมาทำการทดสอบความคงตัวของตำรับเซรั่มต่อไป

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะทางกายภาพของตำรับเซรามตำรับ F1 - F15

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
F1	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ต้องใช้แท่งแก้วช่วยตักไม่สามารถเท - ออกมาจากภาชนะได้ - เกาะผิวได้ดีมาก - ไหลไม่ได้ - เนื้อเจลแข็ง - ล้างออกได้ง่าย - มีความวาวใสของเนื้อเจล	+++++	- ซึมยาก แห้งช้า - ต้องถูให้กระจายตัวจึงจะแห้ง - ทั้งความหนืดไว้ที่ผิวหนัง - ถูที่ผิวหนังแล้วความหนืดลดลง - ชับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ - หลงเหลือ	ไม่มี
F2	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ต้องใช้แท่งแก้วช่วยตักไม่สามารถเท - ออกมาจากภาชนะได้ - เกาะผิวได้ดี - ไหลไม่ได้ - เนื้อเจลแข็ง - ล้างออกได้ง่าย	+++++	- ซึมยาก แห้งช้า - ต้องถูให้กระจายตัวจึงจะแห้ง - ทั้งความหนืดไว้ที่ผิวหนัง - ถูที่ผิวหนังแล้วความหนืดลดลง - ชับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ - หลงเหลือ	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
		- มีความวาวใสของเนื้อเจล			
F3	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - สามารถเทออกมาจากภาชนะได้ - ไหลได้ดี - เกาะผิวได้เล็กน้อย - เนื้อเจลเหลว - ล้างออกได้ง่าย - มีความวาวใสของเนื้อเจล	++++	- ซึมยาก แห้งช้า - ต้องถูให้กระจายตัวเล็กน้อย - ทิ้งความหนืดไว้ที่ผิวเล็กน้อย - ถูที่ผิวหนังแล้วความหนืดลดลง - ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี
F4	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - สามารถเทออกมาจากภาชนะได้ - ไหลได้ดีมาก - เกาะผิวได้ไม่ดี - เนื้อเจลเหลว - ล้างออกได้ง่าย - มีความวาวใสของเนื้อเจล	+++	- ซึมง่าย เกลี่ยเพียงเล็กน้อยก็สามารถแห้งได้รวดเร็ว - ทิ้งความหนืดไว้ที่ผิวเล็กน้อย - ถูที่ผิวหนังแล้วความหนืดลดลง - ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี
F5	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย	+++++	- ซึมยาก แห้งช้า - ต้องถูให้กระจายตัวจึงจะแห้ง	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
		- ไหลไม่ได้ - เกาะบนผิวได้ดีมาก - เนื้อเจลแข็ง - ล้างออกได้ง่าย		- ทิ้งความหนืดไว้บนผิว - ถูที่ผิวหนังแล้วความหนืดลดลง - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ หลงเหลือ	
F6	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เคลี่ยง่าย - ไหลไม่ได้ ไม่สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - เกาะบนผิวได้ดีมาก - เนื้อเจลแข็ง - ล้างออกได้ง่าย	+++++	- ซึมยาก แห้งช้า - ต้องถูให้กระจายตัวจึงจะแห้ง - เคลี่ยเล็กน้อยก็สามารถแห้งได้ไว - หลังจากเคลี่ยจะมีความหนืดลดลง และแตกตัวจากเนื้อเจลเป็นน้ำ - ทิ้งความหนืดไว้บนผิว - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ หลงเหลือ	ไม่มี
F7	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เคลี่ยง่าย - ไหลได้ดี - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - เกาะบนผิวได้ดี	++++	- ซึมง่าย แห้งเร็ว - เคลี่ยเล็กน้อยก็สามารถแห้งได้ไว - หลังจากเคลี่ยจะมีความหนืดลดลง และแตกตัวจาก	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
		- เนื้อเจลเหลว - ล้างออกได้ง่าย		เนื้อเจลเป็นน้ำ - ทั้งความหนืดไว้บนผิวเล็กน้อย - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ หลงเหลือ	
F8	ไม่มีสี/+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ไหลได้ดี สามารถเทออกจากปิกเกอร์ได้ - เกาะบนผิวได้เล็กน้อย - ล้างออกได้ง่าย - ลักษณะเป็นสารละลายที่มีความหนืด	+++	- ซึมง่าย แห้งเร็ว - เกลี่ยเล็กน้อยก็สามารถแห้งได้ไว หลังจากเกลี่ยจะมีความหนืดลดลง และเป็นเปลี่ยนจากเนื้อเจลเป็นน้ำ - ทั้งความหนืดไว้บนผิวเล็กน้อย - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี
F9	เหลืองใสจาง /+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - เกาะบนผิวได้เล็กน้อย - ไหลได้ดี สามารถเทออกจากปิกเกอร์ได้ง่าย	+++	- ซึมง่าย แห้งเร็ว - เกลี่ยเล็กน้อยก็สามารถ - แห้งได้ไวหลังจากเกลี่ยเล็กน้อย และมีความหนืดลดลงมาก - ไม่ทั้งความหนืดที่ผิวหนัง	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
		- ย - ล้างออกได้ง่าย		- ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ หลงเหลือ	
F10	เหลืองใสจาง /+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย เกาะบนผิวได้เล็กน้อย - เป็นสารละลายที่มีความหนืดเล็กน้อย - ไหลได้ดีมาก - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เนื้อสัมผัสเป็นเจลเหลว	++	- ซึมง่าย แห้งเร็ว - เกลี่ยเล็กน้อย - มีความหนืดลดลงและแตกตัวเป็นน้ำ - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี
F11	เหลืองใสจาง /+++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย เกาะบนผิวได้เล็กน้อย - เป็นสารละลายที่มีความหนืดเล็กน้อย - ไหลได้ดี - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เนื้อสัมผัสเป็นเจลเหลว	+++	- ซึมง่าย แห้งช้า - เกลี่ยเล็กน้อย - มีความหนืดลดลงและแตกตัวเป็นน้ำ - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ หลงเหลือ	ไม่มี
F12	เหลืองขุ่น	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย	+	- ซึมง่าย แห้งเร็ว	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
	/++	- เกลี่ยง่าย เกาะบนผิวได้น้อยมาก - ไหลได้ดีมาก - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เนื้อสัมผัสเป็นเจลเหลว		- หลังจากเกลี่ยเล็กน้อย จะมีความหนืดลดลง - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำ	
F13	เหลืองขุ่น/++	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ไหลได้ดีมาก - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เป็นสารละลายที่มี - ความหนืดเล็กน้อย	+	- ซึมง่าย แห้งเร็ว - เกลี่ยเล็กน้อยจะมีความหนืดลดลงและ แยกตัวเป็นน้ำ - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี
F14	เหลืองขุ่น สี นวลคล้าย นํ้านม/+	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ไหลได้ดีมาก - สามารถเทออกจากบีกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เนื้อสัมผัสเป็นเจลเล็กน้อย	+	- ซึมง่าย แห้งช้า - เกลี่ยเล็กน้อยจะแยกตัวเป็นน้ำ - ใช้เวลาในการเกลี่ยเพื่อให้แห้งเร็วมากขึ้น - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซึบด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลือ	ไม่มี

ตำรับ	สี/ ความใส	เนื้อสัมผัส	ความหนืด	การซึบซาบเข้าผิวหนัง	การ ตกตะกอน
F15	เหลืองเข้ม/+	- ปาดลงบนผิวได้ง่าย - เกลี่ยง่าย - ไหลได้ดีมากและสามารถเท - ออกจากปิกเกอร์ได้ - ล้างออกได้ง่าย - เนื้อสัมผัสเป็นเป็นสารละลาย	0	- ซึมง่าย แห้งช้า - ใช้เวลาในการเกลี่ยเพื่อให้แห้งเร็วมากขึ้น - ไม่ทิ้งความหนืดที่ผิวหนัง - ซับด้วยกระดาษทิชชูพบว่าไม่มีน้ำหลงเหลืออยู่เล็กน้อย	ไม่มี

(กำหนดให้ +++++ คือ หนืดมากที่สุด, ++++ คือ หนืดมาก, +++ คือ หนืดปานกลาง, ++ คือ หนืดน้อย, + คือ หนืดน้อยที่สุด, 0 คือ ไม่มีความหนืดและความใส กำหนดให้ ++ คือ ใสมาก, + คือ ใสน้อย)

4.6 ผลการทดสอบความคงตัวของตำรับเซรั่ม

นำสูตรตำรับเซรั่มมาทำการทดสอบความคงตัวใน 4 สภาวะ ได้แก่ 1. อุณหภูมิห้องในที่มืดและที่สว่าง 2. อุณหภูมิ 45 °C 3. อุณหภูมิ 4 °C และ 4. สภาวะเร่ง 7 cycle (45 °C 24 ชั่วโมง สลับกับ 4 °C 24 ชั่วโมง) ทำการประเมินลักษณะทางกายภาพ สี กลิ่น ความหนืด และค่า pH หลังการทดสอบความคงตัวดังตารางที่ 10 ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดและที่สว่างพบว่าสีของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง กลิ่นของตำรับไม่เปลี่ยนแปลง ความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง ค่า pH ของตำรับที่เก็บในที่มืดและที่สว่างเท่ากับ 5.82 และ 5.78 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าสีของตำรับขุ่นขึ้น กลิ่นและความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง ค่า pH เท่ากับ 5.87 ที่อุณหภูมิ 45 °C พบว่าสีของตำรับมีสีเหลืองอมน้ำตาลอ่อน กลิ่นมีร่ากชะเอมเทศชัดเจน ความหนืดเพิ่มขึ้น ค่า pH เท่ากับ 5.54 และที่สภาวะเร่งพบว่าสีของตำรับมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อจบ cycle ที่ 3 โดยมีสีเหลืองเข้มขึ้นเรื่อย ๆ กลิ่นของตำรับมีกลิ่นมีร่ากชะเอมเทศชัดเจน ความหนืดของตำรับเพิ่มขึ้นชัดเจนเมื่อจบ cycle ที่ 7 ค่า pH เท่ากับ 6.12

ตารางที่ 4 แสดงตารางการทดสอบความคงตัวของเซรัมสารสกัดรากชะเอมเทศ

การทดสอบ		สี	กลิ่น	ความหนืด	pH
อุณหภูมิห้อง	ที่มีด	เหลืองใส	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	5.82
	ที่สว่าง	เหลืองใส	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	5.78
อุณหภูมิ 45 °C		เหลืองอมน้ำตาลอ่อน	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศชัดเจน	+++++	5.87
อุณหภูมิ 4 °C		เหลืองขุ่น	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	5.54
สถานะแรง	Cycle 1	เหลืองใส	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	6.12
	Cycle 2	เหลืองใส	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	
	Cycle 3	เหลืองใส	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++	
	Cycle 4	เหลืองเข้มขึ้น	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	++++	
	Cycle 5	เหลืองเข้มขึ้น	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	++++	
	Cycle 6	เหลืองเข้มขึ้น	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	++++	
	Cycle 7	เหลืองเข้มขึ้น	กลิ่นไม่รบกวนชะเอมเทศ	+++++	

(กำหนดให้ +++++ คือ หนืดมากที่สุด, ++++ คือ หนืดมาก, +++ คือ หนืดปานกลาง)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

จากการตรวจเอกลักษณ์ผงรากชะเอมเทศพบว่ารากชะเอมเทศจากร้านขายยาศรีทองโอสถ อ.เมืองชลบุรี จ.ชลบุรี พบว่าลักษณะภายนอกมีเปลือกหุ้มรากสีน้ำตาลแก่ เนื้อในรากมีสีเหลือง เมื่อนำมาลดขนาดเป็นผงแล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะที่พบคือ เมล็ดแป้งจำนวนมาก กลุ่มของไฟเบอร์ ผลึกแคลเซียมออกซาเลท (calcium oxalate prisms) ผนังเซลล์พารากิงมา และไม่พบการติดสีของลิกนินในผนังเซลล์ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Kumar และคณะ, 2022) จึงสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ระบุได้ว่าเป็นรากชะเอมเทศ

การสกัดรากชะเอมเทศ โดยใช้วิธีการหมักและให้ความร้อน ด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol (100 ส่วนของ ethanol) ให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 60 นาที ระเหยตัวทำละลายออกและนำไปทำให้แห้งด้วยวิธี rotary evaporator มี %yield เท่ากับ 10.45% โดยลักษณะของสารสกัดรากชะเอมเทศแห้ง มีลักษณะฟูคล้ายฟองน้ำ สีน้ำตาลอ่อน กลิ่นหอมไม้รากชะเอมเทศ เป็นสารสกัดที่ดูความเข้มข้นได้มาก โดยหากนำออกมาจากตู้เย็นและตั้งทิ้งไว้ภายนอกสารสกัดจะเหนียวเยิ้มมากขึ้น และจากการวิเคราะห์ปริมาณ glabridin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณ glabridin สูงมากกว่างานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Panichakul และคณะ, 2020 ที่ใช้วิธีการสกัดเดียวกัน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองเพิ่มอัตราส่วนของ ethanol ในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพบว่าปริมาณ glabridin ในสารสกัดเพิ่มมากขึ้นสอดคล้องกับอัตราส่วนของ ethanol ที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มอัตราส่วนของ ethanol ที่ใช้ในการสกัดรากชะเอมเทศ จะส่งผลให้ได้ปริมาณสารสำคัญ glabridin ในสารสกัดรากชะเอมเทศเพิ่มมากขึ้น

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ การหาปริมาณ total flavonoids และ total phenolic ในสารสกัดรากชะเอมเทศ พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมี total flavonoids คือ 0.72 ± 0.0030 mg QE/g extract และ total phenolic คือ 0.38 ± 0.0016 mg mg GAE/g extract จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากรากชะเอมเทศมีสารประกอบในกลุ่ม flavonoids และ phenolic เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างเม็ดสี เป็นต้น

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศที่ใช้ ethanol ในการสกัดมีฤทธิ์ในการ

ต้านอนุมูลอิสระซึ่งจากการทดลองมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.432 ± 0.0004 mg/mL ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Karahana และคณะ, 2016) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} ระหว่าง 0.588 - 2.190 mg/mL โดยใช้ methanol ในการสกัดรากชะเอมเทศ เนื่องจาก glabridin สามารถละลายในตัวทำละลาย methanol ได้ดีกว่า ethanol ทำให้ค่า IC_{50} ของการสกัดด้วย methanol จากงานวิจัยมีค่าน้อยกว่าผลการศึกษาในครั้งนี้' เนื่องจาก methanol เป็นสารที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิต⁽⁸⁰⁾ เครื่องสำอางตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ด้วย methanol จัดเป็นสารที่มีพิษต่อร่างกาย จึงเป็นเหตุผลที่ไม่เลือกใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดสาร glabridin จากรากชะเอมเทศตั้งแต่ต้น

การศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดรากชะเอมเทศพบว่า สารสกัดรากชะเอมเทศมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยทำให้เกิด inhibition zone เท่ากับ 8 มิลลิเมตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 20 mg/mL สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 0.78 - 100 mg/mL ทำให้เกิด inhibition zone เท่ากับ 6.15 - 15.41 มิลลิเมตร (สุทธิพลินทร์ สุวรรณกุล, 2014) แม้ผลการยับยั้งเชื้อที่ได้จะน้อยกว่ายาฆ่าเชื้อ chloramphenicol แต่การใช้สารสกัดรากชะเอมเทศอาจเป็นทางเลือกในการศึกษาต่อในอนาคต เนื่องจากในปัจจุบันมีแนวโน้มพบอัตราการดื้อยาของเชื้อ *S. aureus* ได้มากขึ้น⁽⁸¹⁾

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดรากชะเอมเทศที่ความเข้มข้น 1.02, 3.10 และ 10 mg/mL เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid พบว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยมีค่า IC_{50} มากกว่า 3.1 mg/mL ซึ่งจากโดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดรากชะเอมเทศเป็น 10 mg/mL พบว่าสารสกัดเมื่อใส่เอนไซม์ไทโรซิเนสแล้วเกิดการตกตะกอนทำให้ไม่สามารถวัดการดูดกลืนคลื่นแสงของปฏิกิริยาได้ ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวสารสกัดรากชะเอมเทศจึงมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อยกว่าการศึกษาก่อนหน้า (Nerya และคณะ, 2003) มีรายงานว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.9 μ g/mL จึงสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่าสารสกัดรากชะเอมเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดกระบวนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดความหมองคล้ำของผิวหนัง

การพัฒนาสูตรตำรับเซรั่มจากสารสกัดรากชะเอมเทศพบว่า ตำรับเซรั่ม F9 มีลักษณะทางกายภาพเหมาะสม และมีค่า pH อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการใช้ที่ผิวหนังบริเวณใต้ดวงแขน (5.5 - 6.5) ให้เนื้อสัมผัสที่ดี บางเบา แห้งเร็ว ไม่เกิดความเหนอะหนะ และล้างออกได้ง่าย จึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์บำรุงใต้ดวงแขน โดยปริมาณสารสกัดที่ใส่ในตำรับเท่ากับ 0.1 g จากการทดลองก่อนการตั้งตำรับถือว่ามีประสิทธิภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีสำหรับใช้บำรุงผิวได้วงแขน ในอนาคตควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพ หลังการตั้งตำรับและความพึงพอใจของตำรับเซรั่มบำรุงผิวได้วงแขนจากสารสกัดรากชะเอมเทศในมนุษย์

การศึกษาความคงตัวของตำรับเซรั่มที่สภาวะต่าง ๆ พบว่าความร้อน (45 °C) มีผลต่อความหนืดของตำรับ ทำให้ตำรับมีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมาก และตำรับอาจไม่คงตัวที่อุณหภูมิต่ำ (4 °C) เนื่องจากสีของตำรับมีความขุ่นมากขึ้น โดยตำรับจะคงตัวเมื่ออยู่ในอุณหภูมิห้อง ทั้งในที่มืดและที่สว่าง มีสี กลิ่น และความหนืดไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการศึกษาก่อนหน้านี้ถึงความคงตัว⁽⁵⁸⁾ ของสารสกัดรากชะเอมเทศที่มีสาร glabridin เป็นองค์ประกอบพบว่าสาร glabridin คงตัวในที่มืด ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดรากชะเอมเทศคือ เก็บที่อุณหภูมิห้อง ในภาชนะปิดสนิทป้องกันแสง

เอกสารอ้างอิง

1. เครื่องสำอางเมดิคอลไทยแลนด์ ธุรกิจนี้ยังสดใสท่ามกลาง “คู่แข่ง”: Krungsri GURU; [Available from: <https://www.krungsri.com/th/plearn-plearn/cosmetics-made-in-thailand>.
2. รพีพร จันทูมา, และสุรนาท ขมะณะรงค์. การพัฒนาเพื่อการแข่งขันของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง บำรุงผิวหน้าสมุนไพร: กรณีศึกษาจังหวัดขอนแก่น(The Development for Competition of Herbal Facial Cosmetic Industries: A Case Study of Khon Kaen Province). Graduate Research Conference. 2013:1639.
3. สุภารัตน์ หอมหวล และคณะ. ชะเอมเทศ [อินเทอร์เน็ต]: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี; [Available from: <https://apps.phar.ubu.ac.th/thaicrudedrug/main.php?action=viewpage&pid=196>.
4. Kim HJ, Seo SH, Lee BG, Lee YS. Identification of tyrosinase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis*. Planta Med. 2005;71(8):785-7.
5. ชญานิน กิรติไพบูลย์. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชะลอการงอกของเส้นขนจากสารสกัดชะเอมเทศ. 2016.
6. Armpit Discoloration: Is Your Deodorant to Blame? [Internet]: utis Laser Clinics; 2021 [Available from: <https://www.cutislaserclinics.com/blog/armpit-discoloration-is-your-deodorant-to-blame/>.
7. สุภารัตน์ หอมหวล และคณะ. ชะเอมไทย ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี; [cited 2024 20 feb]. Available from: <https://apps.phar.ubu.ac.th/thaicrudedrug/main.php?action=viewpage&pid=52>.
8. Pankaj K, Javaid Fayaz L, Sumeet G. Comparative Macroscopic and Microscopic Characterization of Raw Herbal Drugs of *Abrus precatorius* L. and *Glycyrrhiza glabra* L. Pharmacognosy Research. 2022;14(1).
9. ขจีธัญฉี นานาวันตร์กุล. การพัฒนาสารสกัดชะเอมเทศในรูปแบบลิโพโซม DEVELOPMENT OF GLYCYRRHIZA GLABRA EXTRACT IN LIPOSOME FORM. 2652:7.
10. Wittschier N, Faller G, Hensel A. Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.) inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. J Ethnopharmacol. 2009;125(2):218-23.

11. Meenakshi N. 20 Incredible Benefits Of Licorice: Organic facts; 2020 [updated February 26, 2020 Available from: <https://www.organicfacts.net/licorice.html>.
12. Tang ZH, Li T, Tong YG, Chen XJ, Chen XP, Wang YT, et al. A Systematic Review of the Anticancer Properties of Compounds Isolated from Licorice (Gancao). *Planta Med.* 2015;81(18):1670-87.
13. Obolentseva GV, Litvinenko VI, Ammosov AS, Popova TP, Sampiev AM. Pharmacological and therapeutic properties of licorice preparations (A review). *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 1999;33(8):427-34.
14. Schröfelbauer B, Raffetseder J, Hauner M, Wolkerstorfer A, Ernst W, Szolar OH. Glycyrrhizin, the main active compound in liquorice, attenuates pro-inflammatory responses by interfering with membrane-dependent receptor signalling. *Biochem J.* 2009;421(3):473-82.
15. Song W, Qiao X, Chen K, Wang Y, Ji S, Feng J, et al. Biosynthesis-Based Quantitative Analysis of 151 Secondary Metabolites of Licorice To Differentiate Medicinal *Glycyrrhiza* Species and Their Hybrids. *Anal Chem.* 2017;89(5):3146-53.
16. Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Niwa Y. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta Med.* 1991;57(2):119-21.
17. Hattori T, Ikematsu S, Koito A, Matsushita S, Maeda Y, Hada M, et al. Preliminary evidence for inhibitory effect of glycyrrhizin on HIV replication in patients with AIDS. *Antiviral Res.* 1989;11(5-6):255-61.
18. Huang W, Chen X, Li Q, Li P, Zhao G, Xu M, et al. Inhibition of intercellular adhesion in herpes simplex virus infection by glycyrrhizin. *Cell Biochem Biophys.* 2012;62(1):137-40.
19. Wang J, Chen X, Wang W, Zhang Y, Yang Z, Jin Y, et al. Glycyrrhizic acid as the antiviral component of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. against coxsackievirus A16 and enterovirus 71 of hand foot and mouth disease. *J Ethnopharmacol.* 2013;147(1):114-21.

20. Paudel YN, Angelopoulou E, Semple B, Piperi C, Othman I, Shaikh MF. Potential Neuroprotective Effect of the HMGB1 Inhibitor Glycyrrhizin in Neurological Disorders. *ACS Chem Neurosci*. 2020;11(4):485-500.
21. Khan U, Karmakar BC, Basak P, Paul S, Gope A, Sarkar D, et al. Glycyrrhizin, an inhibitor of HMGB1 induces autolysosomal degradation function and inhibits *Helicobacter pylori* infection. *Mol Med*. 2023;29(1):51.
22. Zhao Z, Xiao Y, Xu L, Liu Y, Jiang G, Wang W, et al. Glycyrrhizic Acid Nanoparticles as Antiviral and Anti-inflammatory Agents for COVID-19 Treatment. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13(18):20995-1006.
23. Ageeva AA, Kruppa AI, Magin IM, Babenko SV, Leshina TV, Polyakov NE. New Aspects of the Antioxidant Activity of Glycyrrhizin Revealed by the CIDNP Technique. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(8).
24. Dominik Langer BC-G, Tomasz Goslinski. Glycyrrhetic acid and its derivatives in infectious diseases. *Curr Issues Pharm Med Sc*. 2016;29(3):118-23.
25. Kowalska A, Kalinowska-Lis U. 18 β -Glycyrrhetic acid: its core biological properties and dermatological applications. *Int J Cosmet Sci*. 2019;41(4):325-31.
26. Sharma V, Katiyar A, Agrawal RC. Glycyrrhiza glabra: Chemistry and Pharmacological Activity. *Sweeteners*. 2018:87-100.
27. Mittal A, Kakkar R. Synthetic methods and biological applications of retrochalcones isolated from the root of Glycyrrhiza species: A review. *Results in Chemistry*. 2021;3:100216.
28. Wang J, Liao AM, Thakur K, Zhang JG, Huang JH, Wei ZJ. Licochalcone B Extracted from Glycyrrhiza uralensis Fisch Induces Apoptotic Effects in Human Hepatoma Cell HepG2. *J Agric Food Chem*. 2019;67(12):3341-53.
29. Oh H, Yoon G, Shin J-C, Park S-M, Cho S-S, Cho JH, et al. Licochalcone B induces apoptosis of human oral squamous cell carcinoma through the extrinsic- and intrinsic-signaling pathways. *Int J Oncol*. 2016;48(4):1749-57.

30. Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Taei H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8.
31. Yin L, Liang C, Wei W, Huang S, Ren Y, Geng Y, et al. The Antibacterial Activity of Thymol Against Drug-Resistant *Streptococcus iniae* and Its Protective Effect on Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). *Frontiers in Microbiology*. 2022;13.
32. Li C-x, Li T-h, Zhu M, Lai J, Wu Z-p. Pharmacological properties of glabridin (a flavonoid extracted from licorice): A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*. 2021;85:104638.
33. Simmler C, Pauli GF, Chen SN. Phytochemistry and biological properties of glabridin. *Fitoterapia*. 2013;90:160-84.
34. Wu S-C, Yang Z-Q, Liu F, Peng W-J, Qu S-Q, Li Q, et al. Antibacterial Effect and Mode of Action of Flavonoids From Licorice Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10.
35. Zhang J, Wu X, Zhong B, Liao Q, Wang X, Xie Y, et al. Review on the Diverse Biological Effects of Glabridin. *Drug Des Devel Ther*. 2023;17:15-37.
36. Cho S, Park JH, Pae AN, Han D, Kim D, Cho NC, et al. Hypnotic effects and GABAergic mechanism of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) ethanol extract and its major flavonoid constituent glabrol. *Bioorg Med Chem*. 2012;20(11):3493-501.
37. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Izrael S, Vaya J. Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2001;78:291-8.
38. Kim HD, Choi H, Abekura F, Park JY, Yang WS, Yang SH, et al. Naturally-Occurring Tyrosinase Inhibitors Classified by Enzyme Kinetics and Copper Chelation. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9).
39. Yang D, Wang T, Long M, Li P. Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:8825387.
40. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev*. 2016;10(20):84-9.

41. Kim YW, Zhao RJ, Park SJ, Lee JR, Cho IJ, Yang CH, et al. Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF-kappaB-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production. *Br J Pharmacol.* 2008;154(1):165-73.
42. Zhang Z, Yung KK, Ko JK. Therapeutic Intervention in Cancer by Isoliquiritigenin from Licorice: A Natural Antioxidant and Redox Regulator. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(7).
43. Zhu X, Liu J, Chen S, Xue J, Huang S, Wang Y, et al. Isoliquiritigenin attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment through antioxidant and anti-inflammatory activity. *BMC Neuroscience.* 2019;20(1):41.
44. Mazimba O. Umbelliferone: Sources, chemistry and bioactivities review. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University.* 2017;55(2):223-32.
45. Fu Y, Chen J, Li YJ, Zheng YF, Li P. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice. *Food Chem.* 2013;141(2):1063-71.
46. Shin EM, Zhou HY, Guo LY, Kim JA, Lee SH, Merfort I, et al. Anti-inflammatory effects of glycyrol isolated from *Glycyrrhiza uralensis* in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *Int Immunopharmacol.* 2008;8(11):1524-32.
47. Tay KC, Tan LT, Chan CK, Hong SL, Chan KG, Yap WH, et al. Formononetin: A Review of Its Anticancer Potentials and Mechanisms. *Front Pharmacol.* 2019;10:820.
48. Jiang D, Rasul A, Batool R, Sarfraz I, Hussain G, Mateen Tahir M, et al. Potential Anticancer Properties and Mechanisms of Action of Formononetin. *Biomed Res Int.* 2019;2019:5854315.
49. Vishnuvarthan V, Lakshmi K, Srividya ar. STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FORMONONETIN BY IN VITRO METHOD. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2017;9:273.
50. do Nascimento TG, dos Santos Arruda RE, da Cruz Almeida ET, dos Santos Oliveira JM, Basílio-Júnior ID, Celerino de Moraes Porto IC, et al. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. *Scientific Reports.* 2019;9(1):18293.

51. Glabridin Internet: Chemical book; [cited 2024 9 Mar]. Available from: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7670448.htm.
52. ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร : การสกัดด้วยตัวทำละลาย: ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. ม.เกษตรศาสตร์; [Available from: https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/solvent_extraction.pdf.
53. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. J Pharm Bioallied Sci. 2020;12(1):1-10.
54. Sankeshwari RM, Ankola AV, Bhat K, Hullatti K. Soxhlet versus Cold Maceration: Which Method Gives Better Antimicrobial Activity to Licorice Extract Against: *Streptococcus Mutans*: ? Journal of the Scientific Society. 2018;45(2):67-71.
55. Tian M, Yan H, Row KH. Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. Int J Mol Sci. 2008;9(4):571-7.
56. Sohail M, Rakha A, Butt M, Asghar M. Investigating the antioxidant potential of licorice extracts obtained through different extraction modes. Journal of Food Biochemistry. 2017;42.
57. Yewale S, Farash, Z. , Kulkarni, S. , Palghadmal, S. , Athawale, N. , Sawant, L. , Bhope, S. & Padmanabhan, S.1 (47) , 1-12 . DOI: 10.55262/fabadecczakilik.1078751. Effect of Solvent Polarity on Extraction Yield of Total Flavonoids with Special Emphasis to Glabridin from *Glycyrrhiza glabra* Roots. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences. 2022;1:1-12.
58. Ao M, Shi Y, Cui Y, Guo W, Wang J, Yu L. Factors influencing glabridin stability. Nat Prod Commun. 2010;5(12):1907-12.
59. Panichakul T, Rodboon T, Suwannalert P, Tripetch C, Rungruang R, Boohuad N, et al. Additive Effect of a Combination of *Artocarpus lakoocha* and *Glycyrrhiza glabra* Extracts on Tyrosinase Inhibition in Melanoma B16 Cells. Pharmaceuticals (Basel). 2020;13(10).
60. ประไพพิศ อินเสน. การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รี่ไทย. EAU Heritage Journal science and technology. 2018;12:70,1,3.

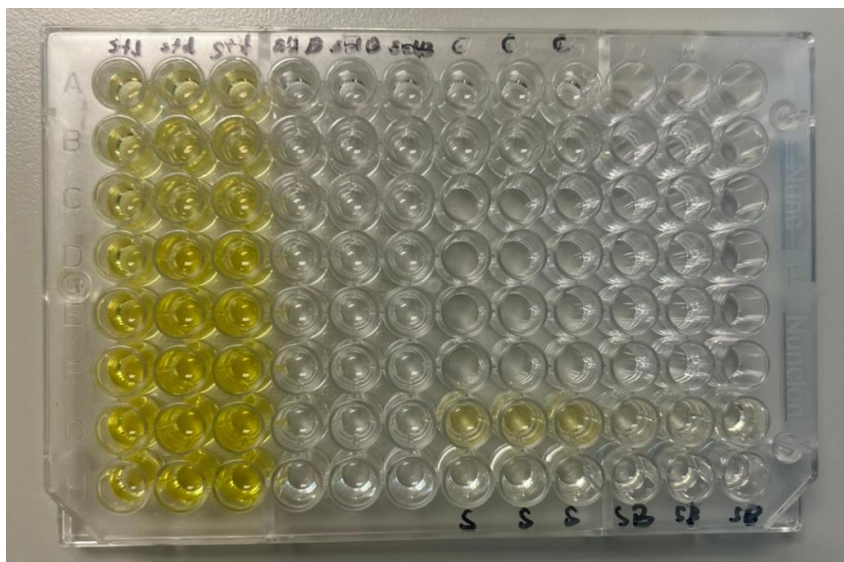
61. Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R, Tamir S. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. J Agric Food Chem. 2003;51(5):1201-7.
62. Jirawattanapong W, Saifah E, Patarapanich C. Synthesis of glabridin derivatives as tyrosinase inhibitors. Arch Pharm Res. 2009;32(5):647-54.
63. นันทนา พันธุ์ศิริ, รัตติยากรณ์ ทำสะอาด, ณิชากร ปทุมรังสรรค์. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และปริมาณฟีนอลิกรวมจากมะตูม ชะเอมเทศ และอบเชย. ประชุมวิชาการจอมบึงวิจัย 2021;9.
64. Karahan F, Avsar C, Ozyigit I. Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant Glycyrrhiza glabra var. glandulifera from different habitats. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2016;30:1-8.
65. Kang MH, Jang GY, Ji YJ, Lee JH, Choi SJ, Hyun TK, et al. Antioxidant and Anti-Melanogenic Activities of Heat-Treated Licorice (Wongam, Glycyrrhiza glabra × G. uralensis) Extract. Curr Issues Mol Biol. 2021;43(2):1171-87.
66. ผิวหนัง(skins) [Available from: <http://cai.md.chula.ac.th/lesson/lesson4410/data/skins.htm>.
67. Hara T, Matsui H, Shimizu H. Suppression of microbial metabolic pathways inhibits the generation of the human body odor component diacetyl by Staphylococcus spp. PLoS One. 2014;9(11):e111833.
68. ประสาทพร บริสุทธิ์เพชร, พิทย ภาณุบุตร, สาธร พรตระกูลพิพัฒน์. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข ครั้งที่ 9 “สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้”. 2008:94-9.
69. สุทธิพลินทร์ สุวรรณกุล, สุทธิมาส หยวหงษ์, กรรณิการ์ มาลี, พชรวาลี นันบุญตา, ภัทรุฒิ บุรีรักษ์. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดชะเอมเทศต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เจริญแบบบิอิสระและแบบไบโอฟิล์ม. Naresuan University Journal. 2014.
70. ชมพูนุช ไปมูลเปี่ยม. โรลออน ผลิตภัณฑ์....ระงับ “กลิ่นกาย”. สารความรู้ ธันวาคม 2562. 2562:1.

71. Gudwani N. Face serum - introduction&benefits of using face serum 2022 [updated 18/05/2022. Available from: <https://thehealthmaster.com/2022/05/18/face-serums-introduction-benefits-of-using-face-serum-part-1/>.
72. อิศเรศ ปัญญา. การพัฒนาเซรั่มจากสารสกัดบัวบก. 2018.
73. สมพร ภูติยานันต์. การตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร ภาคพิเศษ. 2542.
74. Hong J-H, Jung I-L, Cho Y-K, Haam S, Lee S-Y, Lim G, et al. Preparation of High-quality Glabridin Extract from *Glycyrrhiza glabra*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2019;24(4):666-74.
75. Jiangseubchatveera N, Liaewruangrath S, Teerawutgulrag A, Santiarworn D, Pyne S, Liawruangrath B. Phytochemical screening, phenolic and flavonoid contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. 2017;44:193-202.
76. Sembiring E, Elya B, Sauriasari R. Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia bonduca* (L.) Roxb. *Pharmacognosy Journal*. 2017;10:123-7.
77. Vongsak B, Jaisamut S, Gonsap K, Parmontree P. Optimization of *Maclura cochinchinensis* Extract as a Cosmeceutical Component for Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activities. *Key Engineering Materials*. 2020;859:188-93.
78. Hartline R. Bacterial Susceptibility to Antibiotics (Kirby-Bauer Test) [Internet]: LibreText biology; [cited 2024 10 Mar]. Available from: https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_Laboratory_Manual_%28Hartline%29/01%3A_Labs/1.40%3A_Bacterial_Susceptibility_to_Antibiotics_%28Kirby-Bauer_Test%29.
79. Nadechanok Jiangseubchatveera CS, Nattawut Leelakanok, Arpa Petchsomrit. The evaluation of antioxidant and antityrosinase efficacy of *Carissa carandas* fruit extracts and the development of a preliminary skincare product: Issue: 7; 2021. 153-7 p.
80. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง ผลการตรวจสอบหรือวิเคราะห์เครื่องสำอาง ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่พบสารห้ามใช้ [อินเทอร์เน็ต]: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2563 [cited 2567 18 มีนาคม].

81. ยิ่งขจร สพ, สุทธิโชติ ส, หงส์ทอง นธกล, บุญรอด ตม, สิมลา วช, ศรียรรักษา ศรรต. Occurrence of Antimicrobial Resistance in Hospital: A Systematic Review and Meta-analysis - การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในโรงพยาบาล: การทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบ และการวิเคราะห์เชิงอภิมาน. Journal of Health Science of Thailand. 2021;30(5):916 - 27.

ภาคผนวก

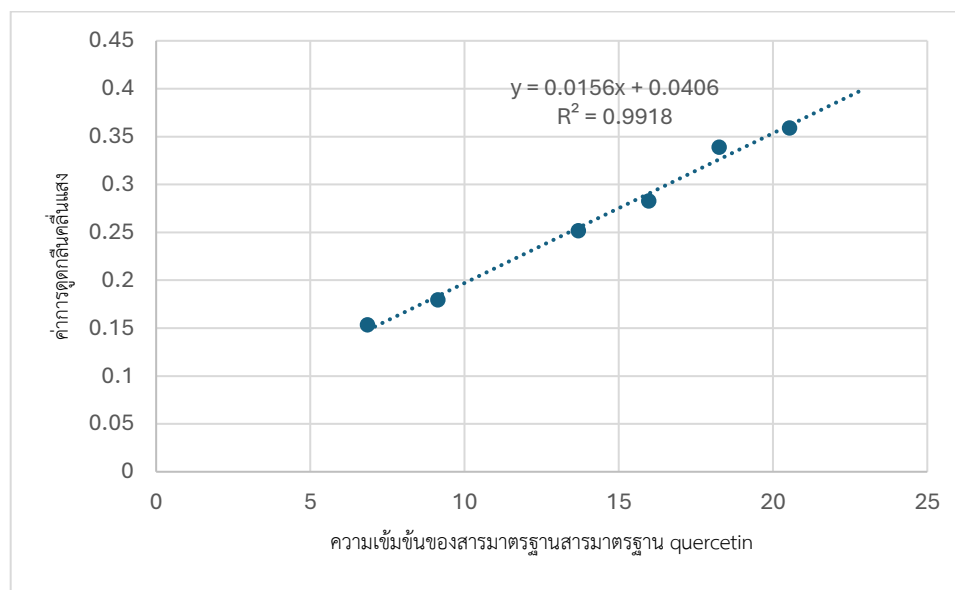
1. การทดสอบ Total flavonoid contents



รูปที่ 1 ลักษณะปฏิกิริยาของสารสกัดรากชะเอมเทศ ในการทดสอบ total flavonoids ใน 96-micro well plate

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐาน quercetin

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐาน quercetin ($\mu\text{g/mL}$)	ความเข้มข้น สุดท้าย ($\mu\text{g/mL}$)	Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย Abs	ค่าเฉลี่ย blank
30	6.85	0.339	0.34	0.339	0.339	0.186
40	9.13	0.219	0.264	0.259	0.247	0.068
50	11.41	0.233	0.261	0.311	0.268	0.075
60	13.69	0.291	0.361	0.348	0.333	0.082
70	15.97	0.334	0.408	0.398	0.380	0.097
80	18.25	0.383	0.467	0.469	0.440	0.101
90	20.54	0.437	0.486	0.508	0.48	0.118
100	22.82	0.348	0.466	0.472	0.43	0.119



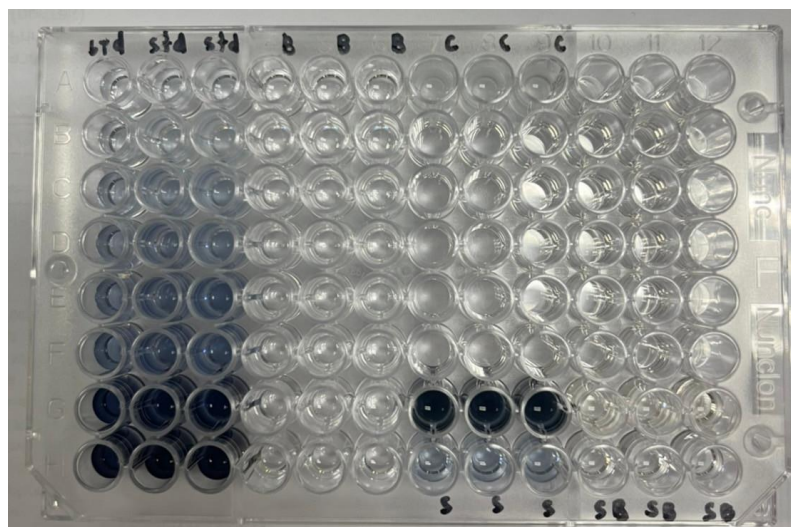
รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน quercetin ในการทดสอบ total flavonoid contents
ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 10 mg/mL

Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย Abs ของ blank
0.339	0.34	0.339	0.186

1.1 การคำนวณ มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด (mg QE/ g)

จากสมการของกราฟมาตรฐาน quercetin จะได้สมการเส้นตรง $y = 0.0156x + 0.0406$ แทนค่า absorbance ของสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้แก่ 0.339, 0.34, 0.339 ตามลำดับ ลงในตัวแปร y จะได้ปริมาณ phenolic ในสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้แก่ 7.205128205, 7.269230769 และ 7.205128205 mg GAE/mL ตามลำดับ และนำมาคำนวณมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด ได้ค่าดังนี้ 0.720512821, 0.726923077 และ 0.720512821 mg QE/ g จากนั้นนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จะได้ 0.722649573 mg QE/ g และ SD เท่ากับ 0.003021824 ตามลำดับ

2. การทดสอบ Total phenolic contents



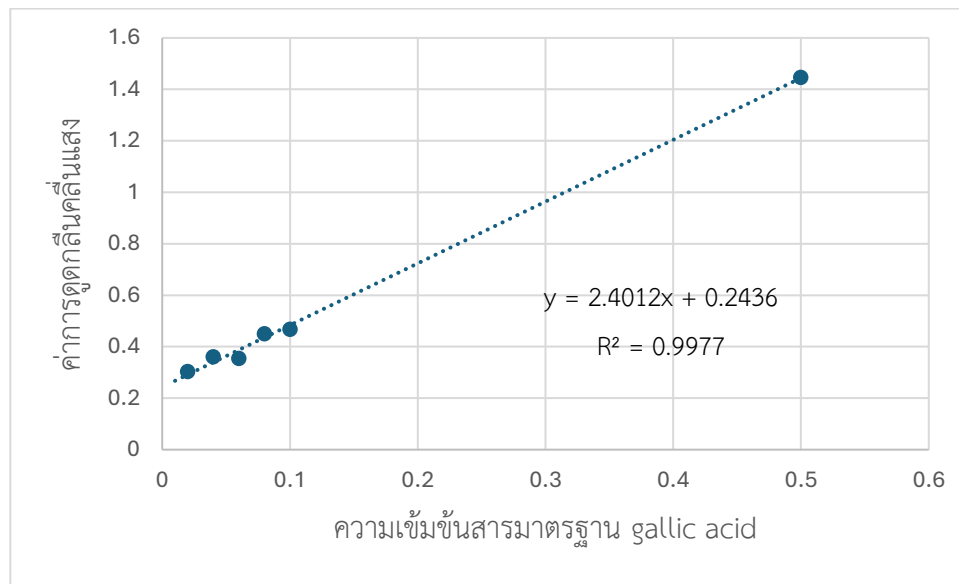
รูปที่ 3 ลักษณะปฏิกิริยาของสารสกัดรากชะเอมเทศ ในการทดสอบ total phenolic content ใน 96-micro well plate

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐาน gallic acid

ความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน gallic acid ($\mu\text{g/mL}$)	ความเข้มข้นสุดท้าย ($\mu\text{g/mL}$)	Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย Abs	ค่าเฉลี่ย blank
30	0.01	0.080	0.124	0.209	0.138	0.014
40	0.02	0.120	0.229	0.612	0.321	0.017
50	0.04	0.197	0.330	0.612	0.380	0.019
60	0.06	0.224	0.330	0.569	0.374	0.020
70	0.08	0.289	0.423	0.705	0.472	0.022
80	0.1	0.364	0.521	0.581	0.489	0.021
90	0.3	1.039	1.147	1.266	1.150	0.021
100	0.5	1.336	1.528	1.552	1.472	0.025

ตารางที่ 4 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 10 mg/mL

Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย Abs ของ blank
1.219	1.128	1.193	0.032667

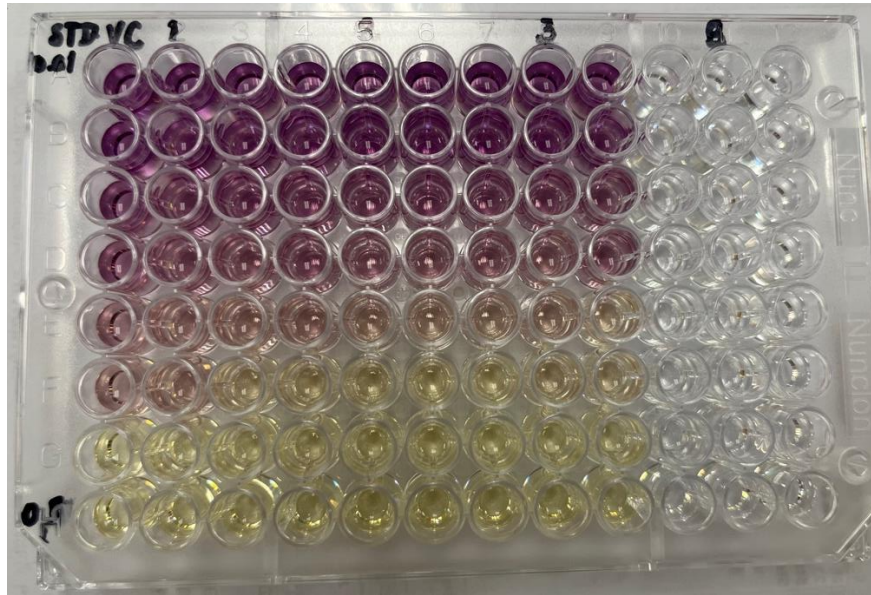


รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน gallic acid ในการทดสอบ total phenolic contents

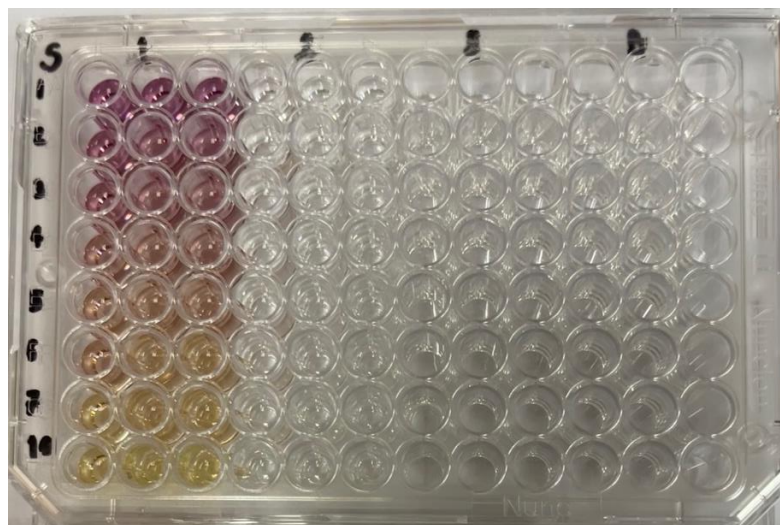
2.1 การคำนวณ มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด (mg QE/ g)

จากสมการของกราฟมาตรฐาน quercetin จะได้สมการเส้นตรง $y = 17.693x + 0.2404$ แทนค่า absorbance ของสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้แก่ 1.219, 1.128 และ 1.193 ตามลำดับ ลงในตัวแปร y จะได้ปริมาณ phenolic ในสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้แก่ 0.392609251, 0.354711533 และ 0.381781332 mg GAE/mL ตามลำดับ และนำมาคำนวณมิลลิกรัมสมมูลของแกลลิกแอซิดต่อกรัมของสารสกัด ได้ค่าดังนี้ 0.039260925, 0.035471153 และ 0.038178133 mg GAE/ g ตามลำดับ จากนั้นนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จะได้ 0.037636737 mg GAE/ g extract และ SD เท่ากับ 0.001593827 ตามลำดับ

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity



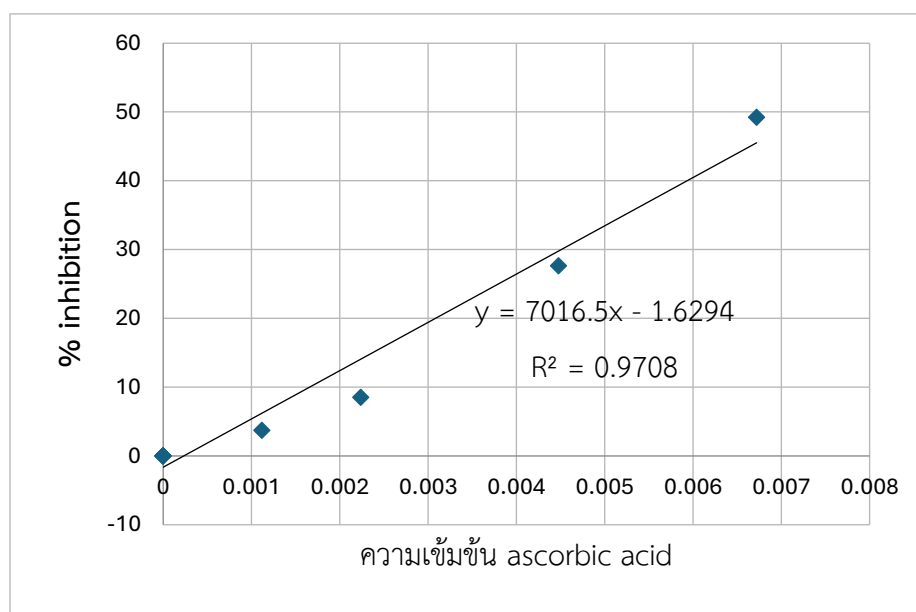
รูปที่ 5 ลักษณะปฏิกิริยาของสารมาตรฐาน ascorbic acid ในการทดสอบ DPPH assay ใน 96-micro well plate



รูปที่ 6 ลักษณะปฏิกิริยาของสารสกัดรากชะเอมเทศในการทดสอบ DPPH assay ใน 96-micro well plate

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ascorbic acid

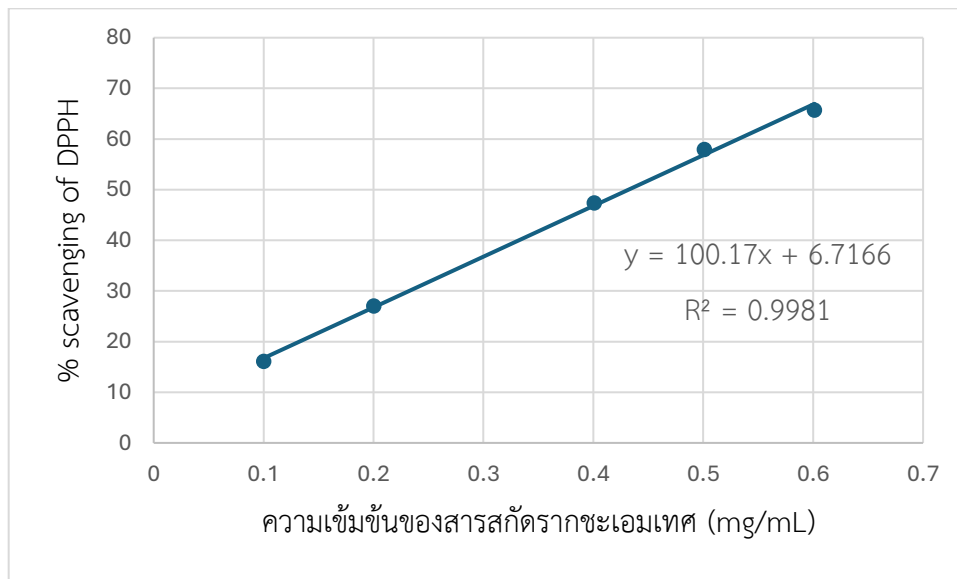
ความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน ascorbic acid (mg/mL)	ความเข้มข้น สุดท้าย (mg/mL)	Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย control	ค่าเฉลี่ย blank	% inhibition
0.01	0.1002	0.5330	0.5400	0.5330	0.5333	0.0220	3.75
0.02	0.2004	0.5630	0.4890	0.5070	0.5333	0.0316	8.50
0.04	0.3006	0.4980	0.3610	0.3850	0.5333	0.0286	27.625
0.06	0.4008	0.4170	0.2420	0.2890	0.5333	0.0453	49.25
0.08	0.5010	0.3610	0.1210	0.2020	0.5333	0.0290	62.6875
0.1	0.6012	0.2530	0.2160	0.1680	0.5333	0.0303	65.875
0.3	0.7014	0.0496	0.0513	0.0513	0.5333	0.0383	97.875
0.5	1.0020	0.0550	0.0593	0.0550	0.5333	0.0363	96.5



รูปที่ 7 กราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน ascorbic acid ในการทดสอบ DPPH assay

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัดรากชะเอมเทศ

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	ความเข้มข้น สุดท้าย (mg/mL)	Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย Abs	ค่าเฉลี่ย blank	% inhibition
1	0.1002	0.463	0.469	0.466	0.466	0.0187	3.75
2	0.2004	0.429	0.4	0.421	0.4166666667	0.028	8.50
3	0.3006	0.418	0.349	0.408	0.3916666667	0.026	27.625
4	0.4008	0.314	0.304	0.309	0.309	0.028	49.25
5	0.501	0.278	0.229	0.253	0.2533333333	0.029	62.6875
6	0.6012	0.249	0.204	0.191	0.2146666667	0.032	65.875
7	0.7014	0.182	0.169	0.176	0.1756666667	0.030	97.875
10	1.002	0.134	0.133	0.099	0.122	0.040	96.5

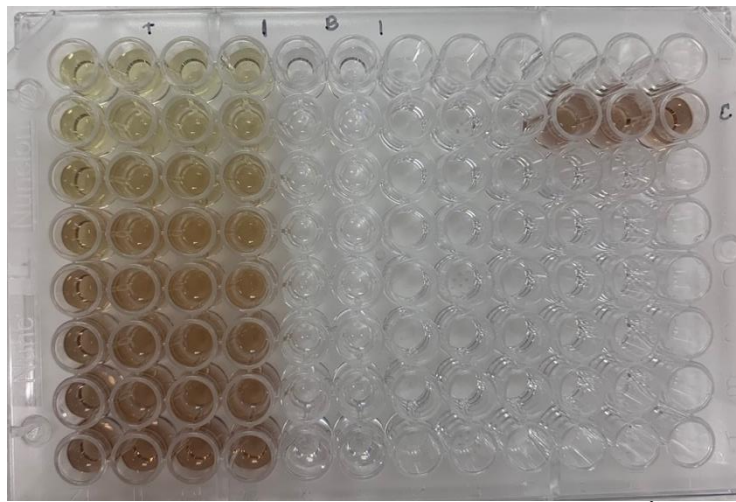


รูปที่ 8 กราฟสารสกัดรากชะเอมเทศในการทดสอบ DPPH assay

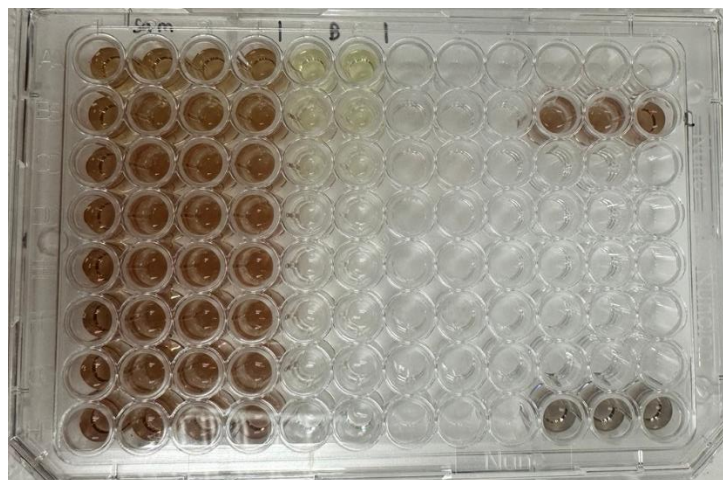
3.1 การคำนวณ IC_{50} ของสารสกัด

จากสมการของกราฟสารสกัดรากชะเอมเทศจะได้สมการ $y = 100.17x + 6.7166$
แทนค่า % inhibition เท่ากับ 50 เพื่อหา IC_{50} ของสารสกัดจะได้ค่าเท่ากับ 0.43 mg/mL

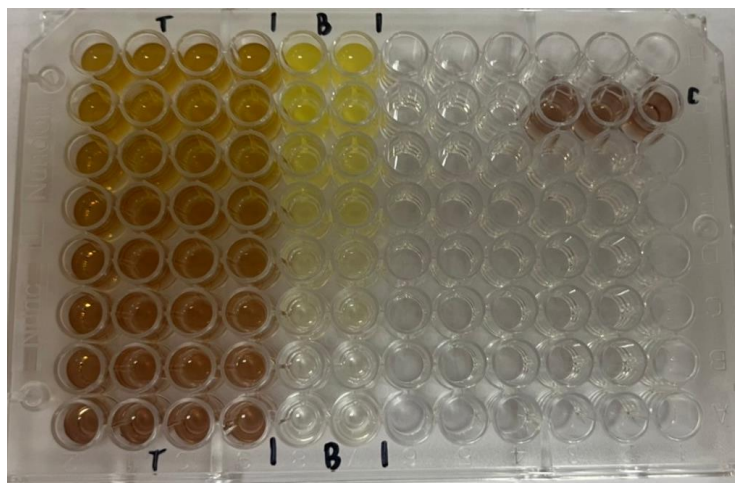
4. การทดสอบฤทธิ์ antityrosinase activity test



รูปที่ 9 ลักษณะปฏิกิริยาของสารมาตรฐาน kojic acid ในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใน 96-micro well plate



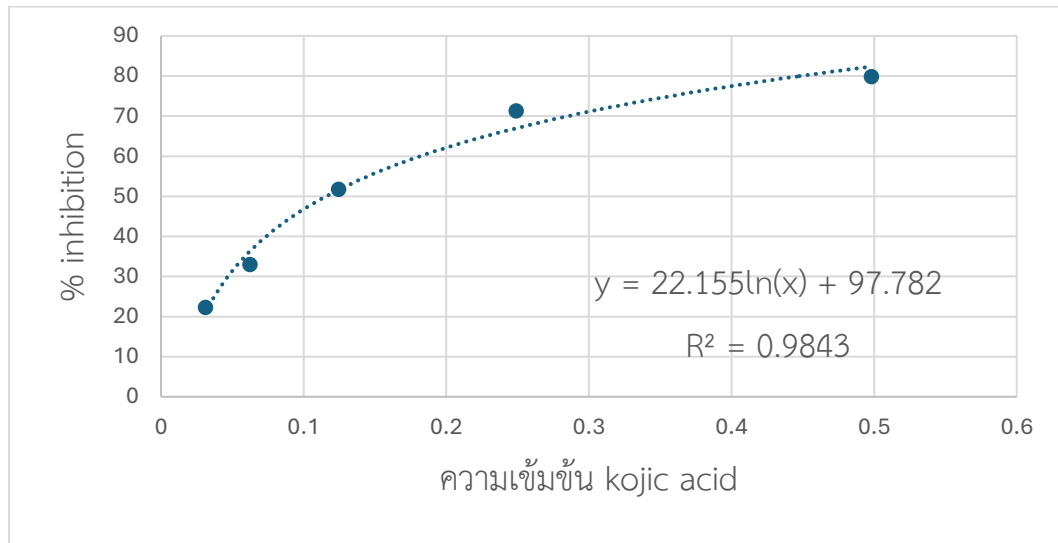
รูปที่ 10 ลักษณะปฏิกิริยาของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 3.1 mg/mL ในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใน 96-micro well plate



รูปที่ 11 ลักษณะปฏิกิริยาของสารสกัดรากชะเอมเทศความเข้มข้น 10 mg/mL ในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใน 96-micro well plate

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐาน kojic acid

ความเข้มข้น (mg/mL)	Abs	ค่าเฉลี่ย blank	ค่าเฉลี่ย control	% inhibition
0.498	0.102	0.023	0.392333	79.86406
0.249	0.143	0.0305	0.392333	71.3254
0.1245	0.216	0.0265	0.392333	51.69924
0.06225	0.288	0.025	0.392333	32.96517
0.031125	0.334	0.029	0.392333	22.25998
0.015563	0.358	0.0385	0.392333	18.56415
0.007781	0.389	0.0335	0.392333	9.388275
0.003891	0.401	0.0385	0.392333	7.604078



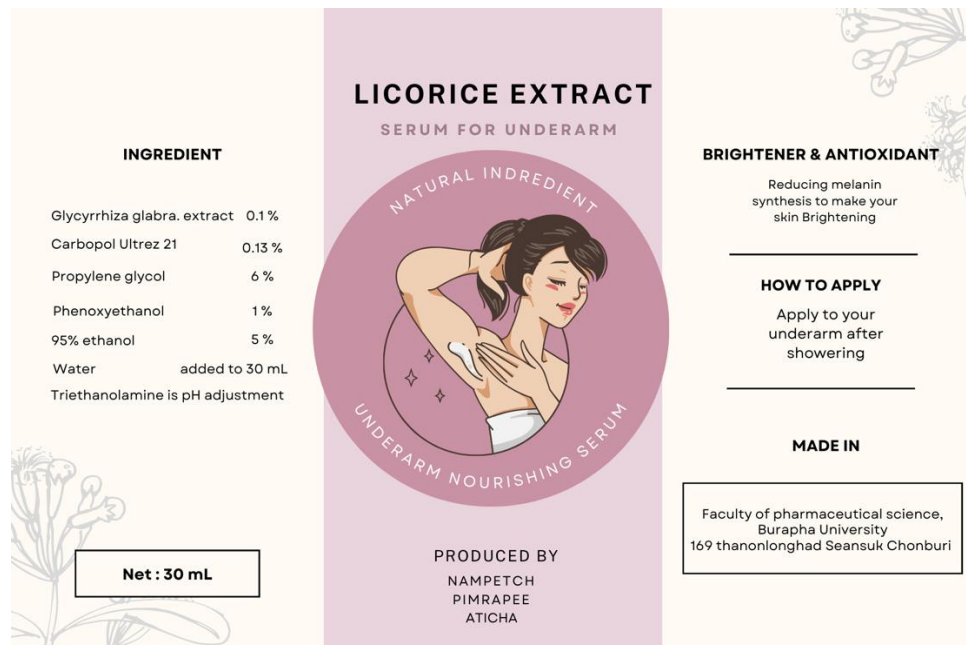
รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน kojic acid ในการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใน 96-micro well plate

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัด 3.1 mg/mL

ความเข้มข้น (mg/mL)	Abs1	Abs2	Abs3	ค่าเฉลี่ย blank	ค่าเฉลี่ย control	ค่าเฉลี่ย % inhibition
3.1	0.495	0.493	0.49	0.241	0.479	47.45999
1.55	0.485	0.452	0.454	0.1425	0.479	32.95059
0.775	0.462	0.456	0.449	0.087	0.479	23.0341
0.3875	0.465	0.463	0.458	0.0525	0.479	14.50939
0.19375	0.449	0.458	0.457	0.042	0.479	13.8483
0.096875	0.482	0.473	0.477	0.036	0.479	7.863605
0.048438	0.492	0.473	0.495	0.0315	0.479	4.975644
0.024219	0.497	0.49	0.503	0.0365	0.479	3.931802



รูปที่ 13 บรรจุภัณฑ์เซรั่มบำรุงใต้แขนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ



รูปที่ 14 ฉลากผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงใต้แขนจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2566 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสีบชาติวีระ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 20/06/2566 ถึงวันที่ 21/04/2567

ระยะเวลาดำเนินการ 10 เดือน ตั้งแต่วันที่ 20/06/2566

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ 15,000 บาท เมื่อวันที่ เดือน ปี

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. ค่ารากชะเอมเทศ	2,000 บาท	2,000 บาท	0 บาท
2. ค่าสารมาตรฐาน glabridin 4.5 %w/v	10,000 บาท	10,000 บาท	0 บาท
3. ค่าวัสดุ	2,000 บาท	2,000 บาท	0 บาท
4. ค่ารูปเล่ม	500 บาท	500 บาท	0 บาท
5. ค่าโปสเตอร์	500 บาท	500 บาท	0 บาท
รวม	15,000 บาท	15,000 บาท	0 บาท



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกสัชกรหญิงเนตรชนก เจียงสีบชาติวีระ)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการงานวิจัย



แบบฟอร์มอนุญาตให้เผยแพร่โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

ในฐานข้อมูลเว็บ OPAC ของมหาวิทยาลัย

ชื่อ-นามสกุล ผศ.ดร.ภญ.เนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ

ตำแหน่ง อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

โครงงานวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดรากชะเอมเทศ

☒ 1. อนุญาตให้เผยแพร่โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

☐ 2. อนุญาตให้เผยแพร่เฉพาะบทคัดย่อ

☐ 3. ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ผลงานวิจัย เนื่องจาก

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ..... *เนตรชนก*

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เภสัชกรหญิงเนตรชนก เจียงสืบชาติวีระ)

อาจารย์ที่ปรึกษารายวิชาโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

วันที่ *21 / 03 / 67*