



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชัน

Development of peel-off facial mask products from turmeric natural
extract

โดย

นสภ.วัชรนนท์	แก้วยัง	รหัส 59210089
นสภ.กฤตชนน	วงศ์มิตรวาทิ	รหัส 59210092
นสภ.โฆษะ	โฆษิตวรวุฒิ	รหัส 59210094

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชัน

Development of peel-off facial mask products from turmeric natural
extract

โดย

นสภ.วัชรนนท์	แก้วยัง	รหัส 59210089
นสภ.กฤตนน	วงศ์มิตรวาทิ	รหัส 59210092
นสภ.โฆษะ	โฆษิตวรฤทธิ	รหัส 59210094

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชันฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรเภสัชศาสตร์บัณฑิตระดับปริญญาตรี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ในปัจจุบันพบว่าการนำสมุนไพรของประเทศไทยในหลาย ๆ ชนิดมาทำการพัฒนาเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางโดยเห็นได้จากผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ในท้องตลาดที่มีอย่างแพร่หลายเนื่องจากการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มาจากสารสกัดธรรมชาติมีผลข้างเคียงและเกิดการระคายเคืองได้น้อยกว่าสารสังเคราะห์โดยทางคณะผู้วิจัยสนใจพืชขมิ้นชันโดยกลุ่มสารสำคัญของขมิ้นชันคือ สารกลุ่ม เคอคูมินอยด์ ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ที่โดดเด่นในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นเครื่องสำอางสำหรับลดเลือนริ้วรอยได้

ทางผู้จัดทำได้เลือกขมิ้นชันสายพันธุ์แดงสยามมาทำการวิจัยและพัฒนาเนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่พบว่ามีสารกลุ่มเคอคูมินอยด์สูง ซึ่งได้นำมาศึกษาวิจัยเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าชนิดฟิล์มลอกออกในครั้งนี้

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2563

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชัน

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | | |
|-----------------|--------------|---------------|
| 1. นสภ.วัชรนนท์ | แก้วยัง | รหัส 59210089 |
| 2. นสภ.กฤตชนน | วงศ์มิตรวาทิ | รหัส 59210092 |
| 3. นสภ.โฆษะ | โฆษิตวรวิฑู | รหัส 59210094 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | |
|-------------------------------|---------------|
| 1. ภญ.อ.ดร.นปภัช รัตนะชิตธวัช | ที่ปรึกษาหลัก |
| 2. ผศ.ดร.ณิชนกานต์ ภิระคำ | ที่ปรึกษาร่วม |

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากขมิ้นชันโดยเปรียบเทียบตัวทำละลายสองชนิดได้แก่ เอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ใช้โดยทั่วไป กับโพลีลีนไกลคอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมและใช้ในเครื่องสำอาง เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าชนิดฟิล์มลอกออก โดยทำการสกัดสารสำคัญจากขมิ้นชันด้วยตัวทำละลายสองชนิด โดยการสกัดแบบหมกทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงและไม่หมกทิ้งไว้ จากนั้นจะนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 3 วิธีคือ DPPH, ABTS และ TBARS assay และหาปริมาณสารสำคัญกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าสารสกัดด้วยโพลีลีนไกลคอลที่ไม่ได้ทำการหมกคั่งคั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและมีปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์สูงที่สุดเช่นกัน ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay โดยมีความแตกต่างจากสารสกัดชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $110.19 \pm 8.12 \mu\text{g/ml}$ วิธี ABTS+ พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วย ET, ETOV, PG, PGOV ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 145.01 ± 6.19 , 115.38 ± 13.54 , 132.33 ± 33.02 และ $99.89 \pm 9.84 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ผู้วิจัยจึงเลือกสารสกัดขมิ้นชันที่สกัดด้วยโพลีลีนไกลคอลนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ $84.64 \pm 1.93 \mu\text{g/ml}$ ในส่วนของการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าชนิดฟิล์มลอกออก พบว่าการใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารก่อฟิล์มในปริมาณ 15% ของตำรับ ทำให้เกิดการก่อฟิล์มและใช้เวลาในการแห้งเป็นแผ่นดีที่สุด จึงนำสารสกัดขมิ้นชันเติมลงในผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าไม่เปลี่ยนแปลง จากนั้นทำการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า ซึ่งทดสอบโดยวิธีการลอกผิวหนังชั้นต่าง ๆ (differential stripping) โดยใช้หนังหมูเป็นตัวแทนผิวหนังมนุษย์และวิเคราะห์สารสำคัญด้วย HPLC ซึ่งพบว่ามาสก์หน้าสามารถปลดปล่อยสารสำคัญลงสู่ผิวหนังได้



ภญ.อ.ดร.นปภัช รัตนะชิตธวัช

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

Senior Project Academic Year 2020

: Development of peel-off facial mask products from turmeric natural extract

By

- | | | |
|--------------------|--------------|-------------|
| 1. Mr. Watcharanon | Kaewyoung | ID 59210089 |
| 2. Mr. Krittanon | Wongmitwatee | ID 59210092 |
| 3. Mr. Kosa | Kositworawut | ID 59210094 |

Advisor

1. Dr. Napapat Rattanachittawat Ph.D (Advisor)
2. Assistant Professor Nichakan Peerakam (Co-advisor)

ABSTRACT

The objective of this research project was to study the antioxidant activity of turmeric extract by comparing two solvents, ethanol, a common solvent and polypropylene glycol which was a solvent commonly used as a pharmaceutical excipient and used in cosmetics products to developed into a peel-off film-type face mask product. The turmeric dry powder was extracted by maceration method and divided into two groups, left and did not left for 24 hours. The antioxidant activity of the extracts were tested by three methods: DPPH, ABTS and TBARS assay, and the quantitative determination of curcuminoid substances was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) method. The extracts with propylene glycol did not left overnight showed the highest antioxidant activity and the highest content of curcuminoid substances. The results of the antioxidant activity using DPPH assay were significantly at $p < 0.05$ with IC_{50} values of 110.19 ± 8.12 $\mu\text{g/ml}$. The ABTS⁺ method found that the antioxidant activity of ET, ETOV, PG, PGOV extract did not significantly at $p < 0.05$ with IC_{50} values of 145.01 ± 6.19 , 115.38 ± 13.54 , 132.33 ± 33.02 and 99.89 ± 9.84 $\mu\text{g/ml}$ respectively. Then turmeric extracted with propylene glycol was selected to test for antioxidant activity by TBARS. The Result found that the IC_{50} value of PG extract was 84.64 ± 1.93 $\mu\text{g/ml}$. The development of peel-off mask products found that the application of polyvinyl alcohol as a film-forming agent at 15% of the formula resulted in the best formation of a film and gave the shortest drying time. Therefore, turmeric extract in propylene glycol is added to mask products. Result found that the physical characteristics of the mask product did not change. Then, a study of the release of important substances from facial mask products was studied. It was tested by differential stripping, using pig's skin as a human skin and were analyzed the curcuminoid substances using HPLC. Result found that the mask was able to release curcuminoid substances into the skin.

Major Advisor.....*Napapat Rattanachittawat*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชันสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือด้านงบประมาณจากคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาและคำแนะนำคำปรึกษา ความช่วยเหลือจาก ญญ.อ.ดร.นปภัช รัตนะจิตวัช ซึ่งให้ความรู้คอยดูแลถ่ายทอดประสบการณ์ต่าง ๆ ในการทำวิจัยได้ทຸ່ມพบกับลูกศิษย์เป็นอย่างมาก ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องในการเขียนโครงการวิจัย

ขอขอบพระคุณ ญญ.อ.ดร.ขวัญชญาณวิศ มาชะนา ที่ช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือรวมถึงอุปกรณ์และสารเคมีต่าง ในโครงการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ณิชากรนต์ ภีระคำ และญญ.ดร.ภัทรวดี ศรีคุณ ที่ช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือรวมถึงอุปกรณ์และสารเคมีต่าง ในโครงการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์สิริเชษฐ์ รัตนะจิตวัช ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและได้สอนการใช้งานในด้านสถิติในการทำโครงการวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณนางสาวกนกพร ก้อนทรัพย์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำเรื่องการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือต่าง และผู้ที่เกี่ยวข้องที่คอยให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการวิจัยนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย

นสภ.วัชรนนท์	แก้วยัง
นสภ.กฤตนน	วงศ์มิตรวาที
นสภ.โฆษะ	โฆษิตวรฤดี

สารบัญ

	หน้า
คำนำ.....	ข
บทคัดย่อ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ	ฎ
อักษรย่อ.....	ต
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์.....	2
สมมติฐาน.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
กรอบแนวคิด.....	3
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
1. ไขมันชั้น.....	4
2. ผิวหนัง.....	12
3. ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า	20

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4. กลไกการเกิดริ้วรอย.....	26
5. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	36
3.1 การสกัดสารสำคัญจากมันชันด้วยเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอล.....	38
3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity).....	39
3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay	39
3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี 2, 2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)) (ABTS) assay.....	39
3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay	40
3.3 การตรวจสอบคุณสมบัติ และปริมาณของสารสำคัญโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	40
3.4 การพัฒนาและประเมินตำรับมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชัน	41
ประเมินคุณสมบัติการเป็นผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่สมบูรณ์ อาทิเช่น.....	41
3.5 การศึกษาคุณสมบัติในการปลดปล่อยสารสำคัญจากสารสกัดในผลิตภัณฑ์.....	41
3.6 สถิติที่ใช้ในงานวิจัย.....	42
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	43

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.1 ผลของการสกัดไขมันชั้น.....	43
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไขมันชั้นในหลอดทดลอง	44
4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay	44
4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay	46
4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS	48
4.3. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารสำคัญในสารสกัดด้วย HPLC	51
4.3.1 การวิเคราะห์สารมาตรฐานไขมันชั้นเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน	51
4.3.2 Chromatogram ของสารสกัดตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ	52
4.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า.....	55
4.5 ศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า	61
4.5.1 ผลการทดสอบเทปใสที่ไม่ได้ผสมสารหรือตำรับใด ๆ	61
4.5.2 ผลการทดสอบเทปใสที่ใช้ strip บนผิวหนังหมูภายหลังการมาสก์ด้วยผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่ ผสมสารสกัดไขมันชั้น	62
4.5.3 การวิเคราะห์ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสก์หน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ ไขมันชั้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย HPLC.....	63
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	66
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก.....	77

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงถึงรูปแบบและลักษณะของมาสก์แต่ละชนิด	25
ตารางที่ 2 แสดงผลของการสกัดผงขมิ้นชันด้วยวิธีต่าง ๆ.....	43
ตารางที่ 3 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดชนิดต่าง ๆที่ใช้ในการทดลอง ด้วยวิธี DPPH	45
ตารางที่ 4 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดที่ใช้ในการทดลอง ด้วยวิธี ABTS.....	47
ตารางที่ 5 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัด PG ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS	49
ตารางที่ 6 แสดงค่า IC_{50} ของ PG และ สารมาตรฐาน Curcumin ด้วยวิธี TBARS assay.....	50
ตารางที่ 7 ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบของสารสกัดตัวอย่าง	53
ตารางที่ 8 การพัฒนาตำรับมาสก์หน้าพื้นฐานที่ปราศจากสารสกัด.....	56
ตารางที่ 9 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาสก์หน้าพื้นฐานที่ปราศจากสารสกัด.....	57
ตารางที่ 10 การพัฒนาตำรับมาสก์หน้าที่ผสมสารสกัดขมิ้นชัน	59
ตารางที่ 11 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาสก์หน้าที่ผสมขมิ้นชัน	60
ตารางที่ 12 ปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากการทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญ ของตำรับมาสก์หน้าที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่าของค่า IC_{50} ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	62
ตารางที่ 13 ปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญของ ตำรับมาสก์หน้าที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่าของ IC_{50} (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)	64
ตารางที่ 14 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ET ครั้งที่ 1.....	103
ตารางที่ 15 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ET ครั้งที่ 2.....	104
ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน ET	104
ตารางที่ 17 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ETOV ครั้งที่ 1.....	105
ตารางที่ 18 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ETOV ครั้งที่ 2.....	106
ตารางที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน ETOV.....	107

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 20 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PG ครั้งที่ 1	108
ตารางที่ 21 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PG ครั้งที่ 2	109
ตารางที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน PG.....	109
ตารางที่ 24 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PGOV ครั้งที่ 1	110
ตารางที่ 25 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PGOV ครั้งที่ 2	111
ตารางที่ 26 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน PGOV	112

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 เหง้าขมิ้นชัน (2)	4
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้าง Curcumin.....	5
รูปที่ 3 แสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของ Curcumin: (A) vanillin, (B) ferulic acid, (C) feruloyl methane, (D) vanillic acid, (E) ferulic aldehyde, (F) 4-vinylguaiacol, (G) <i>p</i> -hydroxybenzaldehyde, (H) <i>p</i> -hydroxybenzoic acid.(9).....	12
รูปที่ 4 แสดงโครงสร้างของผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (16)	15
รูปที่ 5 Brick and mortar model (18)	15
รูปที่ 6 กลไกระดับโมเลกุลของปฏิกิริยาในการเกิดริ้วรอยแก่ผิว A) ในภาวะปกติ B) ภาวะที่เกิดปฏิกิริยาจากอนุมูลอิสระ (23).....	27
รูปที่ 7 แสดงกลไกการจับโลหะของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (24)	29
รูปที่ 8 แสดงการทำงานของวิตามินอีในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (24)	30
รูปที่ 9 แสดงกลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26).....	31
รูปที่ 10 แสดงกลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26)	32
รูปที่ 11 กลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26)	32
รูปที่ 12 กลไกการทำปฏิกิริยาต่อ antioxidant ของ ABTS (27)	34
รูปที่ 13 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TABRS กับ MDA จนเกิดสารสีชมพูอมส้ม (28)	35
รูปที่ 14 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี DPPH assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน	44
รูปที่ 15 แผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC ₅₀ ของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบด้วย DPPH assay ...	45

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 16 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี ABTS assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน	46
รูปที่ 17 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบด้วย ABTS assay	47
รูปที่ 18 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี TBARS assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน	48
รูปที่ 19 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี TBARS assay ของ PG	49
รูปที่ 20 แผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบด้วย TBARS assay .	50
รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	51
รูปที่ 22 Chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมินที่ได้จากการวิเคราะห์ HPLC.....	52
รูปที่ 23 Chromatogram HPLC ของสารสกัด ET.....	52
รูปที่ 24 Chromatogram HPLC ของสารสกัด PG	53
รูปที่ 25 แผนภูมิแสดงปริมาณสาร Total curcuminoids ในสารสกัดแต่ละชนิด	54
รูปที่ 26 ผิวหนังหนูที่เป็นตัวแทนผิวหนังมนุษย์ก่อนทาผลิตภัณฑ์	58
รูปที่ 27 ผิวหนังหนูที่เป็นตัวแทนผิวหนังมนุษย์หลังทาผลิตภัณฑ์	58
รูปที่ 28 ดำรับมาสก์หน้าจากสารสกัดเข้มข้น 0x, 5x และ 10x ตามลำดับ	61
รูปที่ 29 Chromatogram HPLC ของเทปใสที่ไม่ได้ผสมสารสกัดตัวอย่าง	62
รูปที่ 30 HPLC chromatogram ของสารสำคัญภายหลังการทดสอบการปลดปล่อยของดำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่า ของ IC_{50} ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2.....	63

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 31 HPLC chromatogram ของผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญขึ้นชั้นความเข้มข้นเป็น 0 เท่า ของ IC_{50}	64
รูปที่ 32 แผนภูมิแสดงปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับมาสักหน้าที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่าของ IC_{50} (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ).....	65
รูปที่ 33 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 1	77
รูปที่ 34 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 2	78
รูปที่ 35 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 3	79
รูปที่ 36 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 1.....	79
รูปที่ 37 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 2.....	80
รูปที่ 38 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 3.....	80
รูปที่ 39 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 1	81
รูปที่ 40 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 2	81
รูปที่ 41 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 3	82
รูปที่ 42 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 1	82
รูปที่ 43 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 2	83
รูปที่ 44 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 3	83
รูปที่ 45 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 1	84
รูปที่ 46 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 2.....	84
รูปที่ 47 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 3.....	85
รูปที่ 48 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 1	86

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 49 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 2	86
รูปที่ 50 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 3	87
รูปที่ 51 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 1	87
รูปที่ 52 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 2	88
รูปที่ 53 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 3	88
รูปที่ 54 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 1	89
รูปที่ 55 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 2	89
รูปที่ 56 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 3	90
รูปที่ 57 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 1	90
รูปที่ 58 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 2	91
รูปที่ 59 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 3	91
รูปที่ 60 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 1	92
รูปที่ 61 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 2	92
รูปที่ 62 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 3	93
รูปที่ 63 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 1	94
รูปที่ 64 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 2	94
รูปที่ 65 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 3	95
รูปที่ 66 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 1	95
รูปที่ 67 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 2	96
รูปที่ 68 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 3	96

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 69 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.00195mg/ml ครั้งที่ 1.....	97
รูปที่ 70 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.00195mg/ml ครั้งที่ 2.....	97
รูปที่ 71 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 1	98
รูปที่ 72 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 2	98
รูปที่ 73 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 1	99
รูปที่ 74 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 2	99
รูปที่ 75 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 1	100
รูปที่ 76 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 2	101
รูปที่ 77 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 1	101
รูปที่ 78 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 2	102
รูปที่ 79 แสดง HPLC chromatogram ของ ET ครั้งที่ 1	102

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 80 แสดง HPLC chromatogram ของ ET ครั้งที่ 2.....	103
รูปที่ 81 แสดง HPLC chromatogram ของ ETOV ครั้งที่ 1.....	105
รูปที่ 82 แสดง HPLC chromatogram ของ ETOV ครั้งที่ 2.....	106
รูปที่ 83 แสดง HPLC chromatogram ของ PG ครั้งที่ 1	107
รูปที่ 84 แสดง HPLC chromatogram ของ PG ครั้งที่ 2	108
รูปที่ 85 แสดง HPLC chromatogram ของ PGOV ครั้งที่ 1	110
รูปที่ 86 แสดง HPLC chromatogram ของ PGOV ครั้งที่ 2	111
รูปที่ 87 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้า ด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ B1	113
รูปที่ 88 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้า ด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ B2	114
รูปที่ 89 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้า ด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ A2	114
รูปที่ 90 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้า ด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ A1	115
รูปที่ 91 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วย สารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ A1	115
รูปที่ 92 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วย สารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ A2.....	116
รูปที่ 93 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วย สารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC ₅₀ ครั้งที่ B1	117

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 94 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญมีนชั้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2.....	117
รูปที่ 95 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญมีนชั้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1.....	118
รูปที่ 96 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญมีนชั้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A2.....	118
รูปที่ 97 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญมีนชั้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1	119
รูปที่ 98 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญมีนชั้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2	120

อักษรย่อ

สัญลักษณ์	ความหมาย
IC ₅₀	50% inhibitory concentration
mM	มิลลิโมลาร์
nm	นาโนเมตร
mL	ไมโครลิตร
R ₂	มิลลิลิตร
v/v	volume by volume
w/v	Weight by volume
%	เปอร์เซ็นต์
Mg	มิลลิกรัม
HPLC	เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
°C	หน่วยองศาเซลเซียส
R ²	Coefficient of determination

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันคงปฏิเสธไม่ได้ว่าเครื่องสำอางเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นในการดำรงชีวิตของมนุษย์ เพราะนอกจากเครื่องสำอางจะช่วยในเรื่องของการทำความสะอาดผิวหน้าและส่วนต่าง ๆ ของร่างกายแล้ว ยังมีการพัฒนาเครื่องสำอางในรูปแบบต่าง ๆ ให้มีความน่าสนใจมากขึ้น รวมถึงการพัฒนาคุณสมบัติของเครื่องสำอางให้มีประสิทธิภาพในการบำรุงและฟื้นฟูสภาพผิว โดยมีการผสมสารสำคัญต่าง ๆ เพื่อช่วยบำรุงผิวพรรณ ไม่ว่าจะเป็นสารที่ช่วยเพิ่มความกระจ่างใส ลดเลือนจุดต่างดำ หรือสารที่ช่วยลดเลือนริ้วรอยก่อนวัย โดยสารสำคัญเหล่านี้มีทั้งสารที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีและสารที่ได้มาจากธรรมชาติ อย่างไรก็ตามการใช้สารที่มาจากธรรมชาติอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค ทางด้านผู้ผลิตเครื่องสำอางจึงหันมาใช้สารสำคัญที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น แต่ทั้งนี้ในกระบวนการผลิตสารสกัดจากธรรมชาติมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสารสำคัญ ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้หากหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นการสกัดสารโดยโพรพิลีนไกลคอลซึ่งเป็นสารที่มีการนำมาใช้ในเครื่องสำอางอยู่แล้ว เพื่อให้มั่นใจได้ว่าจะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจศึกษาเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีคุณภาพ ซึ่งจะช่วยลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์หรืออันตรายที่อาจเกิดกับผู้บริโภคได้

ดังนั้นกลุ่มผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดขมิ้นชันเพื่อใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าแบบลอกออก เพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าของสมุนไพรและเป็นทางเลือกสำหรับผู้บริโภคในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดและบำรุงผิวหน้า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชัน
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารกลุ่มเคอคูมินอยด์ที่มีในสารสกัดขมิ้นชัน โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วยเอทานอล และโพรพิลีนไกลคอล
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าชนิดฟิล์มลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดขมิ้นชัน
4. เพื่อประเมินคุณลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าชนิดฟิล์มลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดขมิ้นชัน

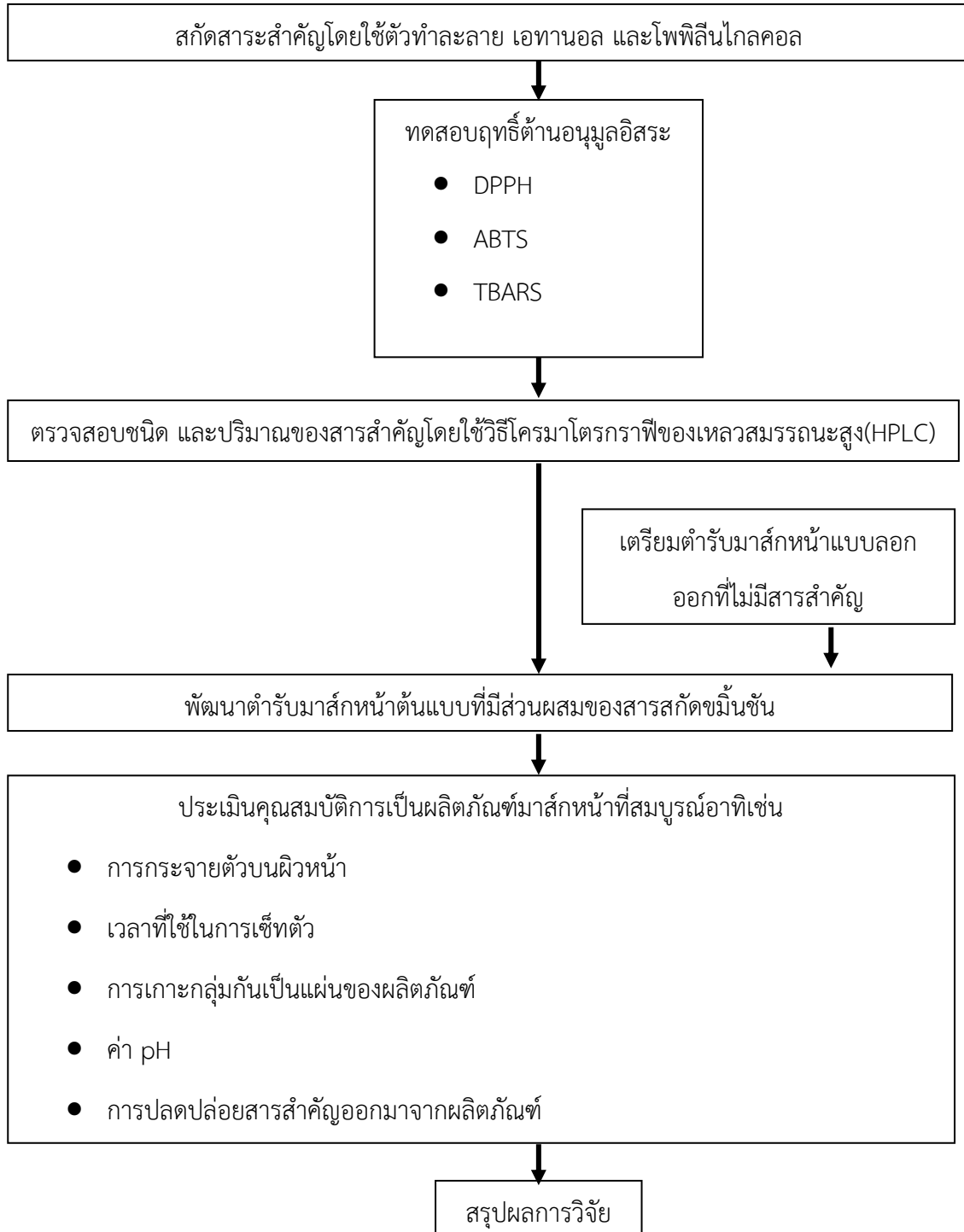
สมมติฐาน

1. การใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดขมิ้นชันสามารถทำให้ได้สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าหรือดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล
2. ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีคุณสมบัติในการกักเก็บและปลดปล่อยสารสกัดขมิ้นชันที่ได้จากการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. องค์ความรู้ในการสกัดขมิ้นชันโดยใช้ตัวทำละลายโพรพิลีนไกลคอล
2. องค์ความรู้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ได้จากการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล
3. ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถต่อยอดในเชิงธุรกิจ
4. สร้างทางเลือกในการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสมุนไพรขมิ้นชัน

กรอบแนวคิด



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. ขมิ้นชัน (1)



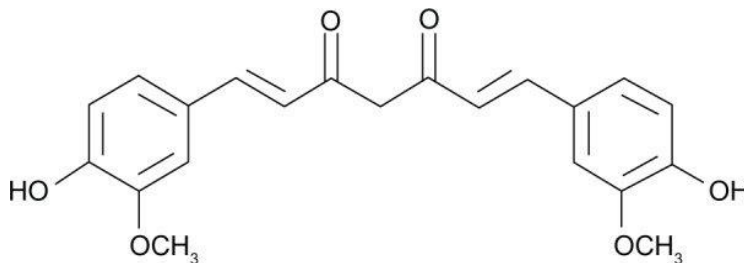
รูปที่ 1 เหง้าขมิ้นชัน (2)

ขมิ้นชัน (Turmeric) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Curcuma longa* L. ซึ่งเป็นไม้ล้มลุกที่มีดอกสีเหลืองและใบกว้างซึ่งอยู่ในตระกูลขิงและเติบโตในสภาพอากาศร้อนชื้น (3,4)

ขมิ้นชันมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการแพทย์สำหรับรักษาโรคต่าง ๆ เป็นเวลากว่า 2,500 ปีในประเทศแถบทวีปเอเชียเป็นส่วนใหญ่ (5) และมีประโยชน์สำหรับการป้องกันและรักษาโรคจำนวนมากในอายุรเวชและยาจีนแผนโบราณ (6) สารสำคัญของขมิ้นชันที่มีฤทธิ์ในการรักษาส่วนใหญ่เกิดจากสารที่มีสีส้มเหลืองที่ชื่อว่า เคอร์คูมิน (curcumin) ซึ่งเป็นสาร lipophilic polyphenol (7) โดยมีปริมาณ 2-5% ของสารทั้งหมดในผงขมิ้นชัน (6)

สารประกอบของขมิ้นชันจะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต (69.4%) โปรตีน (6.3%) ไขมัน (5.1%) เกลือแร่ (3.5%) และความชื้น (13.1%) (4) และกลุ่มสารสำคัญของขมิ้นชันคือ เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ที่ประกอบไปด้วย เคอร์คูมิน (curcumin 77%), ดีเมททอกซีเคอร์คูมิน (demethoxycurcumin [DMC] 17%) บิส-ดีเมททอกซีเคอร์คูมิน (bis-demethoxycurcumin [BDMC] 3%) และสารอื่น ๆ (8) ซึ่งจะพบเป็นสารประกอบที่มีลักษณะเป็นผลึกสีส้ม-เหลือง (9)

- ชื่อทางเคมี: [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione] (9)
- การละลาย : โดยปกติจะไม่ละลายน้ำทั้งในสภาวะกรดและสภาวะที่เป็นกลาง แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งแบบมีขั้วและไม่มีขั้ว รวมทั้งในสารละลายต่างหรือสารละลายที่มีความเป็นกรดสูง เช่น glacial acetic acid In water, 3.12 mg/L at 25 °C (est) US EPA; Estimation Program Interface (EPI) (9)
- pKa และ coefficient partition : มีรายงานว่า curcumin มีค่า pKa ที่แตกต่างกัน 3 ค่า ค่าที่ 1 และ 2 มาจากกลุ่ม phenolic-OH 2 หมู่บนโครงสร้าง และค่าที่ 3 มาจาก enolic proton และค่า Octanol–water partition coefficient (P_{ow}) ของ curcumin อยู่ที่ 3.29 (9)
- สูตรโครงสร้าง : curcumin จะเกิด Ketoenol tautomerism ที่ขึ้นกับความเป็นกรดของตัวกลาง โดยในตัวกลางที่เป็นกรดหรือเป็นกลาง curcumin จะอยู่ในรูปของ ketoform และในตัวกลางที่เป็นด่าง curcumin จะอยู่ในรูปของ enol form ซึ่งมีความเสถียรเนื่องจากการเกิด resonance และ hydrogen bonding ภายในโครงสร้าง (9)



รูปที่ 2 แสดงโครงสร้าง Curcumin

- จุดหลอมเหลว (melting point) : 183 °C (9)
- น้ำหนักและสูตรโมเลกุล : สูตรโมเลกุลของ curcumin คือ $C_{21}H_{20}O_6$ และมีค่าน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) เท่ากับ 368.38 Daltons (9)

1.1.1ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชัน (10)

1.1.1.1) ฤทธิ์ต้านการเกิดสิว (Antiacne)

โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวคือ *Cutibacterium acnes* โดยสาร curcumin ที่เป็นสารสำคัญในขมิ้นชันที่มีอนุภาคระดับนาโน ความเข้มข้น 0.43 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ได้ และมีการจดสิทธิบัตรว่าเจลที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถรักษาสิวได้

1.1.1.2) ฤทธิ์ปกป้องผิวและลดริ้วรอย (Antiaging)

การศึกษาในหนูเม้าส์ที่เหนี่ยวนำให้ผิวหนังเหี่ยวแห้งด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตบี (UVB) หลังจากป้อนสารสกัดขมิ้น ขนาด 1,000 mg/kg วันละ 2 ครั้ง นาน 19 สัปดาห์ พบว่าสามารถป้องกันการเหี่ยวแห้งของผิวหนังหนูได้ใน สัปดาห์ที่ 11 ของการศึกษา โดยไปยับยั้งเอนไซม์แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส-2 (matrix metalloproteinase- 2; MMP-2) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อกระบวนการทำลายเนื้อเยื่อ

1.1.1.3) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Antityrosinase)

สาร curcumin ในขมิ้นชันสามารถยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานิน (melanin) ในเซลล์เมลานินมา ของหนูเม้าส์และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างเม็ดสีด้วย โดยสารสกัดขมิ้นชันที่สกัดด้วย เมทิลีนคลอไรด์ (Methylene chloride) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 51 $\mu\text{g/ml}$ นอกจากนี้ขมิ้นชันสดที่สกัดด้วยเอทานอล ปีโตรเลียมอีเทอร์ และขมิ้นชันอบแห้งที่สกัดด้วย ปีโตรเลียมอีเทอร์ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 40.06 35.52 และ 32.17% ตามลำดับ นอกจากนี้สาร curcumin สามารถ

ยับยั้งการสร้างเม็ดสีในเซลล์เมลานोไซต์ของคนโดยไปกระตุ้นการทำงานของ p38-MAPK (p38 mitogen-activated protein kinases)

1.1.1.4) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

มีการศึกษาวิจัยหลายฉบับพบว่ามียูทิต้านอนุมูลอิสระ โดยเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH-radical scavenging พบว่าสาร curcumin ในขมิ้นชันสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 530.1 - 860.3 $\mu\text{g/ml}$ สาร curcumin และสารเทอราเคอร์มิน (theracurmin) ที่ความเข้มข้น 1 μM สามารถต้านอนุมูลอิสระในเซลล์สมองของหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress ด้วยสาร sodium nitroprusside และยังเพิ่มระดับเอนไซม์ glutathione ในเซลล์สมองของหนูด้วย สารสกัดขมิ้นชันที่หมักด้วย 2% เชื้อรา *Aspergillus oryzae* แล้วทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilized) ปริมาณ 30 และ 300 mg/kg เมื่อป้อนให้หนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด พิษด้วยสารคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon-tetrachloride) นาน 14 วัน พบว่าขนาดยาทั้งสองสามารถเพิ่มระดับเอนไซม์ catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าสาร curcumin ที่ความเข้มข้น 1 μM สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 62% เมื่อทดสอบโดยวิธี reducing power activity (RPA) โดยเปรียบเทียบกับวิตามินซีซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 69% จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าสาร curcumin ในขมิ้นชันมีประสิทธิภาพค่อนข้างดีในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.1.1.5) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anticancer)

จากงานวิจัยที่ได้ทดสอบสาร curcumin กับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้องอกที่ผิวหนังพบว่า สาร curcumin สามารถลดการเกิดเนื้องอกของหนูได้ ซึ่งมีงานวิจัยสนับสนุนว่าอาจเกิดจากสาร curcumin ไปยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA ต่อมา มีการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสาร curcuminoids ทั้ง 3 ชนิด คือ curcumin, DMC และ BDMC ทั้งใน ระดับเซลล์ทดลอง (*In vitro*) และสัตว์ทดลอง (*In vivo*) พบว่าสาร

กลุ่ม curcuminoids แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดมะเร็งทั้งสองการทดลองในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ curcumin, DMC และ BDMC แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งทดลอง P450 (CYP 450) ได้ที่ระดับความเข้มข้น 32 78 และ 88 μM ตามลำดับ ซึ่ง curcumin จะแสดงฤทธิ์ได้สูงที่สุด เมื่อทดสอบกับเซลล์ทดลอง CYP 1A1, 1A2 และ 2B1 สารกลุ่ม curcuminoids ทั้ง 3 ชนิด แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ที่ความเข้มข้น 2.5-21 μM ซึ่ง BDMC แสดงฤทธิ์ได้สูงที่สุด และเมื่อให้ขมิ้นชัน ที่ความเข้มข้น 1% กับหนูทดลองพบว่าสามารถลดการเหนี่ยวนำการเกิดมะเร็งที่ตับ ปอด และกระเพาะอาหารลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้จากการวิจัยในระดับคลินิกกับผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ติดต่อกับเคมีบำบัด จำนวน 15 คน โดยให้ผู้ป่วยรับประทานสารสกัดขมิ้นชัน 220 mg วันละ 2-10 แคปซูล หรือประมาณ วันละ 440-2200 mg เป็นเวลา 4 เดือนซึ่งใน 1 แคปซูลประกอบด้วย curcumin 18 mg DMC 2 mg และน้ำมันหอมระเหยเคอร์คิวมา (curcuma essential oil) อีก 200 mg พบว่าผู้ป่วยทนต่อยาได้ดีไม่มีผลข้างเคียงใด ๆ และผู้ป่วยที่ได้รับสารสกัดกลุ่ม curcuminoids ขนาด 440 mg ทุกวัน จะทำให้ lymphocytic glutathione S-transferase activity ลดลง โดยไม่มีผลต่อการเกิด DNA adduct ในเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้ยังมีการทดสอบ curcumin กับผู้ป่วยในกลุ่มเสี่ยงที่จะเป็นมะเร็ง (high-risk หรือ pre-malignant lesion) จำนวน 25 คน โดยให้ผู้ป่วย รับประทาน curcumin วันละ 0.5 - 12 g พบว่าการ รับประทาน curcumin ที่ขนาดต่ำกว่า 8 g/day ไม่ทำให้เกิดพิษต่อผู้ป่วยและยังส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้น จากนั้นได้มีการนำสารกลุ่ม curcuminoids ไปสังเคราะห์ ปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นอนุพันธ์ต่าง ๆ และสังเคราะห์เลียนแบบโครงสร้าง curcumin ให้เป็น diarylpentanoids และทดสอบการยับยั้งมะเร็งต่อมลูกหมากและมะเร็งเต้านม พบว่าสารสังเคราะห์ diarylpentanoids บางชนิดมีฤทธิ์มากกว่า curcumin ถึง 50 เท่า (11)

1.1.1.6) ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial)

จากงานวิจัยที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราหลายชนิดในกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (dermatophytes) โมลต์ (molds) และยีสต์ (yeasts) ของน้ำมันหอมระเหยและสาร

เคอร์คิวมินที่ได้จากขมิ้นชัน พบว่าน้ำมันหอมระเหย แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ทั้งสามชนิด ส่วนสารเคอร์คิวมินยับยั้งได้เฉพาะยีสต์และขมิ้นชันที่สกัดด้วยเฮกเซนยังสามารถแสดงฤทธิ์ ต้านจุลินทรีย์ *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดส่วนสกัดอื่น เมื่อนำสารสกัดเมทานอลจากเหง้าขมิ้นชันที่มี curcumin กับสารสกัดเหง้าขิงในอัตราส่วน 1:1 มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวโดยแสดงค่า Minimum inhibition concentration (MIC) เท่ากับ 6.25-50 µg/ml ต่อมา มีการพัฒนาโครงสร้างสาร curcumin ให้เป็นอนุพันธ์ต่าง ๆ โดยวิธีทางเคมีเพื่อหาสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ให้ดียิ่งขึ้น (12) และอีกหนึ่งงานวิจัยที่ได้ทำการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสาร curcumin ให้อยู่ในรูป curcumin-bioconjugates โดยการเติมหมู่กรดอะมิโนโนไกลซีน (glycine) ดีอลานีน (D-alanine) ไพเพอรีน (piperine) และดี-กลูโคส (D-glucose) เข้าไปที่บริเวณหมู่ไฮดรอกซีของ curcumin แล้วทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ดีมากกว่าสารตั้งต้น curcumin (1)

1.1.2) ความคงตัวของขมิ้นชัน (9)

1.1.2.1) ความคงตัวของขมิ้นชันในของเหลว (9)

ตัวกลางที่เป็นของเหลวควรจะเป็นกรด ต่าง หรือตัวกลางชีวภาพ ความคงตัวของ curcumin จะขึ้นอยู่กับค่า pH ซึ่งพิสูจน์ได้จากการเปลี่ยนสีของสารละลาย curcumin ในค่า pH ต่าง ๆ โดยที่ pH <1 สารละลาย curcumin จะเป็นสีแดง เนื่องจากอยู่ในรูปของ protonated form ที่ pH 1-7 สารละลาย curcumin เป็นสีเหลืองเนื่องจากโมเลกุลส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ neutral form ที่ค่า pH > 7.5 สารละลาย curcumin จะเปลี่ยนสีเป็นสีส้มแดง นอกจากนี้สำหรับสารละลาย buffer curcumin จะเกิด complex กับ borate, citrate และ phthalate แต่จะเฉื่อยต่อ KCl, KH_2PO_4 และ NaHCO_3

จากการตรวจสอบการสลายตัวของ curcumin ใน buffer systems ต่าง ๆ ที่ช่วง pH 1-11 ที่อุณหภูมิ 31.5 °C พบว่าการสลายตัวของ curcumin เป็นไปตาม second-order kinetics (คือ ปฏิกิริยาที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นยกกำลังสอง) (14) ที่ pH 7.0–7.8 ความเข้มข้นของ Phosphate buffer ที่แตกต่างกันไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญตามอัตราของกระบวนการ degradation ในอีกการศึกษาหนึ่งพบว่าการลดลงของ curcumin ในสารละลาย 0.1 M buffer ที่ pH 3-10 (โดยใช้ citrate, phosphate, และ carbonate buffers) ที่อุณหภูมิ 37 °C จะเป็นไปตาม first-order kinetics (คือ ปฏิกิริยาที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นยกกำลังหนึ่ง) (14) ในสภาวะความแรงของไอออนคงที่

ในตัวอย่างชีวภาพ เช่น 0.1 M phosphate buffer หรือตัวอย่างปลาสดจากเซรัมค่า pH ที่ 7.2 (ที่อุณหภูมิ 37 °C ทั้งสองตัวอย่าง) curcumin จะสลายตัวอย่างรวดเร็วถึง 90% ภายใน 3 ชั่วโมง การสลายตัวที่รวดเร็วนี้จะชะลอตัวลงเมื่อตัวอย่างชีวภาพที่ใช้มีเซรัมที่ได้จากลูกวัวในครรภ์ ผลที่คล้ายกันก็พบว่าการใช้เซรัมอัลบูมินที่ได้จากวัว จะลดการสลายตัวของ curcumin

ใน phosphate buffered saline ที่ pH 7.4 ที่เพิ่มเซรัมอัลบูมินของมนุษย์ (4% w/v) พบว่าสามารถชะลอการสลายตัวของ curcumin ได้ ในเลือดมนุษย์การสลายตัวของ curcumin จะช้าลงน้อยกว่า 20% ภายใน 1 ชั่วโมง นอกจากนี้การเติม glutathione (1 mM), N-acetyl-L-cysteine (50 mM) หรือ ascorbic acid (25 mM) ใน 25 mM ของ curcumin ใน phosphate buffer (ที่ pH 7.4 และ 6.5) สามารถป้องกันการสลายตัวของ curcumin ได้ การเติม microsomal protein (0.03 mg โปรตีน/ml) และชิ้นส่วนของเซลล์ตับหนู (0.01 mg/ml) สามารถยับยั้งการย่อยสลายของ curcumin ได้

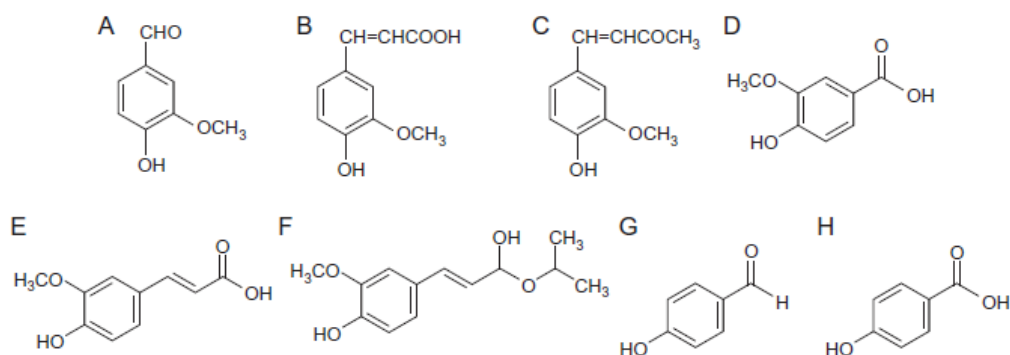
1.1.2.2) ความคงตัวของขมิ้นชันเมื่อโดนแสงและความร้อน (9)

รายงานการค้นพบ photodegradation ของ curcumin จากการทดลองในตัวกลาง isopropanol โดย curcumin จะถูกละลายใน isopropanol และสัมผัสกับแสง (ความยาวคลื่น 400–510 nm) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่อยสลายจะถูกวิเคราะห์ด้วย Thin-layer chromatography (TLC), high resolution mass spectrometry (MS) และ nuclear magnetic resonance (NMR) ผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายพบว่ามีองค์ประกอบหลักของ $C_{12}H_{18}O_6$ โดยมี mass spectrum แสดงค่าของ molecular ion ที่ $m/e = 366$ (แสดงว่าอะตอมของ hydrogen สองโมเลกุลถูกลบออกจากโครงสร้าง) ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้นี้เป็นผลมาจากการกระบวนการ cyclization จาก light irradiation และสามารถตรวจจับได้หลังจากการฉายรังสีน้อยกว่า 15 นาที นอกจากนี้ยังพบผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายอีกเช่น vanillin, vanillic acid (VA), ferulic aldehyde, ferulic acid (FA), และ 4-vinylguaiacol และยังมีสารอื่นที่ไม่สามารถระบุได้ แต่มีสูตรเคมีคือ $C_{13}H_{18}O_4$ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นที่พบว่า สารละลาย methanol หรือ ethanol ของ curcumin ตั้งไว้ในที่มีแสงแดดเป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าเกิดการสลายของ curcumin และ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย ได้แก่ vanillin, p-hydroxybenzaldehyde, ferulic aldehyde, p-hydroxybenzoic acid, VA, และ FA นอกจากนี้ยังพบว่า curcumin ในรูปแบบแห้งมีความเสถียรต่อการได้รับแสงแดดมากกว่าสารละลาย (โครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์ที่ย่อยสลายจะแสดงในรูปที่ 3) (15)

จากการทดสอบความคงตัวของ curcumin ต่อแสงในตัวทำละลายอินทรีย์สี่ชนิด ได้แก่ methanol, ethyl acetate, chloroform, และ acetonitrile ที่ความยาวคลื่น 400–750 nm และ 240–600 nm พบว่าการสลายตัวของ curcumin นั้นเป็นไปตาม first-order kinetics ซึ่งค่าครึ่งชีวิตของ curcumin ในสารละลายเรียงตามลำดับความเสถียรคือ methanol > ethyl acetate > chloroform > acetonitrile ผลิตภัณฑ์จากการเกิด cyclization ของ curcumin ถูกตรวจพบเฉพาะใน methanol และ chloroform แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสารละลายของ curcumin ในตัวทำละลายที่

ผ่านการทดสอบแต่ละตัวถูกทำให้แห้งเป็นแผ่นฟิล์มบาง พบว่าค่าครึ่งชีวิตจะเป็นไปตาม second-order kinetics โดยเรียงตามลำดับความเสถียรคือ acetonitrile > chloroform > ethyl acetate > methanol ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้บรรจุภัณฑ์ที่เป็น แก้วสีชาในการเก็บรักษาเนื่องจากบรรจุภัณฑ์ประเภทนี้ให้แค่แสงที่มีความยาวคลื่นสูงกว่า 500 nm เท่านั้นผ่านได้

ขมิ้นชัน มีความเสถียรที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 10 นาที ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้ curcumin จะเริ่มสลายตัวและที่อุณหภูมิ 100 °C การสลายตัวของ curcumin จะเพิ่มขึ้นตามการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง นอกจากนี้การต้ม curcumin เป็นเวลา 10 หรือ 20 นาทีมีส่วนทำให้เกิดการสูญเสีย curcumin เพิ่มขึ้น 27% และ 32% ตามลำดับ และการแปรรูปขมิ้นชันที่มี curcumin โดยใช้หม้อความดัน (10 นาทีที่ 15 psi) จะทำให้สูญเสีย curcumin ไปถึง 53%



รูปที่ 3 แสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของ Curcumin: (A) vanillin, (B) ferulic acid, (C) feruloyl methane, (D) vanillic acid, (E) ferulic aldehyde, (F) 4-vinylguaicol, (G) *p*-hydroxybenzaldehyde, (H) *p*-hydroxybenzoic acid. (9)

2. ผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกาย โดยคิดเป็นน้ำหนักประมาณ 16% ของ น้ำหนักตัว มีลักษณะแตกต่างกันตามแต่ละส่วนของร่างกาย ทั้งในโครงสร้าง ความหนา และสีผิว ซึ่งทำ

หน้าที่เป็นด่านแรกในการป้องกันอันตรายจากพวกแบคทีเรีย ไวรัส อีกทั้งยังมีหน้าที่ช่วยควบคุมการสูญเสียน้ำออกจากร่างกาย ควบคุมอุณหภูมิ และรับรู้ความรู้สึก

2.1) โครงสร้างของผิวหนัง (16,17)

ผิวหนังประกอบด้วย 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) ชั้นหนังแท้ (Dermis) และชั้นไขมัน (Subcutis) ในแต่ละชั้นจะแบ่งเป็นชั้นย่อย ๆ อีกหลายชั้น และมีต่อมต่าง ๆ อีกมากมายเช่น ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน เป็นต้น ซึ่งจะมีหน้าที่แตกต่างกันออกไป

2.1.1) ผิวชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) เป็นชั้นที่อยู่นอกสุด โดยชั้นนี้ประกอบไปด้วยเซลล์ที่มีการเจริญเติบโต และลอกหลุดออกไปจากร่างกายตลอดเวลา และเป็นชั้นที่ให้กำเนิดโครงสร้างต่าง ๆ เช่น ขน รูขุมขน และต่อมไขมันรวมที่เรียกว่า Pilosebaceous unit's ต่อมเหงื่อ และเล็บ ซึ่งในชั้นนี้จะประกอบด้วย

2.1.1.1) Basal layer หรือ Stratum basale: เป็นส่วนที่อยู่ชั้นในสุด ชั้นนี้ประกอบไปด้วยเซลล์ที่เรียงตัวกันชั้นเดียวมีชื่อว่า basal cells เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการแบ่งตัวสูงและตลอดเวลา (mitotically active) จึงถือว่าเป็นชั้นที่เซลล์ยังมีชีวิต โดยระยะเวลาที่ basal cell แบ่งตัวให้กำเนิด keratinocytes จนกระทั่ง keratinocytes ผ่านกระบวนการ keratinization จนสมบูรณ์กลายเป็น corneocyte ใช้เวลาประมาณ 14 วัน และระยะเวลาที่ corneocytes หลุดลอกออกไปกลายเป็นขี้ไคล (keratin) หมด ใช้เวลาอีกประมาณ 14 วัน

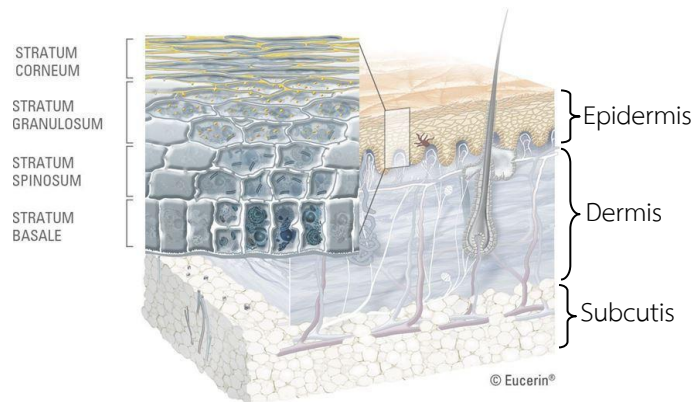
2.1.1.2) Prickle layer หรือ Stratum spinosum : เซลล์ Keratinocyte ในส่วนนี้จะผลิตโปรตีนที่เรียกว่า Keratin ซึ่งจะมีลักษณะเล็กเรียวยาว และมีการเริ่มสร้างเซลล์ keratinosome โดยเซลล์ในชั้น stratum basale และ stratum spinosum รวมแล้วจะเรียกว่า Stratum Malpighi (Malpighian layer)

2.1.1.3) Granular layer หรือ Stratum granulosum: ชั้นนี้จะเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการผลิตเซลล์ผิว (Keratinization) และมีการเปลี่ยนแปลงจาก keratinosome กลายเป็น corneocytes และมี glycolipid และ phospholipidเคลือบ corneocyte ไว้ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำของ

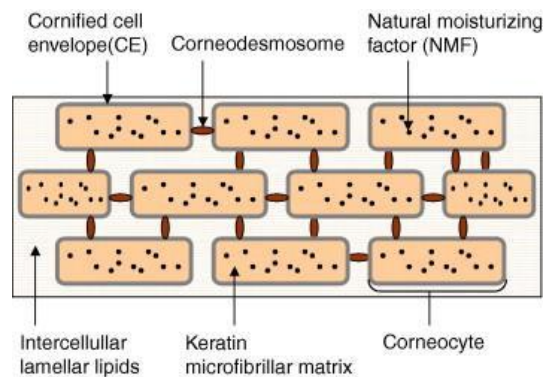
เซลล์ (water barrier) ช่วยทำให้เซลล์ยึดติดกันอย่างมีประสิทธิภาพ และยังเป็นที่มาของการดูดซึมยาที่ทาลงบนผิวหนังด้วย

2.1.1.4) Clear layer หรือ Stratum lucidum: เซลล์ในชั้นนี้จะอัดตัวกันอย่างหนาแน่น และมีลักษณะแบนราบ ไม่สามารถแยกตัวออกจากกันได้ซึ่งจะพบได้ในบริเวณที่เป็น thick skin หรือบริเวณฝ่ามือหรือฝ่าเท้าเท่านั้น

2.1.1.5) Horny layer หรือ Stratum corneum: ชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่ชื่อว่า corneocyte หรือ cornified cell ภายใน cell จะไม่มี organelles ชนิดอื่นยกเว้น keratin ที่สมบูรณ์แล้ว (mature keratin) ซึ่งเซลล์ในชั้นนี้จะมีขนาดใหญ่ที่สุดใน epidermis และในระหว่างเซลล์ corneocyte จะมีไขมันเรียงตัวกันเป็นชั้นสลับกับชั้นน้ำในลักษณะ lamellar ด้วยการหันด้านที่ ไม่มีขั้วของไขมันเข้าหากันและหันด้านที่มีขั้วอยู่ติดกับชั้นน้ำกลายเป็น lipid matrix โดยชนิดของไขมันที่พบ ได้แก่ ceramide, fatty acid และ cholesterol ในขณะที่ชั้นน้ำจะพบสาร hyaluronic acid และ glucoceramide ที่สามารถละลายในน้ำได้ เกิดการเรียงตัวของ corneocyte สลับกับ lipid matrix ไปเรื่อย ๆ ในลักษณะของ brick and mortar model (ดังรูปที่ 6) และเซลล์ในชั้นจะมีหน้าที่ปกป้องผิวจากอันตรายภายนอก (mechanical protection) ป้องกันการสูญเสียน้ำไปจากผิวหนัง (Barrier to water loss) และเป็นด่านที่เป็นทางผ่านของยาหรือสารต่าง ๆ จากภายนอก และในชั้นนี้ Desmosome ซึ่งเป็นตัวยึดระหว่างเซลล์จะเริ่มถูกทำลาย ทำให้แต่ละเซลล์แยกจากกันเริ่มขบวนการที่เรียกว่า Desquamation คือ การลอกหลุดของ corneocytes ออกไปเป็นขี้ไคล (keratin)



รูปที่ 4 แสดงโครงสร้างของผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (16)



รูปที่ 5 Brick and mortar model (18)

2.1.2) ผิวหนังชั้นหนังแท้ (Dermis) มีต้นกำเนิดจาก mesoderm ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ระบบเส้นเลือด (vascular network) และเส้นประสาท (nerve) เป็นที่อยู่ของ skin derivatives, เซลล์ fibroblasts, เซลล์ macrophages, mast cells และเซลล์ของระบบเลือด (blood-borne cells) เช่น lymphocytes และ plasma cells เป็นต้น โดยหน้าที่ของชั้น dermis คือ ทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น (elasticity) ทนแรงยึดผิวหนังได้ (Tensile strength) ปกป้องร่างกายจากอันตรายต่าง ๆ (mechanical injury) อุ้มน้ำไว้ (binds water) เพื่อจุดประสงค์ในการควบคุมสมดุลความร้อนของร่างกาย (Thermal regulation) และเป็น

ประสาทรับสัมผัสต่าง ๆ (receptor of sensory stimuli) ในชั้นนี้จะประกอบไปด้วย เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue matrix) หลัก ๆ คือ collagen tissues ส่วนน้อย เป็น elastic tissues และในชั้น Dermis ประกอบด้วย 2 ชั้นย่อยได้แก่

2.1.2.1) The upper layer (stratum papillare): เป็นชั้นที่อยู่ติดกับ epidermis ประกอบด้วย collagen ขนาดเล็ก เป็น collagen type 3 มากกว่า type 1 และมี elastic tissue ชนิด oxytalan elastic fiber โดยจะเรียงตัวตั้งฉากกับ epidermis และมีเซลล์ fibroblasts จำนวนมากที่มีความสามารถในการแบ่งตัวได้อย่างรวดเร็ว (มี metabolic activity มาก) เพื่อประโยชน์ในการซ่อมแซมผิวหนัง (wound healing)

2.1.2.2) The lower layer (stratum reticulare): เป็นชั้นที่ถัดมาจากชั้น stratum papillare ประกอบด้วย collagen ที่มีขนาดใหญ่เป็น type 1 มากกว่า type 3 และ elastic fiber ที่เจริญเต็มที่ (mature elastic fiber) ทั้ง collagen และ elastic fiber จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ โดยชั้นในนี้สามารถแบ่งย่อยลงไปได้อีกเป็น 2 ชั้น

2.1.2.2.1) Upper zone ประกอบด้วย collagen ที่มีขนาดกลางๆ ส่วน elastic fiber เรียงตัวตามแนวนอน (Horizontal) ชั้นนี้เป็นชั้นที่อ่อนแอและเหมาะต่อการเกิดโรค

2.1.2.2.2) Deeper zone เป็นชั้นที่มี collagen และ elastic fiber ขนาดใหญ่ และมี inflammatory cells และ fibroblasts จำนวนมาก

2.1.3) ผิวหนังชั้นไขมัน (Subcutis) เป็นชั้นที่อยู่ถัดลงมาจาก Dermis ประกอบไปด้วยส่วนของต่อมเหงื่อ collagen, elastic fibers ที่ต่อเนื่องลงมาจากชั้น dermis และเซลล์ไขมัน (Fat or adipose tissues) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของชั้นนี้ โดยจะอยู่รวมกันเป็น lobule ที่มีตัวแบ่งกันที่เรียกว่า fibrous septa ซึ่งจะมีเส้นเลือดเส้นประสาท หลอดน้ำเหลือง (lymphatic vessels) อยู่ใน septa นี้ด้วย โดยความหนาของชั้นนี้จะขึ้นกับความหนาของชั้นไขมัน และขึ้นกับตำแหน่งของร่างกายด้วย เช่น บริเวณหน้าท้องจะหนามากกว่าบริเวณเปลือกตา หน้าที่ของชั้นนี้คือให้ความอบอุ่น

รักษาความร้อนของร่างกายไว้,เป็นแหล่งสะสมพลังงานของร่างกายเปรียบเสมือนหมอนรองกระดูก (cushion) และทำให้ผิวหนังเคลื่อนไหวได้ไม่ติดแน่นกับโครงสร้างข้างใต้ ผิวหนังนอกจากนี้ยังมีผลในด้านความสวยงาม (cosmetic effect) ในด้านรูปทรงของใบหน้า เช่น บริเวณแก้ม และในชั้นนี้ยังมีผมหรือขนที่กำลังเจริญเติบโตจะยื่นลงมาอยู่ในชั้นนี้ด้วย

2.3) ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมทางผิวหนัง

2.3.1) ผิวหนัง

2.3.1.1) ความชุ่มชื้นของผิว (Skin hydration) ผิวหนังที่ชุ่มน้ำจะทำให้รูช่องว่างของโปรตีนที่แทรกอยู่ระหว่างชั้นของผิวหนังขยายใหญ่ขึ้นผิวหนังพองตัวลดความหนาแน่นของโครงสร้างผิวหนัง ทำให้อัตราเร็วในการแพร่ผ่านเพิ่มสูงขึ้น

2.3.1.2) อุณหภูมิที่ผิวหนัง (Skin temperature) การอุณหภูมิผิวหนัง จะทำให้ผิวหนังมีอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้อัตราการดูดซึมทางผิวหนังสูงขึ้นและดีขึ้น เพราะความร้อนที่เพิ่มขึ้นจะช่วยเพิ่มอัตราการแพร่กระจาย เพิ่มการเคลื่อนที่ของโมเลกุล ลดความหนืด เพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดทำให้พาตัวยาออกไปได้ดีขึ้น และเกิดความต่างระดับของความเข้มข้นมากขึ้นทำให้สามารถแพร่ผ่านได้มากขึ้น

2.3.1.3) ลักษณะของผิวหนัง (Skin characteristic) เช่น ความแตกต่างของอายุ ยิ่งอายุที่สูงขึ้นจะทำให้การผลัดเซลล์ผิวเกิดขึ้นน้อยลง การไหลเวียนเลือดมาที่ผิวหนังน้อยลง ส่งผลให้การดูดซึมทางผิวหนังต่ำ ความหนาของผิวหนังบริเวณต่าง ๆ สภาพของโรคหรือบริเวณที่เกิดความผิดปกติ เช่น เกิดบาดแผล รอยถลอก ฟกช้ำ เป็นต้น

2.3.2) สารสำคัญ และสูตรตำรับ

2.3.2.1) คุณสมบัติของสาร: เช่น ค่า $\log P$ โดยทั่วไปจะมีค่า $\log P$ อยู่ในช่วง 1-3 (ชอบไขมัน) จะส่งผลให้การซึมผ่านผิวหนังจะดี รูปไม่แตกตัว น้ำหนักโมเลกุลที่น้อยกว่า 500 Da ขนาดอนุภาคเล็ก ซึ่งจะสามารถซึมผ่านผิวหนังได้ดี ค่าการละลายในน้ำของสารควรมากกว่า 1 mg/ml และค่า pH สารเมื่อละลายน้ำควรอยู่ระหว่าง 5-9

2.3.2.2) ปริมาณสารและความเข้มข้น: ยิ่งมีปริมาณสารสำคัญมากจะทำให้ความแตกต่างของความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลให้การซึมผ่านมากขึ้นด้วย โดยปริมาณในการนำส่งของสารควร $< 10 \text{ mg/day}$

2.3.2.3) สูตรตำรับ : มีผลต่อการปลดปล่อยสารสำคัญ เนื่องจากการปลดปล่อยของสารสำคัญและระยะเวลาในการปลดปล่อยออกจากตำรับขึ้นอยู่กับค่าการละลายของสารสำคัญและสารช่วยต่าง ๆ ในตำรับ

2.3.3) สารช่วยเพิ่มการซึมผ่าน

คือสารที่มีหน้าที่ในการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านสารสำคัญในตำรับเข้าสู่ผิวหนัง โดยสามารถแบ่งประเภทของสารช่วยเพิ่มการซึมผ่านได้เป็น 2 ประเภท

2.3.3.1) สารเคมีที่เพิ่มการซึมผ่าน (Chemical enhancers) คือการใช้สารเคมีเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญผ่านผิวหนังโดยไม่ทำลายผิวหนังแบบถาวร และทำให้ผิวหนังชุ่มน้ำมากขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผิวหนัง โดยรบกวนการเรียงของชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ความหนาแน่นของช่องว่างระหว่างเซลล์น้อยลงชั่วคราว ลดไขมันที่โครงสร้างของผิวหนัง ทำให้ไขมันที่ผิวหนังอ่อนตัวลง และในทางทฤษฎีสารเคมีที่ใช้จะต้องไม่ก่อให้เกิดพิษต่อร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการระคายเคือง การอักเสบ หรือสเปคัน ไม่ทำลายผิวหนังแบบถาวร เข้ากันได้ดีกับสารอื่น ๆ ในตำรับ สามารถแผ่กระจายบนผิวหนังได้ดี โดยสามารถแบ่งกลุ่มได้ดังนี้

2.3.3.1.1) สารลดแรงตึงผิว (Surfactants) จากโครงสร้างส่วนที่มีหัวและไม่มีหัวของสารลดแรงตึงผิวทำให้เกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้ช่องว่างระหว่างเซลล์ และ/หรือภายในเซลล์ corneocyte เพิ่มขึ้น ทำให้เพิ่มการซึมผ่านของสารสำคัญได้มากขึ้นแต่ประสิทธิภาพในการเพิ่มความสามารถขึ้นอยู่กับชนิดและโครงสร้างของสารช่วยนั้น ๆ ยกตัวอย่างเช่น sodium lauryl sulfate เป็นต้น

2.3.3.1.2) ตัวทำละลาย (Solvents) จะไปละลายไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ และชั้น lipid region ออกจากชั้นผิวหนัง จึงทำ

ให้เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์ หรือภายในเซลล์ corneocyte เพิ่มขึ้น แต่ถ้าหากใช้สารในกลุ่ม alcohol หรือสารที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพของโปรตีนเมื่อใช้ในปริมาณสูง อาจทำให้โปรตีนของเซลล์เสื่อมสภาพได้ และตัวทำละลายบางชนิดสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารสำคัญเพิ่มความสามารถในการ partition หรือเพิ่มความสามารถในการละลายของสารสำคัญผ่านผิวหนังได้ ยกตัวอย่างเช่น acetone, ethanol, propylene glycol และ polyethylene glycol เป็นต้น

2.3.3.1.3) ฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) เป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์จึงสามารถแทรกตัวเข้ากับชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ corneocyte ได้ ทำให้เกิดเรียงตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ใหม่ หรือสามารถแทรกผ่านเข้าไปได้ โดยไม่มีการเรียงตัวใหม่ (ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ในตำรับ) และยังช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการละลายของตัวยาในชั้นไขมันของ lipid region แต่ถ้าหากใช้ในปริมาณมาก ๆ อาจทำลายความเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้ดูดซึมตัวยาเข้าสู่ผิวหนังมากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น sphingolipids, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine เป็นต้น

2.3.3.1.4) กรดไขมัน (Fatty acids) สามารถแทรกอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ corneocyte ได้และเพิ่มความสามารถในการไหลของโมเลกุลไขมันอื่น ๆ ในเยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้เพิ่มการแพร่ผ่านของตัวยาส่งขึ้น ยกตัวอย่างเช่น stearic acid, palmitic acid, oleic acid, myristic acid เป็นต้น

2.3.3.1.5) น้ำมัน (Emollients) สามารถเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญโดยผ่านกลไกต่าง ๆ ได้ เช่น เพิ่มค่าการ partition ลดการสูญเสียน้ำออกจากผิวชั้นนอก และการดึงน้ำไว้ให้อยู่ภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ corneocyte อิ่มตัวไปด้วยน้ำจนเกิดการเกาะกันอย่างหลวม ๆ เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น squalane, mineral oil squalene, isopropyl myristate, isopropyl palmitate เป็นต้น

2.3.3.1.6) น้ำมันหอมระเหย (Essential oils) สามารถลดความหนาแน่นของไขมันระหว่างเซลล์ corneocyte ได้ชั่วคราวเนื่องจากสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง ยกตัวอย่างเช่น terpenoids เป็นต้น

3. ผลิตภัณฑ์มาส์กหน้า

ผศ.พญ.สุวิรากร โอภาสวงศ์ ประธานประชาสัมพันธ์ สมาคมแพทย์ผิวหนังแห่งประเทศไทย กล่าวว่า การเลือกผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าให้เหมาะสม ผลิตภัณฑ์ควรมีคุณสมบัติในการล้างสิ่งสกปรก ฝุ่นละออง คราบเหงื่อไคล เชื้อโรค และเครื่องสำอาง ให้ออกมาละลายน้ำได้โดยที่ไม่ทำลายไขมันธรรมชาติที่ปกป้องผิวหน้า โดยผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าที่พบได้ทั่วไปได้แก่

1. สบู่ก้อน มีประสิทธิภาพในการชะล้างความมันได้ดี จึงอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหน้าได้ หลังล้างหน้าด้วยสบู่ก้อนจะทำให้ผิวหน้ามีความเป็นด่างมาก ทำให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิวเจริญเติบโตได้ดี ดังนั้นสบู่ชนิดนี้จึงเหมาะกับผิวปกติ แต่ไม่เหมาะกับผู้ที่ผิวบอบบางและมีการระคายง่าย และไม่ควรใช้สบู่ก้อนที่ถูตัวมาล้างหน้าแบบ All-in-one เพราะจะทำให้เกิดการระคายเคืองได้

2. โลชั่นเช็ดหน้า หรือที่รู้จักกันในชื่อ Astringent, Clarifying lotion, Toner ใช้เช็ดหลังจากการล้างหน้า อาจมีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์เพื่อเช็ดความมันบนใบหน้าและให้ความรู้สึกว่หน้าตึง กระชับรูขุมขน หรือใช้ในผู้ที่ผิวมันง่าย

3. ครีมเช็ดหน้า (Cleansing cream หรือ oil) เหมาะกับผู้ที่ผิวแห้ง แพ้ง่าย ใช้เช็ดเครื่องสำอางทำให้เช็ดออกได้ง่าย เพราะเครื่องสำอางส่วนใหญ่สามารถละลายในน้ำมันได้ดี

4. ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดไร้ไขมัน (Lipid Free Cleanser) สามารถทำความสะอาดผิวหน้าโดยไม่มีสบู่ และไขมัน สามารถใช้ทำความสะอาดผิวหน้าที่แห้งได้โดยไม่ต้องใช้น้ำช่วยหลังจากเช็ดแล้วจะทิ้งฟิล์มให้ความชุ่มชื้นไว้

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดสามารถล้างไขมันบนผิวหน้าได้ แต่หากใช้ชนิดที่มีความเป็นกรด-ด่างสูง ใช้บ่อยเกินไปหรือเลือกใช้ไม่เหมาะกับสภาพผิว จะทำให้เกิดการระคายเคืองได้ ในระยะแรกจะรู้สึกว่ผิวแห้ง ตึง มีรอยย่น ในรายที่เป็นมากอาจพบมีผื่นแดง แดก เป็นขุย จนถึงเกิดผิวหน้าอักเสบ

ดังนั้นการใช้เพียงผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าอาจไม่เพียงพอและมีความเสี่ยงในการเกิดการระคายเคือง หน้าแห้งแตก ผลิตภัณฑ์มาส์กหน้าจึงเป็นอีกหนึ่งตัวช่วยสำคัญที่ทำให้ใบหน้าชุ่มชื้น ลดเลื้อดริ้วรอย และทำความสะอาดผิวหน้าได้อีกทางหนึ่ง การใช้ผลิตภัณฑ์มาส์กหน้าร่วมกับการเลือกผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าที่เหมาะสมจะยิ่งส่งผลดีต่อใบหน้าที่ยิ่งขึ้น

การพอกหน้า (Facial Mask) ในอดีต จะใช้ส่วนผสมจากสมุนไพรธรรมชาติมาผสมในอัตราส่วนที่เหมาะสม การพอกหน้ามีประโยชน์ต่อผิวหน้าในด้านต่าง ๆ เช่น ดูดซับสิ่งสกปรกช่วยทำความสะอาดผิว ดูดซับน้ำมันส่วนเกินสำหรับผู้ที่ผิวมัน ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผู้ที่มีผิวแห้ง ช่วยทำให้ใบหน้ากระชับ สดชื่น ลบเลือนริ้วรอยหมองคล้ำ

ผู้ที่มีผิวไว แพ้ง่าย ควรจะทดสอบการแพ้ก่อน โดยลองพอกกับผิวหนังด้านในของข้อพับแขน ทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาทีแล้วเช็ดออก หรือล้างออกด้วยน้ำอุ่น แล้วสังเกตอาการภายใน 24 ชั่วโมง ต้องไม่มีความผิดปกติของผิวหนังบริเวณที่พอกไว้ เช่น อาการแสบ คัน ระคายเคือง ผื่นแดง ตุ่มคัน เป็นต้น หลังจากนั้นจึงนำมาพอกหน้าโดยหลีกเลี่ยงการสัมผัสบริเวณดวงตา เพราะวัสดุพอกหน้าบางชนิดอาจมีสารที่ระคายเคืองต่อดวงตาได้

3.1) ชนิดของผลิตภัณฑ์ Facial Mask (9)

3.1.1) มาส์กชนิดแผ่น

3.1.1.1) Sheet mask เป็นมาส์กที่สามารถพบได้มากกว่าชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีอยู่ในท้องตลาดมานาน และจากการศึกษาด้านการตลาดของ National Purchase Diary Panel Inc. Group ในสหรัฐอเมริกาพบว่ายอดขายของ mask เพิ่มขึ้นประมาณ 60% มากกว่าหมวดอื่น ๆ ในด้านธุรกิจการดูแลผิว โดยความแตกต่างของสารที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ เช่น สารแต่งกลิ่น สี ย้อม paraben และ phthalate esters สามารถเกิดอันตรายแก่ผิวหน้าได้ โดยแพทย์บางคนเชื่อว่าตัวมาส์กชนิดแผ่น มักจะไม่ได้ออกแบบมาสำหรับผิวมันหรือทำให้เป็นสิวได้ง่าย เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียบนพื้นผิว นอกจากนี้มาส์กชนิดแผ่นยังป้องกันการระเหยของน้ำ และเพิ่มเวลาให้สารสำคัญซึมผ่านเข้าไปสู่ผิวหน้า ส่วนผสมที่ใช้มักจะแตกต่างกันตามแต่ละยี่ห้อ โดยส่วนผสมส่วนใหญ่ที่ใช้กันทั่วไป คือ วนหางจระเข้ และวิตามินซี แต่จะมีส่วนผสมที่แตกต่างออกไป เช่น

สารสกัดจากไผ่มุก หอยทาก หรือ สาหร่ายทะเล เป็นต้น และสามารถแบ่งประเภทของ มาส์กชนิดแผ่นได้หลากหลายประเภทผ่านทางวัสดุที่ใช้ โดยมาส์กที่มีราคาสูงส่วนใหญ่ มักจะผ่านกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพทำให้ได้มาส์กที่มีเนื้อละเอียดกว่า และยังมี มาส์กชนิดแผ่นแบบอื่น ๆ เช่น bio-cellulose mask, foil sheet mask, knit cotton masks, ampoule sheet mask, bubbling sheet masks เป็นต้น (20)

3.1.2) มาส์กชนิดใช้แล้วล้างออก (Rinse off mask)

มาส์กชนิดใช้แล้วล้างออกได้นั้นมีอยู่หลากหลายประเภท เช่น moisturizing, cleansing, toning, exfoliating, waxy และ mud masks โดยมักจะใช้กับผู้ที่มีผิวแห้ง เพื่อควบคุมระดับความชุ่มชื้น และจำกัดการสูญเสียน้ำผ่าน epidermal ทำให้เกิดความสมดุลของปริมาณน้ำระหว่างชั้น stratum corneum และชั้นไขมันที่ผิวหนัง ชั้นนอกซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่แสดงถึงความชุ่มชื้นของผิว สูตรตำรับที่มีการใช้สมุนไพร หลากหลายชนิดเป็นส่วนประกอบมีแนวโน้มในการผลิตที่มากขึ้น เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติมีความสามารถในการรักษาความชื้นของผิวได้เช่นเดียวกับสารที่สังเคราะห์ขึ้น ยกตัวอย่างเช่น petrolatum ที่ใช้เป็น emollient และ occlusive สามารถทำให้ผิวแห้ง และเกิดผลข้างเคียงได้ หรือ paraben ที่เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย สามารถทำให้เกิดการผื่นแพ้ที่ผิวหนังได้ ส่วนสมุนไพรที่ใช้อยู่ทั่วไป เช่น lecithin จากถั่วเหลือง วานหางจระเข้ สามารถใช้เป็น humectant ได้ ข้าวสาลี ลูกชด สามารถใช้เป็น emollient หรือ occlusive agent ได้ เป็นต้น ซึ่งมาส์กชนิดใช้แล้วล้างออกที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรในสูตรตำรับ จะเกิดอาการแพ้และมีความเป็นพิษน้อยกว่า (20)

3.1.3) มาส์กชนิดใช้แล้วลอกออก (Peel off mask)

มาส์กชนิดใช้แล้วลอกออกส่วนใหญ่จะใช้วัตถุดิบอย่างดินเหนียวซึ่งมักใช้ในการเตรียมเครื่องสำอางหลากหลายชนิด และข้อดีคือใช้งานง่าย โดยมาส์กชนิดนี้จะก่อตัวเป็นฟิล์มบนผิวหนังซึ่งสามารถลอกออกได้ง่าย ส่วนใหญ่จะใช้เป็น polyvinyl alcohol (PVA) หรือ polyvinyl acetate (PVAc) ซึ่งทำให้เกิด occlusion และ tensor effect และใช้วัตถุดิบอื่น ๆ อีก เช่น สมุนไพร moisturizer, plasticizer, fragrances และ

preservative ที่ใช้ในสูตรตำรับต่าง ๆ แต่โดยทั่วไป สูตรตำรับจะมีตัวแปรควบคุมคือ drying agent เช่น alcohol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เนื่องจาก alcohol มีความดันไอต่ำกว่าน้ำ จึงมักถูกใช้เป็น drying agent ที่เป็นตัวควบคุมเวลาในการใช้ผลิตภัณฑ์ และความเข้มข้นของ alcohol ที่สูงขึ้นจะทำให้เวลาที่มาสก์แห้งน้อยลง และความเข้มข้นของส่วนผสมจะเป็นตัวกำหนด ความหนืด การเกิดฟิล์ม และความหนา ของมาสก์ ดังนั้นควรปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมสำหรับการใช้งาน โดยเวลาในการใช้งานจะขึ้นอยู่กับส่วนผสมของมาสก์ ยกตัวอย่างเช่น สมุนไพรหลายชนิดที่นำมาใช้ในมาสก์มีจุดประสงค์ที่แตกต่างกัน เช่น แอปเปิลที่ใช้เป็นสาร antioxidant, Walnut เป็น emollient ผิวเปลือกส้มเป็น astringent และ toner แตงกวา เป็น soothing agent และ บิทรูทเป็นสารลดการอักเสบ เป็นต้น โดยมาสก์ที่ใช้ในการรักษาผิวหนังส่วนใหญ่จะใช้สารที่สังเคราะห์จาก tretinoin ในยารักษาสิว โดยที่มีกลีเซอรินเป็น humectant และ sodium metabisulfite เป็นสาร antioxidant ในตำรับที่ใช้ PVA นอกจากนี้ Beringhs และคณะ ใช้ green clay และว่านหางจระเข้ในตำรับที่ใช้ PVA เป็นมาสก์ชนิดใช้แล้วลอกออก ซึ่งแสดงคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ เนื่องจาก green clay สามารถกำจัดสิ่งสกปรก เซลล์ผิวที่ตายแล้ว และ ไขมันได้ โดยดินประเภทต่าง ๆ ก็มีการใช้ในด้าน cosmetic ต่างกัน เช่น smectite, illite, kaolinite และ chrolite นอกจากนี้ว่านหางจระเข้ยังมีคุณสมบัติ antioxidant และด้านการอักเสบ อีกทั้งยังยังฆ่าเชื้อในพื้นที่บริเวณที่ใช้และมีผลเสริมฤทธิ์กันกับดิน และมีรายงานว่าสารสกัดจาก chitosan เช่น succinyl chitosan มีคุณสมบัติในการกักเก็บน้ำสูง โดยน้ำหนักโมเลกุลของสารจะเป็นตัวกำหนดอัตราการระเหย ความยืดหยุ่น และความเสถียรของมาสก์ จึงเหมาะแก่การนำมาใช้ในสูตรตำรับ จากงานวิจัยการใช้น้ำยางธรรมชาติที่มีโปรตีนต่ำแต่มีความยืดหยุ่นและโมดูลัสสูงมาใช้ในการเตรียมมาสก์ โดยการนำมาผสมกับ *Prunus spinosa* ใน polymer ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารสำคัญของมาสก์ (20,21)

3.1.4) มาสก์ชนิดไฮโดรเจล

ไฮโดรเจล polymer รูปแบบ 3 มิติ ซึ่งสามารถดูดซับน้ำได้มากกว่าน้ำหนักของเจล หลายเท่า และมาสก์ชนิดไฮโดรเจล มักจะใช้ในผู้ที่ผิวแพ้ง่าย โดยมาสก์ชนิดไฮโดรเจลอาจมีส่วนประกอบของ silk sericin ที่ถูกบรรจุอยู่ใน nanocellulose ซึ่งมี

คุณสมบัติทางชีวภาพที่เหมาะสมสำหรับการบำรุงรักษาผิวหนัง นอกจากนี้ยังมี carboxymethylcellulose (CMC) ที่เป็นสารช่วยในสูตรตำรับ PVA - CMC hydrogel และมีการใช้ Dillenia (มะตาด) เป็นผลไม้พื้นเมืองของชาวเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีปริมาณของ pectin สูง โดยใช้เนื้อวุ้นของ Dillenia เป็นมาส์กคล้ายมาส์กชนิดไฮโดรเจล แต่มีความหนืด ค่า pH และมีคุณสมบัติ antioxidant ที่เหมาะสม นอกจากนี้มีการใช้สารสกัด hydrocolloid จากใบสะเดาที่มีฤทธิ์ anti-microbial anti-oxidant และ anti-inflammatory นำไปบรรจุในสูตรตำรับมาส์ก ในการทดลองทางคลินิกจากอาสาสมัคร 10 คนใช้หน้ากากที่มีส่วนผสมของใบสะเดาเป็นเวลา 15 วัน ไม่พบการระคายเคืองผิวหนัง แต่ทำให้ความมันและสิวลดลง ทำให้ผิวพรรณดีขึ้น

3.2) วัตถุประสงค์และหน้าที่ของมาส์ก (11)

มาส์กเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กันมาเป็นเวลานาน ซึ่งไม่ได้สำหรับใบหน้าเท่านั้น แต่ยังสามารถใช้ได้กับทั่วร่างกาย เช่น คอ ไหล่ แขน และขา เป็นต้น ซึ่งแสดงในตารางที่ 2 โดยมาส์กมีหน้าที่ ดังนี้

1. ทำให้ผิวหนังชั้นบนสุด (Horny layer) มีลักษณะขึ้น เนื่องจากผลของความชุ่มชื้น สารให้ความชื้น emollient และความชื้นที่มาจากใต้ผิวหนังที่ถูกเก็บไว้เนื่องจากผลของการป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว จึงทำให้ผิวมีความนุ่ม
2. สามารถดูดซับและขจัดสิ่งสกปรกบนผิวออกได้ ดังนั้นจึงเป็นตัวทำความสะอาดที่ดีที่สุดเมื่อมีการลอกออกหลังจากที่แห้งแล้ว
3. การแห้งของฟิล์มบนผิวหนังจะเกิดแรงดึงที่เหมาะสมบนใบหน้าทำให้เกิดการไหลเวียนของเลือดและสารน้ำที่เหมาะสม

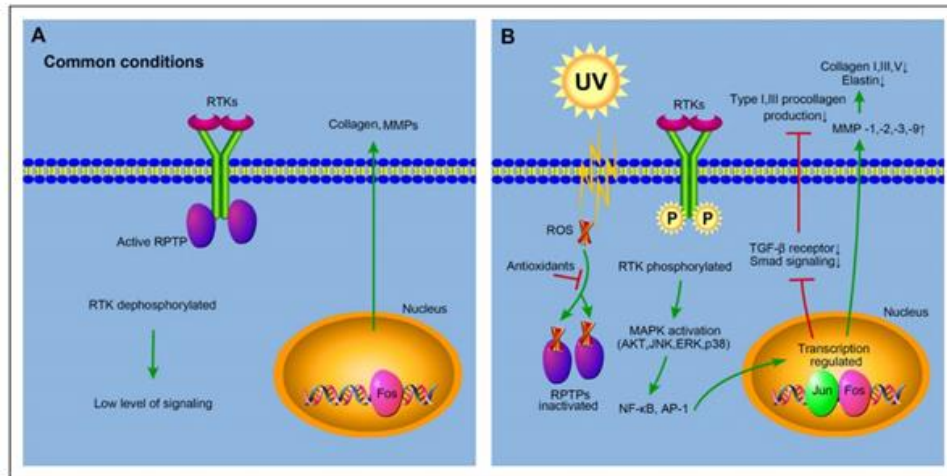
ตารางที่ 1 แสดงถึงรูปแบบและลักษณะของมาสก์แต่ละชนิด

Type	Product form	Features
Peel-off type	Jelly	เป็นเจลใส หรือกึ่งใสเมื่อแห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นฟิล์มใส เมื่อลอกออกจะทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้น และช่วยทำความสะอาดผิวหนัง
	Paste	เป็นครีมเนื้อเนียนที่มีส่วนผสมของแป้ง น้ำมัน และสารให้ความชุ่มชื้น ส่งผลให้บริเวณผิวหนังมีความรู้สึก เบาสบาย และชุ่มชื้นขึ้นหลังจากลอกออก
	Powder	นำผงมาสก์ผสมกับน้ำให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทาลงบนผิวหนัง ทำให้ความร้อนบริเวณผิวหนังแพร่ออกมาสู่มาสก์ ทำให้รู้สึกเย็นสบายมากขึ้น และกระชับตึง
Wipe-off and Rinse-off type	Cream	เป็นครีมอิมัลชันชนิด O/W ที่มีลักษณะเนียน ลื่น ทาลงบนผิวได้ง่าย มีสารให้ความชุ่มชื้นอยู่มากทำให้ผิวหนังหน้ารู้สึกชุ่มชื้น
	Mud pack	มีลักษณะเป็นผงที่มีส่วนผสมของดินเหนียว น้ำ ethanol และสารให้ความชื้นส่วนมากจึงเป็นมาสก์ชนิดล้างออก
	Jelly	เป็นเจลใสหรือกึ่งใส ซึ่งเกิดจาก polymer ที่ละลายน้ำ ทำให้มีสารก่อเจลเป็นส่วนประกอบน้อย

Type	Product form	Features
	Aerosol (foam type)	มาส์กลักษณะคล้ายโฟม ระบายได้ง่าย จึงเกิดการพาความร้อนบริเวณผิวหนังทำให้แห้งเร็ว และใช้งานง่าย
Peel off when hard type	Powder	มาส์กชนิดนี้อาศัยความร้อนจากปฏิกิริยา hydration ทำให้เกิดการแข็งตัวเมื่อเติมน้ำเข้าไปผสมกับผงมาส์ก
Adhesive fabric type	Non-woven adhesive fabric with gel type	ลักษณะมาส์กขึ้นอยู่กับธรรมชาติและชนิดของเจลที่ใช้ ใช้งานและมีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับเครื่องสำอาง
	Non-woven fabric impregnated type	เมื่อนำ Non-woven fabric ชนิดซึบนำมาใช้ร่วมกับโลชั่นหรือเอสเซนส์ ช่วยให้รู้สึกผ่อนคลาย และสามารถใช้งานได้ง่าย

4. กลไกการเกิดริ้วรอย

ทฤษฎีการเสื่อมสภาพของเซลล์ เกิดจากความสามารถในการซ่อมแซม DNA ของเซลล์ลดลง และการเปลี่ยนแปลงที่ telomeres จากความผิดปกติของโครโมโซม การกลายพันธุ์ของสายยีนเดี่ยว การลดลงของน้ำตาลการอักเสบเรื้อรัง และรังสี UV



รูปที่ 6 กลไกระดับโมเลกุลของปฏิกิริยาในการเกิดริ้วรอยแก่ผิว A) ในภาวะปกติ B) ภาวะที่เกิดปฏิกิริยาจากอนุมูลอิสระ (23)

รังสี UV ทำให้เกิด Reactive oxygen species (ROS) ไปยับยั้งการทำงานของ RPTPS ทำให้ระดับของ RTK phosphorylated เพิ่มขึ้น และกระตุ้นการทำงานของ mitogen-activated protein kinase (MAPK) ส่งผลให้ Nuclear factor - KB (NF-KB) และ Activator protein (AP-1) เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลควบคุมกระบวนการ transcription ทำให้การทำงานของ Transforming growth factor - β (TGF- β) และการส่งสัญญาณของ TGF- β ผ่านทาง Smad pathway ลดลง ส่งผลให้การสร้าง procollagen type I, III ลดลง และส่งผลต่อเนื่องไปถึง Matrixmetalloproteinase (MMP) 1, 2, 3, 9 เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ย่อย collagen ดังนั้นปริมาณคอลลาเจนในผิวจึงลดลง (24)

5. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

5.1) อนุมูลอิสระ

หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 electron อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ซึ่งถ้า

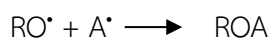
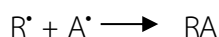
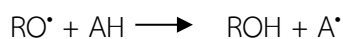
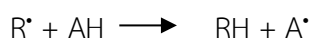
เกิดขึ้นในระบบสิ่งมีชีวิต อาจทำอันตรายกับส่วนประกอบสำคัญของเซลล์รอบ ๆ บริเวณนั้น ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือ ดีเอ็นเอ ทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเสียหายที่การทำงาน ดังนั้นในสถานะที่มีการสร้างอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรค Parkinson โรค Alzheimer ไขข้ออักเสบ และต่อกระจก เป็นต้น (24)

5.2) สารต้านอนุมูลอิสระ

คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ ได้ สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับเหล็ก (Fe^{2+}) ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายคนเรานั้นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น urate, bilirubin และ transferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัดดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าจะกำจัดได้หมด อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ นอกจากนี้วิตามินบางชนิด เช่น บีตาแคโรทีน (B-carotene) วิตามินซี (vitamin C) วิตามินอี (vitamin E) รวมทั้งสารประกอบกลุ่ม polyphenols ต่าง ๆ ซึ่งมีรายงานพบมากในพืช ผัก ผลไม้ ทั่วไปยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติที่ดีอีกกลุ่มหนึ่ง (24)

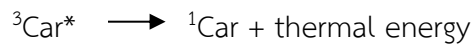
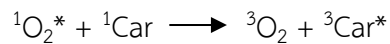
5.3) กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้ 6 ลักษณะ ดังนี้ (25)

5.3.1) ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ



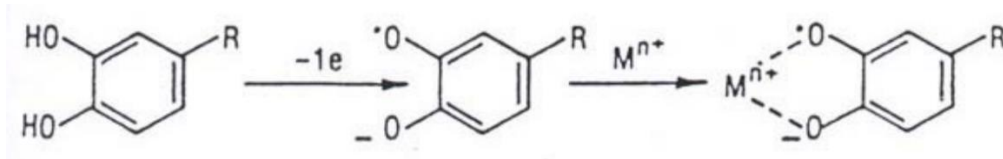
5.3.2) ยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) สามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน singlet oxygen ($^1\text{O}_2^*$) ให้อยู่ในรูป triplet oxygen ($^3\text{O}_2$) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่ แคโรทีนอยด์ (Car) 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ถึง 1,000 โมเลกุล (24)



5.3.3) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

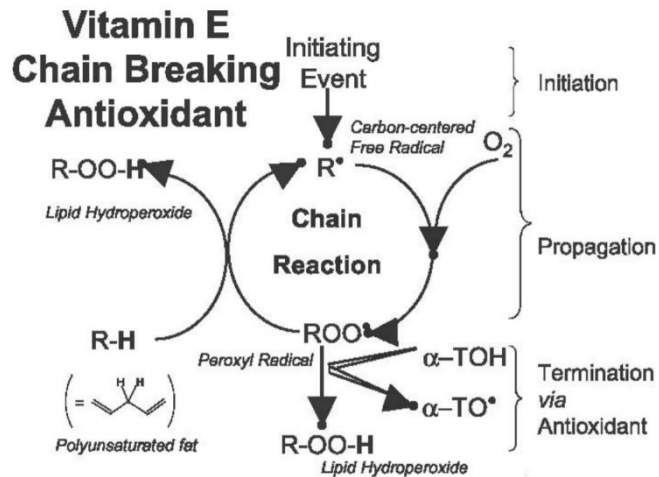
สารที่สามารถจับโลหะ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ที่สำคัญ ได้แก่ flavonoids, phosphoric acid และ citric acid เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของ สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นดังนี้



รูปที่ 7 แสดงกลไกการจับโลหะของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (24)

5.3.4) ปฏิกิริยาหยุดการสร้างอนุมูลอิสระ

วิตามินอี (α -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับ อิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy (ROO) (Burton and Traber, 1990) ดังแสดงในรูป



รูปที่ 8 แสดงการทำงานของวิตามินอีในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (24)

5.3.5) การเสริมฤทธิ์

สารที่มีคุณสมบัติช่วยเสริมฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระให้ทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง α -tocopherol และ ascorbic acid โดยที่ ascorbic acid ไม่สามารถทำงานในระบบ hydrophobic ได้เหมือนกับ α -tocopherol แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ α -tocopherol peroxyyl ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง α -tocopherol กับอนุมูล peroxyyl (ROO) เปลี่ยนรูปกลับไปเป็น α -tocopherol ที่สามารถทำงานใหม่ได้ (24)

5.3.6) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ

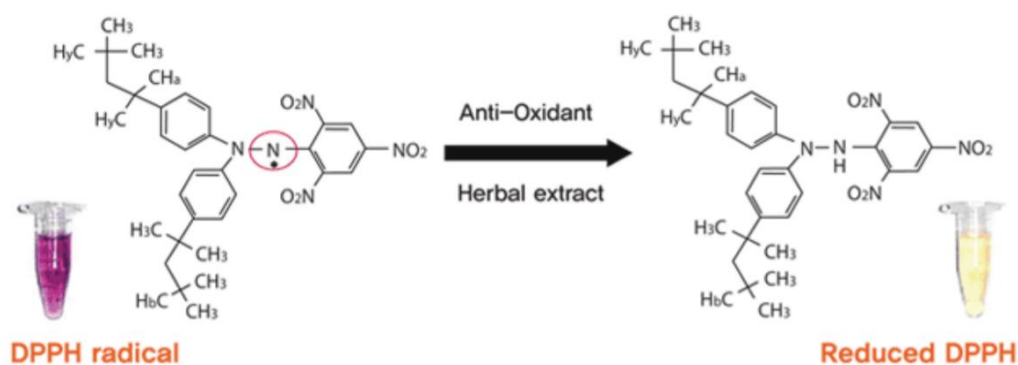
สารประกอบ phenolic บางชนิด เช่น flavonoids, phenolic acid และ gallates สามารถยับยั้ง lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase (24)

5.4) การวัดความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชัน

เป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม ได้แก่ DPPH, ABTS, FRAP และ TBARS

วิธีการข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง หรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่หลงเหลือจากการทำปฏิกิริยา

การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น Trolox, ascorbic acid และ ferrous sulfate เป็นต้น (37)

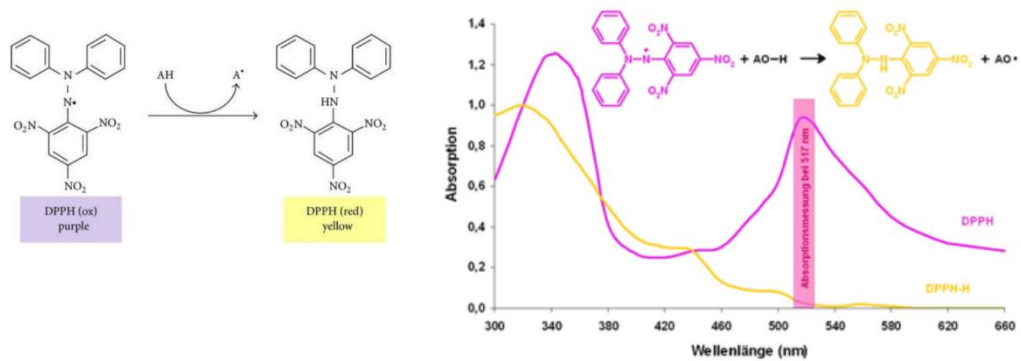


รูปที่ 9 แสดงกลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26)

การรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ นิยมรายงานในรูปความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% (50% of inhibitory concentration) หรือเรียกว่า IC_{50} โดยค่า ตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและสามารถแสดงค่าได้ในหน่วยที่หลากหลายได้แก่ mM, μ M, mg/ml, μ g/ml เป็นต้น

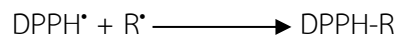
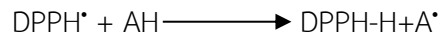
5.4.1) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl มีสถานะเป็นอนุมูลอิสระ ($DPPH^{\cdot}$) ที่มีความคงตัวโดยสภาพธรรมชาติ เมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute ethanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สีม่วงของสารละลาย DPPH จางลง (ดังรูปที่ 10)



รูปที่ 10 แสดงกลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26)

โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•) ได้สมการดังนี้



รูปที่ 11 กลไกการทำปฏิกิริยากับ antioxidant ของ DPPH (26)

การคำนวณหาค่า IC_{50} สามารถทำได้โดยคำนวณจากกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ในแต่ละความเข้มข้น โดยใช้สมการเส้นตรง $Y = aX + B$

ข้อดีคือ

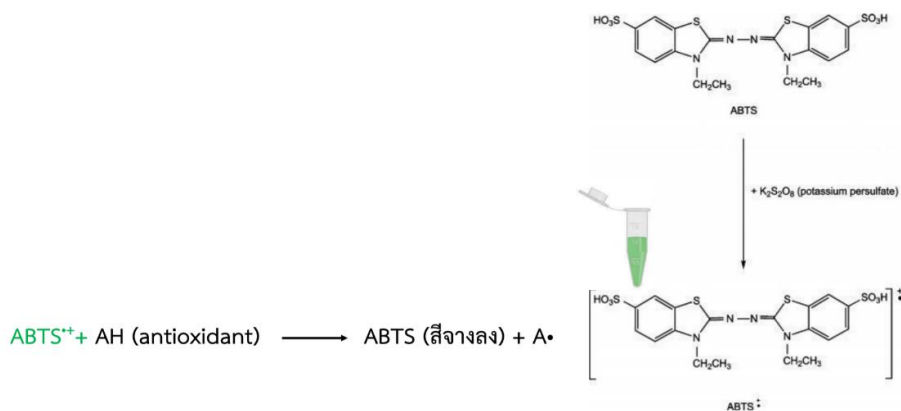
- ง่าย
- ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ
- นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกัน

ข้อด้อยคือ

- อนุมูล DPPH[•] มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือในร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้
- นอกจากนี้ โครงสร้างทางเคมีของอนุมูล DPPH[•] นั้น อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วงและ NO₂ ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีโครงสร้างใหญ่ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระได้หรือเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าความเป็นจริง

5.4.2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay

ABTS radical cation decolorization assay เป็นวิธีการวัดความสามารถในการทำให้สีของอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินแะสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาว คลื่น 734 nm ลดลง



รูปที่ 12 กลไกการทำปฏิกิริยาต่อ antioxidant ของ ABTS (27)

การคำนวณความสามารถของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ $\text{ABTS}^{\bullet+}$ สามารถทำได้เช่นเดียวกับวิธี DPPH

ข้อดีคือ

- $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง

ข้อเสียคือ

- $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

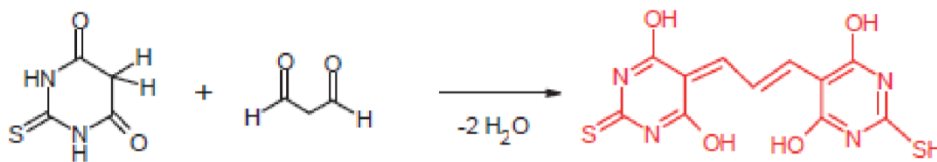
5.4.3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย FRAP assay (Ferric reducing antioxidant power)

วิธีนี้จะเป็นวิธีการวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ (คุณสมบัติเป็น reductant) จะใช้หลักการที่แตกต่างจากวิธีการที่กล่าวไปข้างต้น โดยในสารละลาย FRAP ประกอบด้วย Fe^{3+} -TPTZ complex ในสถานะที่เป็นกรด โดย Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระแล้วเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} -TPTZ complex ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาว

คลื่น 593 nm การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{2+} -TPTZ ที่เพิ่มขึ้น (27)

5.4.4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย TBARS assay (Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay)

หลักการของ TBARS assay คือ Malondialdehyde (MDA) จะทำปฏิกิริยากับ Thiobarbituric Acid (TBA) โดยปฏิกิริยาจะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเกิดเป็นสารประกอบ MDA-TBA complex ซึ่งมีสีชมพูอมส้มที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 535 nm โดยสารประกอบ MDA-TBA complex ที่เกิดขึ้นนั้น เกิดจากการที่โมเลกุล MDA 1 โมเลกุลทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของ TBA 2 โมเลกุล ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง สำหรับสารประกอบอัลดีไฮด์อื่น ๆ เมื่อทำปฏิกิริยากับ TBA จะให้สีที่แตกต่างออกไป สารที่รบกวนการตรวจวัดด้วยวิธีนี้ที่พบบน ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) รวมทั้ง Sialic acid, Prostaglandins, Deoxyribose และอัลดีไฮด์บางชนิดที่รบกวนการตรวจวัด MDA ด้วยวิธีการวัดสีและการวัดแสง Fluorescence (28)



รูปที่ 13 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TABRS กับ MDA จนเกิดสารสีชมพูอมส้ม (28)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. 2, 2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)
2. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
3. Acetonitrile
4. Ascorbic acid
5. Carbopol 940
6. Curcumin
7. EDTA sodium
8. Egg York
9. Ethanol 95% (ET)
10. Ferric chloride
11. Formic acid
12. Glass beads
13. Glycerin
14. Hydrochloric acid (HCl)
15. Methanol

16. Paraben concentration
17. Polyvinyl alcohol (PVA)
18. Propylene glycol (PG)
19. Quercetin
20. Standard curcumin
21. Thiobarbituric acid (TBA)
22. Trichloroacetic acid (TCA)
23. Trolox
24. Water
25. Xanthan gum

เครื่องมือ

1. Absorbance + A32:A47ce microplate
2. Aluminum foil
3. Beaker 25, 50, 100,150, 250, 500, 1000 mL
4. C18 reversed-phase column
5. Centrifuge
6. Cylinder 10, 25,100, 500, 1000 mL
7. High-Performance Liquid Chromatography (Agilent Technologies and shimadzu)
8. Micro centrifuge tube (Eppendorf®)
9. Micropipette 100-1,000 μ l
10. Micropipette 20-200 μ l
11. Micropipette 2-20 μ l

12. Parafilm
13. Rack
14. Sonicator bath (WiseClean, Wisd Laboratory Instrument)
15. Stand
16. Stirring rod
17. Syringe 5ml
18. Test tube
19. UV-vis spectrophotometers (ELISA)
20. Vortex mixer (รุ่น G5560E)
21. Water bath

3.1 การสกัดสารสำคัญจากขมิ้นชันด้วยเอทานอลและโพพิลีนไกลคอล

โดยชั่งผงขมิ้นชัน 5 g ใส่ลงไปในหลอดทดลองจากนั้นเติมตัวทำละลายเอทานอลและโพพิลีนไกลคอล ชนิดละ 10 ml นำไปแช่ในอ่างส่งคลื่นความถี่สูงด้วยความถี่ 40% เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งออกเป็นสารสกัดที่ต้องหมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงและไม่ต้องหมักทิ้งไว้ จะมีทั้งหมด 4 รูปแบบคือ

- สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลแบบไม่ค้ำคั้น (อักษรย่อคือ ET)
- สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลแบบหมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (อักษรย่อคือ ETOV)
- สารสกัดที่สกัดด้วยโพพิลีนไกลคอลแบบไม่ค้ำคั้น (อักษรย่อคือ PG)
- สารสกัดที่สกัดด้วยโพพิลีนไกลคอลแบบหมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (อักษรย่อคือ PGOV)

นำไปปั่นเหวี่ยงโดยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัดที่ต้องข้ามคั้นจะถูกปั่นเหวี่ยงด้วยการตั้งค่าเดียวกันในวันถัดไปเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

เตรียมสารละลาย DPPH radical (3 mg/50 ml ในเอทานอล) ให้มีค่าดูดกลืนแสงในช่วง 0.5-0.7 และเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยเอทานอล ปิเปตสารละลาย DPPH ลงไปใน 96 well plate 180 μ l ผสมกับสารละลายตัวอย่าง 20 μ l ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาทีในที่มืดแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่ใช้เป็นตัวควบคุมผลบวก จากนั้นคำนวณ %inhibition และค่า IC_{50} จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(A_0 - A_1) / A_0 \times 100]$$

เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี 2, 2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)) (ABTS) assay

เตรียมสารละลาย ABTS⁺ radical ด้วยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย ABTS เข้มข้น 14 mM และสารละลาย 4.9 mM $K_2S_2O_8$ ด้วยน้ำกลั่นในปริมาตรที่เท่า ๆ กัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 16-20 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ หลังจากนั้นเจือจางสารละลาย stock ABTS ด้วย เอทานอล (1:50 เ

ทานอล) ให้หาค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7 ± 0.2 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ใช้ทดสอบที่มีปริมาตรเท่ากับ 20 μl เติมสารละลาย ABTS 180 μl ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาทีในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm คำนวณ % inhibition เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่ใช้เป็นตัวควบคุมผลบวกและหาค่า IC_{50} จากสมการในข้อ 3.2.1

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay

เตรียมสารสกัดเคอซีดิน (positive control) ปริมาตร 100 μl จากนั้นเติม 10 mg/ml สารละลาย egg yolk ปริมาตร 900 μl , 400 mM ferric chloride และ 200 mM ascorbic acid อย่างละ 40 μl แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที จากนั้นเติม 0.25 N HCl (15% TCA และ 0.375% TBA) 2 ml เพื่อหยุดปฏิกิริยา และนำไปต้มที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รอให้เย็นแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำเอาเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm และ คำนวณ % inhibition และค่า IC_{50} ด้วยสมการดังข้อ 3.2.1

3.3 การตรวจสอบคุณลักษณะ และปริมาณของสารสำคัญโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

เตรียม mobile phase โดยสารที่จะใช้คือ Methanol : Acetonitrile : 0.1%(v/v) Formic acid ในอัตราส่วน 15:35:50 C18 column โดยอุณหภูมิของคอลัมน์คือ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 1.0 ml/min ในส่วนของสารมาตรฐานจะใช้ทั้งหมด 5 ความเข้มข้นคือ 1 mg/ μl , 2.5 mg/ μl , 5 mg/ μl , 10 mg/ μl และ 20 mg/ μl ส่วนสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบนั้นต้องมีขั้นตอนที่ทำการสกัดด้วยโพर्फิรินไกลคอล และเอทานอล

3.4 การพัฒนาและประเมินตำรับมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดธรรมชาติเข้มข้น

ประเมินคุณสมบัติการเป็นผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่สมบูรณ์ อาทิเช่น

- การกระจายตัวบนผิวหนัง: ศึกษาการกระจายตัวโดยทำการทาผลิตภัณฑ์ลงบนผิวของหนังลูกหมูที่เสียชีวิตแล้วโดยใช้ปริมาณการทาผลิตภัณฑ์ 1 ml : พื้นที่ 9 cm²
- เวลาที่ใช้ในการเซ็ตตัว: จับเวลาตั้งแต่การทาผลิตภัณฑ์ลงบนผิวหนังแล้วกระจายตัวทั่วบริเวณหนังลูกหมูที่เสียชีวิตแล้วพื้นที่ 9 cm² (กว้าง 3 cm x ยาว 3 cm)
- ค่า pH : วัด pH ของผลิตภัณฑ์โดยใช้กระดาษวัด pH
- การเกาะกลุ่มกันของผลิตภัณฑ์: สังเกตเมื่อผลิตภัณฑ์ที่ทาลงบนหนังหมูเมื่อแห้งแล้วสามารถลอกออกมาเป็นแผ่นหรือไม่

3.5 การศึกษาคุณสมบัติในการปลดปล่อยสารสำคัญจากสารสกัดในผลิตภัณฑ์

ทำการศึกษาคูณสมบัติในการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์ โดยการทาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าลงบนชิ้นผิวของหนังส่วนท้องของลูกหมูที่ตายตอนคลอดโดยธรรมชาติ พื้นที่ 9 cm² จากนั้นจะปล่อยให้ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าแห้งจนสามารถลอกออกมาได้เป็นแผ่นแล้วใช้วิธีการ ลอกผิวหนังชั้นต่าง ๆ (differential stripping) โดยใช้เทปกาวใสแปะลงบนหนังหมู ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วลอกเทปกาวออก ทำทั้งหมด 20 ครั้งต่อหนังหมู 1 ชิ้น จากนั้นนำเทปกาวที่ทำการแปะหนังหมูมาละลายด้วย เอทานอล ปล่อยให้ระเหยจนแห้ง แล้วละลายกลับด้วยเอทานอลปริมาตร 2 ml นำไปกรองด้วยไมโครฟิลเตอร์ขนาด 0.45 µm นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์โดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC สำหรับส่วนของหนังหมูที่เหลือจากการลอกเทปกาว นำมาทำให้เป็นชั้นที่เล็กลงแล้วสกัดด้วยเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตรนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์โดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC เช่นเดียวกัน

3.6 สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนด้วย F-test (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของการสกัดไขมันชั้น

จากตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญของไขมันชั้นสายพันธ์แดงสยามด้วยการใช้ตัวทำละลายเปรียบเทียบกับ 2 ชนิด คือเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอล ทำการสกัด 4 แบบคือ ethanol (ET), ethanol overnight (ETOV), Propylene glycol (PG) และ propylene glycol overnight (PGOV) พบว่าการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล ทำให้สารที่สกัดได้มีความหนืดมากกว่าสกัดด้วยเอทานอล

ตารางที่ 2 แสดงผลของการสกัดไขมันชั้นด้วยวิธีต่าง ๆ

	ET	ETOV	PG	PGOV
สี	เหลืองเข้ม	เหลืองเข้ม	เหลืองเข้มอม น้ำตาล	เหลืองเข้มอม น้ำตาล
กลิ่น	ไขมันชั้น	ไขมันชั้น	ไขมันชั้น	ไขมันชั้น
ความหนืด*	+	+	++	++
รูปภาพประกอบ				

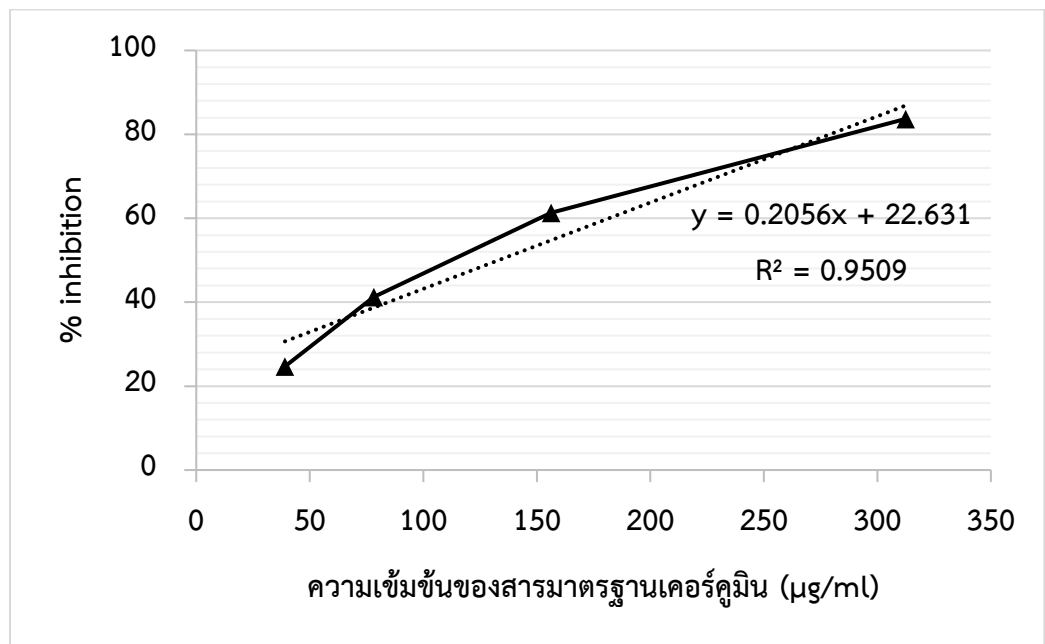
*ความหนืดระบุเป็นเครื่องหมาย (+) โดยที่ หนืดน้อย = + หนืดปานกลาง = ++ หนืดมาก = +++

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชันในหลอดทดลอง

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

4.2.1.1) สารมาตรฐานเคอร์คูมิน

การสร้างกราฟมาตรฐานสามารถหาได้จากการนำผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานเคอร์คูมิน ด้วยวิธีการวิเคราะห์ DPPH ทั้งหมด 3 ครั้ง นำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน ระหว่างความเข้มข้น และ % inhibition จากนั้นคำนวณความเข้มข้นเพื่อหา IC_{50} พบว่าได้ค่าต่าง ๆ ดังรูปที่ 14 เมื่อนำมาหาค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานพบว่ามีความเท่ากับ $133.12 \pm 27.52 \mu\text{g/ml}$



รูปที่ 14 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี DPPH assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน

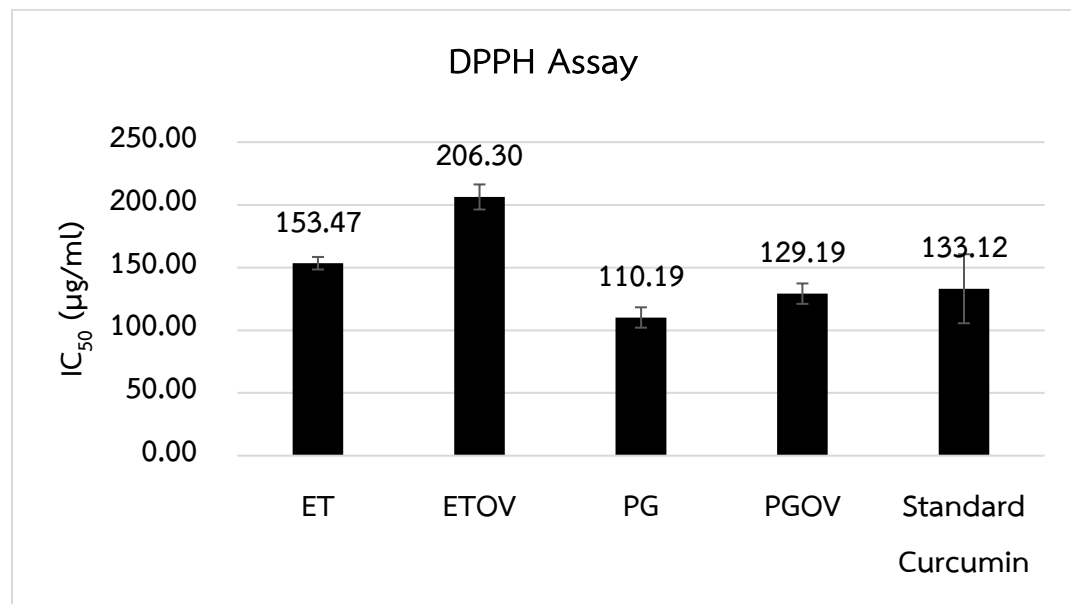
4.2.1.2) สารตัวอย่าง

สามารถวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้จากการนำสารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ แต่ละชนิดนำมาทดสอบด้วยวิธี DPPH เพื่อสร้างกราฟระหว่าง % inhibition และความเข้มข้น จากนั้นจึงนำ

สมการเส้นตรงที่ได้ไปหาค่า IC_{50} ในทั้ง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย (Average IC_{50}) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ได้ค่าดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง ด้วยวิธี DPPH

สารสกัดที่ใช้ทดลอง	Average $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g/ml$)
ET	153.47 ± 5.69^a
ETOV	206.30 ± 12.13^b
PG	110.19 ± 8.12^c
PGOV	129.19 ± 8.15^d



รูปที่ 15 แผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบด้วย DPPH assay

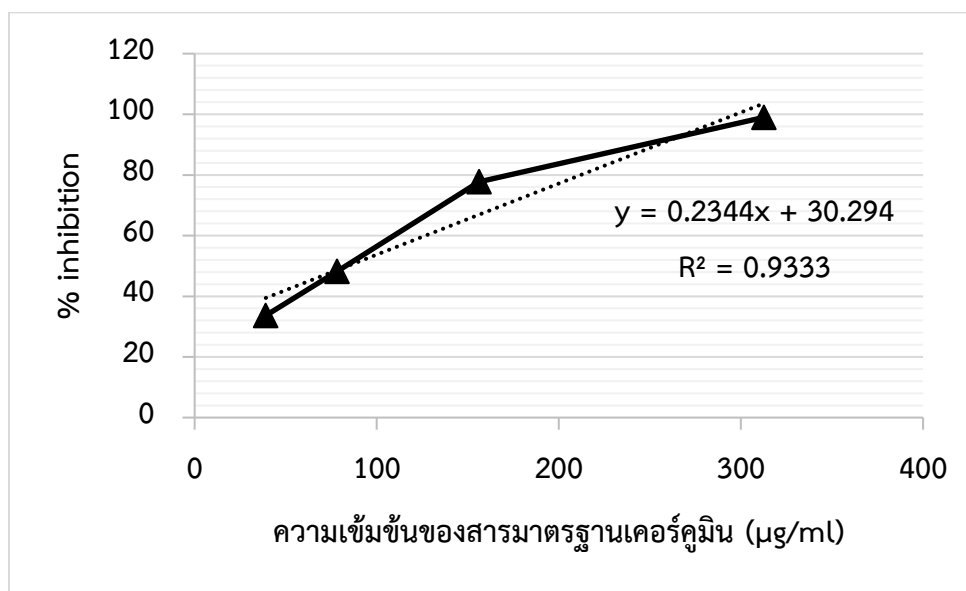
จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay ของสารสกัดขมิ้นชันที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันพบว่า สารสกัดที่สกัดด้วย PG แบบไม่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี

ที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างจากสารสกัดชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $110.19 \pm 8.12 \mu\text{g/ml}$

4.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

4.2.2.1) สารมาตรฐานเคอร์คูมิน

การสร้างกราฟมาตรฐานสามารถหาได้จากการนำผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ทำการทดสอบด้วยวิธี ABTS ทั้งหมด 3 ครั้ง นำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน ระหว่างความเข้มข้น และ % inhibition จากนั้นคำนวณความเข้มข้นเพื่อหา IC_{50} พบว่าได้ค่าต่าง ๆ ดังรูปที่ 16 เมื่อนำมาหาค่า IC_{50} เฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง พบว่ามีค่าเท่ากับ $82.7 \pm 20 \mu\text{g/ml}$



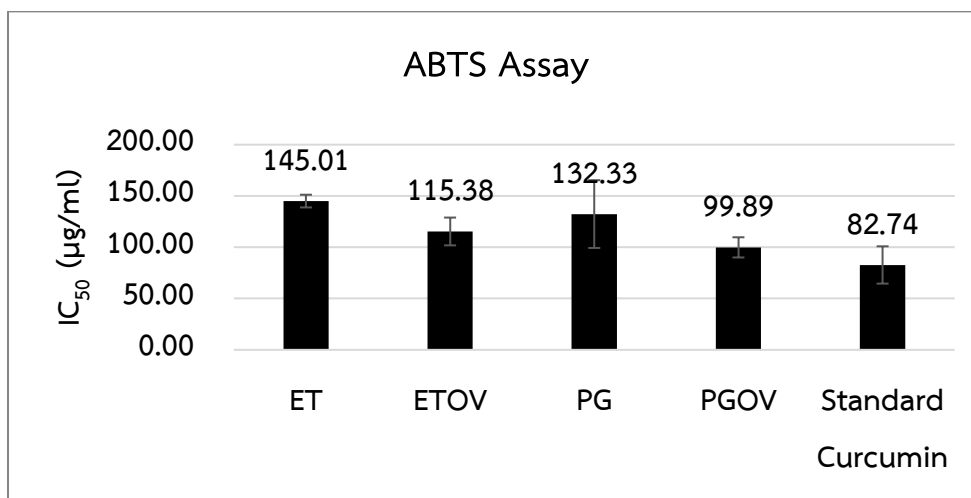
รูปที่ 16 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี ABTS assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน

4.2.2.2) สารตัวอย่าง

สามารถวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้จากการนำสารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ แต่ละชนิดนำมาทดสอบด้วยวิธี ABTS เพื่อสร้างกราฟระหว่าง % inhibition และความเข้มข้น จากนั้นจึงนำสมการเส้นตรงที่ได้ไปหา IC_{50} ในทั้ง 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย (Average IC_{50}) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ได้ค่าดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดที่ใช้ในการทดลอง ด้วยวิธี ABTS

สารสกัดที่ใช้ในการทดลอง	Average $IC_{50} \pm SD$ ($\mu\text{g/ml}$)
ET	145.01 ± 6.19^a
ETOV	115.38 ± 13.54^a
PG	132.33 ± 33.02^a
PGOV	99.89 ± 9.84^a



รูปที่ 17 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบด้วย ABTS assay

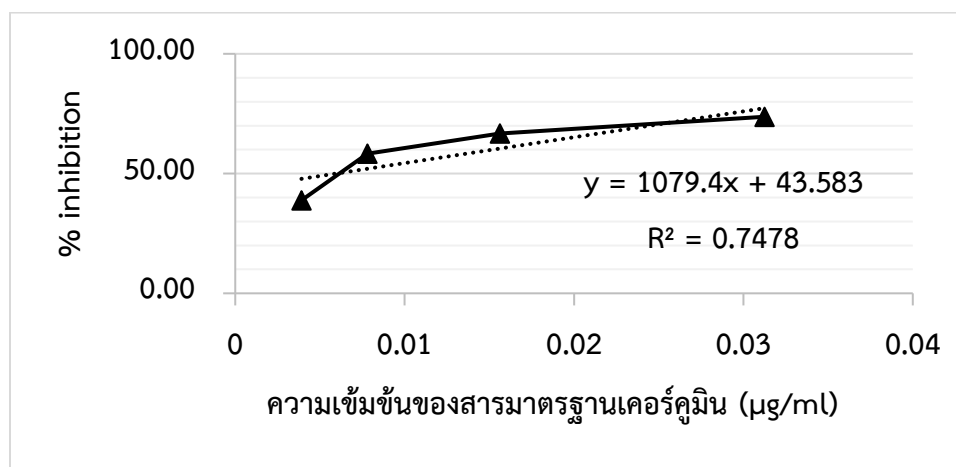
จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วย ET, ETOV, PG, PGOV ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 145.01 ± 6.19 , 115.38 ± 13.54 , 132.33 ± 33.02 และ 99.89 ± 9.84 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี DPPH assay และ ABTS assay สามารถประเมินในเบื้องต้นว่าการสกัดด้วย PG แบบไม่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง มีผลการทดสอบในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงได้นำสารสกัดดังกล่าวมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี TBARS assay ต่อไป

4.2.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS

4.2.3.1) สารมาตรฐานเคอร์คูมิน

สามารถวิเคราะห์ได้จากการนำผลการทดสอบสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ด้วยวิธีการทดสอบ TBARS ทั้งหมด 3 ครั้งมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้น และ % inhibition จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของสารมาตรฐานเพื่อหา IC_{50} พบว่าได้ค่าต่าง ๆ ดังรูปที่ 18 เมื่อนำมาหาค่า IC_{50} เฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง พบว่ามีค่าเท่ากับ 5.94 ± 0.33 $\mu\text{g/ml}$



รูปที่ 18 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี TBARS assay ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน

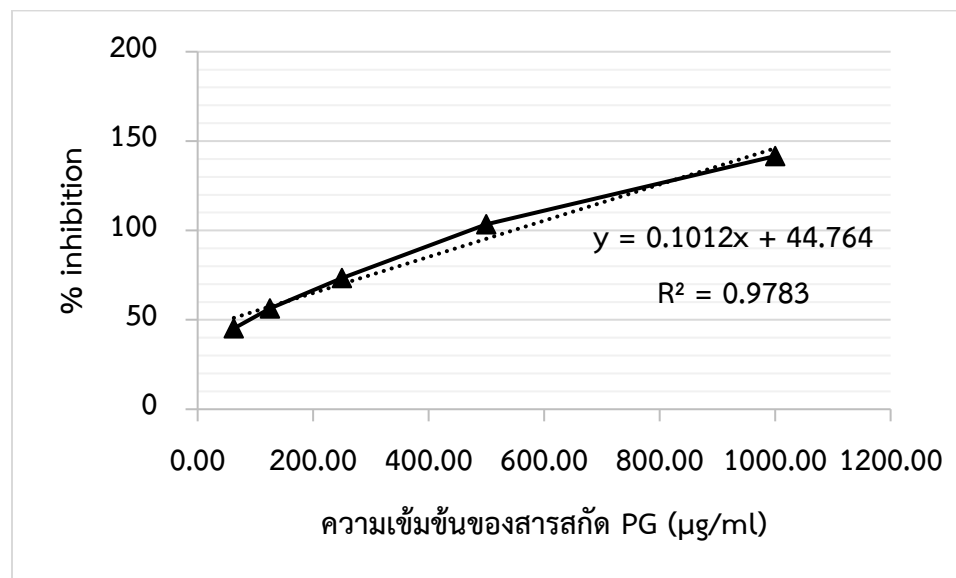
4.2.3.2) สารสกัดเข้มข้น PG

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธีดังกล่าวข้างต้น (DPPH และ ABTS) พบว่าสารสกัด PG มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงทำการคัดเลือกสารสกัดดังกล่าวนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS ทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วทำการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และ % inhibition จากนั้นคำนวณค่า IC_{50} พบว่าได้ค่าต่าง ๆ ดังรูปที่ 19

ตารางที่ 5 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัด PG ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS

สารสกัดที่ใช้ในการทดลอง	Average $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g/ml$)
PG	84.64 ± 1.93

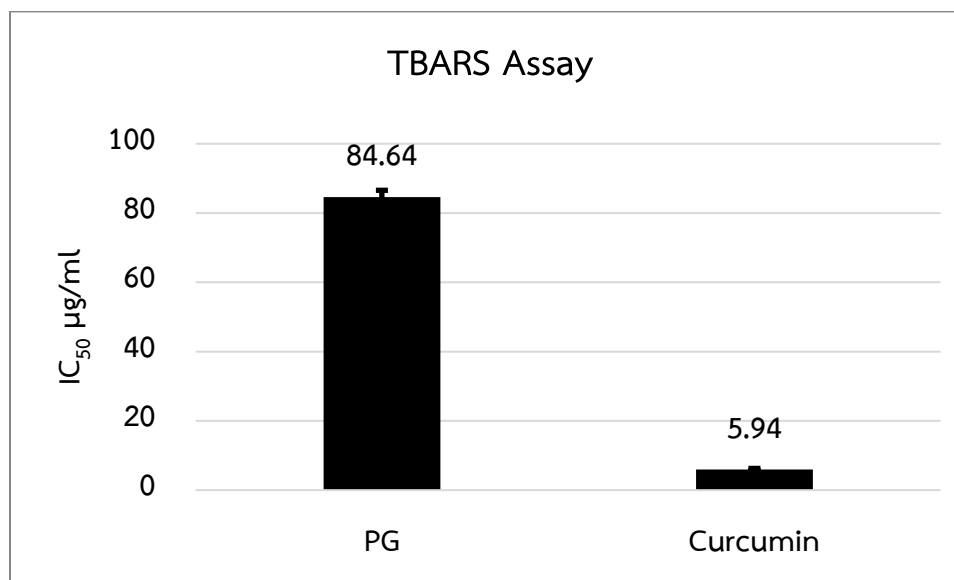
เมื่อนำมาหาค่า IC_{50} เฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง พบว่ามีค่าเท่ากับ $84.64 \pm 1.93 \mu g/ml$



รูปที่ 19 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยวิธี TBARS assay ของ PG

ตารางที่ 6 แสดงค่า IC_{50} ของ PG และ สารมาตรฐาน Curcumin ด้วยวิธี TBARS assay

สารสกัดที่ใช้ในการทดลอง	Average $IC_{50} \pm SD$ ($\mu g/ml$)
PG	84.64 ± 1.93
สารมาตรฐาน Curcumin	5.94 ± 0.33



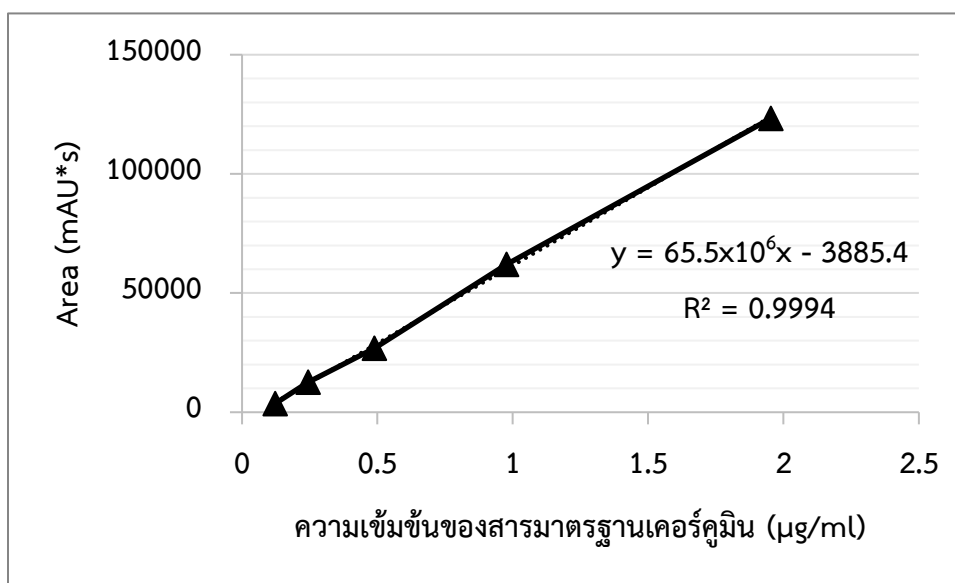
รูปที่ 20 แผนภูมิเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของสารสกัด PG เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ทำการทดสอบด้วย TBARS assay

ในการทดลองด้วยวิธีนี้ เป็นการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยกลไกการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Lipid peroxidation) โดยพิจารณาจากปริมาณของสารมาลอนไดแอลดีไฮด์ (MDA) ที่ลดลงจากการยับยั้งด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งผลการทดลองพบว่า PG มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยแสดงค่า IC_{50} ที่มีค่าเท่ากับ $84.64 \pm 1.93 \mu g/ml$ และแตกต่างจากสารมาตรฐานเพียง 10 เท่า

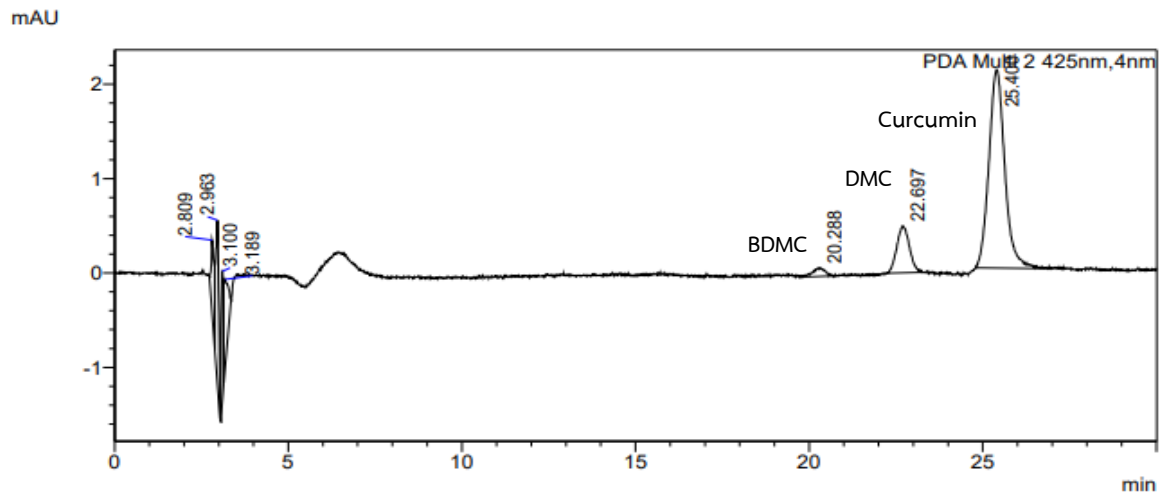
4.3. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารสำคัญในสารสกัดด้วย HPLC

4.3.1 การวิเคราะห์สารมาตรฐานขมิ้นชันเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

ในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารสำคัญในสารสกัด ได้มุ่งเน้นไปที่สารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (Total curcuminoids) mobile phase ที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ methanol : acetonitrile : 0.1%(v/v) formic acid อัตราส่วน 15 : 35 : 50 และคอลัมน์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ คือ คอลัมน์ชนิด C₁₈ อุณหภูมิของคอลัมน์ 40 °C อัตราการไหล 1.0 mL/min ความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดคือ 425 nm เวลาที่ใช้วิเคราะห์คือ 30 นาที โดยผลการศึกษาพบว่าสารมาตรฐานเคอร์คูมินจะปรากฏพีค (retention time, RT) ของ BDMC, DMC และ curcumin ที่เวลา 20.28, 22.70 และ 25.40 นาทีตามลำดับ เมื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานได้ผลดังรูปที่ 21 ซึ่งสามารถนำสมการที่ได้ไปหาค่าความเข้มข้นของสารสำคัญต่อไปได้



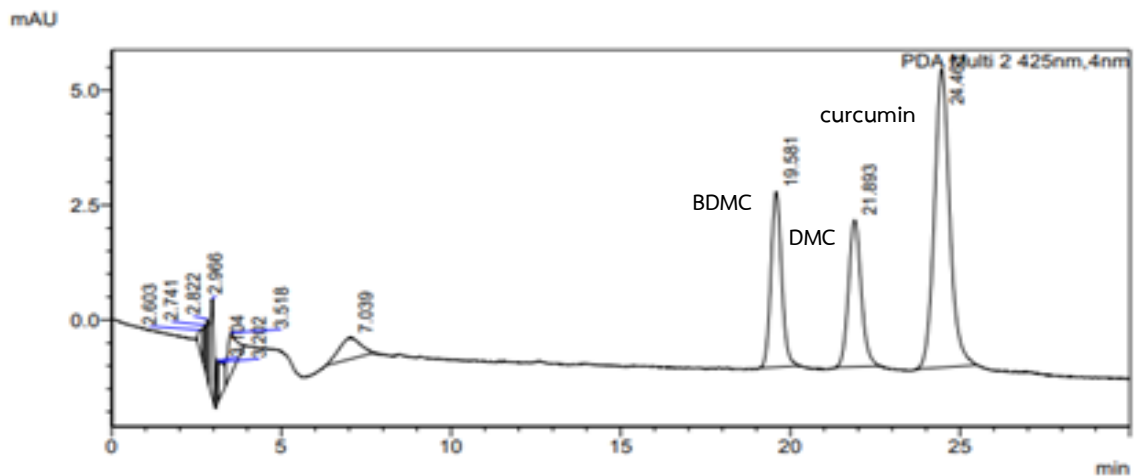
รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



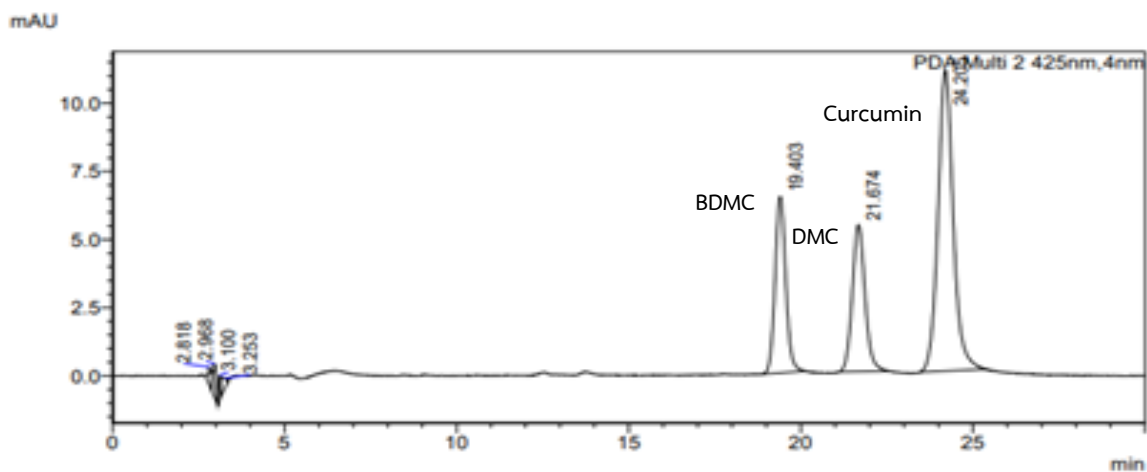
รูปที่ 22 Chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมินที่ได้จากการวิเคราะห์ HPLC

4.3.2 Chromatogram ของสารสกัดตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

จากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารสกัดที่สกัดด้วย ET, ETOV, PG และ PGOV ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 10 µg/ml ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังตารางที่ 7



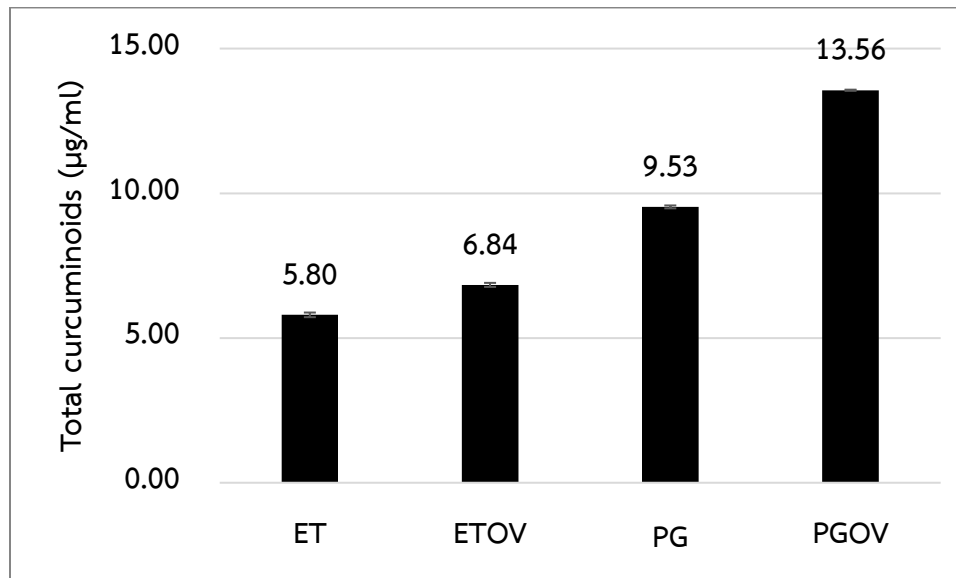
รูปที่ 23 Chromatogram HPLC ของสารสกัด ET



รูปที่ 24 Chromatogram HPLC ของสารสกัด PG

ตารางที่ 7 ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบของสารสกัดตัวอย่าง

สารสกัด \ สารสำคัญ	Total curcuminoids
	Conc $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)
ET	5.80 ± 0.08^a
ETOV	6.84 ± 0.07^b
PG	9.53 ± 0.05^c
PGOV	13.56 ± 0.02^d



รูปที่ 25 แผนภูมิแสดงปริมาณสาร Total curcuminoids ในสารสกัดแต่ละชนิด

จากแผนภูมิแสดงปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids ในสารสกัดแต่ละชนิด พบว่า ขมิ้นชันที่สกัดด้วย ET, ETOV, PG และ PGOV พบสารสำคัญของขมิ้นชันทั้งหมด และจากการเปรียบเทียบกลุ่มสารประกอบดังกล่าวที่ตรวจพบในสารสกัดทั้งหมดพบว่า พบว่า PGOV มีปริมาณสารสำคัญมากที่สุดซึ่งคาดว่าเป็นผลของระยะเวลาจากการหมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (overnight) มีผลทำให้สามารถสกัดสารสำคัญได้เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดแบบไม่ได้ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณของ Total curcuminoids $13.56 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลาย ET และ PG ที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญกลุ่ม curcuminoids และผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการใช้ PG สามารถสกัดสารสำคัญเหล่านี้ออกมาได้มากที่สุด ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DUNCAN พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

4.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า

4.4.1) การพัฒนาตำรับมาสก์หน้าพื้นฐานที่ปราศจากสารสกัด

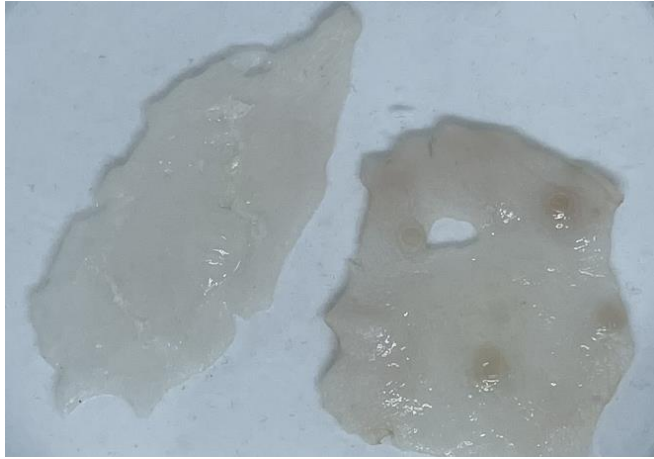
อ้างอิงตำรับพื้นฐานจากงานวิจัยของ Sujima Sunatwanichkul และคณะ ในการเตรียมตำรับพื้นฐานโดยเริ่มจากเตรียม polyvinyl alcohol (PVA) ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 °C คนอย่างสม่ำเสมอให้ PVA กระจายตัว จากนั้นจึงเติม xanthan gum และ glycerine พร้อมกับค่อย ๆ ปล่อยให้เย็นลงจนอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องจึงเติม ethanol EDTA sodium และ paraben concentration

ตารางที่ 8 การพัฒนาตัวรับมาส์กหน้าพื้นฐานที่ปราศจากสารสกัด

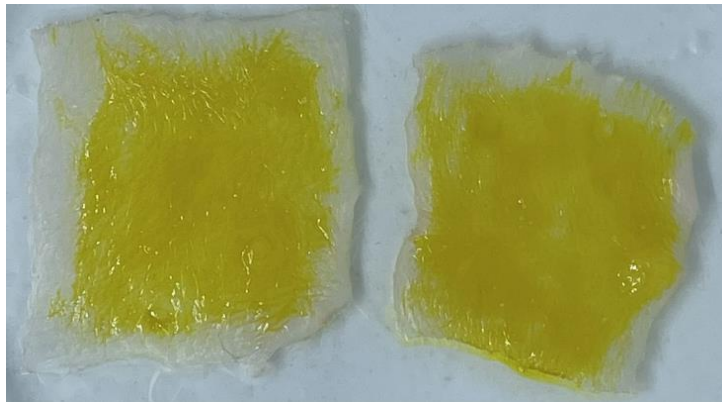
[illegible]

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาส์กหน้าพื้นฐานที่ปราศจากสารสกัด

สมบัติที่ประเมิน		สูตรตำรับ									
		A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	A 9	A 10
Spreading	++ กระจายตัวได้ดีมาก	-	-	-	+	+	+	+	++	++	-
	+ กระจายตัวได้ดี										
	- กระจายตัวได้ไม่ดี										
Drying time (นาที)	ไม่ควรเกิน 30 นาที	> 30	15	22	24	17	> 30	19	17	21	> 30
pH		5	4.5	5	4.5	5	5	5	5	6	5
กลิ่น		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
การเกาะกลุ่มกันของตำรับ	+ สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	- ไม่สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้										



รูปที่ 26 ผิวน้ำนมที่เป็นตัวแทนผิวน้ำนมชายก่อนทาผลิตภัณท์



รูปที่ 27 ผิวน้ำนมที่เป็นตัวแทนผิวน้ำนมชายหลังทาผลิตภัณท์

4.4.2) ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาส์กหน้าพื้นฐานที่ปราศจากสาร

สกัด

การทดสอบทางกายภาพประกอบไปด้วย ความสามารถในการกระจายตัวบนผิวหนัง (Spreading) ระยะเวลาในการแห้ง (Drying time) ซึ่งตำรับมาส์กหน้าที่ไม่ควรใช้เวลานานเกิน 30 นาที ค่า pH โดยค่า pH ที่เหมาะสมต่อผิวหนังคือ pH 4-6 กลิ่น และการเกาะกลุ่มกันของ ตำรับ หรือความสามารถในการลอกออกเป็นแผ่นซึ่งจะทำการทดสอบภายหลังจากตำรับมาส์กหน้าพื้นฐานแห้งเป็นที่เรียบร้อยแล้ว โดยตำรับมาส์กหน้าที่ต้องสามารถลอกออกเป็นแผ่นได้

4.4.3) การพัฒนาตำรับมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดขมิ้นชัน

จากการทดลองหาตำรับพื้นฐานที่เหมาะสมพบว่าตำรับที่ A 9 มีความเหมาะสมในการเป็นตำรับพื้นฐานมากที่สุดเนื่องจากการกระจายตัว (Spreading) อยู่ในระดับดีมาก (++) เวลาในการแห้ง (Drying time) คือ 21 นาที (ซึ่งไม่เกิน 30 นาที) pH ของตำรับคือ pH = 6 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ไม่มีกลิ่น และสามารถลอกออกเป็นแผ่นได้ จึงนำตำรับ A 9 มาพัฒนาผสมกับสารสำคัญขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 5 เท่า และ 10 เท่าของค่า IC_{50} ที่หาได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 10 การพัฒนาตำรับมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดขมิ้นชัน

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	สูตรตำรับ (%w/w)		
		0x	5x	10x
Polyvinyl alcohol	Film forming agent	15	15	15
Ethanol	Drying agent	10	10	10
EDTA sodium	Antioxidant	0.1	0.1	0.1
Paraben concentration	Preservative	1	1	1
Glycerin	Humectant	10	10	10

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	สูตรตำรับ (%w/w)		
		0x	5x	10x
Carbopol 940	Thickening agent	-	-	-
Xanthan gum	Thickening agent	0.25	1.25	2.25
สารสกัด PG	Active ingredient	-	3.5	7
Water qs to	Vehicle	100	100	100

4.4.4) ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาสก์หน้าที่ผสมขมิ้นชัน

การทดสอบทางกายภาพประกอบไปด้วย ความสามารถในการกระจายตัวบนผิวหนัง (Spreading) ระยะเวลาในการแห้ง (Drying time) ซึ่งตำรับมาสก์หน้าที่ดีไม่ควรใช้เวลานานเกิน 30 นาที ค่า pH เหมาะสมต่อผิวหนังคือ 4-6 กลิ่น ซึ่งกลิ่นที่สัมผัสได้ เป็นกลิ่นของขมิ้นชัน และการเกาะกลุ่มกันของตำรับ หรือความสามารถในการลอกออกเป็นแผ่นของมาสก์ภายหลังจากที่ตำรับผสมสารสกัดขมิ้นชันแล้ว ต้องสามารถลอกออกเป็นแผ่นได้ และยังสามารถพบสีของขมิ้นชันหลงเหลืออยู่บนผิวหนังหลังจากลอกออก

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบทางกายภาพของตำรับมาสก์หน้าที่ผสมขมิ้นชัน

สูตรตำรับ		0x	5x	10x
Spreading	++ กระจายตัวได้ดีมาก	++	++	++
	+ กระจายตัวได้ดี			
	- กระจายตัวได้ไม่ดี			
Drying time	ไม่ควรเกิน 30 นาที	55 นาที	55 นาที	55 นาที
pH		6	6	6
กลิ่น		-	กลิ่นขมิ้นชัน	กลิ่นขมิ้นชัน

สูตรตำรับ		0x	5x	10x
การเกาะกลุ่มกันของตำรับ	+ สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้	+	+	+
	- ไม่สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้			



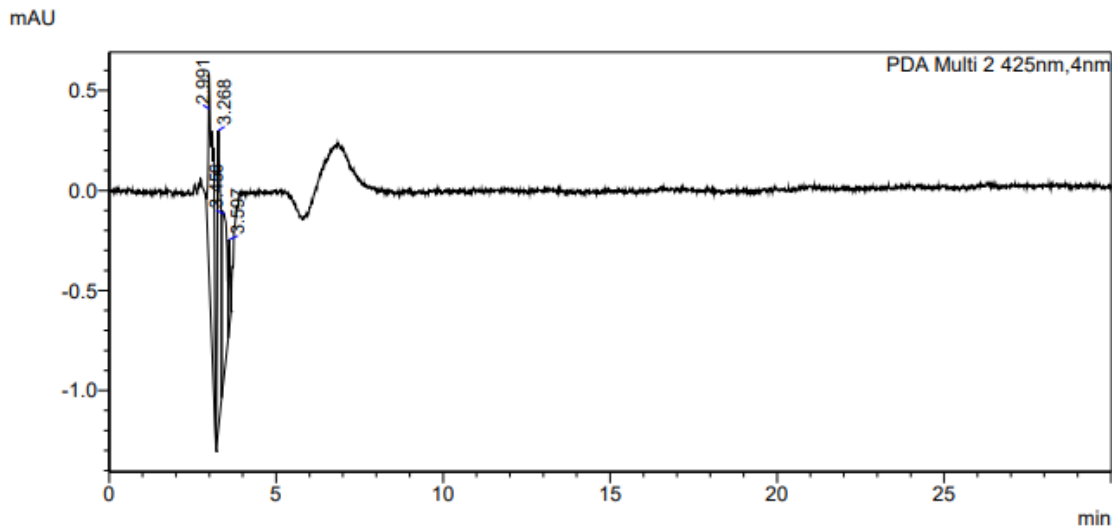
รูปที่ 28 ตำรับมาสักหน้าจากสารสกัดขมิ้นชัน 0x, 5x และ 10x ตามลำดับ

4.5 ศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์มาสักหน้า

ใช้วิธีแปะเทปใสแล้วลอกออกซ้ำ ๆ ทำทั้งหมด 20 แผ่นต่อ 1 ตัวอย่างจากนั้นนำเทปทั้งหมดมาละลายด้วยเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตรจากนั้นทำการกรองด้วยไมโครฟิลเตอร์แล้วนำไปวัดปริมาณสารสำคัญกลุ่ม curcuminoids ด้วยเครื่องมือ HPLC

4.5.1 ผลการทดสอบเทปใสที่ไม่ได้ผสมสารหรือตำรับใด ๆ

จากผลการวัดเทปใสที่ไม่ได้ผสมสารหรือตำรับใด ๆ ผลปรากฏว่าไม่พบสารสำคัญใด ๆ



รูปที่ 29 Chromatogram HPLC ของเทปใสที่ไม่ได้ผสมสารสกัดตัวอย่าง

4.5.2 ผลการทดสอบเทปใสที่ใช้ strip บนผิวหนังหมูภายหลังการมาส์กด้วยผลิตภัณฑ์ มาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดเข้มข้น

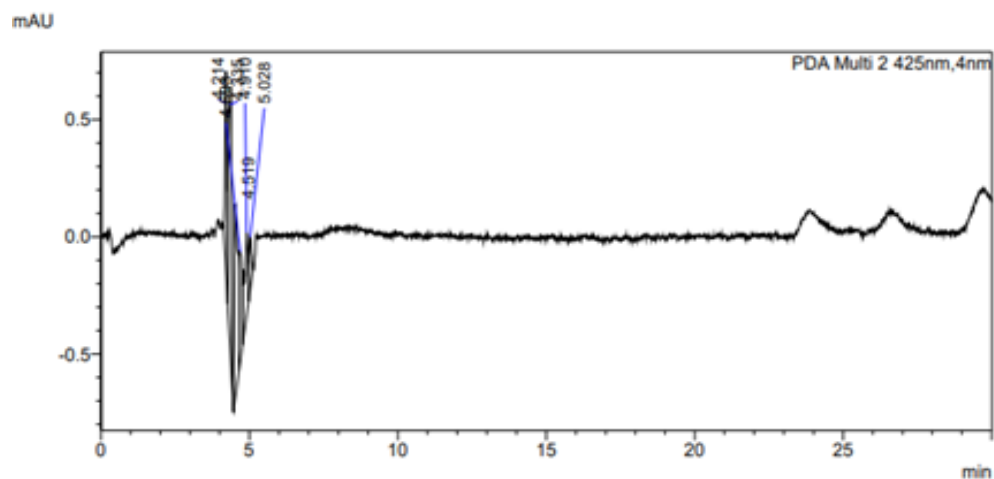
เทปที่ใช้แปะลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ ขมิ้นชันความเข้มข้นเป็น 10 เท่า ของ IC_{50} ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีการวัดทั้งหมด 2 ตัวอย่าง อย่าง ละ 2 ครั้ง แล้วคำนวณปริมาณสารสำคัญโดยนำค่าพื้นที่ใต้กราฟ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงของสาร มาตรฐาน $y = 65.5 \times 10^6 x - 3885.4$ ได้ผลดังตาราง

ตารางที่ 12 ปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากการทดสอบการปลดปล่อย สารสำคัญของตำรับมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่าของค่า IC_{50} ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Tape strip 10x	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)
Total curcuminoids	0.301 ± 0.02

เทปที่ใช้แปะลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ ขมิ้นชันความเข้มข้นเป็น 5 เท่า ของ IC_{50} โดยมีการวัดทั้งหมด 2 ตัวอย่าง อย่างละ 2 ครั้ง ผลปรากฏว่าไม่

สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญได้เนื่องจาก chromatogram ที่ได้ไม่สมบูรณ์ และเกิดความผิดพลาด จึงไม่สามารถทำการวิเคราะห์ต่อไปได้ และที่ความเข้มข้นในตำรับเป็น 0 เท่าของ IC_{50}

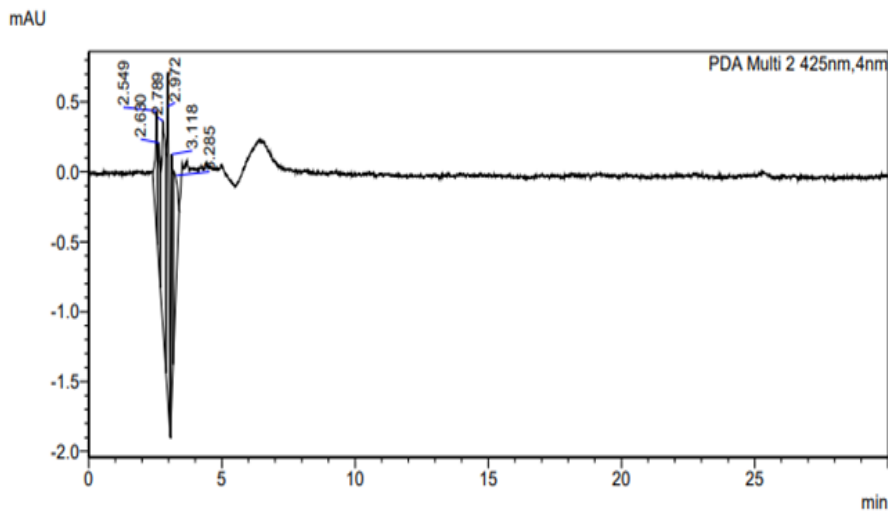


รูปที่ 30 HPLC chromatogram ของสารสำคัญภายหลังการทดสอบการปลดปล่อยของ ตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่า ของ IC_{50} ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

4.5.3 การวิเคราะห์ผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วย สารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย HPLC

4.5.3.1) ผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ ขมึ้นชั้นที่ความเข้มข้น 0 เท่าของ IC_{50}

ผลของการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าไม่พบสาระสำคัญใด ๆ เกิดขึ้น



รูปที่ 31 HPLC chromatogram ของผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 0 เท่า ของ IC₅₀

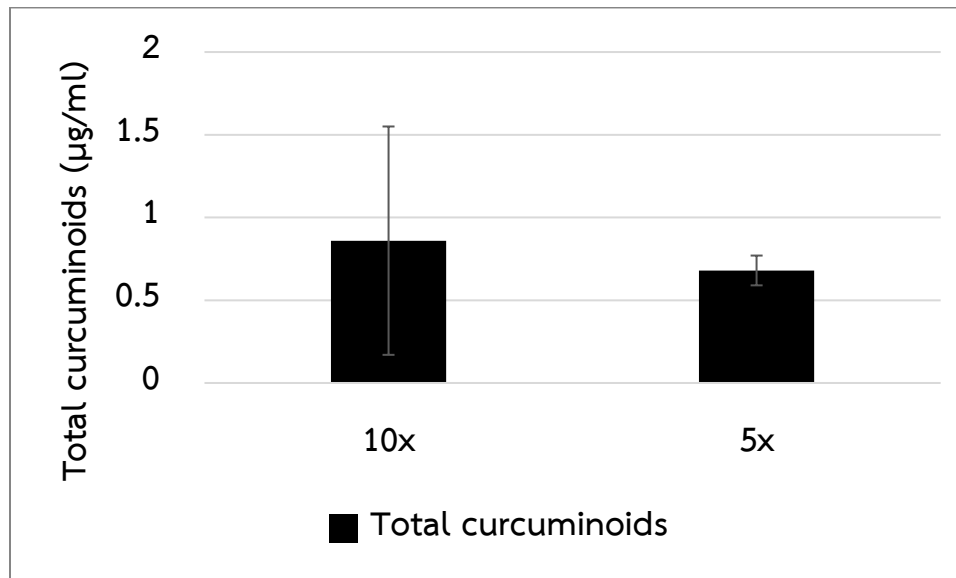
4.5.3.2) ผลการทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญภายหลังการทดสอบด้วย

ผลิตภัณฑ์มาส์กหน้าที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่า ของ IC₅₀

ได้ทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC จากนั้น นำค่าพื้นที่ใต้กราฟ แทนค่าในสมการเส้นตรงของสารมาตรฐาน ($y = 65.5 \times 10^6 x - 3885.4$) พบว่าปริมาณสารสำคัญที่ตรวจสอบได้ผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 13 ปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่าของ IC₅₀ (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)

Skin	10x average conc.	5x average conc.
	Conc $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)	Conc $\pm$ SD ($\mu\text{g/ml}$)
Total curcuminoids	0.86 $\pm$ 0.69 ^a	0.68 $\pm$ 0.09 ^a



รูปที่ 32 แผนภูมิแสดงปริมาณสารประกอบ Total curcuminoids หลังจากทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับมาสก์หน้าทีผสมสารสกัดความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่าของ IC_{50} (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)

จากการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่ความเข้มข้นของสารสำคัญ 5 เท่า และ 10 เท่าของ IC_{50} พบว่าตำรับผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดเข้มข้น สามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้จริง และปริมาณของสารสำคัญที่ปลดปล่อยออกมาที่ความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่า พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชันประจำปีการศึกษา 2563 ทางผู้วิจัยได้ทำการสกัดขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) โดยทำการสกัดขมิ้นชันสายพันธุ์แดงสยาม เพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้นหลังการทำตรวจสอบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อพัฒนาเป็นตำรับผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

1. การสกัดสารสำคัญของขมิ้นชัน

ผลของการสกัดขมิ้นชัน สายพันธุ์แดงสยามด้วยการใช้ตัวทำละลายเปรียบเทียบกับ 2 ชนิดด้วยเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอล ทำการสกัดได้ 4 วิธีคือ ET, ETOV, PG และ PGOV พบว่าการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล ทำให้สารที่สกัดได้มีความหนืดมากกว่าสกัดด้วยเอทานอล เนื่องจากโพรพิลีนไกลคอล มีความหนืดเท่ากับ 42 mPa.s และเอทานอลมีความหนืดเท่ากับ 0.983 mPa.s ซึ่งส่งผลให้ลักษณะสีของสารสกัดที่สกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล มีความเข้มข้นกว่าสีของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชัน

2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองโดยวิธี DPPH assay

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่สกัดด้วย ET, ETOV, PG, PGOV พบว่าสารสกัดทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยสารสกัด PG มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวสูงที่สุดซึ่งค่า IC_{50} เท่ากับ $110.19 \pm 8.12 \mu\text{g/ml}$ รองลงมาคือ PGOV $129.19 \pm 8.15 \mu\text{g/ml}$, ET $153.47 \pm 5.69 \mu\text{g/ml}$ และ ETOV $206.30 \pm 12.13 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับนอกจากนี้สารสำคัญในขมิ้นชันยังมีคุณสมบัติเป็น Radical scavenger โดยจากบทความของ พนิดา ไหญ่ธรรมสาร (10) ระบุว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay สามารถหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชันได้จริงจากกลไก radical scavenging และ Martin RM และคณะ (34)

ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดังกล่าวพบว่า curcumin ในขมิ้นชันสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 530.00-860.00 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่สามารถวิเคราะห์ค่า IC_{50} ได้ในทุกสารสกัด แต่ทว่าจากงานวิจัยของ นายลิขิต ลาเต๊ะ (35) และ Xuemei Wu และคณะ (36) ระบุตรงกันว่าค่าการละลายของเคอร์คูมินในเอทานอล ละลายได้ดีกว่าในโพรพิลีนไกลคอล และอ้างอิงจากค่า logP ของเคอร์คูมิน (37) เอทานอล (38) และโพรพิลีนไกลคอล (39) พบว่ามีค่าประมาณ 3.29, -0.31 และ -0.79 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับในงานวิจัยข้างต้น แต่จากผลการทดลองพบว่าการสกัดเคอร์คูมินที่สกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าเอทานอล (IC_{50} เท่ากับ $110.19 \pm 8.12 \mu\text{g/ml}$) ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานของโครงการวิจัยที่ระบุไว้ว่า การใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดขมิ้นชันสามารถทำให้ได้สารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าหรือดีกว่าการสกัดด้วยเอทานอล เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการใช้ตัวทำละลายในการสกัดระหว่างเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอลพบว่าสารสกัดจากโพรพิลีนไกลคอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าอาจสืบเนื่องมาจากคาร์บอนอะตอมที่โพรพิลีนมีมากกว่าเอทานอล หรือความคงตัว และจุดเดือดของโพรพิลีนไกลคอลที่มากกว่าอาจส่งผลให้การสลายตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้น้อยกว่า อีกทั้งในงานวิจัยของ Poopak Farnia (40) ระบุว่าโพรพิลีนไกลคอลสามารถทำหน้าที่เป็นสารช่วยละลาย (co-solvent) ของเคอร์คูมินได้ ทำให้เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay พบว่าโพรพิลีนไกลคอลมีฤทธิ์มากกว่า ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในด้านการละลายของเคอร์คูมิน

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองโดยวิธี ABTS assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชันพบว่าสารสกัดทั้งหมดแสดงฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ สารสกัดโพรพิลีนไกลคอลแบบหมักข้ามคืน (PGOV) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดโดยค่า IC_{50} ได้เท่ากับ $99.89 \pm 9.84 \mu\text{g/ml}$ เอทานอลแบบหมักข้ามคืน (ETOV) $115.38 \pm 13.54 \mu\text{g/ml}$ โพรพิลีนไกลคอล $132.33 \pm 33.02 \mu\text{g/ml}$ และ เอทานอล (ET) $145.01 \pm 6.19 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Piyapong Sonkaew และคณะ (41) โดยวิธี ABTS พบว่า

สามารถหาค่า IC_{50} ได้เท่ากับ 0.23 ± 1.26 mg/ml และ 0.35 ± 1.50 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่สามารถวิเคราะห์ค่า IC_{50} ได้ในทั้ง 4 สารสกัด แสดงว่าในการสกัดทั้ง 4 วิธีนั้นสามารถสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังคงไว้ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คูมิน แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองโดยวิธี TBARS assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการทดสอบพบว่า PG มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการสกัดด้วย PGOV, ET, ETOV (IC_{50} เท่ากับ 110.19 ± 5.69 μ g/ml) และในวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดทั้ง 4 วิธีสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งหมดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกนำเอาการสกัดด้วย PG มาวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่สามารถเกิดขึ้นได้บนผิวหนังเนื่องจากปฏิกิริยาอนุมูลออกซิเดชันสามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเกิดผ่านกระบวนการออกซิเดชันกับลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ทำให้ได้ผลผลิตเป็นอนุมูลอิสระ และยังสามารถส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไป โดยผลผลิตที่เกิดขึ้นจากกระบวนการนี้ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีทีน และเพนเทน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) (42) ซึ่งจากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TBARS พบว่าการสกัดด้วย PG สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชันได้จริงโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 84.64 ± 1.93 μ g/ml และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอร์คูมินพบว่าฤทธิ์ที่แตกต่างกัน 10 เท่า ($IC_{50} = 5.94 \pm 0.33$ μ g/ml)

3. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารสำคัญในสารสกัดด้วย HPLC

สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในขมิ้นชันคือสารกลุ่ม เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ดังนั้นในการศึกษาปริมาณสารสำคัญซึ่งมุ่งเน้นไปที่สารประกอบ Total curcuminoids โดยผลการศึกษาสารสกัด PGOV มีปริมาณสารสำคัญที่ออกมามากที่สุดรองลงมาคือ PG, ET และ ETOV ตามลำดับดังนั้น การใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดขมิ้นชันสามารถทำได้

สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารสำคัญมากที่สุดซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าหรือเทียบเท่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล จากการรายงานของ นายลิขิต (35) และ Xuemei Wu และคณะ (36) โดยที่ผลของงานวิจัยระบุว่าปริมาณสารสำคัญที่ออกมาจากการสกัดด้วย ET มีปริมาณ Total curcuminoids 82.47 ± 3.44 mg เมื่อเทียบกับปริมาณสารสำคัญที่สกัดด้วย PG มีปริมาณ Total curcuminoids 58.56 ± 4.09 mg นอกจากนี้การใช้ PG ในการสกัดสารตัวอย่างเข้มข้น นอกจากจะได้ปริมาณสารสำคัญออกมาแล้วการนำไปประยุกต์เพื่อเป็นส่วนประกอบในตำรับก็ง่ายและเข้ากับสูตรตำรับได้

4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาส์กหน้า

4.1 การพัฒนาตำรับมาส์กหน้าพื้นฐานปราศจากสารสกัด

จากการพัฒนาตำรับมาส์กหน้าพื้นฐาน 10 ตำรับ A1-A10 พบว่าในตำรับที่ A1 A2 และ A3 ใช้ Carbopol เป็น Thickening agent ทำให้ไม่สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้ และถ้าหากปริมาณของ Polyvinyl alcohol น้อยเกินไปดังในตำรับที่ A2 ก็ไม่สามารถลอกออกเป็นแผ่นได้เช่นกัน แต่ถ้าหากปริมาณของ Polyvinyl alcohol มากเกินไปอย่างเช่นตำรับที่ A6 และ A10 ก็ส่งผลให้การใช้เวลาเช็ดตัวเพิ่มมากขึ้น และความสามารถในการกระจายตัวลดน้อยลง นอกจากนี้ภายหลังจากมีการใช้ xanthan gum ส่งผลให้การกระจายตัวบนผิวหน้า และความสามารถในการลอกออกดีขึ้น อีกทั้งสารประกอบที่สำคัญอีกหนึ่งชนิดคือ glycerin โดยพบว่าการเพิ่ม glycerin ส่งผลให้ตำรับมีการกระจายตัวที่ดีขึ้น การเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนของ Polyvinyl alcohol ในระหว่างขั้นตอนการเตรียมลดน้อยลง และมีผลเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหน้า

4.2 การพัฒนาตำรับมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดเข้มข้น

จากการทดลองหาตำรับพื้นฐานที่เหมาะสมพบว่าตำรับที่ A9 มีความเหมาะสมในการเป็นตำรับพื้นฐานมากที่สุด และเมื่อนำมาผสมกับสารสำคัญเข้มข้นพบว่าสามารถพัฒนาตำรับให้มีเนื้อเรียบเนียน และจากผลการทดสอบทางกายภาพยังสามารถคงประสิทธิภาพในการเป็นตำรับพื้นฐานได้ ภายหลังจากผสมสารสำคัญและการพบสีของเข้มข้นหลงเหลืออยู่บนผิวหน้าหลังจากลอกออก ส่งผลให้อนุมาณได้เบื้องต้นแล้วว่ามี การปลดปล่อยสารสำคัญจากตำรับออกมาสู่ผิวหน้า

5. ศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้า

ในงานวิจัยศึกษาปล่อยของสารสำคัญด้วยวิธีการ Differential stripping method ซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีที่อ้างอิงมาจาก บทความของ วรนนท์ รังสิมาวงศ์ และคณะ (43) ด้วยการประเมินปริมาณตัวยาที่ผ่านเข้าสู่รูขุมขน ด้วยเทปใสเพื่อนำตัวยาที่อยู่ในผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม โดยใช้วิธีแปะเทปใสแล้วลอกออกซ้ำ ๆ นำเทปทั้งหมดมาละลายด้วยเอทานอลแล้วนำไปวัดปริมาณสารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC และในส่วนของผิวหนังที่ใช้ในการทดลอง ใช้หนังหน้าท้องของลูกหมูแรกคลอดที่เสียชีวิตตามธรรมชาติมาทดสอบด้วยวิธีดังกล่าว จากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อผิวหนัง เพื่อศึกษาปริมาณยาที่ซึมผ่านลงมาที่ผิวหนังโดยการศึกษาจะเริ่มจากการศึกษาใน เทปใสที่ปราศจากสารใด ๆ เทปใสที่ผ่านการ stripping หนังหมูที่ผ่านการมาส์กด้วยตำรับ 0 เท่า 5 เท่า และ 10 เท่า ของค่า IC_{50} ที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และหนังหมูที่ผ่านการมาส์กด้วยตำรับ 0 เท่า 5 เท่า และ 10 เท่า ของค่า IC_{50} ที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า

จากผลการทดลองนำเทปใสที่ปราศจากสารใด ๆ พบว่าไม่พบสารปนเปื้อนแสดงให้เห็นว่าเทปใสที่ใช้ในการศึกษาจะไม่ทำให้พบสารปนเปื้อนอื่น ๆ ขณะทำการทดลองด้วยวิธี stripping tape

จากผลการทดลองนำเทปใสผ่านการ stripping หนังหมูที่ผ่านการมาส์กด้วยตำรับ 0 เท่า 5 เท่า และ 10 เท่า ของค่า IC_{50} พบว่าในตำรับที่มีส่วนผสมของสารสกัดขมิ้นชันเป็น 10 เท่า ของ IC_{50} แสดงให้เห็นว่ามีการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาบริเวณผิวหนังได้จริง ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานของโครงการวิจัยว่า ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีคุณสมบัติในการกักเก็บและปลดปล่อยสารสกัดขมิ้นชันที่ได้จากการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล แต่เนื่องจากปัญหาที่เกิดขึ้นที่คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ HPLC ทำให้ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ตำรับ 0 เท่า และ 5 เท่า ได้ซึ่งมีการสันนิษฐานว่าเกิดจาก กาวของเทปใสที่ไม่สามารถกำจัดออกไปได้และ อาจส่งผลให้เกิดการตันของคอลัมน์ และการที่ใช้ mobile phase ที่มีปริมาณอัตราส่วนของน้ำเยอะเกินไป อาจส่งผลให้การละลายหรือชะล้างตัวกาวของเทปใสเกิดขึ้นได้ไม่เต็มที่ ส่งผลให้คอลัมน์เกิดความผิดปกติขึ้นเกิดการอุดตันในที่สุด

จากผลการทดลองนำหนังหน้าท้องของลูกหมูแรกคลอด ที่ผ่านการ stripping tape และการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ผสมสารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 0 เท่า 5 เท่า และ 10 เท่า

ของค่า IC_{50} พบว่าตำรับที่มีปริมาณสารสำคัญ 10 เท่า พบปริมาณสารสำคัญบนผิวหนังของหนูมากกว่าตำรับที่มีปริมาณสารสำคัญ 5 เท่า ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของการแพร่ที่ระบุไว้ว่า สารที่มีปริมาณความเข้มข้นมากจะแพร่สู่บริเวณที่มีความเข้มข้นน้อย และยิ่งปริมาณความเข้มข้นที่มากขึ้นย่อมส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญที่แพร่ออกมาสู่ผิวหนังมีปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย แต่จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย F-test (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ทั้งในความเข้มข้นที่ต่างกัน และสารสำคัญทั้ง 3 ชนิด แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการปลดปล่อยสารสำคัญ อาจขึ้นอยู่กับความชุ่มชื้นของผิวหนัง ความหนาตัวของผิวหนัง ความมัน หรือปริมาณของขนเป็นต้น ซึ่งยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป อีกทั้งผลการทดลองที่ได้รับยังมีความสอดคล้องกับสมมติฐานของโครงการวิจัยที่กล่าวไว้ว่า ผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีคุณสมบัติในการกักเก็บและปลดปล่อยสารสกัดขมิ้นชันที่ได้จากการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล

สรุปผลการทดลอง

จากการทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดขมิ้นชันพบว่าสารก่อฟิล์มคือโพลิไวนิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 15% ของตำรับให้ผลดีที่สุดและสารสกัดที่ใส่ลงในผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือสารสกัดที่สกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอลแบบไม่ได้ทำการหมักค้างคืนจากนั้น เมื่อทำการทดสอบการซึมผ่านพบว่าสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าสามารถซึมผ่านเข้าสู่หนังของลูกหนูได้ แต่การปลดปล่อยสารสำคัญออกจากผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่ความเข้มข้นของสารสำคัญ 5 เท่า และ 10 เท่าของ IC_{50} พบว่าตำรับผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดขมิ้นชัน ทั้ง 2 ตำรับสามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้จริง และปริมาณของสารสำคัญที่ปลดปล่อยออกมาที่ความเข้มข้น 10 เท่า และ 5 เท่า พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. Kocaadam B, Şanlıer N. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2017 Sep 2;57(13):2889-95
2. คุณบุรณรัตน์ ไชยรัตน์. ขมิ้นชันแดงสยาม.
<https://www.nanagarden.com/product/314179> (accessed 1 November 2020).
3. Akpolat, M., Tarlada,calı,sır, Y., Uz, Y., Metin, M. and Kızılay, G. (2010). Kanser tedavisinde curcuminin yeri. *Yeni Tıp Dergisi* 27:142–147.
4. Prasad, S., Gupta, S., Tyagi, A. and Aggarwal, B. (2014). Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnol. Adv.* 32:1053–1064.
5. Gupta, S. C., Sung, B., Kim, J. H., Prasad, S., Li, S. and Aggarwal, B. B. (2013a). Multitargeting by turmeric, the golden spice: From kitchen to clinic. *Mol Nutr Food Res.* 57(9):1510–1528.
6. Deogade, S. and Ghate, S. (2015). Curcumin: Therapeutic applications in systemic and oral health. *Int. J. Biol. Pharm. Res.* 6(4):281–290.
7. Jurenka, J. S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev.* 14(2):141–153.
8. Goel, A., Kunnumakkara, A. B. and Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as “curcumin”: From kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* 75:787–809.
9. Lestari ML, Indrayanto G. Curcumin. In *Profiles of drug substances, excipients and related methodology* 2014 Jan 1 (Vol. 39, pp. 113-204). Academic Press.

10. พนิดา ไหญ่ธรรมสาร. ขมิ้นชัน : สมุนไพรเพื่อความงาม : สำนักงานข้อมูลสมุนไพร ; 2017.
http://medherbguru.gpo.or.th/articles/D09_Curcuminiod.pdf (accessed 29 October 2020).
11. Sandur SK, Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Murakami A, Sethi G, Limtrakul P, Badmaev V, Aggarwal BB. Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis*. 2007 Aug 1;28 (8):1765-73.
12. Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of ethnopharmacology*. 1995 Dec 15;49(3):163-9.
13. Mishra S, Narain U, Mishra R, Misra K. Design, development and synthesis of mixed bioconjugates of piperic acid–glycine, curcumin–glycine/alanine and curcumin–glycine–piperic acid and their antibacterial and antifungal properties. *Bioorg Med Chem* 2005;13: 1477–1486.
14. วิโรจน์ ปิยวัชรพันธุ์. เคมีเชิงฟิสิกส์ 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2540.
15. H.H. Tonnesen, J. Karlsen, G.B.v. Henegouwen, Studies on curcumin and curcuminoids VIII. Photochemical stability of curcumin, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 183 (1986) 116–122.
16. Eucerin. โครงสร้าง และหน้าที่ของผิวหนัง. <https://www.eucerin.co.th/about-skin/basic-skin-knowledge/skin-structure-and-function> (accessed 1 November 2020).
17. คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ผิวหนัง (skins).
<http://www.cai.md.chula.ac.th/lesson/lesson4410/data/skins.htm> (accessed 1 November 2020).

18. Wiedersberg S, Leopold CS, Guy RH. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008 Mar 1;68(3):453-66.
19. ผศ.พญ.สุวิรากร โอภาสวงศ์ ประธานประชาสัมพันธ์ สมาคมแพทย์ผิวหนังแห่งประเทศไทย. เลือกผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหนังให้เหมาะสม.
<https://www.rama.mahidol.ac.th/ramachannel/old/index.php/knowforhealth-20150121-3/> (accessed 1 November 2020).
20. Nilforoushzadeh MA, Amirkhani MA, Zarrintaj P, Salehi Moghaddam A, Mehrabi T, Alavi S, Mollapour Sisakht M. Skin care and rejuvenation by cosmeceutical facial mask. *Journal of cosmetic dermatology*. 2018 Oct;17(5):693-702.
21. Pichayakorn W, Boonme P, Taweepreda W. Preparation of peel-off mask from deproteinized natural rubber latex. Paper presented at: Advanced Materials Research;2013.
22. Mitsui T, editor. *New cosmetic science*. Elsevier; 1997 Jun 19.
23. Zhang S, Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplantation*. 2018 May;27(5):729-38.
24. ปณัฏฐา ไชยมุติ. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 7 ชนิด.
25. บุหรณ์ พันธุ์สุวรรณ. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *Thai Science and Technology Journal*. 2013;21(3):275-86.
26. Boligon AA, Machado MM, Athayde ML. Technical evaluation of antioxidant activity. *Med chem*. 2014;4(7):517-22.
27. Moon JK, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009 Mar 11;57(5):1655-66.
28. Ilie M, Margina D. Trends in the evaluation of lipid peroxidation processes. *Lipid peroxidation*. 2012 Aug 29;111-30.
29. Adebiyi OE, Olayemi FO, Ning-Hua T, Guang-Zhi Z. In vitro antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of ethanol extract of stem and leaf of

- Grewia carpinifolia*. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 2017 Mar 1;6(1):10-4.
30. Vongsak B, Kongkiatpaiboon S, Jaisamut S, Machana S, Pattarapanich C. In vitro alpha glucosidase inhibition and free-radical scavenging activity of propolis from Thai stingless bees in mangosteen orchard. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015 Sep 1;25(5):445-50.
 31. Srinivasan RM, Chandrasekar MJ, Nanjan MJ, Suresh B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007 Sep 5;113(2):284-91.
 32. Vieira ES, Lemos-Senna E. Application of a New Validated HPLC-PDA Method for Simultaneous Determination of Curcumin and Melatonin in Hyaluronic Acid-Coated Nanoemulsions. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2020 Mar;31(3):467-75.
 33. พนิดา ใหญ่ธรรมสาร. ขมิ้นชัน : สมุนไพรเพื่อความงาม : สำนักงานข้อมูลสมุนไพร ; 2017.
http://medherbguru.gpo.or.th/articles/D09_Curcuminiod.pdf (accessed 29 October 2020).
 34. Martin RM, Pereira SV, Siqueira S. Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract. *Food Res Inter* 2013;50:657-63.
 35. Lateh L. Preparation and Study of anticancer Activity of Curcuminoid-Rich *Curcuma longa* Extracts (CRE) and CRE-Cyclodextrin Inclusion Complexes (Doctoral dissertation).
 36. Wu X, Xu J, Huang X, Wen C. Self-microemulsifying drug delivery system improves curcumin dissolution and bioavailability. *Drug development and industrial pharmacy*. 2011 Jan 1;37(1):15-23.
 37. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*. 2014 Dec;19(12):20091-112.

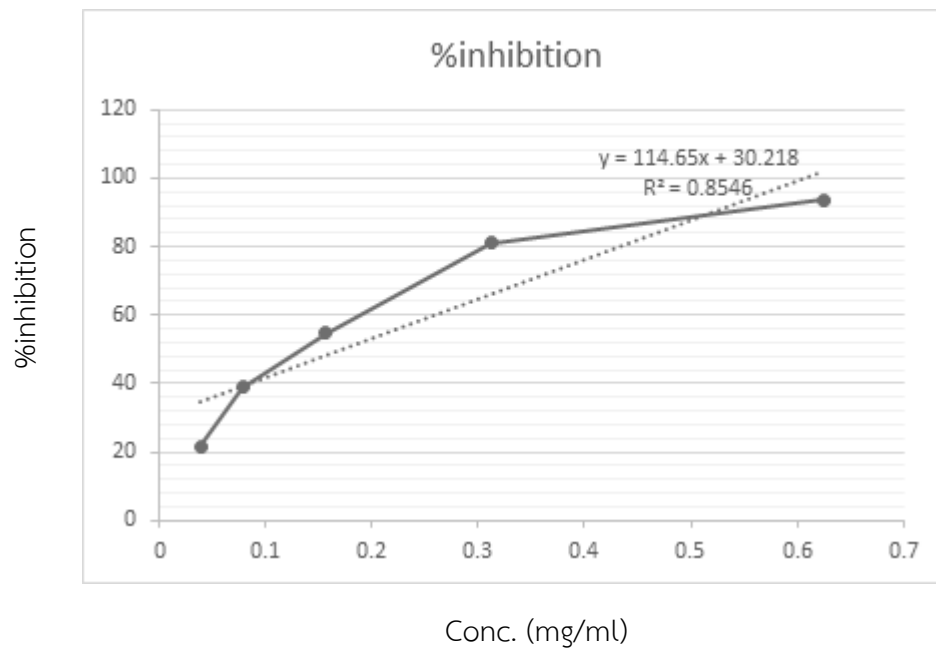
38. Educe Design & Innovation Inc. Ethanol. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00898> (accessed 29/03/2021).
39. FooDB, Chemaxon. Showing Compound Propylene glycol (FDB008274). <https://foodb.ca/compounds/FDB008274> (accessed 29/3/2021).
40. Farnia P, Mollaei S, Bahrami A, Ghassempour A, Velayati AA, Ghanavi J. Improvement of curcumin solubility by polyethylene glycol/chitosan-gelatin nanoparticles (CUR-PEG/CS-G-nps).
41. Sonkaew P, Sane A, Suppakul P. Antioxidant activities of curcumin and ascorbyl dipalmitate nanoparticles and their activities after incorporation into cellulose-based packaging films. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012 May 30;60(21):5388-99.
42. จิตติกานต์ ปัญญาใหญ่. กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kutzing = Antioxidant activity of Tao, *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kutzing / จิตติกานต์ ปัญญาใหญ่. เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2551; 2551.
43. วรนนท์ รังสิมาวงศ์, ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์. เทคนิคสำหรับศึกษาการซึมผ่านรูขุมขน. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน* 2558 2558; 11(2): 3

ภาคผนวก ก

กราฟ

DPPH

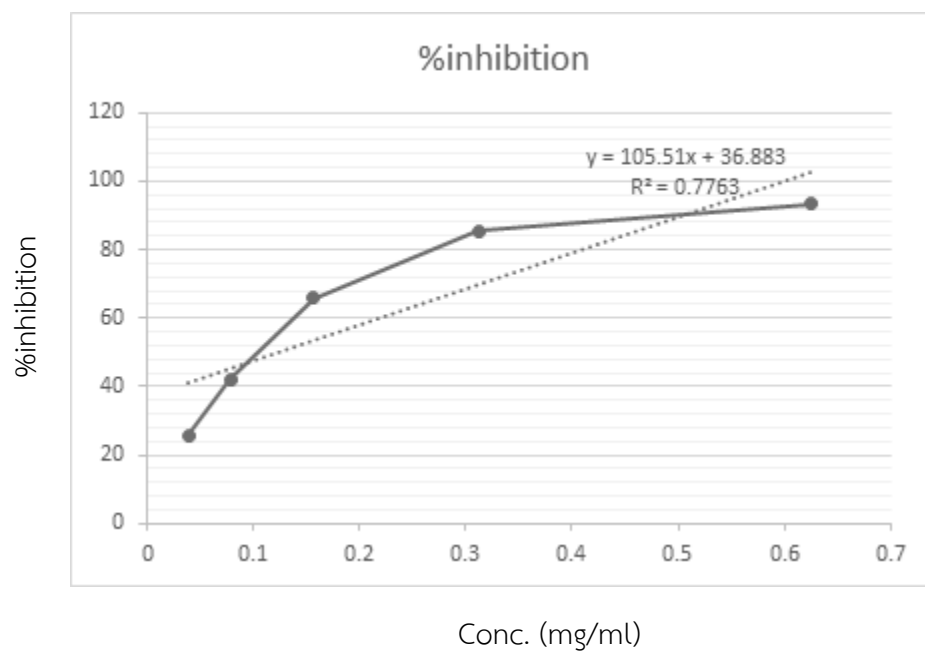
Standard curcumin ครั้งที่ 1



รูปที่ 33 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 114.65x + 30.218$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.17$ mg/ml

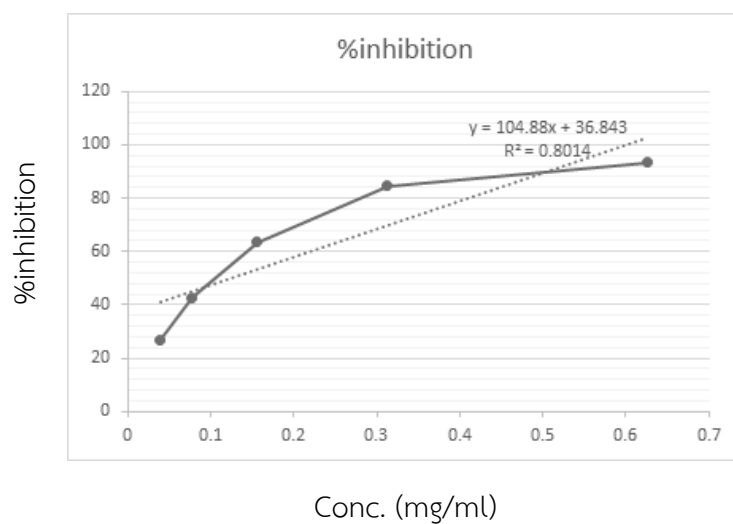
Standard curcumin ครั้งที่ 2



รูปที่ 34 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 105.51x + 36.883$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.12 \text{ mg/ml}$

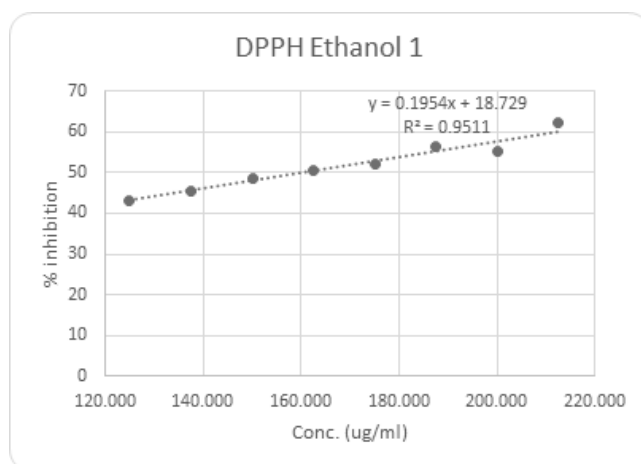
Standard curcumin ครั้งที่ 3



รูปที่ 35 แสดงกราฟมาตรฐานของ DPPH ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 104.88x + 36.843$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.12 \text{ mg/ml}$

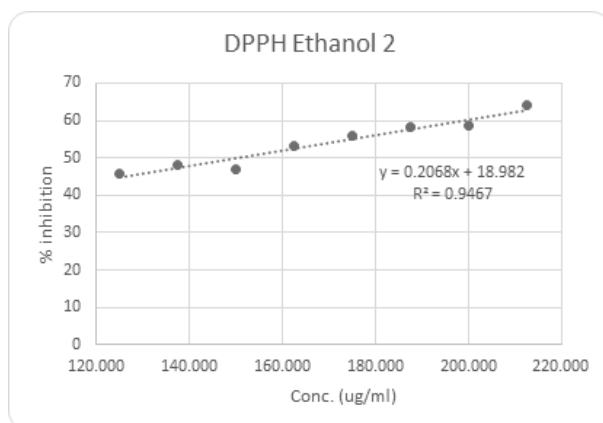
Ethanol ครั้งที่ 1



รูปที่ 36 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.1954x + 18.729$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.16 \text{ mg/ml}$

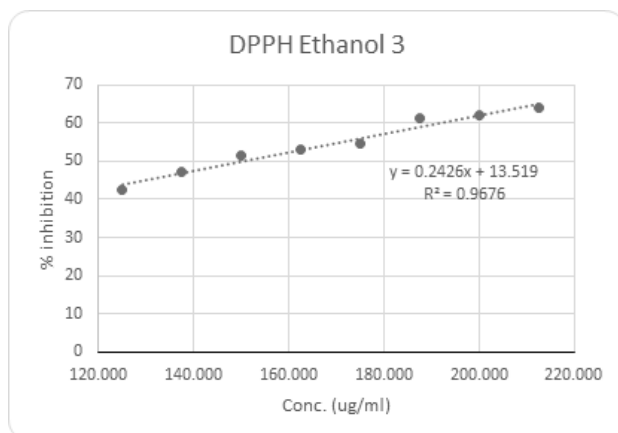
Ethanol ครั้งที่ 2



รูปที่ 37 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2068x + 18.982$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.15 \text{ mg/ml}$

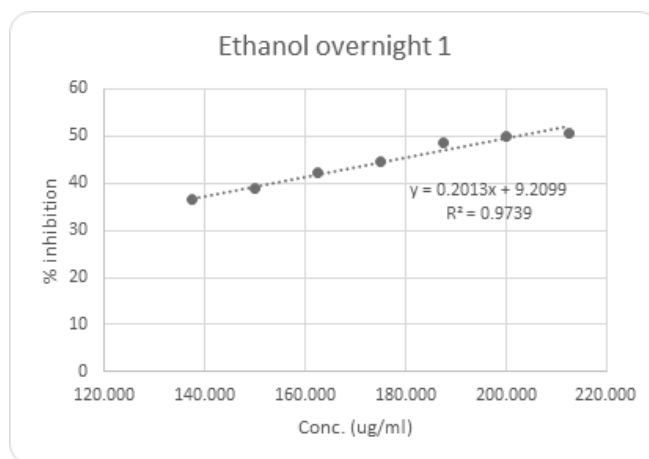
Ethanol ครั้งที่ 3



รูปที่ 38 แสดงกราฟ DPPH ของ ET ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2426x + 13.519$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.15 \text{ mg/ml}$

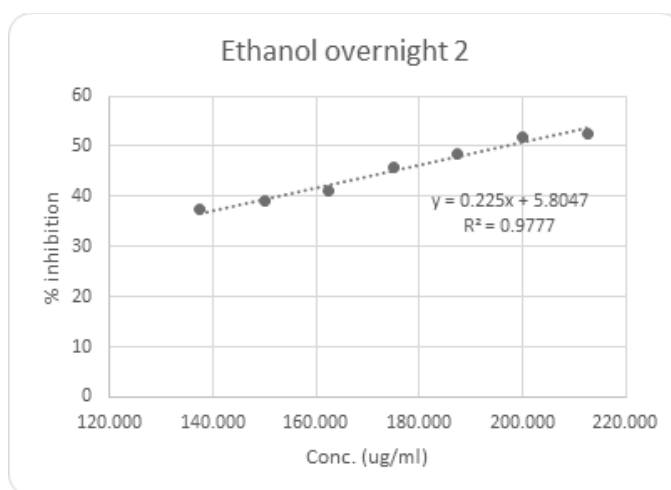
Ethanol overnight ครั้งที่ 1



รูปที่ 39 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2013x + 9.2099$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.20 \text{ mg/ml}$

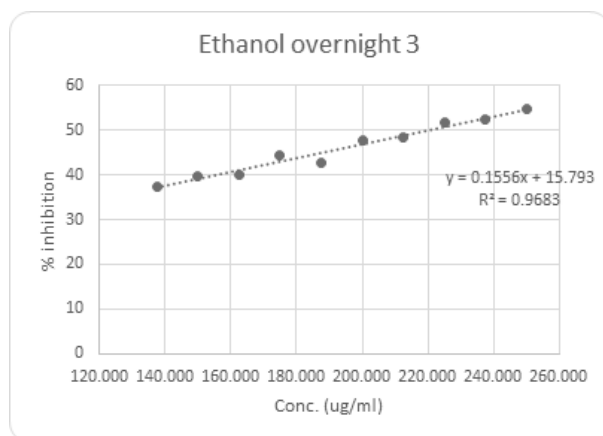
Ethanol overnight ครั้งที่ 2



รูปที่ 40 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.225x + 5.8047$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.20 \text{ mg/ml}$

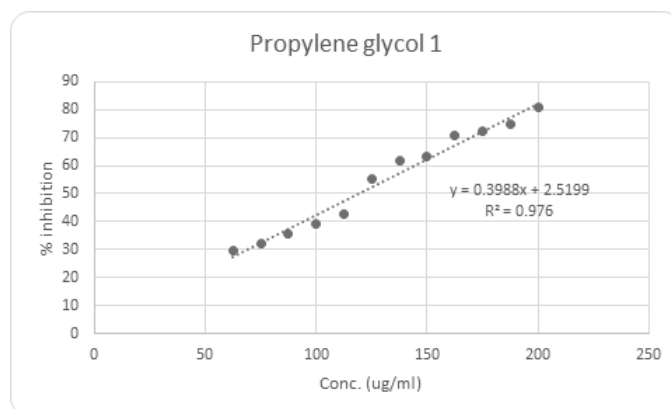
Ethanol overnight ครั้งที่ 3



รูปที่ 41 แสดงกราฟ DPPH ของ ETOV ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.1556x + 15.793$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.22 \text{ mg/ml}$

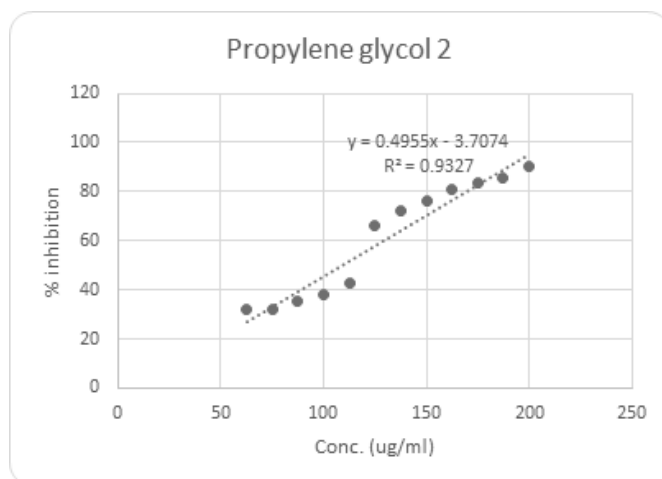
Propylene glycol ครั้งที่ 1



รูปที่ 42 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.3988x + 2.5199$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.12 \text{ mg/ml}$

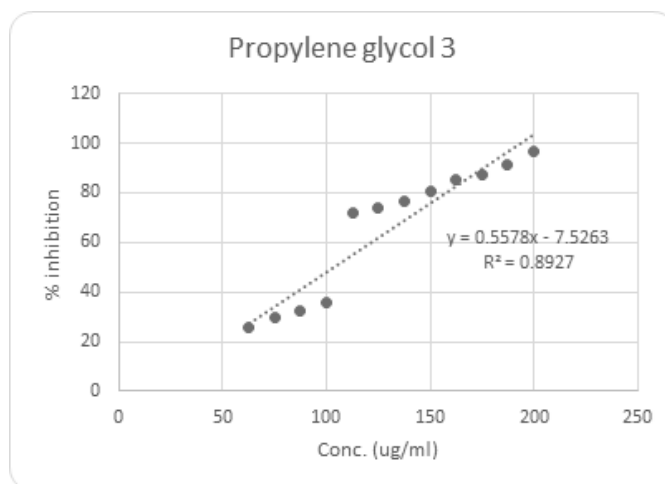
Propylene glycol ครั้งที่ 2



รูปที่ 43 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.4955x + 3.7074$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.11$ mg/ml

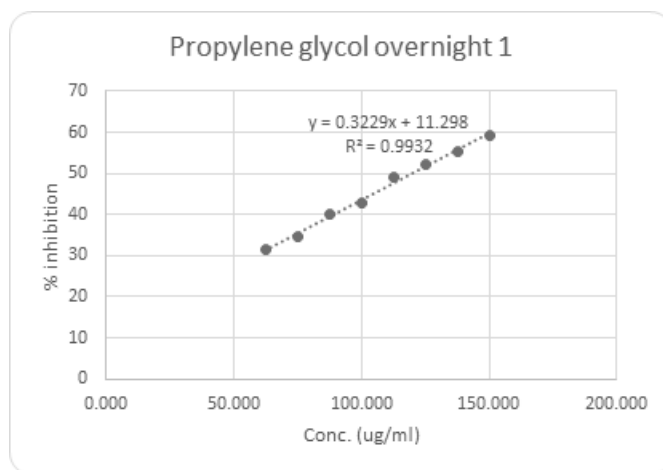
Propylene glycol ครั้งที่ 3



รูปที่ 44 แสดงกราฟ DPPH ของ PG ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.5578x + 7.5263$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.10$ mg/ml

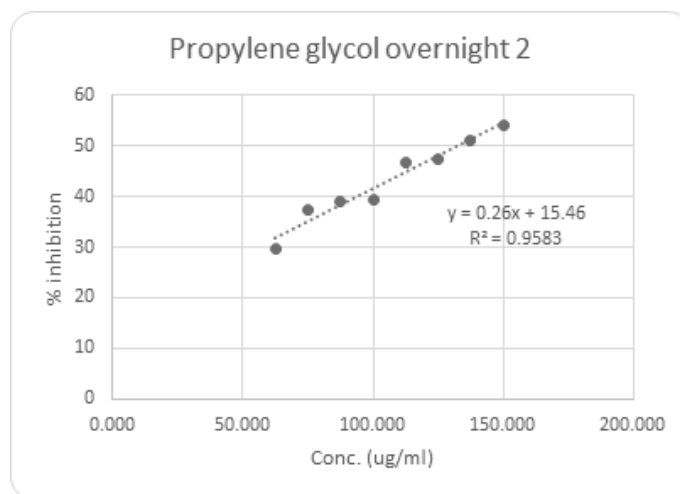
Propylene glycol overnight ครั้งที่ 1



รูปที่ 45 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.3229x + 11.298$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.12 \text{ mg/ml}$

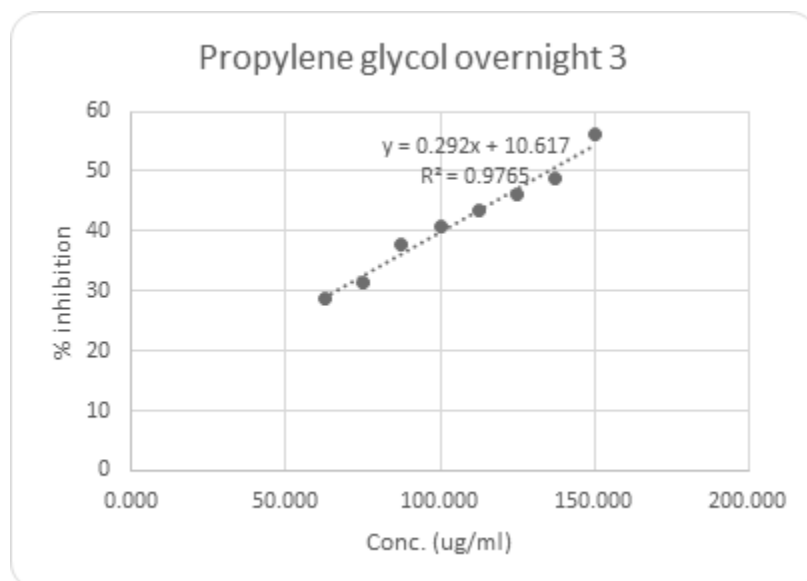
Propylene glycol overnight ครั้งที่ 2



รูปที่ 46 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.26x + 15.46$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.13 \text{ mg/ml}$

Propylene glycol overnight ครั้งที่ 3

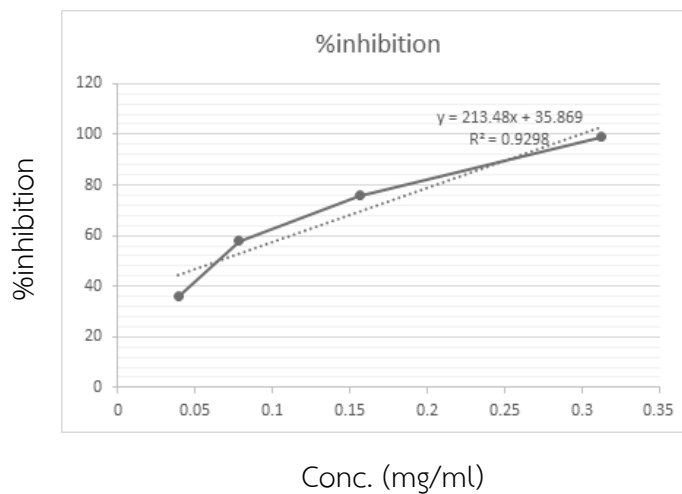


รูปที่ 47 แสดงกราฟ DPPH ของ PGOV ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.292x + 10.617$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.13 \text{ mg/ml}$

ABTS

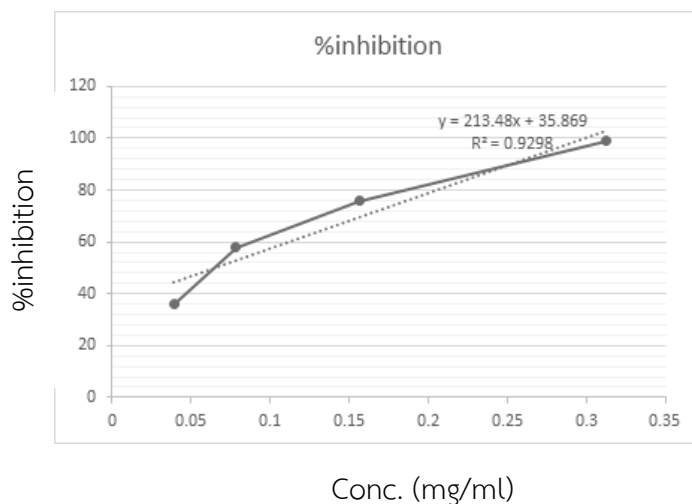
Curcumin Standard ครั้งที่ 1



รูปที่ 48 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 213.48x + 35.869$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.08$ mg/ml

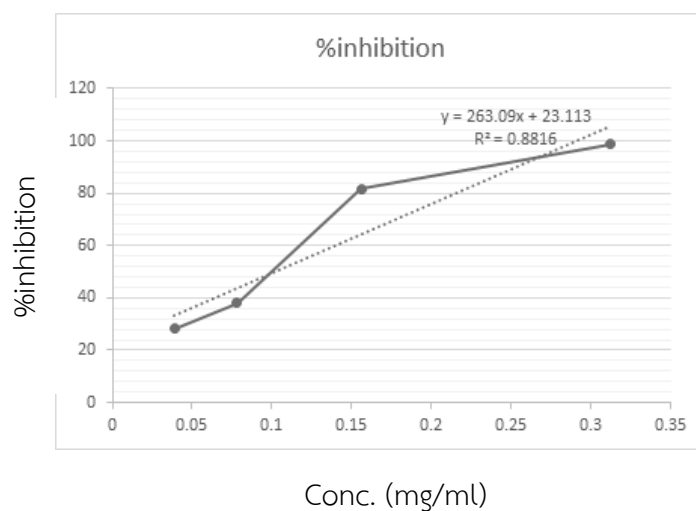
Curcumin Standard ครั้งที่ 2



รูปที่ 49 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 213.48x + 35.869$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.07$ mg/ml

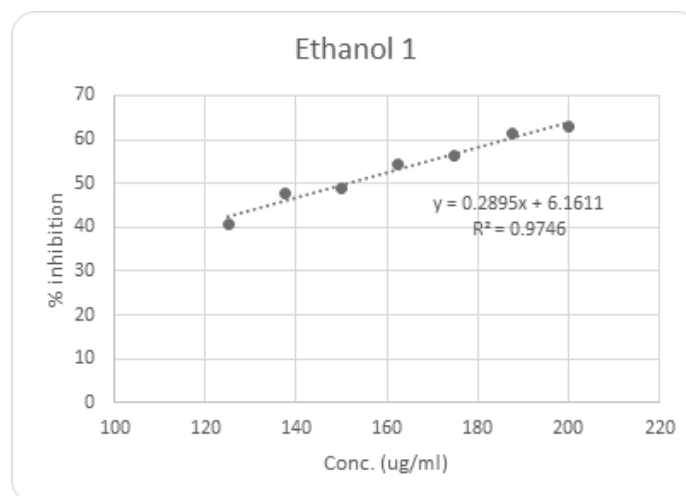
Curcumin Standard ครั้งที่ 3



รูปที่ 50 แสดงกราฟมาตรฐานของ ABTS ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 263.09x + 23.113$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.10$ mg/ml

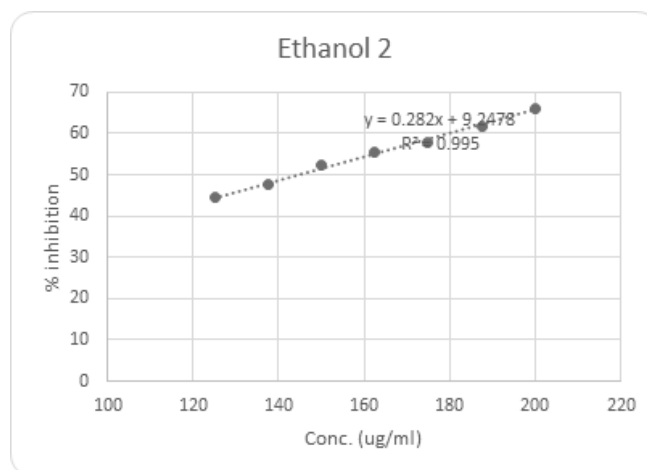
Ethanol (ET) ครั้งที่ 1



รูปที่ 51 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2895x + 6.1611$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.15$ mg/ml

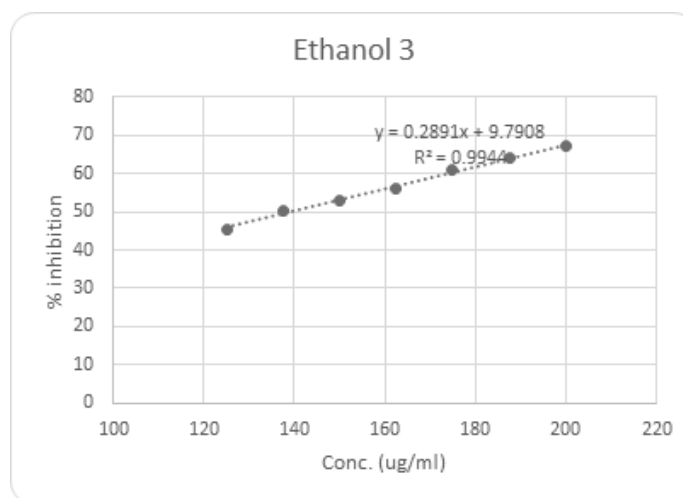
Ethanol (ET) ครั้งที่ 2



รูปที่ 52 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.282x + 9.2478$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.14$ mg/ml

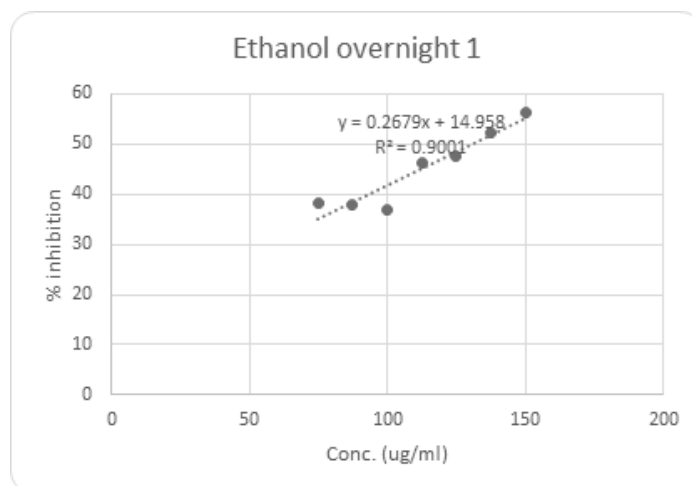
Ethanol (ET) ครั้งที่ 3



รูปที่ 53 แสดงกราฟ ABTS ของ ET ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2891x + 9.7908$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.14$ mg/ml

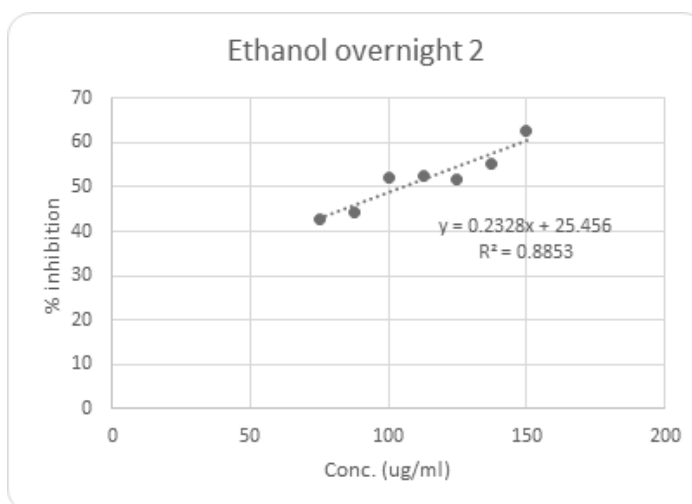
Ethanol overnight (ETOV) ครั้งที่ 1



รูปที่ 54 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2679x + 14.958$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.13$ mg/ml

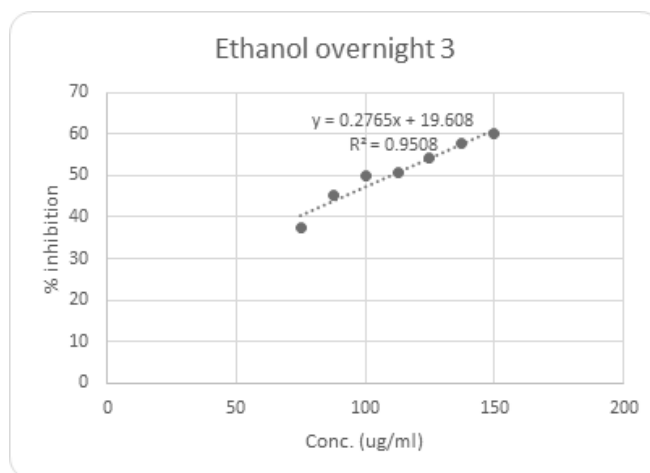
Ethanol overnight (ETOV) ครั้งที่ 2



รูปที่ 55 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2328x + 25.456$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.10$ mg/ml

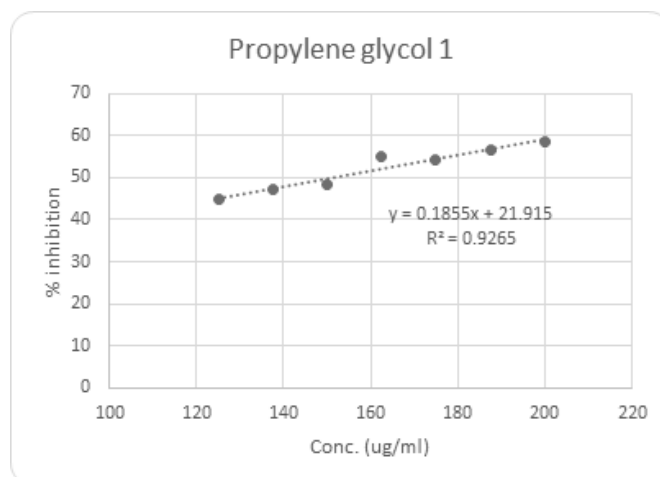
Ethanol overnight (ETOV) ครั้งที่ 3



รูปที่ 56 แสดงกราฟ ABTS ของ ETOV ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2765x + 19.608$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.11$ mg/ml

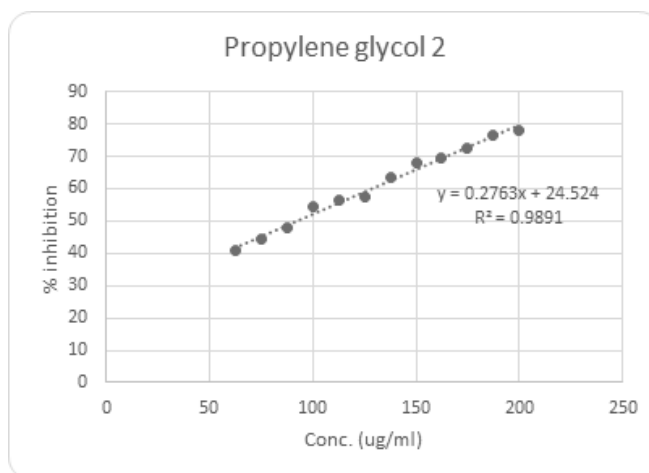
Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 1



รูปที่ 57 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.1855x + 21.915$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.15$ mg/ml

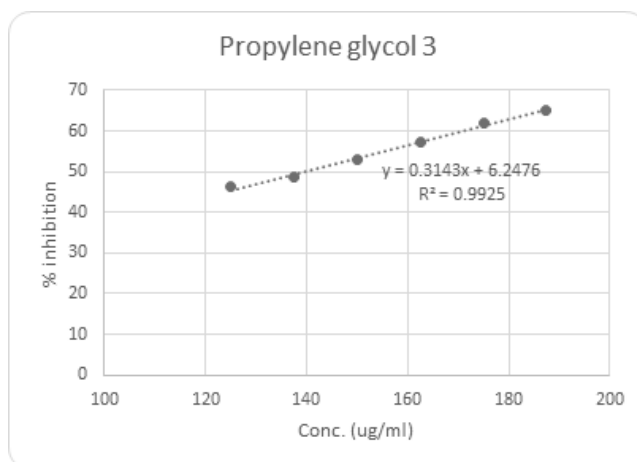
Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 2



รูปที่ 58 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.2763x + 24.524$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.09$ mg/ml

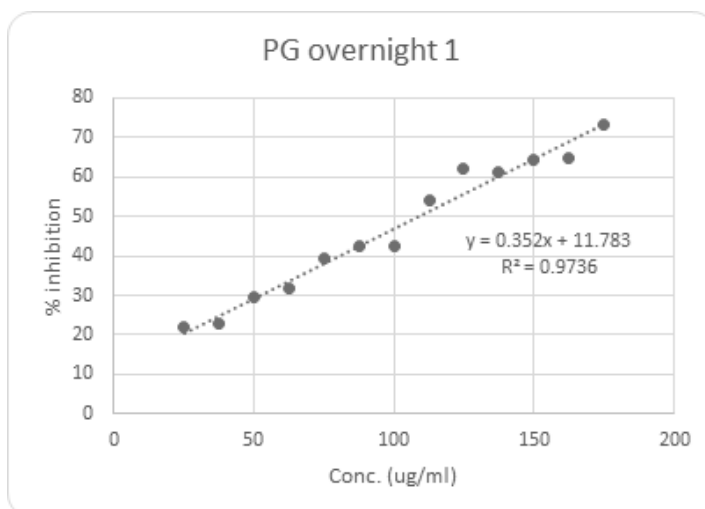
Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 3



รูปที่ 59 แสดงกราฟ ABTS ของ PG ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.3143x + 6.2476$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.15$ mg/ml

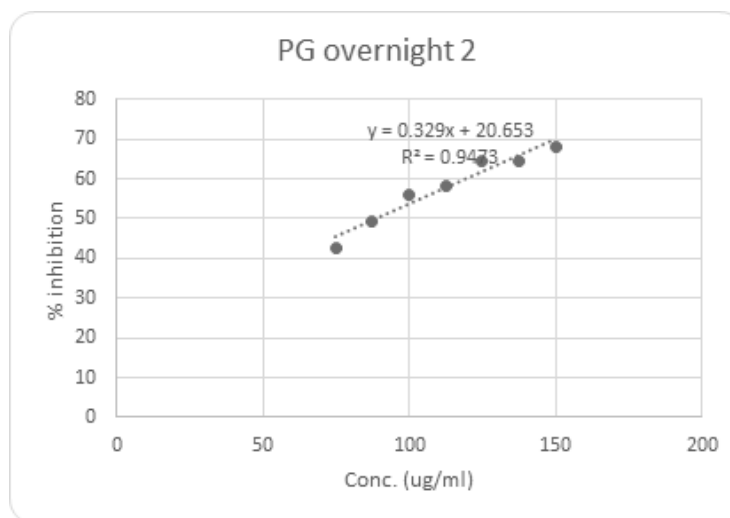
Propylene glycol overnight(PGOV) ครั้งที่ 1



รูปที่ 60 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.352x + 11.783$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 108.57 \mu\text{g/ml}$

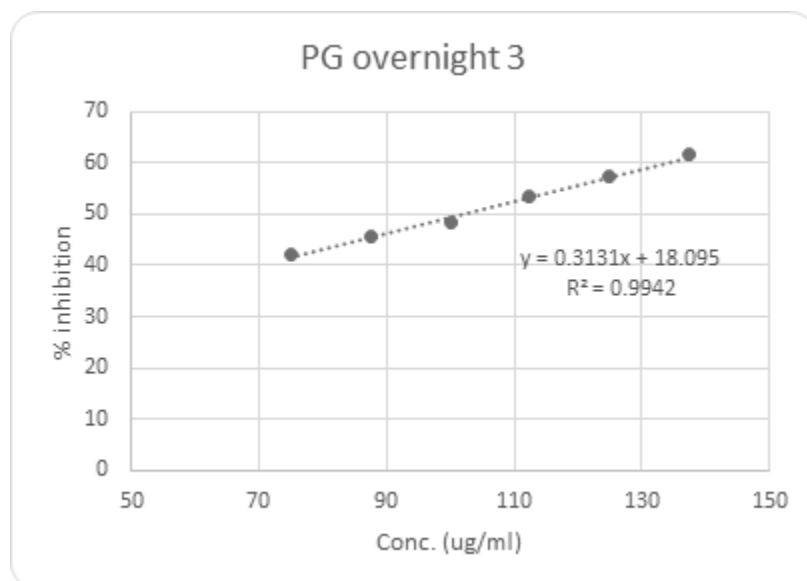
Propylene glycol overnight (PGOV) ครั้งที่ 2



รูปที่ 61 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.329x + 20.653$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 89.2 \mu\text{g/ml}$

Propylene glycol overnight (PGOV) ครั้งที่ 3

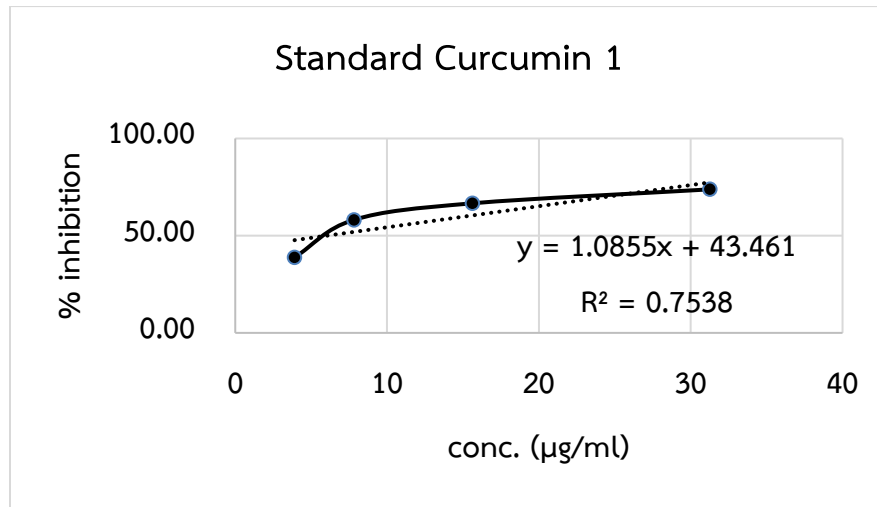


รูปที่ 62 แสดงกราฟ ABTS ของ PGOV ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.3131x + 18.095$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 101.9 \mu\text{g/ml}$

TBARS

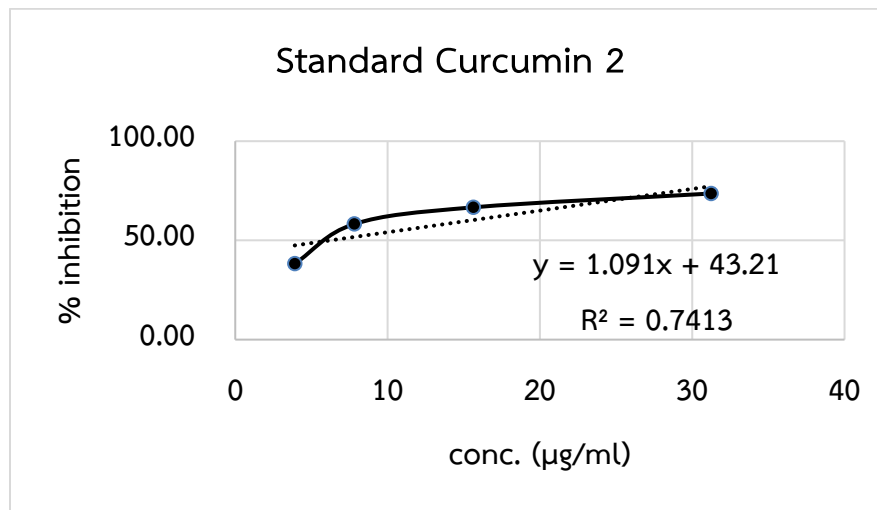
Standard Curcumin (STD) ครั้งที่ 1



รูปที่ 63 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 1.0855x + 43.461$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.006$ mg/ml

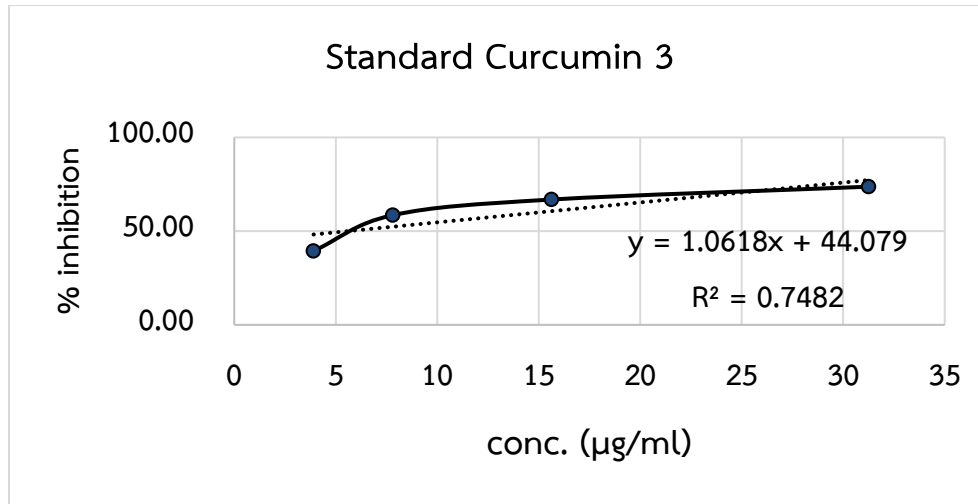
Standard Curcumin (STD) ครั้งที่ 2



รูปที่ 64 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 1.091x + 43.21$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.006$ mg/ml

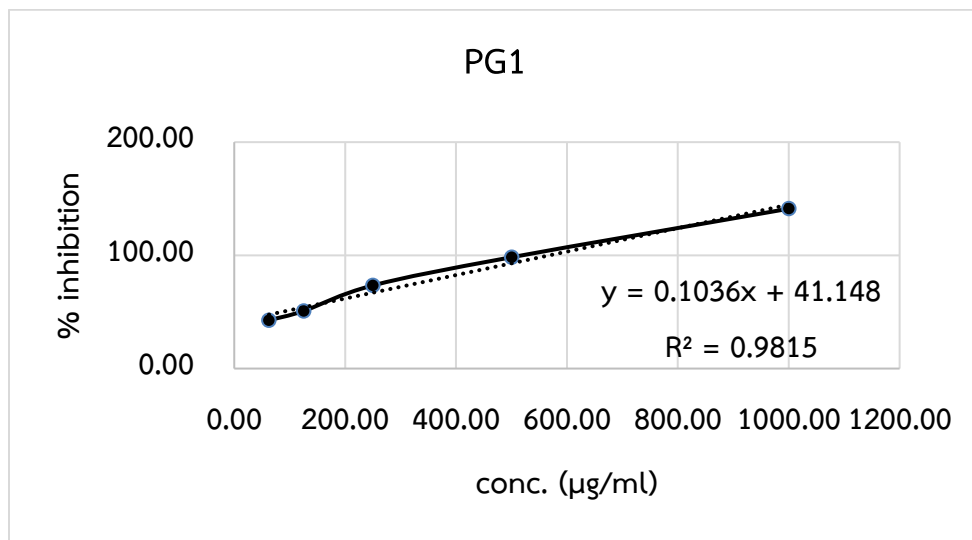
Standard curcumin (STD) ครั้งที่ 3



รูปที่ 65 แสดงกราฟมาตรฐานของ TBARS ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 1.091x + 43.21$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.006$ mg/ml

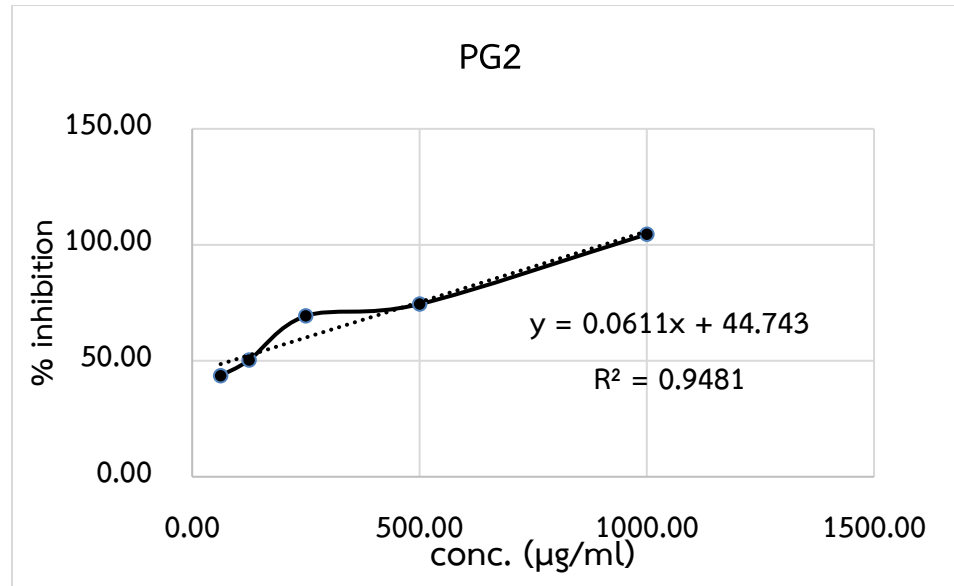
Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 1



รูปที่ 66 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 1

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 1.036x + 41.148$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.085$ mg/ml

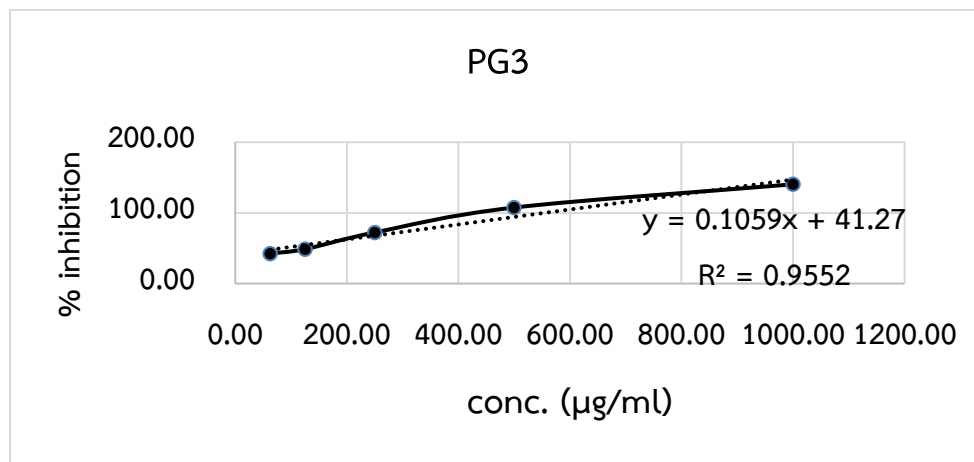
Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 2



รูปที่ 67 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 2

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.0611x + 44.743$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.086$ mg/ml

Propylene glycol ครั้งที่ 3

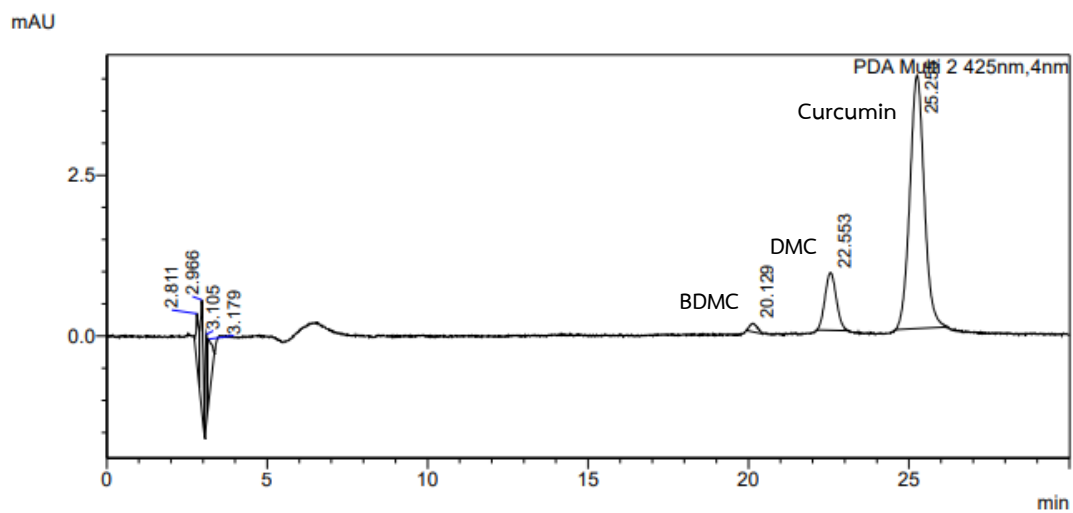


รูปที่ 68 แสดงกราฟ TBARS ของ PG ครั้งที่ 3

เมื่อแทนค่าในสมการ $y = 0.1059x + 41.27$ เพื่อหาค่า $IC_{50} = 0.082$ mg/ml

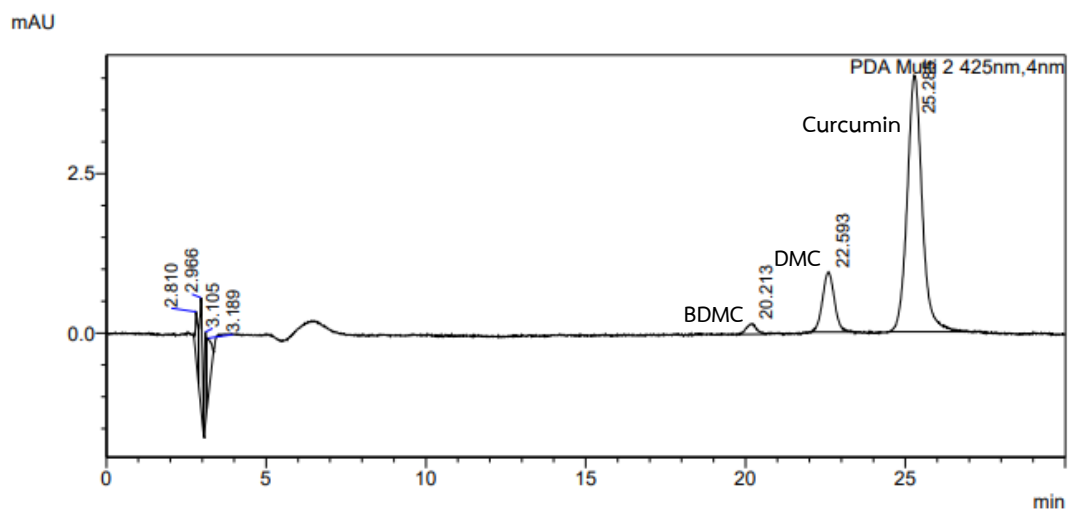
HPLC

Standard curcumin 0.00195 mg/ml ครั้งที่ 1



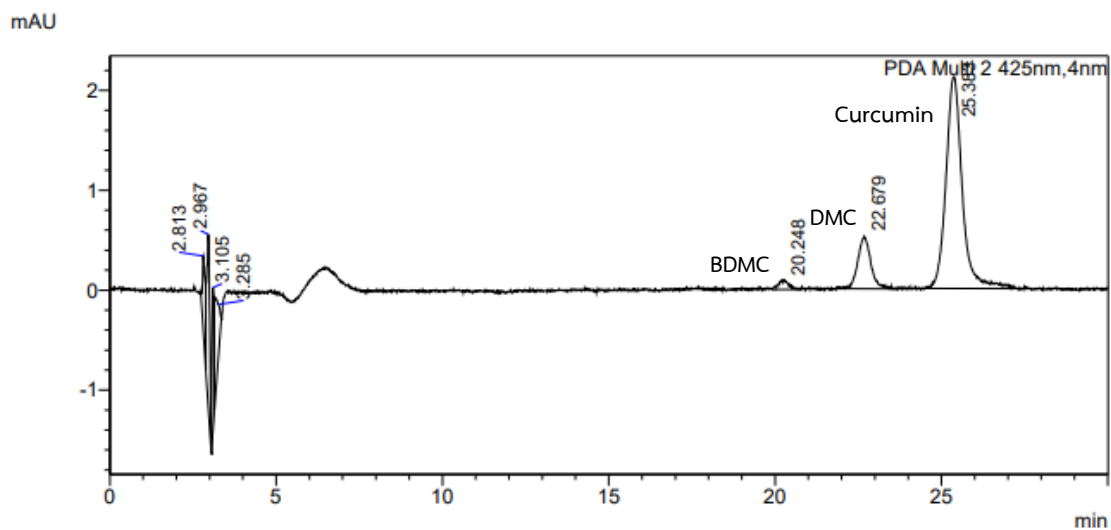
รูปที่ 69 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.00195mg/ml ครั้งที่ 1

Standard curcumin 0.00195 mg/ml ครั้งที่ 2



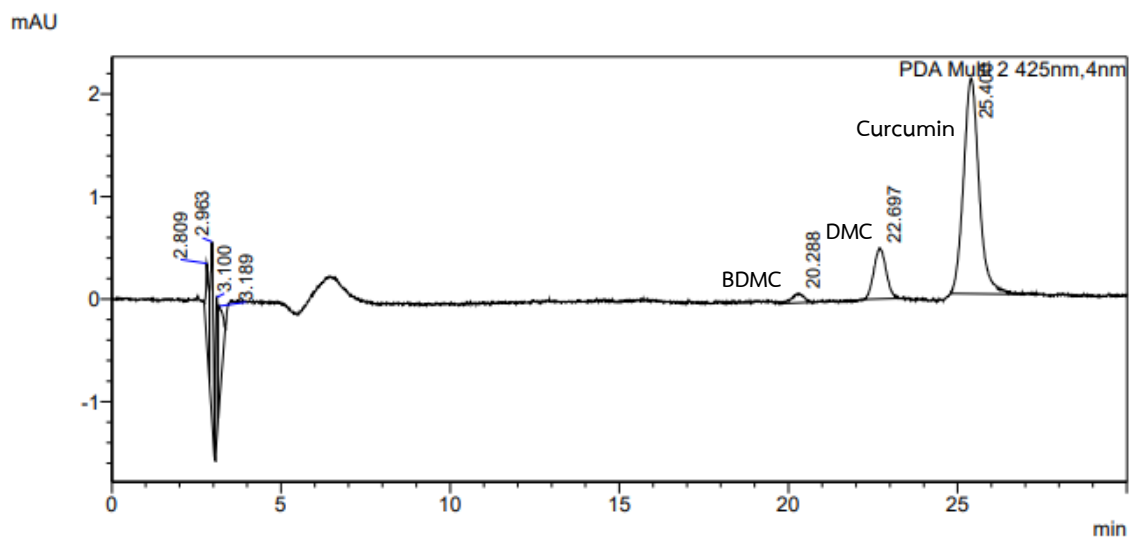
รูปที่ 70 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.00195mg/ml ครั้งที่ 2

Standard curcumin 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 1



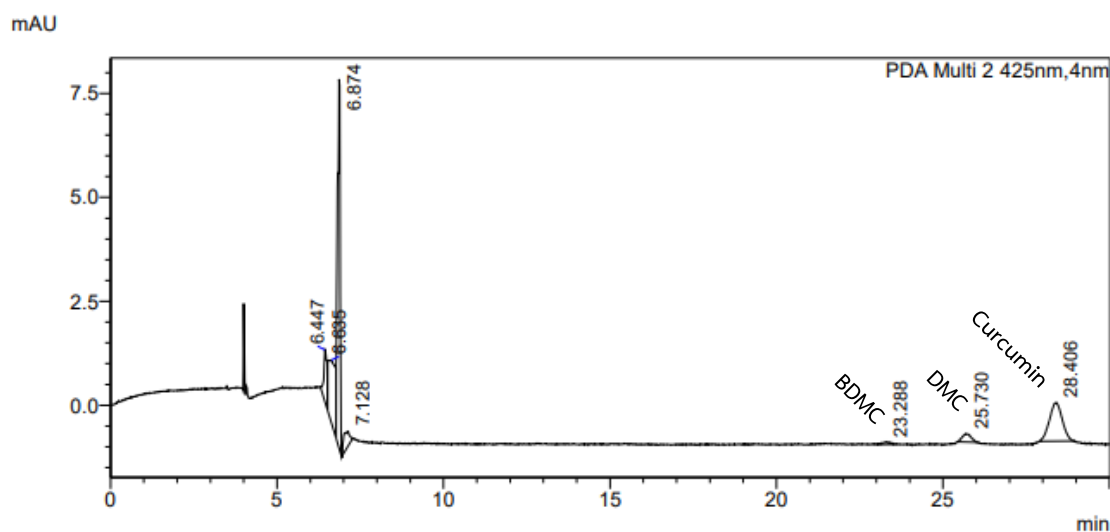
รูปที่ 71 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 1

Standard curcumin 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 2



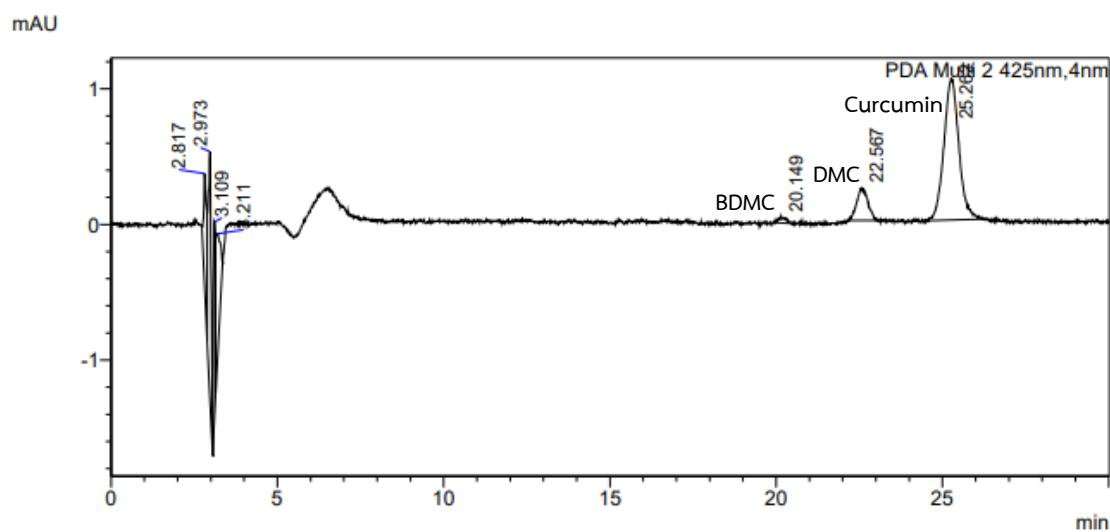
รูปที่ 72 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000977 mg/ml ครั้งที่ 2

Standard curcumin 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 1



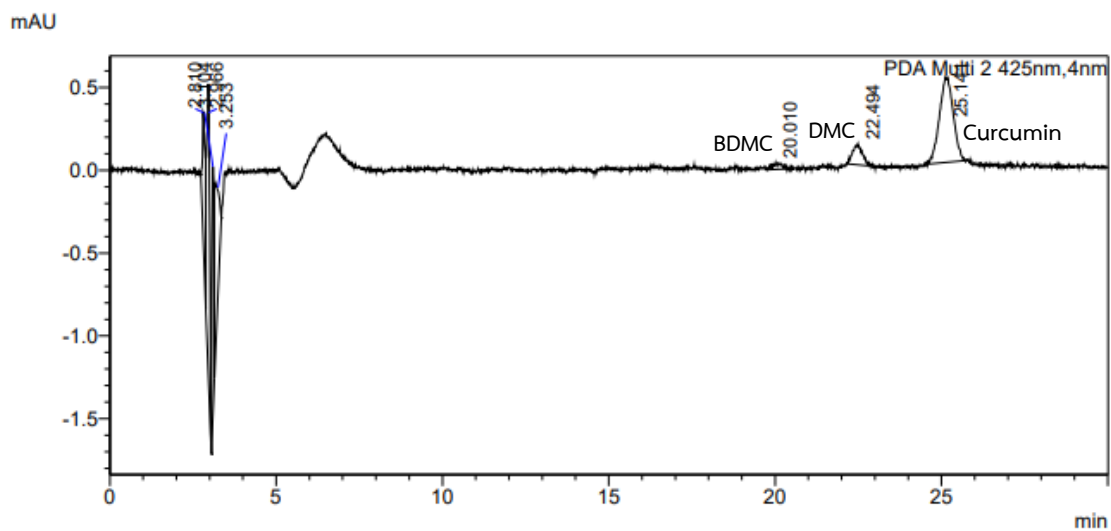
รูปที่ 73 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 1

Standard curcumin 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 2



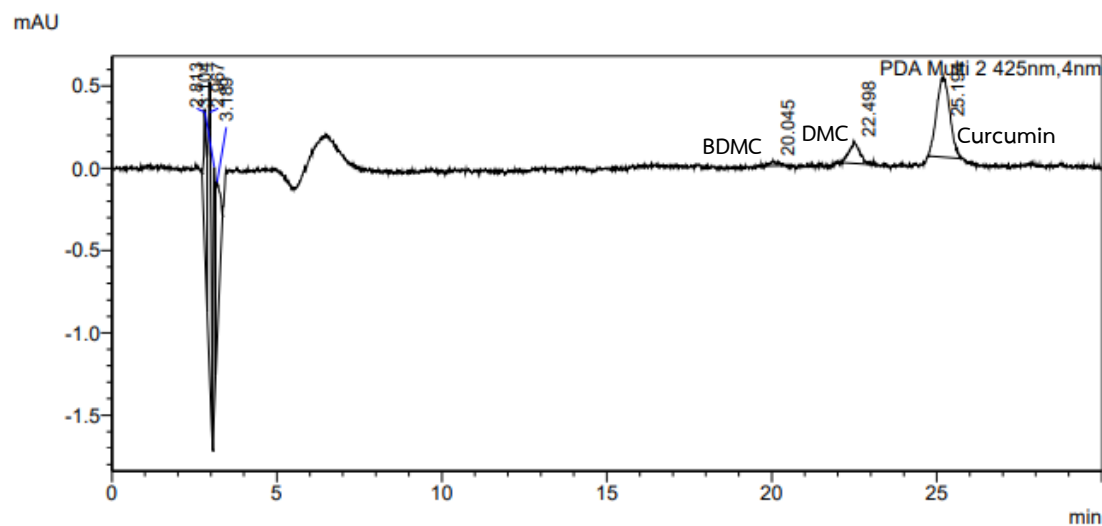
รูปที่ 74 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000488 mg/ml ครั้งที่ 2

Standard curcumin 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 1



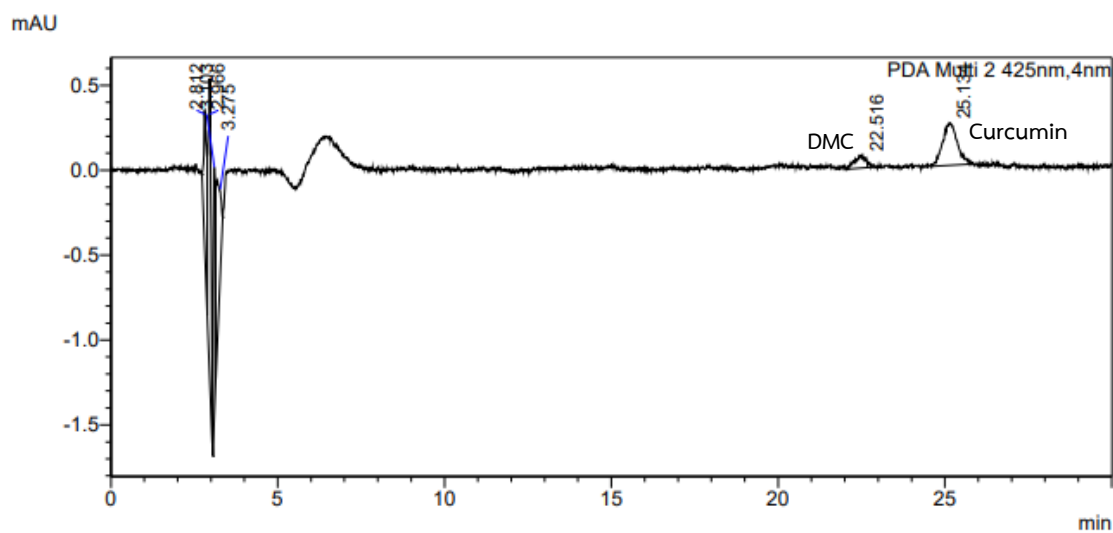
รูปที่ 75 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 1

Standard curcumin 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 2



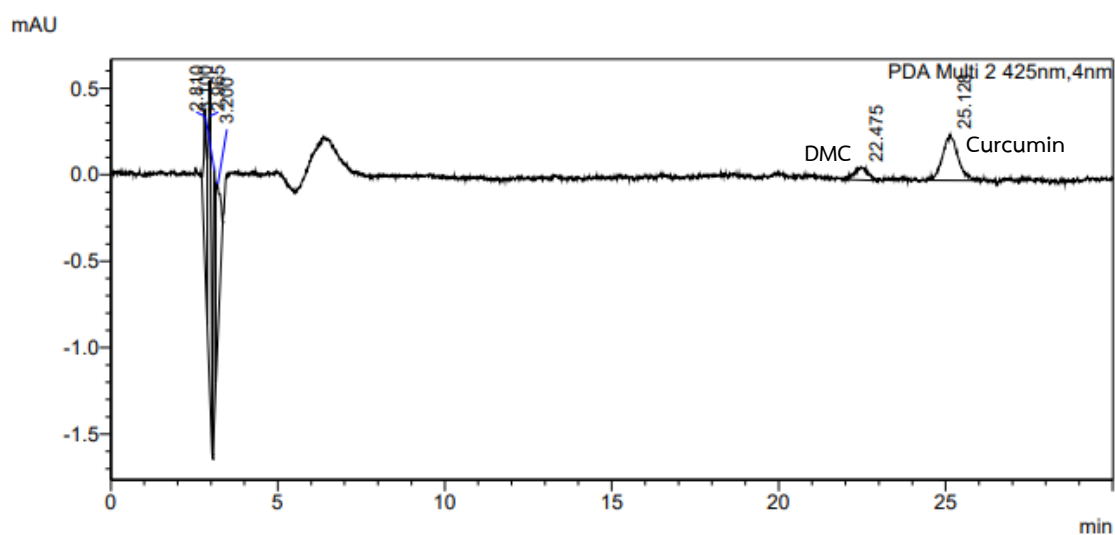
รูปที่ 76 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000244 mg/ml ครั้งที่ 2

Standard curcumin 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 1



รูปที่ 77 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 1

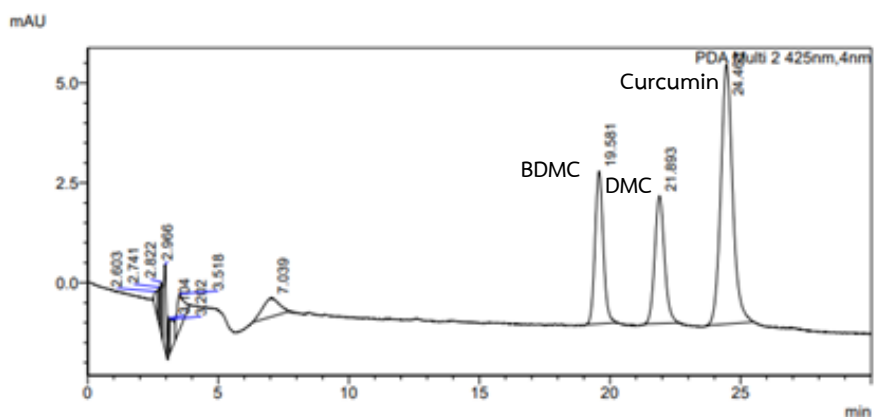
Standard curcumin 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 2



รูปที่ 78 แสดง HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 0.000122 mg/ml ครั้งที่ 2

การวิเคราะห์ HPLC ของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

Ethanol (ET) ครั้งที่ 1

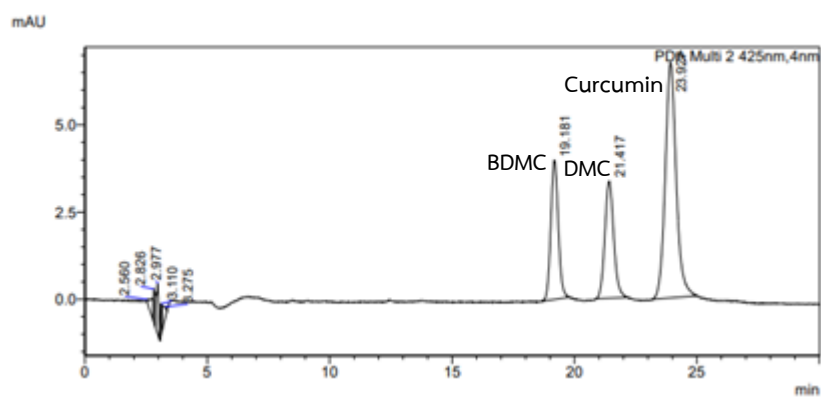


รูปที่ 79 แสดง HPLC chromatogram ของ ET ครั้งที่ 1

ตารางที่ 14 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ET ครั้งที่ 1

	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.58	83685
Demethoxy curcumin	21.89	83339
Curcumin	24.46	205427

Ethanol (ET) ครั้งที่ 2



รูปที่ 80 แสดง HPLC chromatogram ของ ET ครั้งที่ 2

ตารางที่ 15 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ET ครั้งที่ 2

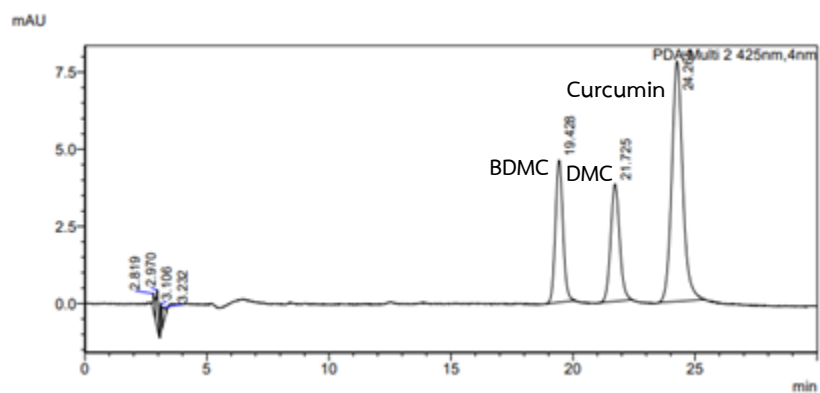
	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.18	84500
Demethoxy curcumin	21.42	84950
Curcumin	23.93	210614

เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟ และเวลามาแทนค่าในสมการที่ได้จากสารมาตรฐาน $y = 65500000x - 3885.4$ ได้ความเข้มข้นของสารสำคัญดังนี้

ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน ET

$y = 65500000x - 3885.4$	Avg AUC	Conc (ug/ml)
Bis-Demethoxy curcumin	84092.5	1.34
Demethoxy curcumin	84144.5	1.34
Curcumin	208020.5	3.24

Ethanol overnight (ETOV) ครั้งที่ 1

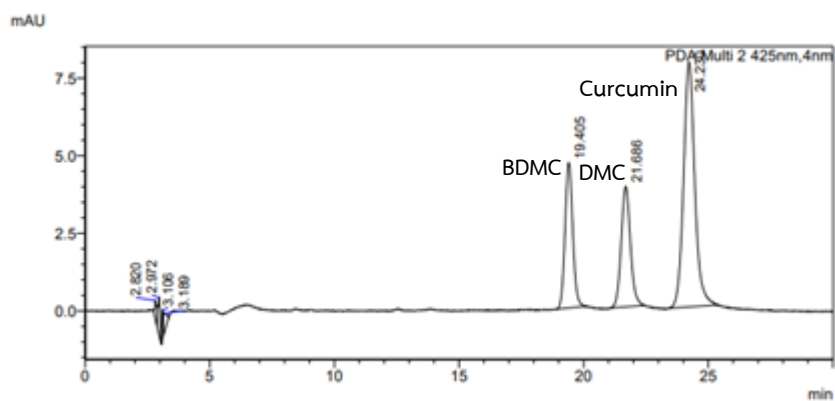


รูปที่ 81 แสดง HPLC chromatogram ของ ETOV ครั้งที่ 1

ตารางที่ 17 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ETOV ครั้งที่ 1

	Retention time (min)	AUC
Bis-demethoxy curcumin	19.428	99157
Demethoxy curcumin	21.725	97554
Curcumin	24.265	243802

Ethanol overnight (ETOV) ครั้งที่ 2



รูปที่ 82 แสดง HPLC chromatogram ของ ETOV ครั้งที่ 2

ตารางที่ 18 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน ETOV ครั้งที่ 2

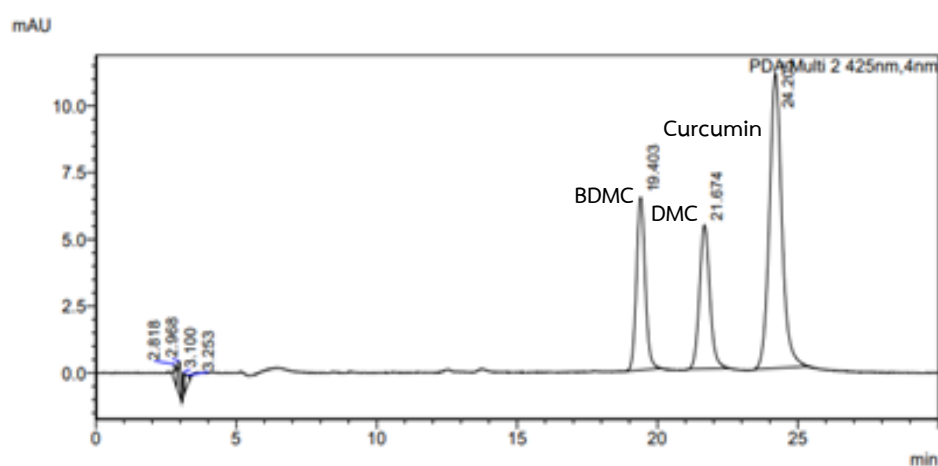
	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.405	100420
Demethoxy curcumin	21.686	99791
Curcumin	24.23	246915

เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟ และเวลามาแทนค่าในสมการที่ได้จากสารมาตรฐาน $y = 65.5 \times 10^6 x - 3885.4$ ได้ความเข้มข้นของสารสำคัญดังนี้

ตารางที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน ETOV

$y = 65500000x - 3885.4$	Avg AUC	Conc (ug/ml)
Bis-Demethoxy curcumin	99788.5	1.58
Demethoxy curcumin	98672.5	1.57
Curcumin	245358.5	3.81

Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 1

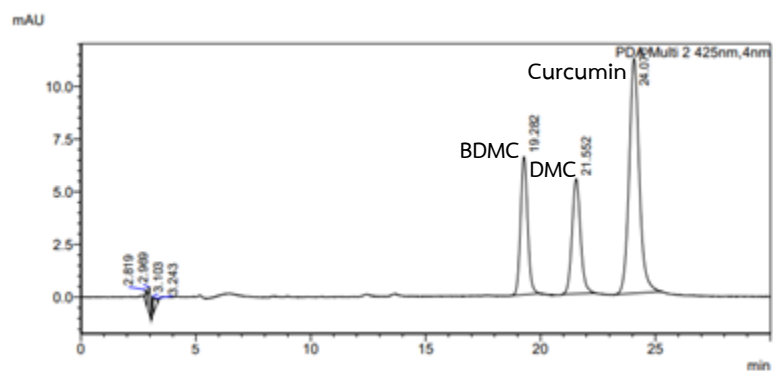


รูปที่ 83 แสดง HPLC chromatogram ของ PG ครั้งที่ 1

ตารางที่ 20 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PG ครั้งที่ 1

	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.403	139287
Demethoxy curcumin	21.674	138740
Curcumin	24.205	340253

Propylene glycol (PG) ครั้งที่ 2



รูปที่ 84 แสดง HPLC chromatogram ของ PG ครั้งที่ 2

ตารางที่ 21 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PG ครั้งที่ 2

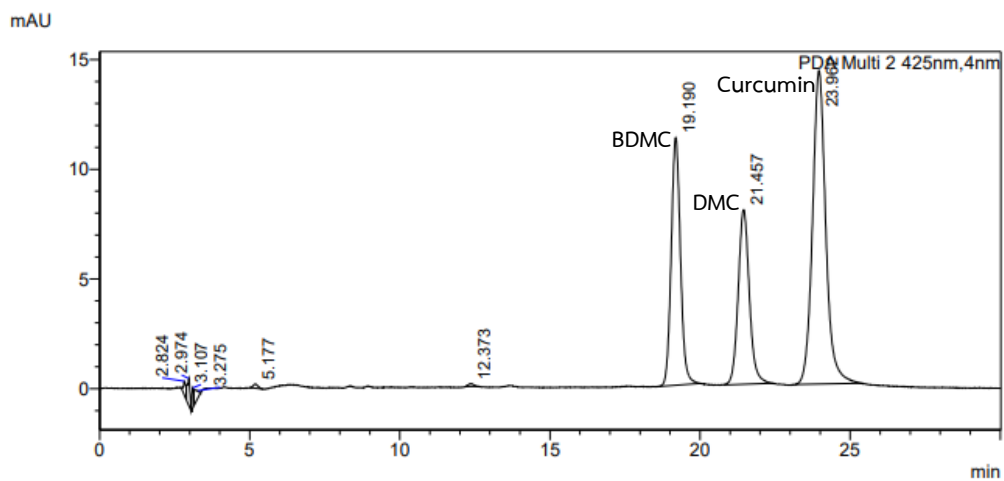
	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.282	140149
Demethoxy curcumin	21.552	140116
Curcumin	24.07	342675

เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟ และเวลามาแทนค่าในสมการที่ได้จากสารมาตรฐาน $y = 65500000x - 3885.4$ ได้ความเข้มข้นของสารสำคัญดังนี้

ตารางที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน PG

$y = 65500000x - 3885.4$	Avg AUC	Conc (ug/ml)
Bis-Demethoxy curcumin	139718	2.19
Demethoxy curcumin	139428	2.19
Curcumin	341464	5.27

Propylene glycol overnight (PGOV) ครั้งที่ 1

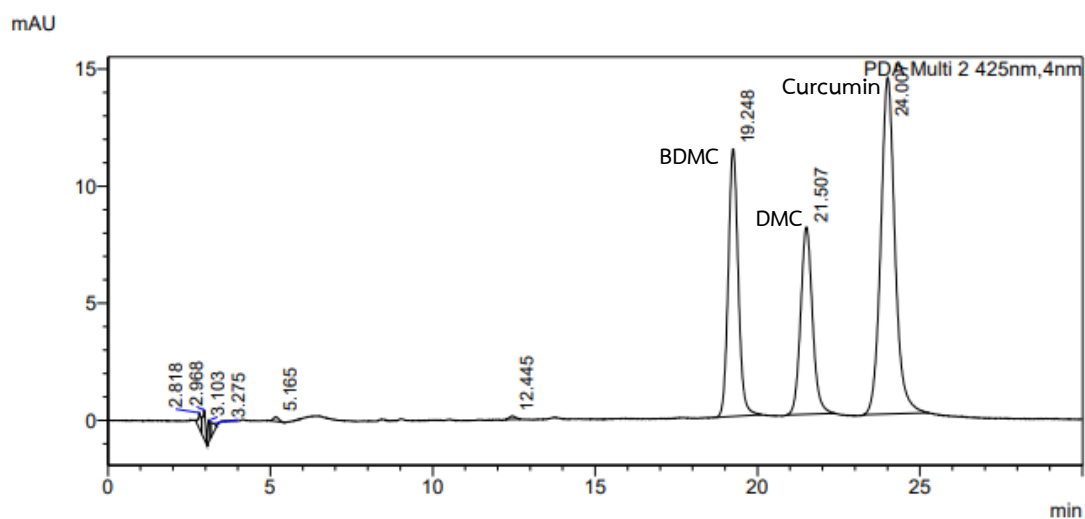


รูปที่ 85 แสดง HPLC chromatogram ของ PGOV ครั้งที่ 1

ตารางที่ 23 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PGOV ครั้งที่ 1

	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.19	240161
Demethoxy curcumin	21.457	205396
Curcumin	23.962	439929

Propylene glycol overnight (PGOV) ครั้งที่ 2



รูปที่ 86 แสดง HPLC chromatogram ของ PGOV ครั้งที่ 2

ตารางที่ 24 แสดง Retention time และ AUC ของ Curcuminoid ใน PGOV ครั้งที่ 2

	Retention time (min)	AUC
Bis-Demethoxy curcumin	19.248	242913
Demethoxy curcumin	21.507	203524
Curcumin	24.007	436920

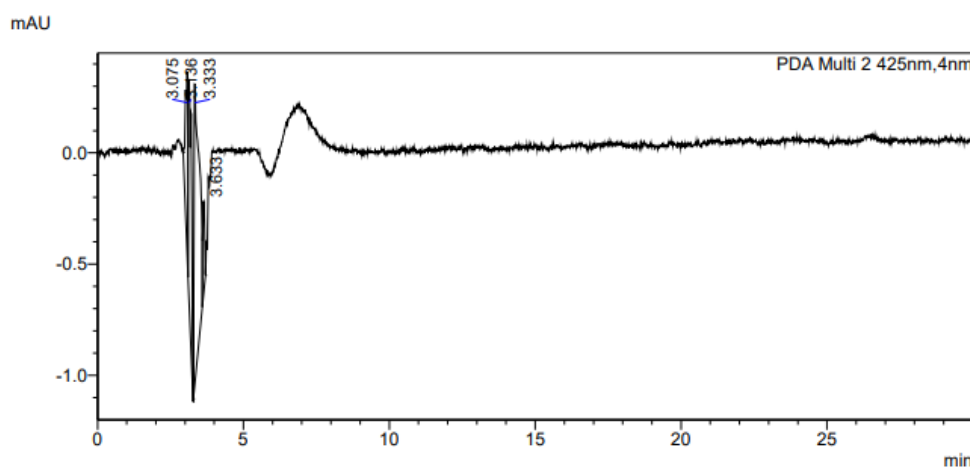
เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟ และเวลามาแทนค่าในสมการที่ได้จากสารมาตรฐาน $y = 65500000x - 3885.4$ ได้ความเข้มข้นของสารสำคัญดังนี้

ตารางที่ 25 แสดงค่าเฉลี่ยของ AUC และความเข้มข้นของ Curcuminoid ใน PGOV

$y = 65500000x - 3885.4$	Avg AUC	Conc (ug/ml)
Bis-Demethoxy curcumin	139718	2.19
Demethoxy curcumin	139428	2.19
Curcumin	341464	5.27

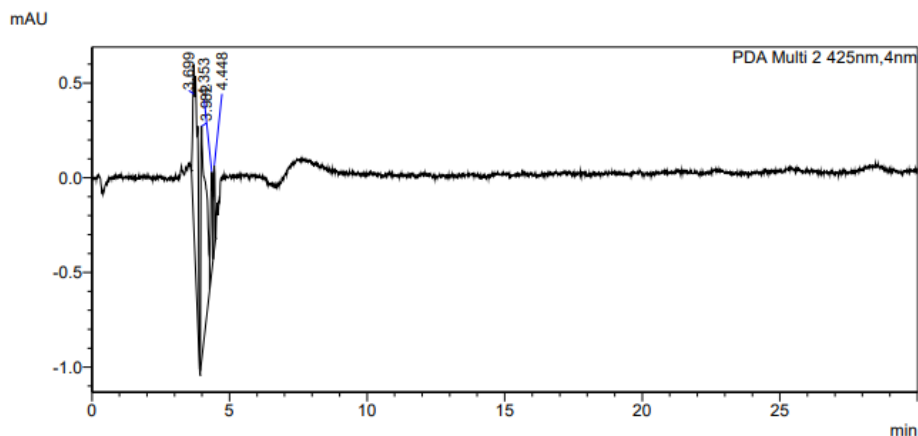
การวิเคราะห์เทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วย HPLC

เทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ
เข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1 ผลปรากฏว่าไม่พบสารสำคัญ



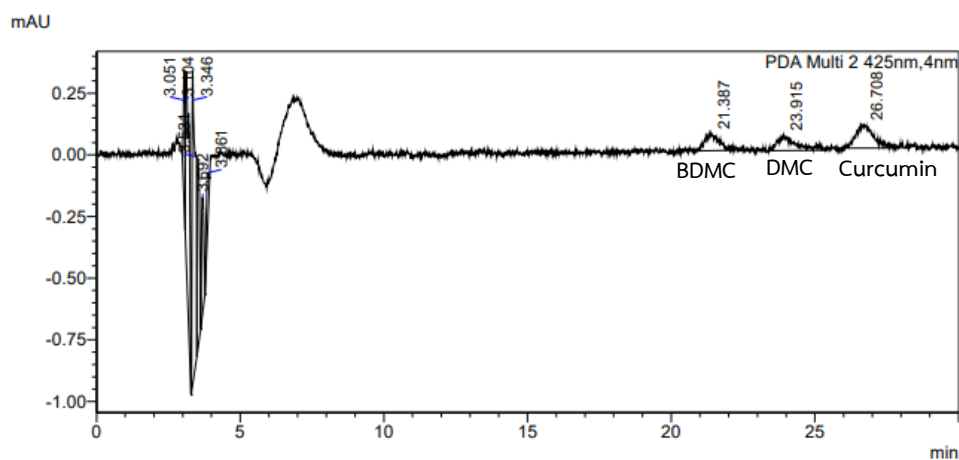
รูปที่ 87 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1

เทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ
เข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC₅₀ ครั้งที่ B2 ผลปรากฏว่าไม่พบสารสำคัญ



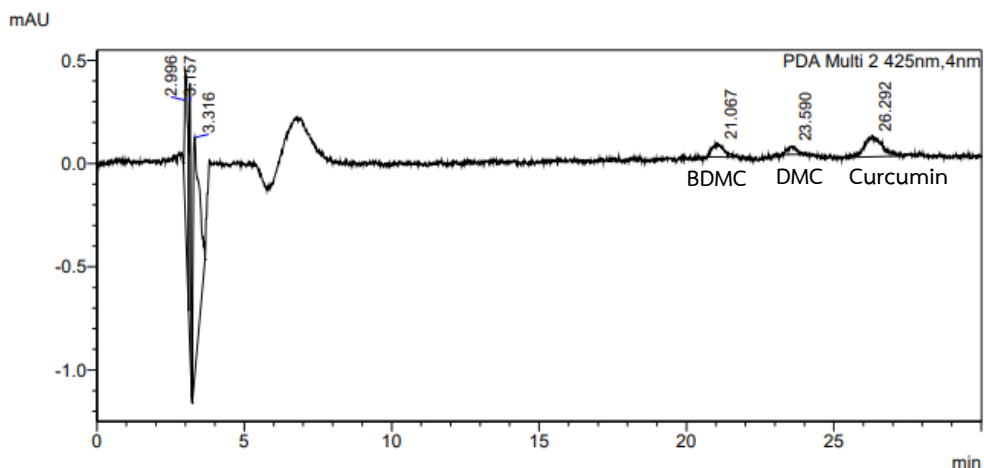
รูปที่ 88 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์ก
หน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC₅₀ ครั้งที่ B2

เทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญ
เข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC₅₀ ครั้งที่ A2



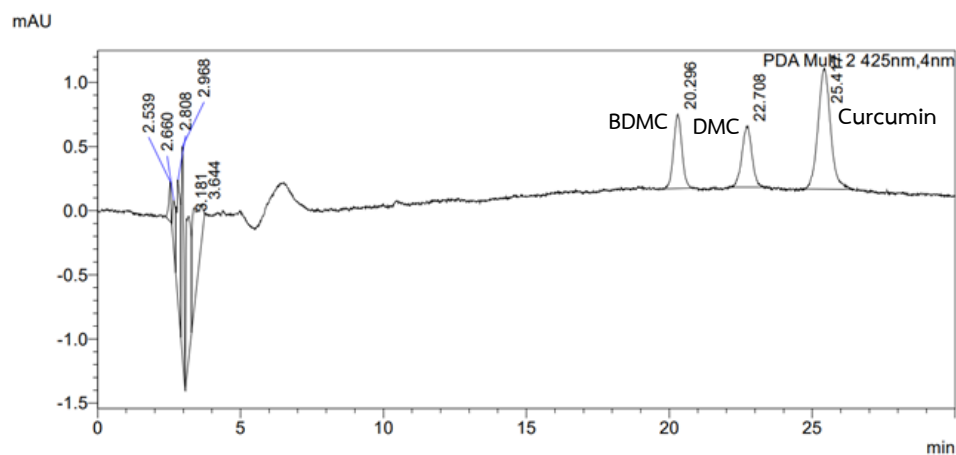
รูปที่ 89 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลัง
การมาส์กหน้าด้วยตัวรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC₅₀ ครั้งที่

A2



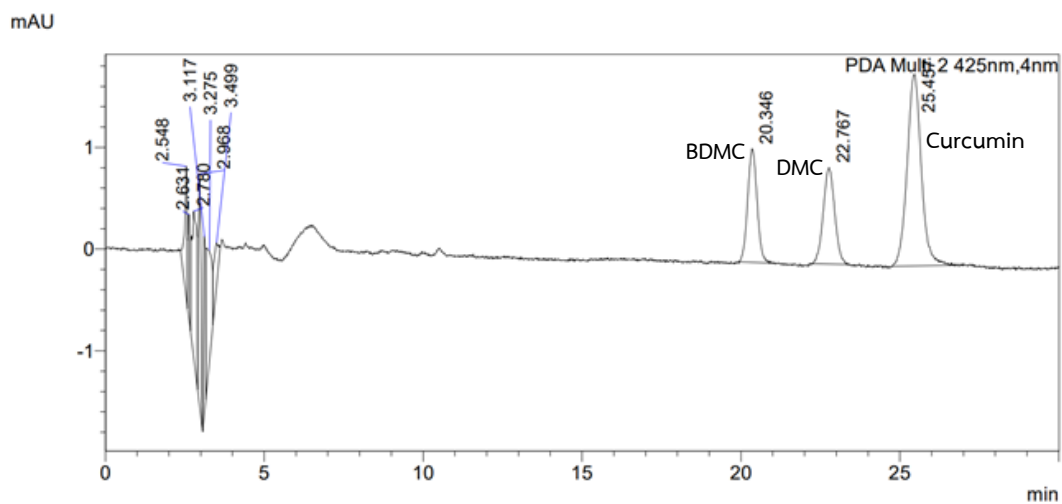
รูปที่ 90 แสดง HPLC chromatogram ของเทปที่ใช้ strip ลงบนผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1

ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1



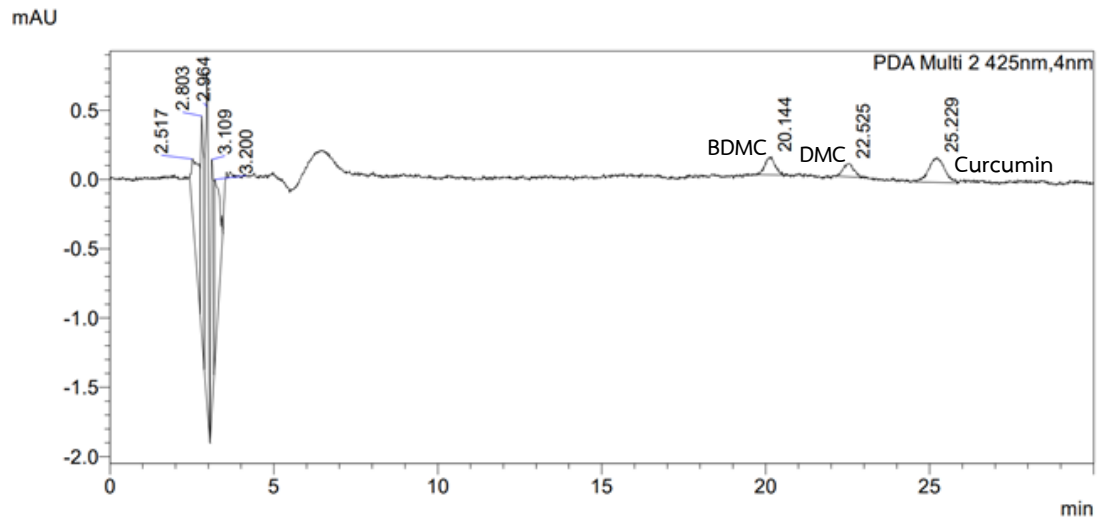
รูปที่ 91 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1

ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A2



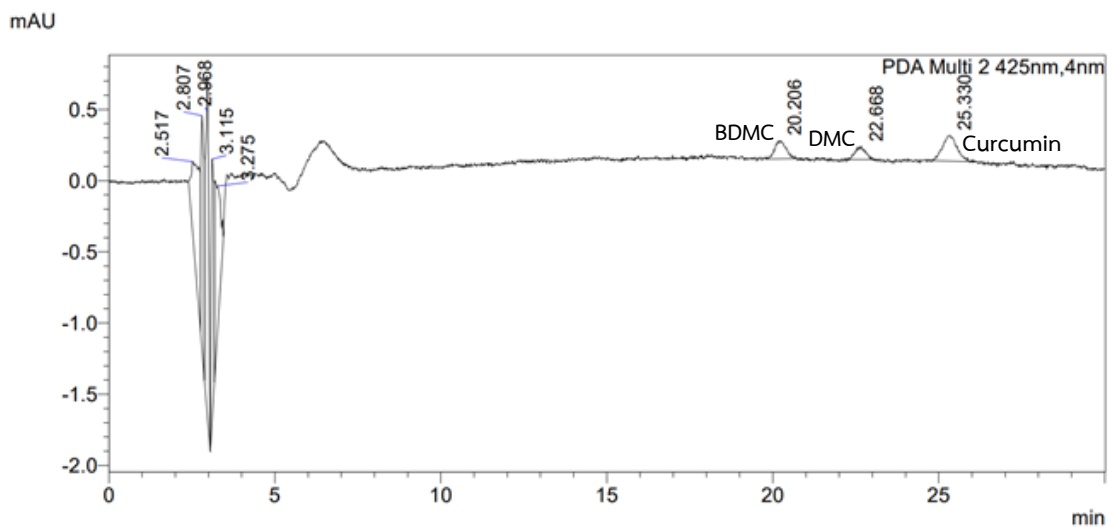
รูปที่ 92 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A2

ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1



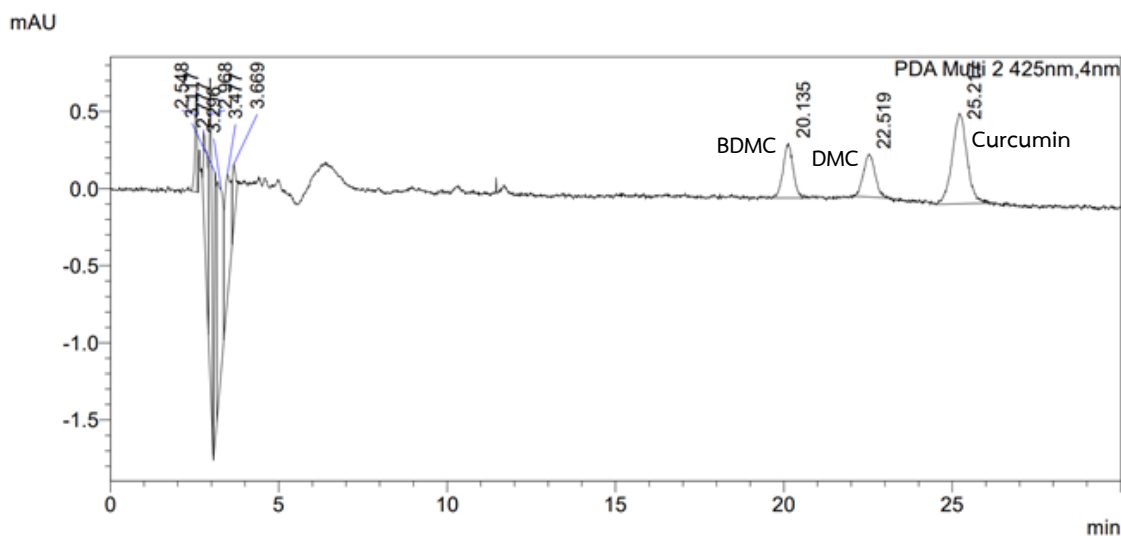
รูปที่ 93 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1

ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2



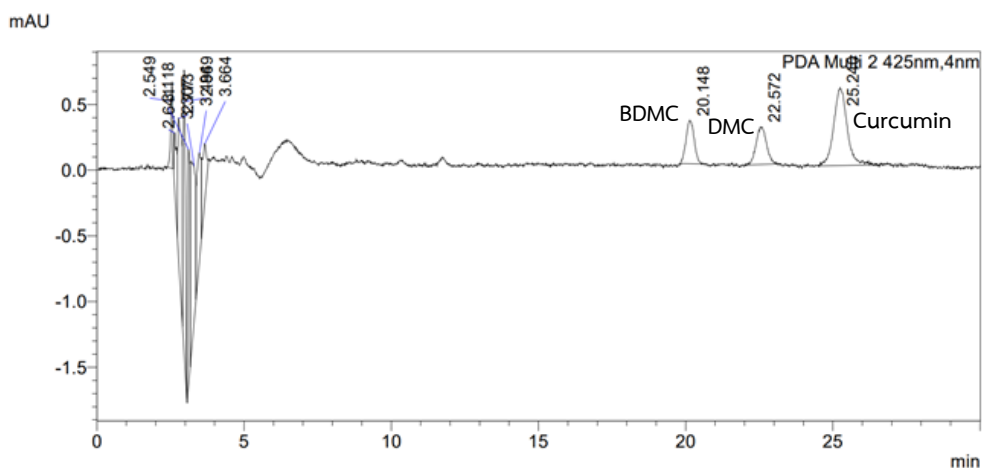
รูปที่ 94 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหนูภายหลังการมาส์กหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2

ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1



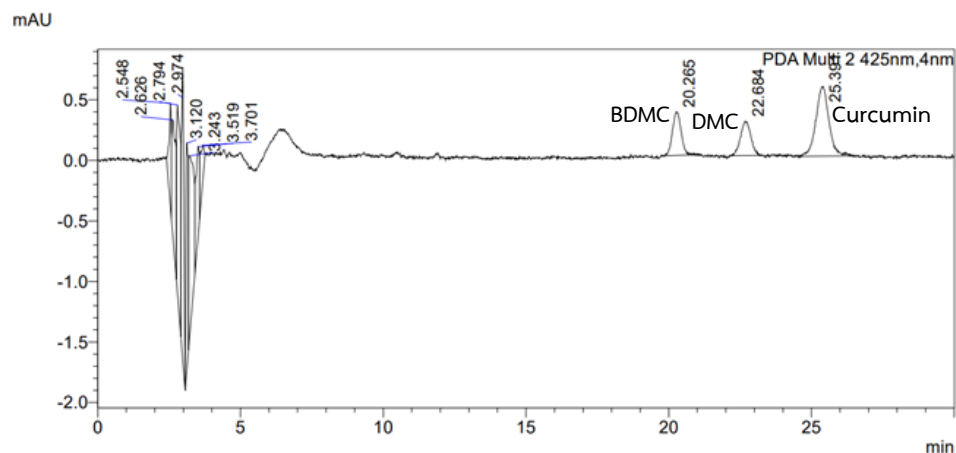
รูปที่ 95 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A1

ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A2



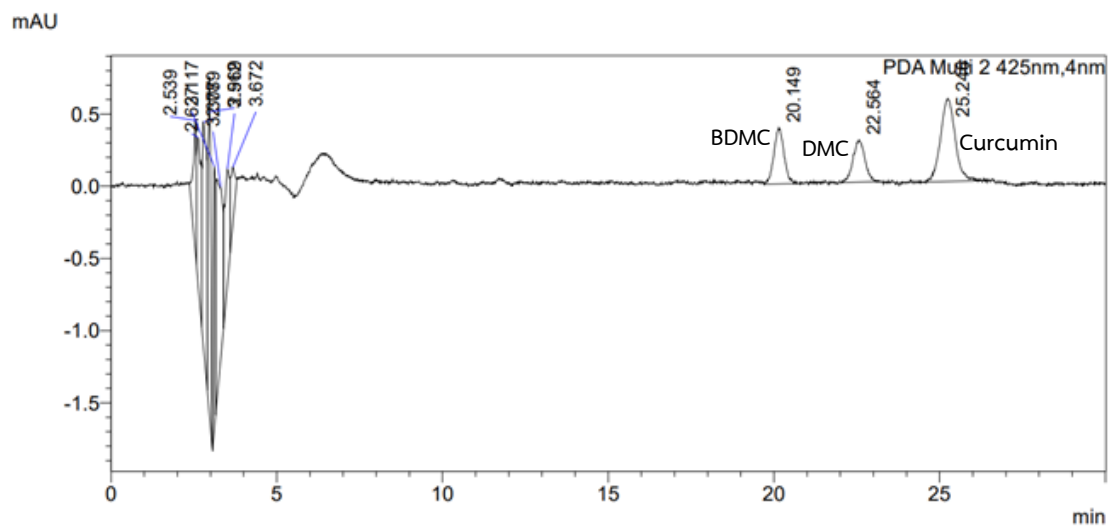
รูปที่ 96 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ A2

ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1



รูปที่ 97 แสดง HPLC chromatogram ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B1

ผิวหนังของหมูภายหลังการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นที่ความเข้มข้น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2



รูปที่ 98 แสดง HPLC chromatogram ผิวน้ำของเหูภายหลังจากการมาสักหน้าด้วยตำรับที่ประกอบด้วยสารสำคัญเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 5 เท่าของ IC_{50} ครั้งที่ B2

ภาคผนวก ข
แบบฟอร์มรายงานการเงิน

รายงานสรุปการเงิน
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าจากสารสกัดธรรมชาติขมิ้นชัน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ญญ.อ.ดร.นปภัช รัตนะชิตธวัช

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2563 ถึงวันที่ 9 เมษายน 2564

ระยะเวลาดำเนินการ 11 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2563 ถึงวันที่ 9 เมษายน 2564

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 9,000 บาท เมื่อ 19 มกราคม 2564

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. ค่าวัสดุและสารเคมี	8,500	8,500	เหลือ 0 บาท
2. ค่าโปสเตอร์	500	500	เหลือ 0 บาท
รวม	9,000	9,000	เหลือ 0 บาท

นพ/ก ๖ จันทะโชติธวัช
(ญญ.อ.ดร.นปภัช รัตนะชิตธวัช...)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย