

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ (*Cassia fistula* Linn.) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จันทรัตน์ จาริกสกุลชัย, วท.ม.*¹

รัฐพล ศิลปรัศมี, พร.ด.*

วิชุดา จันทะศิลป์, สม.ม.*

กุสุมา รวมธรรม, วท.ม.*

สุทธิดา แก้วมุงคุณ, วท.ม.*

Received: 10 ม.ค.67

Revised: 25 มี.ค.67

Accepted: 26 มี.ค.67

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดราชพฤกษ์ ผลการศึกษาพบว่า การสกัดสารสำคัญของดอกราชพฤกษ์จากพื้นที่จังหวัดปทุมธานีและจังหวัดสระแก้ว ได้สารสกัดหยาบที่ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อน ลักษณะหนืด ร้อยละของสารสกัดหยาบ มีค่าเท่ากับ 1.87 และ 1.65 ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y=0.1423x+0.2132$, $R_2=0.9871$) สารสกัดดอกราชพฤกษ์จากจังหวัดปทุมธานีและจังหวัดสระแก้ว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสทั้ง 2 พื้นที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่า IC_{50} จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานีและจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 112.34 ± 8.68 และ 118.43 ± 9.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ได้ลักษณะเนื้อโลชั่นที่ไม่แยกชั้น มีความความหนืด และค่าความเป็น กรด ต่าง เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม

สรุปได้ว่า ดอกราชพฤกษ์มีสารประกอบฟีนอลิก มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพได้ผลจากการศึกษานี้ สามารถนำไปต่อยอดในการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรไทยต่อไปได้

คำสำคัญ: สารสกัดดอกราชพฤกษ์, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, ผลิตภัณฑ์สุขภาพ

¹ผู้ติดต่อหลัก E-mail: ratthapol@vru.ac.th

*คณะสาธารณสุขศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

Development of Health Products Containing *Cassia fistula* Linn Flower Extract with Tyrosinase Inhibition Properties

Juntarat Jaricksakulchai, M.Sc^{*1}

Ratthapol Sillaparamee, Ph.D.*

Wichuda Chantasin, M.P.H*

Kusuma Ruamthum, M.Sc*

Sutthida Kaewmoongkun, M.Sc*

Abstract

The objective of this experimental research was to study the tyrosinase inhibition properties of Ratchaphruek extract. The results of this study revealed that through the extraction of Ratchapruek flowers collected from Pathum Thani and Sa Kaeo, a crude extract that was odorless, light brown, and viscous was obtained the percentages of crude extracts obtained were 1.87 and 1.65, respectively. A total phenolic compound content was calculated from the standard curve of gallic acid ($y = 0.1423x + 0.2132$, $R_2 = 0.9871$). The amounts of phenolic compounds extracted from Ratchaphruek flowers from Pathum Thani and Sa Kaeo were not significantly different ($p > 0.05$). The tyrosinase inhibitory effects of Ratchaphruek flower extracts between the two provinces were not significantly different ($p > 0.05$). The IC₅₀ values of Pathum Thani and Sa Kaeo were 112.34 ± 8.68 and 118.43 ± 9.08 micrograms per milliliter, respectively. The developed health product formula containing Ratchapruek flower extract had non-segregated lotion texture, viscosity, and pH according to industry standards.

In summary, Ratchapruek flowers contain a high amount of total phenolic compounds that inhibit the activity of the tyrosinase enzyme and can be used as an ingredient in health products. The results from this study can be used to add value to Thai herbal products.

Keyword: *Cassia fistula* Linn flower extract, Tyrosinase inhibition properties, Health products

¹Corresponding e-mail: ratthapol@vru.ac.th

*Faculty of Public Health, Valaya Alongkorn Rajabhat University under royal patronage Pathum Thani Province

บทนำ

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่ได้มีการใช้กลุ่มผลิตภัณฑ์สุขภาพในการดูแลสุขภาพอย่างกว้างขวาง เช่น ผลิตภัณฑ์กลุ่มอาหาร กลุ่มเครื่องสำอาง ซึ่งประเทศมีการนำพืชสมุนไพร หรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ และหาปริมาณสารประกอบกลุ่มต่าง ๆ โดยฤทธิ์ที่ได้จากสารจากธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่่นั้นเป็นสารประกอบฟีนอล ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ที่ช่วยฟื้นฟูหรือลดการเกิดอนุมูลอิสระของผิวหนังได้¹ ฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นที่นิยมของกลุ่มคนปัจจุบัน ในการดูแลสุขภาพคือฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโรซิเนสโดยสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโรซิเนส เป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก จึงมีการนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาศึกษาเพื่อหาประมาณสารประกอบฟีนอลิก และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโรซิเนส² เพื่อนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

ราชพฤกษ์เป็นพืชจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) : *Cassia fistula* L. จัดอยู่ในชื่อวงศ์ (Family name) : FABACEAE อุดมไปด้วยฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่วนประกอบของต้นคือเปลือก ใบ แก่น ฝัก และดอก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง³ ถูกนำมาศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในรูปแบบต่าง ๆ ฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชทั้งต้น

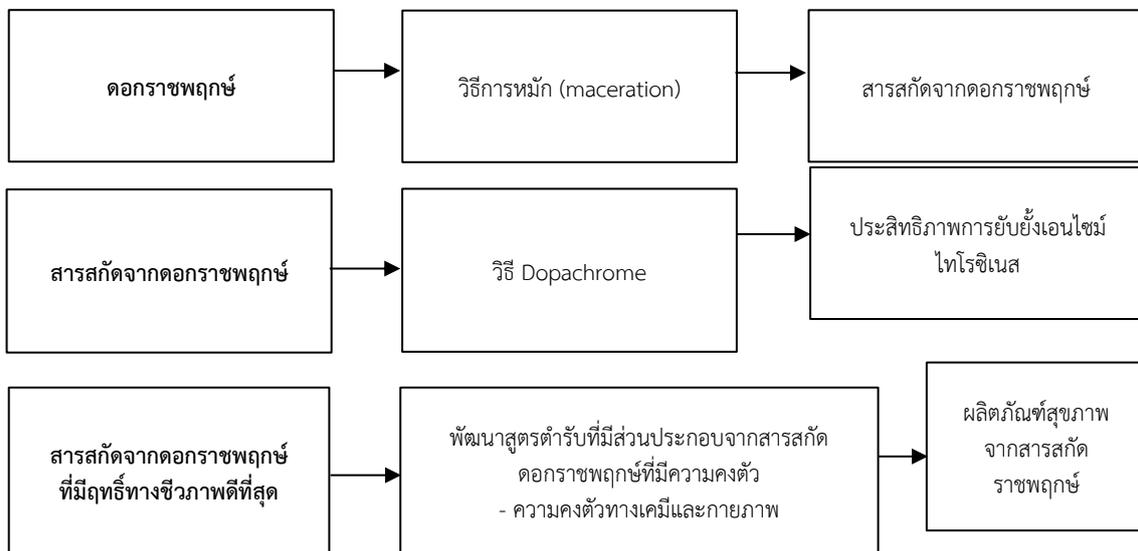
มีคุณสมบัติเป็นยา มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อฤทธิ์การยับยั้งการอักเสบ โดยหามุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ที่มีประโยชน์ต่อผิวหนัง สามารถนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่ช่วยรักษาโรคทางผิวหนัง โรคการอักเสบทางผิวหนัง⁴ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาทางเภสัชวิทยาโดยละเอียดของสารสกัดจากราชพฤกษ์ไม่ได้รับการรายงาน การศึกษาครั้งนี้รายงานฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสของสารสกัดจากราชพฤกษ์

ดังนั้นทางผู้วิจัยสนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดราชพฤกษ์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดราชพฤกษ์ เพื่อนำมาเป็นองค์ความรู้ต่อไป

- วัตถุประสงค์**
1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสจากสารสกัดราชพฤกษ์
 2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีความคงตัว

กรอบแนวคิดการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสจากสารสกัดราชพฤกษ์ และเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสจากสารสกัดราชพฤกษ์ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีลักษณะทางกายภาพคงตัวดี โดยมีกรอบแนวคิดของงานวิจัยดังนี้



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไนโรซิเนสจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์ และเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีความคงตัว โดยมีระยะเวลาการทดลองตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคม 2566

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ดอกราชพฤกษ์ที่อยู่ในพื้นที่จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว โดยเก็บตัวอย่าง ทำความสะอาดและเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย: เป็นเครื่องมือและสารเคมีที่เป็นไปตามมาตรฐานการผลิตเครื่องสำอาง

1. อุปกรณ์

- 1.1 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- 1.2 เครื่อง Rotary evaporator (BUCHI Thailand Ltd.)
- 1.3 เครื่อง UV-visible Spectroscopy (Shimadzu)
- 1.4 หลอดทดลอง ขนาด 10 ml
- 1.5 ออโต้ปิเปต

2. สารเคมี

- 2.1 Di-sodium hydrogen phosphate-2-hydrate (Fluka)
- 2.2 Sodium dihydrogen phosphate (Fluka)
- 2.3 Ammonium sulfate (Merck)
- 2.4 TritonX (J.T.Breaker)
- 2.5 Polyvinylpyrrolidone (PVPP) (sigma)
- 2.6 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck)
- 2.7 Gallic acid monohydrate (Fluka)
- 2.8 Tyrosine (Sigma)
- 2.9 L-Dopa (Sigma)
- 2.10 Kojic acid (Merck)

วิธีการทดลอง

การเตรียมสารสกัดราชพฤกษ์ (Extraction)

นำดอกราชพฤกษ์สด ล้างให้สะอาดตัดแยกส่วนของดอกออกจากก้านแข็งนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดสารสำคัญด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:1 กรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องโรตารีอีวาพอเรเตอร์ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ แล้วคำนวณหาร้อยละสารสกัดที่ได้เทียบกับน้ำหนักแห้งก่อนสกัด หาเปอร์เซ็นต์ผลผลิต (% yield)⁴

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ 2 แหล่ง ด้วย Folin-Ciocalteu method ตามวิธีของ Halee & Rattanapun⁶ โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน เริ่มจากนำสารสกัดตัวอย่างละ 200 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 ชั่วโมง ในความมืด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทดลอง 3 ซ้ำ ใช้ น้ำกลั่นเป็น blank ทำการเจือจางสารมาตรฐาน กรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองสารสกัดตัวอย่างดอกราชพฤกษ์เช่นเดียวกับสารมาตรฐาน

นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นนำผลผลิตที่ได้จากการทดสอบสารสกัดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยวิเคราะห์ผลเป็นหน่วยของมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ดำเนินการทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method โดยใช้สาร Tyrosine เป็นสารตั้งต้น โดยการเตรียมความเข้มข้น 0.01–10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย และโดย Tyrosinase mushroom ผสมกับสารสกัด 50 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้น 100 ยูนิต ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ และ 50 ไมโครลิตร ของบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (pH 6.8) ปริมาตร ตามลำดับ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้กรดโคจิกเป็นสารมาตรฐาน (ดัดแปลงวิธีจาก Dang L.)⁷ และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดและ %inhibition เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ 50% (IC₅₀)

วิธีการคำนวณ

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

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่เติมสารสกัด และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารสกัด

การศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพในรูปแบบอิมัลชัน เป็นรูปแบบที่มีส่วนประกอบที่ละลายในวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมัน ซึ่งทั้ง 2 ส่วนระกอบกระจายตัวร่วมกันภายใต้สัดส่วนของสารก่ออิมัลชัน⁹ โดยต้องมีความคงตัวที่ดี

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์ ดัดแปลงจากจันทร์รัตน์ จาริกสกุลชัย⁹

พัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพรูปแบบอิมัลชัน ประกอบด้วย 2 วัฏภาค วัฏภาคน้ำมัน ประกอบด้วย Glyceril Stearate (and) PEG100 Stearate, Glyceril Stearate SE, Cetearyl alcohol และ Stearyl alcohol เป็นสารสร้างเนื้ออิมัลชัน หลอมละลายส่วนประกอบโดยใช้เครื่อง Water bath ควบคุมอุณหภูมิ ให้ได้ 70–75 องศาเซลเซียส วัฏภาคน้ำ ประกอบด้วย Distilled Water, Propyl paraben และเพิ่มความคงตัวด้วย Xanthan gum ใช้เครื่อง Water bath หลอมละลายด้วยอุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส เทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันจนผสมด้วย Homogenizer ที่ความเร็ว 2,000 rpm เป็นเวลา 4-5 นาที หลังจากอุณหภูมิลดลงเหลือ 40-45 องศาเซลเซียส เติมน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร ทำการเจือจางสารสกัดดอกราชพฤกษ์ในตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพ ที่ความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

การศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และทดสอบความคงตัวทางลักษณะทางกายภาพ (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553) โดยเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ ก่อนวิเคราะห์ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบสี กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ความขุ่นหนืด เปรียบเทียบก่อนและหลังการเข้าวิเคราะห์

การเก็บรวบรวมข้อมูล

คณะผู้วิจัยทำการเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตนเองโดยการวิเคราะห์จากอุปกรณ์และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์โดยข้อมูลทุกข้อมูลมีการตรวจสอบความถูกต้องก่อนนำไปวิเคราะห์ทางสถิติและนำข้อมูลที่ได้ไปบันทึกลงในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ระยะเวลา

ระยะเวลาในการดำเนินการ 4 เดือน (เดือนกันยายน ถึง เดือนธันวาคม 2566)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลคุณลักษณะ และร้อยละของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ (% Yield)

จังหวัด	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	ร้อยละของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ (% Yield)
ปทุมธานี	ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อน ลักษณะขุ่นหนืด	1.87
สระแก้ว	ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อน ลักษณะขุ่นหนืด	1.65

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดอกราชพฤกษ์จาก 2 แหล่งที่มา คือจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก $y = 0.1423x + 0.2132$, $R^2 = 0.9871$

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จังหวัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)			ค่าเฉลี่ย	P - value
	1	2	3		
ปทุมธานี	321	324	332	325.67 ± 5.68	0.089
สระแก้ว	312	320	318	316.67 ± 4.16	

หมายเหตุ: สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวน 3 ซ้ำ

3. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) ด้วยวิธีโดปโครม พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ ทั้ง 2 แหล่งที่มา ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสารสกัดดอกราชพฤกษ์มีฤทธิ์ยับยั้ง

1. ใช้สถิติเชิงพรรณนาเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไป ลักษณะข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยข้อมูล ได้แก่ ค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง โดยใช้สถิติ Paired t-test และสถิติ One-way Anova

ผลการศึกษา

1. สารสกัดราชพฤกษ์ (Extraction)

จากการสกัดสารสำคัญในดอกราชพฤกษ์จาก 2 แหล่ง ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้วโดยนำส่วนดอกที่เอากิ่งและก้านออก อบให้แห้ง และหมักด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 14 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องโรตารีอีวาพอเรเตอร์ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ พบว่า ได้สารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อนลักษณะหนืด เมื่อนำมาห้ำร้อยละของสารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ (% Yield) พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดมีน้ำหนักคิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง ที่มาจากแหล่งจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 1.87 และ 1.65 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

พบว่า สารสกัดดอกราชพฤกษ์ จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแสดงตารางที่ 2

เอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด คือ IC_{50} จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 112.34 ± 8.68 และ 118.43 ± 9.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำกว่ามาตรฐานกรดโคจิก ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.32 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) ของสารสกัดดอกราชพฤกษ์

ตัวอย่าง	Anti-tyrosinase (IC ₅₀ , µg/mL)
สารสกัดดอกราชพฤกษ์ (ปทุมธานี)	112.34 ± 8.68
สารสกัดดอกราชพฤกษ์ (สระแก้ว)	118.43 ± 9.08
Kojic acid	20.32 ± 0.22

หมายเหตุ: เปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐาน kojic acid กับสารสกัดดอกราชพฤกษ์ (ปทุมธานี) และสารสกัดดอกราชพฤกษ์ (สระแก้ว) ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value<0.05)

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

1. สูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ พบว่า จากการหาสัดส่วน

ที่เหมาะสมที่ได้เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น มีความความหนืด และค่าความเป็นกรด ต่าง เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มอก.เอส 15-2562 ดังแสดงตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงส่วนประกอบสูตรพื้นฐานและสูตรที่มีส่วนผสมสารสกัดดอกราชพฤกษ์

ส่วนประกอบ	คุณสมบัติ	สูตรตำรับ (ร้อยละ)		
		สูตรพื้นฐาน	สูตรตำรับ 0.5	สูตรตำรับ 1.0
Glyceryl Stearate (and) PEG-100 Stearate	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	2.4	2.4	2.4
Glyceryl Stearate SE	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	1.0	1.0	1.0
Cetearyl alcohol	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	1.0	1.0	1.0
Stearyl alcohol	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	0.5	0.5	0.5
Propyl paraben	ตัวทำละลาย	1	1	1
Xanthan gum	สารก่อก้อนเจล	0.4	0.4	0.4
Distilled Water	ตัวทำละลาย	93.7	93.4	92.9
สารสกัดดอกราชพฤกษ์	สารออกฤทธิ์	-	0.5	1.0

2. ความคงตัวของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

จากการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพได้ลักษณะทางกายภาพ (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553)) โดยตรวจสอบสี กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ

ความชุ่มชื้น เปรียบเทียบก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว พบว่า สี ความเป็นกรด-ด่าง กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวของตัวภายใต้สภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ ไม่มีความแตกต่างดังตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อโลชั่น (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553)) โดยตรวจสอบสี และ ความเป็น กรด-ด่าง กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว

ตำรับผลิตภัณฑ์	สี (ΔE)		P-value	ความเป็น กรด-ด่าง		P-value
	ก่อน	หลัง		ก่อน	หลัง	
สูตรพื้นฐาน	0.0014	0.015		6.45	6.32	
สูตรตำรับ 0.5	0.0018	0.0002	0.87	6.13	6.87	0.43
สูตรตำรับ 1.0	0.0023	0.0021		6.89	6.21	

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อโลชั่น (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553)) โดยตรวจสอบ กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว

ตำรับผลิตภัณฑ์	กลิ่น		ลักษณะทางกายภาพ	
	ก่อน	หลัง	ก่อน	หลัง
สูตรพื้นฐาน	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
สูตรตำรับ 0.5	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
สูตรตำรับ 1.0	ไม่มีกลิ่น	ไม่มีกลิ่น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น

สรุปผลการวิจัย

1. สารสกัดราชพฤกษ์ (Extraction)

จากการสกัดสารสำคัญในดอกราชพฤกษ์จาก 2 แหล่ง ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้วโดยนำ ส่วนดอกที่เอากิ่งและก้านออก อบให้แห้ง และหมักด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 14 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องโรตารีอีวาพอเรเตอร์ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ พบว่า ได้สารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อนลักษณะหนืด เมื่อนำมาหาร้อยละของสารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ (% Yield) พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัด มีน้ำหนักคิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง ที่มาจากแหล่งจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 1.87 และ 1.65 ตามลำดับ

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดอกราชพฤกษ์ จาก 2 แหล่งที่มา คือจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก $y = 0.1423x + 0.2132$, $R^2 = 0.9871$ พบว่า สารสกัดดอกราชพฤกษ์ จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

3. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) ด้วยวิธีโดปาโครม พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ ทั้ง 2 แหล่งที่มา ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสารสกัดดอกราชพฤกษ์ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด คือ IC_{50} จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 112.34 ± 8.68 และ 118.43 ± 9.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.32 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

4.1 การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ พบว่าจากการหาสัดส่วนที่เหมาะสมที่ได้เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น มีความหนืด

และค่าความเป็นกรดต่าง เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอสผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มอก.เอส 15-2562

4.2 การศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกราชพฤกษ์

จากการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพได้ลักษณะทางกายภาพ (อ้างอิงจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มพช. 551/2553)) โดยตรวจสอบสี กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ความขุ่นหนืด เปรียบเทียบก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวพบว่า สี ความเป็นกรดต่าง กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ ไม่มีความแตกต่างอภิปรายผล

จากการสกัดสารสำคัญในดอกราชพฤกษ์จาก 2 แหล่ง ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้วโดยนำส่วนดอกที่เอากิ่งและก้านออก อบให้แห้ง และหมักด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 14 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องโรตารีอีวาพอเรเตอร์ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ พบว่า ได้สารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ ไม่มีกลิ่น สีน้ำตาลอ่อนลักษณะหนืด เมื่อนำมาหาร้อยละของสารสกัดหยาบของดอกราชพฤกษ์ (% Yield) พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัด มีน้ำหนักคิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง ที่มาจากแหล่งจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 1.87 และ 1.65 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดดอกราชพฤกษ์จาก 2 แหล่งที่มา คือจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก $y = 0.1423x + 0.2132$, $R^2 = 0.9871$ พบว่า สารสกัดดอกราชพฤกษ์ จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของลิขิต ลาเต๊ะ ที่ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้ 6 ชนิด และการพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวผสมสารสกัดจากดอกหางนกยูง ที่พบว่าสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูง เนื่องจากดอกราชพฤกษ์มีสีเหลือง จึงมีสารประกอบกลามฟีนอลิกสูง^๑ ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) ด้วยวิธีโดปาโครม พบว่า ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากดอกราชพฤกษ์ ทั้ง 2 แหล่งที่มา ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสารสกัดดอกราชพฤกษ์มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด คือ IC_{50} จากแหล่งที่มาจังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสระแก้ว เท่ากับ 112.34 ± 8.68 และ 118.43 ± 9.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่มีค่า IC_{50}

เท่ากับ 20.32 ± 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ รัฐศาสตร์ เด่นชัย ที่ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพเพื่อพัฒนาเป็นเวชสำอางของสารสกัดผักแพว โดยหากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูง ส่งผลให้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และเมื่อนำมาตั้งตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพโดยและนำความเข้มข้นสารสกัดดอกราชพฤกษ์มาพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้ลักษณะทางกายภาพ (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553)) โดยตรวจสอบสี กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ความขุ่นเหนียว เปรียบเทียบก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว พบว่า สี ความเป็นกรดต่าง กลิ่น ลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ ไม่มีความแตกต่าง โดยในสูตรตำรับได้เติมสารก่อเจล คือ แชนแทนกัมลงไปทำให้ตำรับมีความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ คุณสินี หนองเต่าดำ ที่ทำการศึกษาพบว่า แชนแทนกัมมีความสามารถในการทนต่อสภาวะความเป็นกรด ต่าง และสามารถเพิ่มค่าน้ำหนักได้สูงในปริมาณความเข้มข้นของแชนแทนกัมเพียงเล็กน้อย เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นซูโดพลาสติคสูง เมื่อให้แรงเฉือนเพิ่มขึ้น ความหนืดจะลดลง แต่เมื่อเวลาผ่านไปความหนืดจะไม่เปลี่ยนแปลง (thixotropic)

ข้อเสนอแนะในการนำผลวิจัยไปใช้

ดอกราชพฤกษ์มีสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงนำมาพัฒนาเป็นโลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกราชพฤกษ์ที่มีความคงตัว สามารถเติมปริมาณสารสกัดได้ถึงร้อยละ 1.0 โดยที่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความคงตัวของลักษณะทางกายภาพของโลชั่น จึงสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสารสกัดดอกไม้ในพื้นที่ชุ่มชื้น ก่อให้เกิดการเพิ่มมูลค่าต่อยอดเพื่อยกระดับเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนต่อไปให้เป็นที่ยอมรับสู่มาตรฐาน

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ศึกษาต่อในระดับเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังด้านการเกิดริ้วรอย
2. ศึกษาต่อเรื่องการการศึกษาคามปลอดภัย และประสิทธิภาพที่ทดลองในอาสาสมัคร
3. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และฤทธิ์ต้านการอักเสบเพื่อต่อยอดในกลุ่มผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Harnvanich, E. A., Wanichwecharungruang, S., Chandrachai, A. & Asawanonda, P. Market Potential Evaluation for Local Herbal Extracts Used in Skincare Through the New Product Development Process. PSAKU International Journal of Interdisciplinary Research, 2020;9(2):31-40.
2. Kumari, P., Ujala, Bhargava, B. Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle. Journal of Functional Foods, 2021;78:104375.
3. Sandeep K., Ajay K., Sharad T., Kapil K., Ritika S., Anket S., Prabhpreet S., Upendra S., Subodh K., Marco L., Marian B., and Satwinderjeet K., (2020). Antioxidant, Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Efficacy of Fractions from Cassia fistula L. Leaves. Antioxidants 2020;9(2):173. <https://doi.org/10.3390/antiox9020173>
4. จันทร์รัตน์ จาริกสกุลชัย และรัฐพล ศิลปรัตน์. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นราชพฤกษ์เพื่อป้องกันภาวะการหมักเนื้อเยื่อผิวหนังในผู้สูงอายุ จังหวัดปทุมธานี. วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพแห่งประเทศไทย. 2562;4(4):72-78.
5. Halee, A. & Rattanapun, B. Study of antioxidant efficacies of 15 local herbs. KMUTT Research and Development Journal, 2017;40(2):283-293.
6. Dang L., Anisah J., Nur Y., Nor A. and Musaalbakri A. Assessment of Cosmeceutical Potentials of Selected Mushroom Fruitbody Extracts Through Evaluation of Antioxidant, Anti-Hyaluronidase and Anti-Tyrosinase Activity, J 2020;3(3):329-342.
7. จันทร์รัตน์ จาริกสกุลชัย, รัฐพล ศิลปรัตน์ และธิดา เวียงปฏิ. (2565). ครีมนำผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดรากเห็ดหลินจือแดง เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นของผิวหนังในกลุ่มผู้สูงอายุจังหวัดสระแก้ว. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2565;17(1):41-51.
8. Duanquan L., Alan L., and Song M. Preparation, structure-property relationships and applications of different emulsion gels: Bulk emulsion gels, emulsion gel particles, and fluid emulsion gels. Trends in Food Science & Technology. 2020;102:123-137.
9. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. ประจำปี 2562.
10. สินี หนองเต่าดำ และ จาญ์พจน์ คำแน่น. ผลของการเติมแชนแทนกัมและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อคุณสมบัติของบรารวนปลอดภัย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2566;28(1):439-45.