รายงานวิจัย

โอกาสและศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกสะตอ เพื่อการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

Opportunity and Potential of Biological Activities in Stink bean peels (*Parkia speciosa* Hassk.) Extracts for Cosmetics Application

นิสาพร มูหะมัด

ลิขิต ลาเต๊ะ

วรรณกัษมา ฮารน

อุบล ตันสม

ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย

วารุณี หะยีมะสาและ

ลดาวัลย์ คงศรีจันทร์

ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณบำรุงการศึกษาประจำปี 2565

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

หัวข้อวิจัย	โอกาสและศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกสะตอเพื่อการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
ชื่อคณะวิจัย	นิสาพร มูหะมัด ลิขิต ลาเต๊ะ วรรณกัษมา ฮารน อุบล ตันสม ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย วารุณี หะยีมะสาและ ลดาวัลย์ คงศรีจันทร์
คณะ/หน่วยงาน	วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัย	ราชภัฏยะลา
ปีงบประมาณ	2565

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) ของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้ 57.57 ± 1.64 เปอร์เซ็นต์ และนำสารสกัดมาทำการทดสอบการสมานแผลของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 7.81 และ 15.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์และค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิวเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกสะตอมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที พบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 0.397 0.278 0.245 0.213 และ 0.188 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ความเข้มข้น 0.0001 0.0010, 0.0100, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไทโรซิเนส เท่ากับร้อยละ 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 และ 88.234 ± 0.003 ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. acnes* พบว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอมีขนาดขอบเขตการยับยั้งการเจริญเชื้อ เท่ากับ 8.66 ± 0.17 มิลลิเมตร (ที่ปริมาณ 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

คำสำคัญ : ฤทธิ์ทางชีวภาพ เปลือกสะตอ เครื่องสำอาง

Research Title	Opportunity and Potential of Biological Activities in Stink bean peels (*Parkia speciosa* Hassk.) Extracts for Cosmetics Application composition application
Researchers	Nisaporn Muhamad Likit Lateh Wankassama Haron Ubol Tansom Piyasiri Soontornnon Sinchai Warunee Hajimasaleah Ladawan Kongsrichan
Faculty/Section	Science Technology and Agriculture
University	Yala Rajabhat University
Year	2565

Abstract

The study of anti-inflammatory activity, wound-healing, antioxidant activity tyrosinase inhibition and anti-*Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) from stink bean peels (*Parkia speciosa* Hassk.) extracts, with ethanol maceration extraction, found that the extracts of stink bean peels at a concentration of 62.50 μg/ml stimulated nitric oxide production by 57.57±1.64 %. The wound healing of human fibroblast skin cells (%wound closure) was achieved at concentrations of 7.81 and 15.62 μg/ml at 48 hr and cell motility and percentage of healing were 100%. In addition, the antioxidant activity were determined. The IC_{50} of stink bean peels extracts was 0.397 0.278 0.245 0.213 and 0.188 μg/ml at 5, 20, 30, 40 and 60 minute, respectively. The tyrosinase inhibitory activity was studied at concentrations of 0.0001, 0.0010, 0.0100, 0.1000 and 1.0000 mg/ml, the inhibition of tyrosinase was 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 and 88.234 ± 0.003, respectively. Moreover, the results of anti *P. acnes* activity showed the inhibition zone of 8.66 ± 0.17 mm at amount of 16 mg/ml.

Keyword : Biological Activities, Stink bean peels, Cosmetics

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ปีงบประมาณบำรุงการศึกษาปี 2565 เป็นงานวิจัยที่ก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes (P. acnes)* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์ลิขิต ลาเต๊ะ อาจารย์ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณกัษมา ฮารน ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุบล ตันสม อาจารย์ ดร.วารุณี หะยีมะสาและ และ อาจารย์ ดร.ลดาวัลย์ คงศรีจันทร์ ผู้ร่วมวิจัย ที่กรุณาร่วมกันแลกเปลี่ยนวิชาความรู้ การให้คำปรึกษา และแนวทางในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อการวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายผู้วิจัยขอขอบพระคุณกำลังใจอันยิ่งใหญ่ของคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว ขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่มิได้กล่าวนามซึ่งเป็นกำลังใจสำคัญในการทำวิจัยตลอดมาจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิสาพร มูหะมัด

หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	**ก**
Abstract	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญ	**ง**
สารบัญตาราง	**ฉ**
สารบัญภาพ	**ช**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 กรอบแนวคิด	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของสะตอ *(Parkia speciosa* Hassk.)	4
2.2 สารอนุมูลอิสระ (Free radicals)	5
2.3 เอนไซม์ไทโรซิเนส	8
2.4 การสมานแผล (wound healing, wound repair)	9
2.5 สิว	10
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ	16
3.2 ศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล	16
3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ด้วยวิธี Enzymatic assay	19
3.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique	20
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	20

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ 21

4.2 ศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล 22

4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ด้วยวิธี Enzymatic assay 30

4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique 31

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ 34

5.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล 34

5.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) 35

5.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique 36

5.5 ข้อเสนอแนะ 36

บรรณานุกรม 37

ประวัติคณะผู้วิจัย 40

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารต้านอนุมูลอิสระในบริเวณต่างๆ ของสารสกัดจากสะตอ (*P. speciose*)	7
4.1	ความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์ RAW 264.7 เมื่อผ่านการทดสอบ	23
4.2	ค่าความสัมพันธ์ของอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ (ไมโครเมตร/ชั่วโมง) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	26
4.3	ค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	26
4.4	เปอร์เซ็นการยับยั้ง Enzyme Tyrosinase ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ	31
4.5	ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสของสารสกัดจากเปลือกสะตอ กลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative Control) และกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Possitive Control) คือ Clindamycin ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P.acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี agar diffusion	32

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะฝักสะตอ	5
2.2	ปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและมีผลทำลายสุขภาพ	6
2.3	กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง	9
2.4	กลไกการสมานแผล (wound healing)	10
2.5	กลไกการเกิดสิว	12
4.1	สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ได้ภายหลังการสกัดด้วยเอทานอล	21
4.2	ลักษณะเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7	22
4.3	เปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์ RAW 264.7 เมื่อผ่านการทดสอบ	24
4.4	ลักษณะเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์	24
4.5	การเคลื่อนที่ของเซลล์ที่เคลื่อนเข้าหากันของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์	25
4.6	ค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	27
4.7	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิคในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม	28
4.8	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) ของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นต่างๆ	29
4.9	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) ของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นต่างๆ	30
4.10	บริเวณโซนใสในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes* DMST 14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอความเข้มข้น 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ	32
4.11	บริเวณโซนใสในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes* DMST 14916 กลุ่มควบคุม (Possitive Control) คือ Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สะตอ เป็นไม้ยืนต้นในวงศ์ถั่ว (Fabaceae) มีกิ่งก้านที่มีขนละเอียดใบประกอบแบบขนนกสองชั้น จะออกช่อที่ปลายของกิ่งตามตำราแพทย์แผนไทย จะใช้เมล็ด ขับลมในลำไส้ แก้ปัสสาวะพิการ ไตพิการ ชาวโอรังอัซลีในรัฐเปรัก ประเทศมาเลเซียใช้เมล็ดสดรับประทาน แก้อาการผิดปกติของไต จัดเป็นผักเศรษฐกิจที่มีคนนิยมบริโภค ทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ สะตอมีชื่อสามัญคือ Bitter bean, Twisted cluster bean, Stink bean มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Parkia speciosa* Hassk. นอกจากนี้ Suchanuch et. al. (2004) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสำคัญและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากฝักสะตอ 2 ชนิด ได้แก่ สะตอข้าว และสะตอดาน พบว่า สะตอดานจะมีปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าสะตอข้าว โดยสารสกัด 50% เอทานอลจากฝักสะตอทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ metal ion chelating assay โดยสารสกัดจากสะตอข้าวจะมีฤทธิ์ดีกว่า จากคุณสมบัติต่างๆ และคุณค่าทางสารอาหารของสะตอ ทำให้มีการนำสะตอมาแปรรูปเพื่อเป็นการถนอมอาหารให้สามารถมีสะตอไว้รับประทานได้ตลอดทั้งปี ดังเช่น ชุมชนนราธิวาสได้ทำการแปรรูปสะตอแช่แข็งส่งออก ลดปัญหาสินค้าล้นตลาด-เพิ่มมูลค่าผลผลิตการเกษตร เนื่องจากช่วงฤดูกาลจะล้นตลาด ช่วงนอกฤดูจะขาดตลาด กลุ่มผู้ประกอบการในพื้นที่จังหวัดชายแดนภาคใต้จึงคิดเพิ่มมูลค่าสะตอโดยการแปรรูปทำสะตอแช่แข็งส่งออกไปยังมาเลเซีย สิงคโปร์ และอินโดนีเซีย โดยรับซื้อสะตอจากเกษตรกรในพื้นที่เฉลี่ยปีละ 20-30 ล้านบาท ผ่านผู้รวบรวมในพื้นที่ นำมาแปรรูปในโรงงานเอกชนที่ตั้งอยู่ในตลาดกลางการเกษตรเพื่อการส่งออกจังหวัดชายแดนภาคใต้ ทั้งนี้ จากงานวิจัยของ Hasim et. al. (2015) ได้ทำการศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในฝักสะตอที่ทำการสกัดด้วยเฮกเซน พบ saponins, flavonoids, tannin และ steroids และเมื่อทำการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตดและเอทนอล พบ saponins, flavonoids, tannins และ triterpenes และเมื่อนำมาทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* พบว่า สามารถมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ นิสาพรและคณะ (2564) ได้ทำการศึกษาสารพฤกษ

เคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระของเปลือกสะตอที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตดและเอทนอล พบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 9 กลุ่ม คือ อัลคาลอยด์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า เปลือกสะตอที่สกัดด้วยเอทานอลของเปลือกสะตอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมมากที่สุด รองลงมาคือ เอทิลอะซิเตด ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน เท่ากับ 117.003 ± 6.14 137.82 ± 5.84 7.15 ± 0.26 และ 4.14 ± 0.086 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ และเปลือกสะตอที่สกัดด้วยเอทานอลมีสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ดีกว่าเปลือกสะตอที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ โดยพบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 0.66, 0.14, 0.033, 0.023 และ 0.0188 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 5, 20, 30, 40 และ 60 นาที ตามลำดับ โดยจากผลการศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้นทำให้พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในเปลือกสะตอมีอยู่เป็นปริมาณสูง ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาต่อยอดโดยการนำเปลือกสะตอที่สกัดด้วยเอทานอลมาศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านเชื้อก่อสิว รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล คือ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำผลการทดสอบที่ได้นั้นไปเป็นข้อมูลในการนำสารสกัดจากเปลือกสะตอไปเป็นส่วนประกอบของการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยผู้วิจัยมีความคาดหวังว่า ผลที่ได้จะสามารถนำไปเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางที่เป็นประโยชน์ต่อผิวพรรณได้ รวมถึงการนำความรู้ที่ได้ถ่ายทอดสู่ชุมชนต้นแบบต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

1.2.3 เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

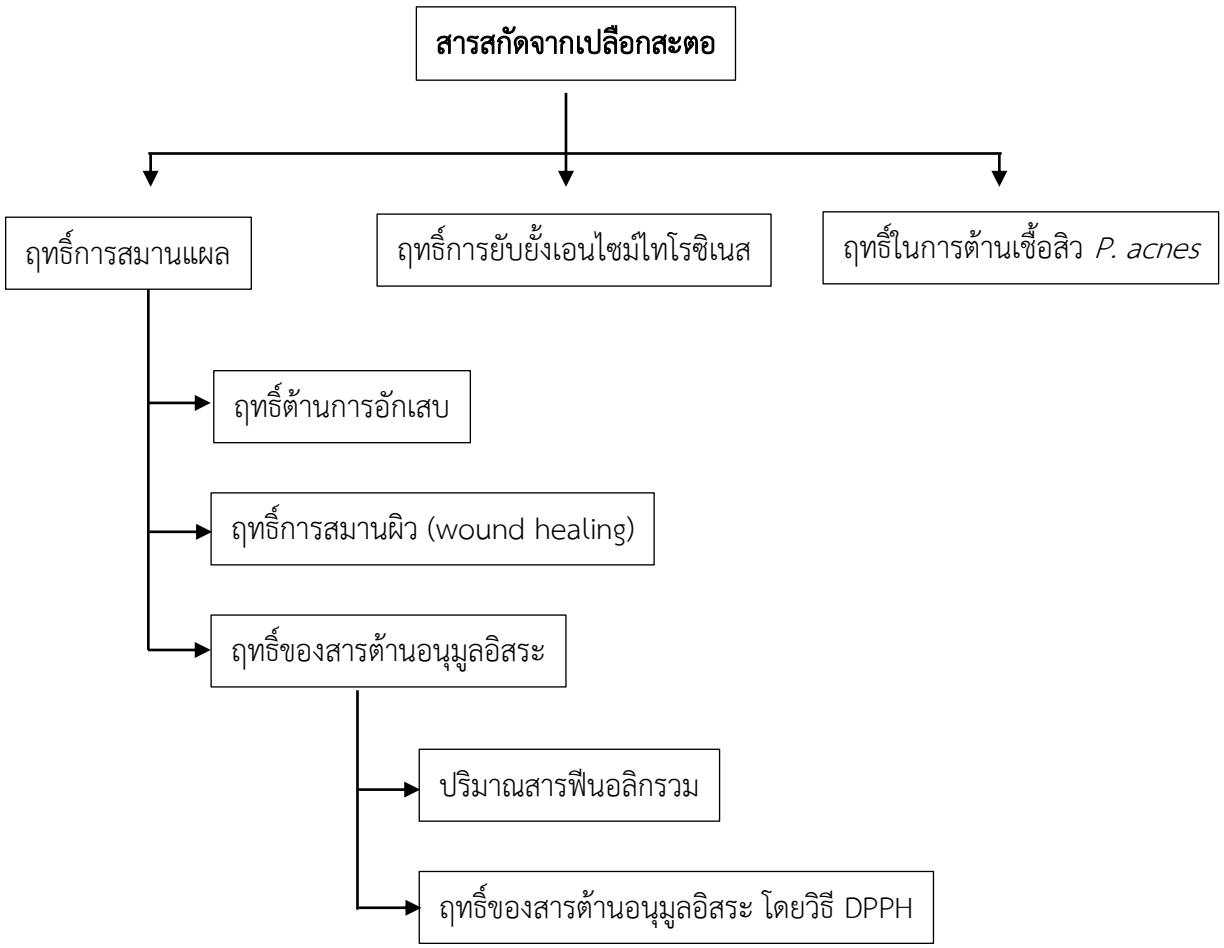
1.3.2 สามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดจากเปลือกสะตอเป็นส่วนผสม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปเผยแพร่ในวารสารทั้งในประเทศ และต่างประเทศ

1.4.2 ได้แนวทางในการนำสารสกัดจากเปลือกสะตอซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศ มาแปรรูปของเหลือใช้ทางการเกษตร เพื่อเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรและเพิ่มมาตรฐานของสินค้าไทย

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.)

สะตอเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ มาเลเซีย อินโดนีเซีย รวมถึงทางตอนใต้ของไทย โดยสะตอเจริญเติบโตได้ดีตามเชิงเขาที่มีสภาพป่าสมบูรณ์ ที่มีความชื้นในอากาศสูง ในอดีตสะตอจะเป็นพืชที่มีการนิยมนำมาใช้เป็นอาหารเฉพาะถิ่นเท่านั้น แต่ในปัจจุบันมีการนำไปบริโภค และใช้เป็นอาหารอย่างกว้างขวางจนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง สำหรับในประเทศไทยแหล่งปลูกสะตอที่สำคัญจะอยู่ในบริเวณภาคใต้ของประเทศ เช่น ระนอง ชุมพร สงขลา ยะลา ปัตตานี และนราธิวาส เป็นต้น

สะตอมีลักษณะทั่วไป คือ จัดเป็นไม้ยืนต้น ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ โดยสามารถสูงได้ถึง 30 เมตร แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มโปร่งแผ่กว้าง ลำต้นเรียบ สีน้ำตาลอ่อน หรือสีน้ำตาลขาว ลอกเป็นสะเก็ดเล็กน้อยหรือเป็นร่องตื้นๆ บริเวณกิ่งก้านมีขนละเอียดขึ้นปกคลุม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกสองชั้น คือ มีก้านใบหลักยาวประมาณ 30-50 เซนติเมตร ที่ประกอบด้วยก้านใบย่อย 14-24 คู่ โดยแต่ละก้านใบย่อยยาวประมาณ 2.2-6 เซนติเมตร และมีใบย่อยเรียงสลับตรงข้ามกัน 30-38 คู่ ลักษณะใบย่อยเป็นขอบขนาน สีเขียวสดถึงเขียวเข้มตามอายุใบ แผ่นใบเรียบบาง แต่จะเหนียวและแข็ง ปลายใบมน มีติ่งเล็กตรงกลางของปลายใบ ดอกออกเป็นช่อแบบช่อกระจุกแน่นที่ปลายกิ่ง โดยช่อดอกจะยาวห้อย กว้าง 3-3.5 ซม. ยาว 7-10 ซม. และจะมีก้านช่อดอกยาว 30-40 ซม. และมีกลีบเลี้ยงขนาดเล็ก 4-5 กลีบ กลีบดอกเชื่อมติดกัน เป็นหลอดยาว 0.9-1.2 ซม. ปลายแยกเป็น 5 แฉก มีเกสรเพศผู้จำนวนมาก ผลออกเป็น ฝัก มีลักษณะแบน มีทั้งชนิดที่เป็นฝักบิดเป็นเกลียว (สะตอข้าว) และชนิดที่แบนตรง (สะตอดาน) โดยฝักสะตอจะยาวประมาณ 25-45 เซนติเมตร กว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร (แล้วแต่สายพันธุ์) เปลือกฝักมีสีเขียว และค่อยเปลี่ยนเป็นสีดำ ตรงกลางฝักเป็นตุ่มนูน โดยด้านในเป็นที่อยู่ของเมล็ดที่เรียงซ้อนกันประมาณ 10-20 เมล็ดต่อฝัก เมล็ดมีลักษณะคล้ายหัวแม่มือ หรือรูปรีค่อนข้างกลม ขนาดเมล็ดทั่วไป กว้างประมาณ 2.2-2.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร เมล็ดอ่อนมีสีเขียว ให้รสหวานมัน และมีกลิ่นฉุน และเมื่อแก่จะเริ่มเหลือง และเมื่อสะตอสุก ฝักจะเป็นสีดำ เนื้อสะตอเป็นสีเหลืองบางๆ รับประทานได้ทั้งเม็ด เมล็ดในระยะนี้รสมัน เนื้อมีรสหวาน

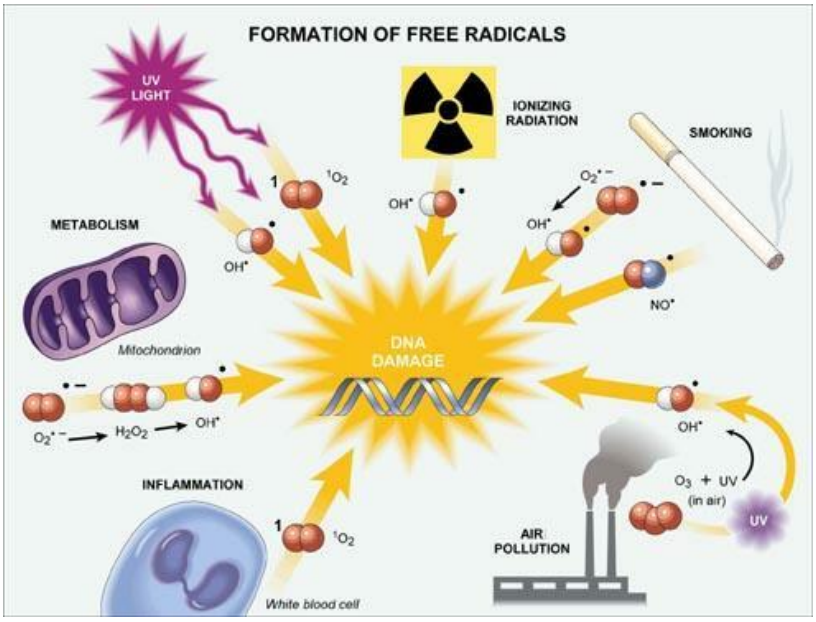
ภาพที่ 2.1 ลักษณะฝักสะตอ

(ที่มา: https://mgronline.com/south/detail/9600000090442 สืบค้นเมื่อ 23 กุมภาพันธ์ 2565)

2.2 สารอนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดในกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์ เช่น ลิพิด โปรตีน เอ็นไซม์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ คาร์โบไฮเดรต เซลล์เมมเบรน คอลลาเจน ไมโตคอนเดรีย และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดอาการและโรคต่างๆ เช่น ชรา มะเร็ง หัวใจขาดเลือด ความจำเสื่อม ข้ออักเสบ และภูมิแพ้ เป็นต้น อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นจากปัจจัยที่รับเข้าจากภายนอกคือการติดเชื้อจุลชีพ จากรังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ และจากการรับประทานยาบางชนิด เช่น พาราเซตามอล เป็นต้น (บุหรัน พันธุสวรรค์, 2556; Nathan and Xie, 1994)

สารอนุมูลอิสระ คือ สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดในกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (Radical reactive oxygen species: ROS) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide anion radical:$O_2 \bullet^-$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide: H_2O_2) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical: OH•) และเพอร์รอกไซด์ (Peoxide radical: ROO•) 2) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive nitrogen species: RNS) ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide radical; NO) เพอร์รอกซีไนเตรท (Peroxy nitrate: $ONOO^-$) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Peroxy nitrate: NO_2) และไดไนโตรเจนไตรออกไซด์ (Dinitrogen trioxide: N_2O_3) (Mah S.H. *et al.*, 2017) ในแต่ละวันร่างกายได้รับปัจจัยเสี่ยงต่างๆ มากมายที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดอาการและโรคต่างๆ เช่น ชรา มะเร็ง หัวใจขาดเลือด ความจำเสื่อม และภูมิแพ้ เป็นต้น อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นจากปัจจัยที่รับเข้าจากภายนอก คือ การติดเชื้อจุลชีพ จากรังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ หรือจากอาหารต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและมีผลทำลายสุขภาพ

(ที่มา http://kenkoarigato.com/2009/09/antioxidant/what-is-free-radicals/ สืบค้นวันที่ 23 สิงหาคม 65)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) คือ สารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (Free Radical) เช่น การเกิดออกซิเดชันของลิพิด (Lipid Oxidation) สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ 1) Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ 2) Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และ 3) Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง หรือการช่วยชะลอการเกิด “ออกซิเดชั่น” ซึ่งเป็นตัวทำให้แก่เร็วเกิดริ้วรอยมากขึ้น และเจ็บป่วยได้ง่าย โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหลายชนิดในการรักษาสุขภาพและป้องกันโรค เช่น โรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนี้ยังมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในเภสัชภัณฑ์ และส่วนประกอบอื่น ๆ ในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เช่น สารกันบูดในอาหารและเครื่องสำอาง รวมถึง ช่วยลดการสึกกร่อนของยางและแก๊สโซลีนได้

สารต้านอนุมูลอิสระ มีมากในพืชผักชนิดต่างๆ เช่น หอมแดง ไพล ขมิ้น มะเขือ ข้าวโพด ข้าว และพืชผักอื่นๆ ที่มีสีเข้ม โดยในพืชดังกล่าว จะมีส่วนประกอบของวิตามินเอ วิตามินซี วิตามินดี กลูต้าไธโอน แคโรทีนอยด์ โคเอนไซม์คิว 10 และแร่ธาตุอีกหลายชนิด เช่น ธาตุเหล็ก และสังกะสี จากบทความวิจัยของ Yusof Kamisah *et al.* (2013) พบว่า ในสะตอมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงในหลายๆบริเวณ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สารต้านอนุมูลอิสระในบริเวณต่างๆ ของสารสกัดจากสะตอ (*P. speciose*)

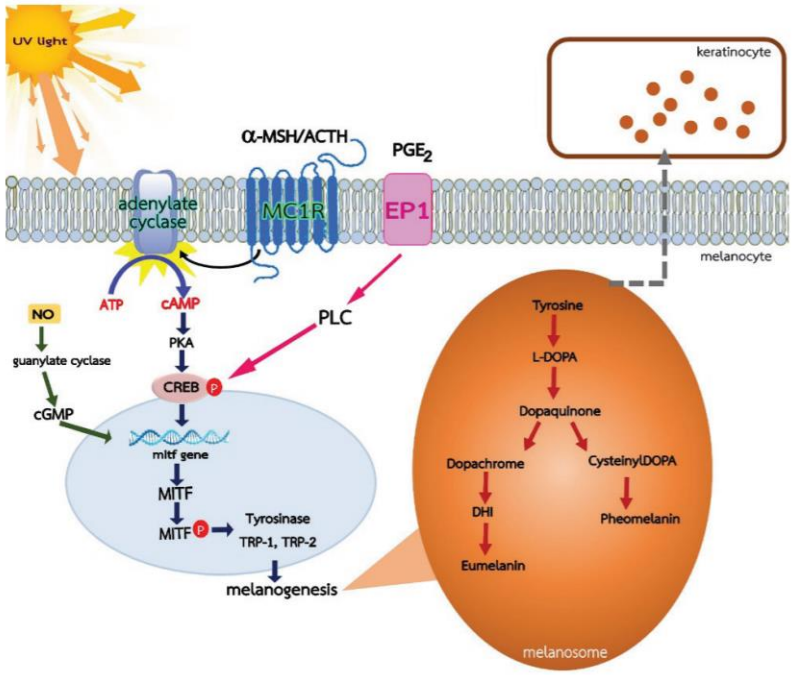
Plant part	*Extract*	*Total phenolic* *(mg GAE/g)*[β]	*DPPH assay* *(μmol Trolox/g)*[β]	*Total flavonoids* *(mg RE/g)*[β]	*Tannin* *(mg/g)*[β]	*Reference*
Pod and seed	Aqueous	1557.6[b,c]	7418.3[b,d]	-	-	Ayub Ali et al.
Pod and seed	Methanol	2464.3[b,c]	5936.9[b,d]	-	-	Ayub Ali et al.
Pod	Ethanol	-	-	-	250	Tunsaringkarn et al.
Seed	Ethanol	51.9[a]	-	20.3[a]	-	Maisuthisakul et al.
Seed coats	Ethanol	-	-	-	350	Tunsaringkarn et al.

Plant part	*Extract*	*Total phenolic* *(mg GAE/g)*[a]	*DPPH assay* *(μmol Trolox/g)*[a]	*Total flavonoids* *(mg RE/g)*[a]	*Tannin* *(mg/g)*[a]	*Reference*
Leaf	Ethanol	44.7	89.26[f]	-	-	Tangkanakul et al.
Leaf	Aqueous	22.7	57.4f	-	-	Tangkanakul et al.

[a]Dry weight basis, [b]fresh weight basis, [c](mg GAE/100 g), [d](mg Trolox/100 g), [e](mg vitamin C equivalent/g), and [f](mg BHA equivalent/g).

2.3 เอนไซม์ไทโรซิเนส (ประไพพิศ อินเสน (2561))

ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน เป็นโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 60-70 กิโลดาลตัน ภายในโครงสร้างประกอบด้วยคอปเปอร์ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีให้แก่ไทโรซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนในร่างกายเพื่อสังเคราะห์เป็น L-DOPA และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเปลี่ยน L-DOPA เป็น o-quinone Dopaquinone (Bae-Harboe & Park, 2012) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาสำคัญที่เกี่ยวกับการสร้างเม็ดสีเมลานิน โดยกลไกการควบคุมให้ร่างกายมีการสร้างเม็ดสีเมลานินลดลงมีหลายกลไก เช่น การยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งมีผลต่อการถอดรหัส mRNA การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส TRP-1, TRP-2 และ/หรือ peroxidase การเร่งการผลัดเซลล์ผิวหนัง การยับยั้งการขนส่งเมลาโนโซม การยับยั้งกระบวนการอักเสบ และการดักจับอนุมูลอิสระ (Sarkar, Chugh & Garg, 2016) ทำให้ตลาดเครื่องสำอางมุ่งเน้นการนำสารที่มีคุณสมบัติเหล่านี้ไปใช้กับผลิตภัณฑ์เพื่อผิวกระจ่างใสหรือผลิตภัณฑ์ลดฝ้าและกระ ทำให้สีผิวสม่ำเสมอ เนื่องจากเห็นผลได้เร็วและมีประสิทธิภาพในลดการสร้างเม็ดสีที่ผิวหนัง



ภาพที่ 2.3 กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง

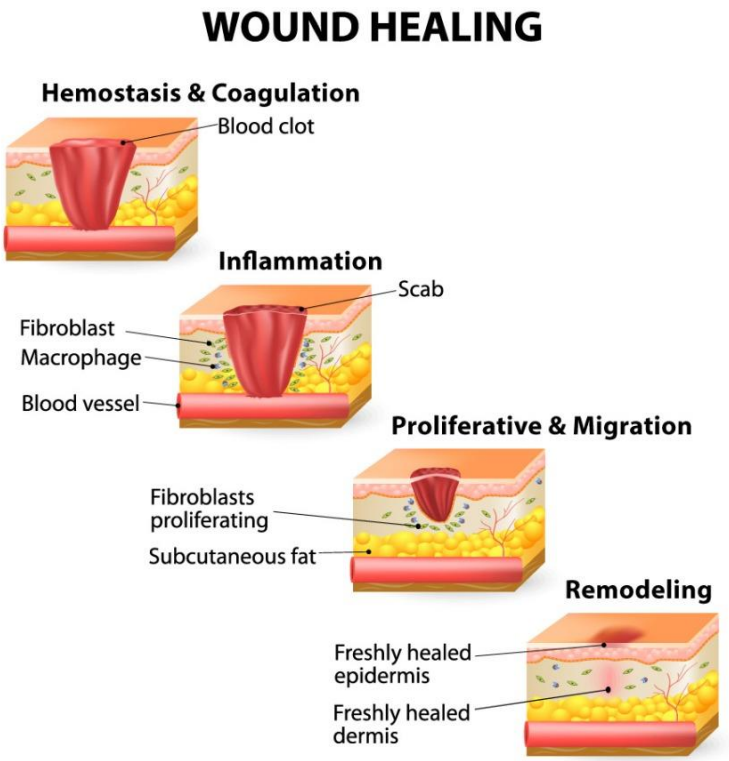
(ที่มา ประไพพิศ อินเสน (2561))

2.4 การสมานแผล (wound healing, wound repair)

การสมานแผล เป็นกระบวนการซับซ้อนซึ่งผิวหนังหรืออวัยวะอื่นทำการซ่อมแซมตัวเองหลังจากได้รับบาดเจ็บในผิวหนังปกติ ชั้น epidermis และ dermis อยู่ในสมดุลสถิตตลอดเวลาเพื่อสร้างเกราะกำบังป้องกันร่างกายจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เมื่อเกราะป้องกันนี้ถูกทำลายจะมีกระบวนการทางสรีรวิทยาปกติเพื่อทำการรักษาบาดแผลเกิดขึ้นทันที ตัวแบบคลาสสิกของการสมานแผลแบ่งออกเป็นสามหรือสี่ระยะซึ่งค่อนข้างซ้อนทับกัน ระยะที่ (1) คือระยะการหยุดของเลือด (hemostasis) ซึ่งนักวิชาการบางท่านไม่นับเป็นระยะ (2) การอักเสบ (inflammatory) (3) การเจริญ (proliferative) และ (4) การปรับรูปร่าง (remodeling) เมื่อเกิดมีการบาดเจ็บของผิวหนังจะมีเหตุการณ์ทางชีวเคมีอันซับซ้อนเกิดขึ้นเป็นขั้นตอนที่สอดรับกันอย่างดีเพื่อรักษาบาดแผลภายในไม่กี่นาทีหลังได้รับบาดเจ็บเกล็ดเลือดจะมารวมตัวกันที่บริเวณบาดแผลเพื่อสร้างเป็น fibrin clot โดย clot นี้จะทำหน้าที่ควบคุมไม่ให้เลือดไหล

แผลอักเสบ (Infected wound) คือ แผลที่มีการอักเสบลุกลามเป็นบริเวณกว้างซึ่งเกิดจากการติดเชื้อที่มีสิ่งแปลกปลอมหรือสิ่งปนเปื้อนมากในแผล ทำให้มีอาการปวด บวม แดง ร้อน หลังจาก

นั้นจะเกิดเป็นหนองหรือช้ำเลือดช้ำหนอง ซึ่งจะส่งผลให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเริ่มตาย ส่วนใหญ่มักเป็นแผลที่เกิดจากอุบัติเหตุ กระบวนการหายของแผลปกติ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ ซึ่งเกิดต่อเนื่องทับซ้อนกัน ประกอบด้วยระยะการอักเสบ (Inflammatory phase) คือระยะที่ร่างการขจัดเนื้อตาย และป้องกันการติดเชื้อลุกลาม ระยะเพิ่มจำนวน (Proliferative phase) คือระยะที่เนื้อเยื่อเกิดการเพิ่มจำนวน พร้อมๆกับการเกิดแผลเป็น สุดท้ายคือระยะปรับเปลี่ยนใหม่ (Remodeling phase) ซึ่งเป็นระยะที่แผลเกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้าง เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เนื้อเยื่อ



ภาพที่ 2.4 กลไกการสมานแผล (wound healing)

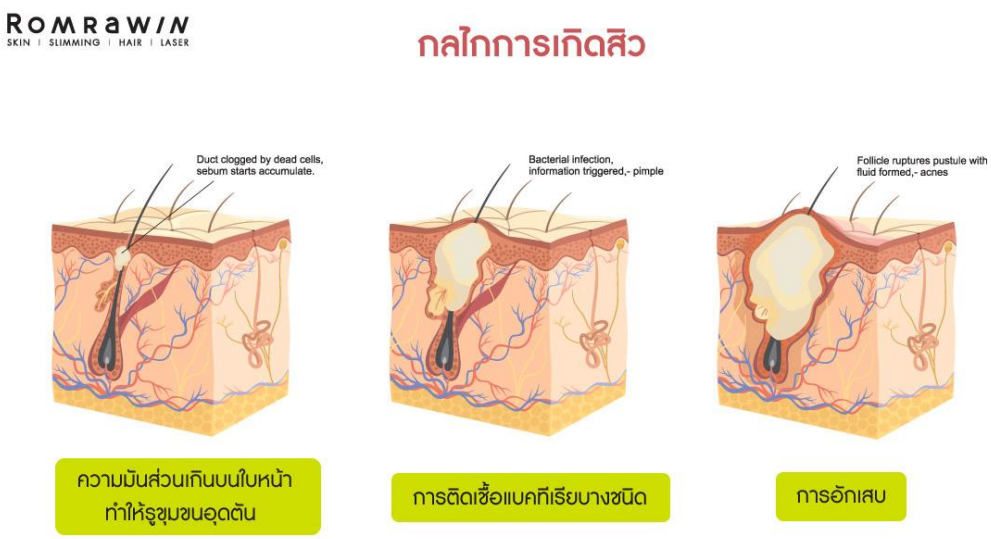
(ที่มา https://livelymoo.wordpress.com/2016/07/09/wound-healing-phases สืบค้นวันที่ 23 สิงหาคม 65)

2.5 สิว

สิว คือการอักเสบของรูขุมขนและต่อมไขมัน (pilosebaceous unit) โดยมากมักเป็นบริเวณหน้า คอ และลาตัว ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่อยู่หนาแน่น ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดสิว เช่น ยาบางชนิด เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยสาเหตุของสิวเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลัก ได้แก่ (1) บทบาทของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาศัยอยู่ที่ผิวหนังและภายในท่อขุมขน (2) การเกิดปฏิกิริยาการ

อักเสบเป็นผลของ mediator ต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Propionibacterium acnes* (3) มีความผิดปกติในการสร้างเคราตินภายในท่อขุมขน ต่อมไขมัน และ (4) ต่อมไขมันสร้าง sebum เพิ่มขึ้นซึ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ *Propionibacterium* หรือ *Corynebacterium* เป็น anaerobic pleomorphic diphtheroid พบได้ทั่วไปตามผิวหนัง ผม ขน ช่องปาก ในคอมีโดนชนิดปิดมี *P. acnes* มากกว่าในคอมีโดนชนิดเปิดในขณะที่คอมีโดนชนิดเปิด มี *Pityrosporum* และ *cocci* มากกว่าในคอมิโดนชนิดปิด

ปัจจุบันการรักษาสิวที่มีความรุนแรงเล็กน้อย คือ การใช้ยาทาในกลุ่ม benzoyl peroxide หรือ retinoic acid หรือยาทาปฏิชีวนะ ส่วนการรักษาสิวที่มีความรุนแรงปานกลางคือ การใช้ยาทาดังกล่าวร่วมกับยาปฏิชีวนะในรูปแบบยารับประทาน อย่างไรก็ตามพบว่าการรักษาสิวตามแนวทางการรักษามาตรฐานในปัจจุบันมีปัญหาเรื่องการดื้อยาปฏิชีวนะและผลข้างเคียงด้านระคายเคืองผิวหนังเมื่อใช้ยาทาในกลุ่ม benzoyl peroxide หรือ retinoic acid เป็นระยะเวลานาน จึงนำมาสู่แนวคิดในการนำสมุนไพรมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาสิว ประเทศไทยนับเป็นแหล่งวัตถุดิบทางธรรมชาติที่มีคุณภาพ เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรของไทยมีมากมายหลายชนิด และยังเป็นแหล่งรวมของสารพฤกษเคมีที่สำคัญ เช่น ฟีนอลิก (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) คาเทชิน (catechins) และแทนนิน (tannins) นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามินชนิดต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี วิตามินซี และเบต้าแคโรทีน นอกจากสารพฤกษเคมีและการออกฤทธิ์ดังกล่าวแล้ว สมุนไพรไทยยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa, Proteus morgaii, Staphylococcus aureus Bacillus subtilis, Escherichia coli, Salmonella* และ *Shigella* โดยเฉพาะ *P. acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทาให้เกิดสิว ซึ่งสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อที่ทำให้เกิดสิว ได้แก่ ไพล ตะไคร้ มะกรูด กะเพรา (Lertsatitthanakorn et al., 2006)



ภาพที่ 2.5 กลไกการเกิดสิว

(ที่มา https://romrawin.com/product/ac-clear-ii/ สืบค้นวันที่ 23 สิงหาคม 65)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุนันต์ ใจสมุทร และคณะ (2564) ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบบัวบกในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) โดยใช้เทคนนิครีเวอร์สทรานสคลิปชั่น โพลีเมอเรสเชนรีแอคชั่น (RT-PCR) เพื่อดูการแสดงออกของยีนไซโคลออกซีจีเนส 2 (COX-2) อินเตอร์ลิวคิน -1 เบต้า (IL-1β) อินเตอร์ลิวคิน-6 (IL-6) อินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (iNOS) ทูเมอร์เนโครซีสแฟคเตอร์อัลฟา (TNF-α) ผลการศึกษาเมื่อบ่มส่วนสกัดหยาบบัวบกที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท (E1) เอทานอล (E2) 50% เอทานอล (E3) และ 80% เอทานอล (E4) กับเซลล์แมคโครฟาจนาน 24 ชั่วโมง พบว่า E3 มีความเป็นพิษกับเซลล์น้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ E4, E2 และ E1 นอกจากนี้สารสกัดใบบัวบกส่วนสกัดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 50 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง การแสดงออกของ COX-2, IL-1β, IL-6, iNOS และ TNF-α ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและใกล้เคียงกับยาอินโดเมทาซิน โดยพบว่าสารสกัด E1 และ E2 แสดงการยับยั้งการอักเสบที่ดีกว่าสารสกัด E3 และ E4

วิยดา กวานเหียน และ กิ่งกาญจน์ บรรลือพืช (2018) ได้ทำการศึกษา ความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาห้ารากที่สกัดด้วยน้ำ เพื่อนำมาทดสอบ

ความเป็นพิษต่อเซลล์ และการยับยั้งการอักเสบโดยการวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ที่สร้างจากเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) และวัดคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยการกาจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ผลการศึกษาพบ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC50) เท่ากับ 44.32+3.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร การยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการหลั่งไนตริกออกไซด์ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งไนตริกออกไซด์ ร้อยละ 50 (IC50) เท่ากับ 16.56 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่า ความเข้มข้นของสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (SC50) เท่ากับ 120.17+0.07 และ 73.27+0.08 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาสามารถยืนยันฤทธิ์การยับยั้งการอักเสบ และการต้านอนุมูลอิสระของยาห้ารากที่สกัดด้วยน้ำ

จินตนา จุลทรรศน์ และคณะ (2018) ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบของผลหนามแท่ง ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล จากนั้นนาสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT และฤทธิ์ต้านอักเสบต่อการแสดงออกของยีนไซโคลออกซีจีเนส-2 (Cyclooxygenase -2, COX-2) และยีนทูเมอร์เนโครซีสแฟคเตอร์-อัลฟา (Tumor necrosis factor-α, TNF-α) ในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 Cells) ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) โดยใช้เทคนิครีเวอร์สทรานสคลิปชั่น โพลีเมอเรสเชนรีแอคชั่น (RT-PCR) ผลการศึกษาพบว่าเมื่อบ่มสารสกัดความเข้มข้น 0-1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ นอกจากนี้สารสกัดผลหนามแท่งที่ความเข้มข้น 50-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการแสดงออกของ COX-2 และ TNF-α ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสูงขึ้นตามปริมาณที่ใช้ และใกล้เคียงกับยาอินโดเมทาซิน

ประไพพิศ อินเสน (2561) ศึกษาเกี่ยวกับเมลานินเป็นเม็ดสีที่สร้างมาจากเมลาโนไซต์โดยมีแสงยูวีเป็นตัวกระตุ้นผ่านกระบวนการเมลาโนเจนนิสิส โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเปลี่ยนแอล-ไทโรซีนเป็นแอล-โดปาและโดปาควิโนน แล้วสังเคราะห์เป็นเม็ดสีเมลานินสองชนิดได้แก่ ยูเมลานินและฟีโอเมลานิน โดยมีเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นกุญแจที่สำคัญของกระบวนการนี้ หากเอนไซม์ชนิดนี้ทำงานมากเกินจะส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางผิวหนังได้แก่ รอยด่างดำ ฝ้าและกระ ปัจจุบันสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติถูกนำมาใช้เป็นสารช่วยให้ผิวขาวใส เนื่องจากมีความปลอดภัยและราคาถูก อาทิพืชในกลุ่มตระกูลเบอร์รีไทยรวมถึงหม่อนหรือมัลเบอร์รี มะเม่า มะขามป้อม มะยม เป็นต้น พืชกลุ่มนี้จะให้สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสามารถในการลดกระบวนการชีวสังเคราะห์เมลา

นิน อาทิ มัลเบอร์โรไซด์ เอ เรสเวอราทรอล ออกซีเรสเวอราทรอลแอนโธไซยานิน ไฮโดรไลซ์แทนนิน สารเหล่านี้มีกลไกการยับยั้งได้หลายกลไก ได้แก่ ต้านการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยการจับกับคอปเปอร์ที่บริเวณเร่ง ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์โดยยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมลานิน และอาศัยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่ถูกกระตุ้นจากแสงแดดซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการทำลายเซลล์เกิดความหมองคล้ำและความชราของเซลล์ ปัจจุบันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้จึงเป็นที่สนใจและถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อให้ผิวความจ่างใส ชะลอความแก่ และลดฝ้ากระ

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย และคณะ (2554) ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้เหลือทิ้ง 10 ชนิดได้แก่ ส้มเขียวหวาน (Citrus reticulata) ส้มโอ (Citrus maxima Merr.) กล้วยน้ำว้า (Musa sapientum Linn.) มะไฟ (Baccaurea ramiflora Lour.) แตงโม (Citrullus vulgaris) สับปะรด (Ananas comosus Merr.) แคนตาลูป (Cucumis melo var.) มะละกอ (Carica papaya L.) มะม่วงดิบ และมะม่วงสุก (Mangifera indica L.) นำมาวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (1,-1 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging และ total antioxidant capacity) และสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าเปลือกมะม่วงดิบและมะม่วงสุก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (IC50 เท่ากับ 2.32 และ 2.31 กรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวม (เทียบกับกรดแอสคอบิก และแกลลิก) สูงสุด ในทำนองเดียวกัน เมื่อทำการศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าเปลือกมะม่วงดิบมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 72.8 mg GAE/ กรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นเปลือกมะม่วงดิบจึงเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบ

สุวดี โพธิ์วิจิตร และคณะ (2019) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรท้องถิ่นเขตภาคเหนือของประเทศไทยภายใต้ตัวทำละลายต่างขั้ว คือ ลำต้นสะค้าน ส่วนก้านและส่วนเมล็ดมะแขว่น ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สารอนุมูลอิสระ 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (DPPH) พร้อมวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีโฟลินซิโอแคลตู (Folin Ciocalteau) และวิธีอลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride) ตามลาดับ สารสกัดหยาบทั้งสองชนิดในเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือในเอทิล อะซีเตท สารสกัดจากลำต้นสะค้านในเมทานอลออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่า IC50 = 0.2 mg/ml มีปริมาณฟีนอลิก

สูงสุด (68.83 ± 0.38 mgGAE/g) และปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (37.13 ± 0.47 mgQE/g) ขณะที่สารสกัดจากก้านและเมล็ดมะแขว่นในเมทานอลสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ มีค่า IC50 = 0.26 และ 0.37 mg/ml ตามลำดับ โดยก้านมะแขว่นมีปริมาณฟีนอลิก (53.67 ± 0.45 mgGAE/g) มากกว่าเมล็ดมะแขว่น (24.15 ± 0.48 mgGAE/g) สอดคล้องกับปริมาณ ฟลาโวนอยด์ของก้าน (25.76 ± 0.43 mgQE/g) และเมล็ดมะแขว่น (10.25 ± 0.63 mgQE/g) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณรวม ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่เพิ่มขึ้นและให้ผลที่ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ข้อมูลการศึกษานี้จะเป็นองค์ความรู้พื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรพื้นบ้านให้เกิดมูลค่าต่ออุตสาหกรรมการรักษาต่อไปในอนาคต

Taketsugu et al. (2010) ศึกษาประสิทธิของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืชที่อุดมไปด้วยสารสกัดจากกล้วยไม้ เปรียบเทียบกับ 3% ของอนุพันธ์วิตามินซีในกลุ่มอาสาสมัครผู้หญิงของประเทศญี่ปุ่น โดยประเมินผลทางคลินิกจากแพทย์ผิวหนังและการสำรวจความพึงพอใจของผู้ใช้ พบว่าเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกล้วยไม้มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงด้านความสว่าง ความเข้มของสี จุดด่างดำ และความกระจ่างใสของใบหน้าใกล้เคียงกับอนุพันธ์ของวิตามินซี

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ

นำตัวอย่างเปลือกสะตอที่สด ล้างให้สะอาด และนำมาอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน หรือจนกว่า เปลือกสะตอจะแห้งสนิท บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำส่วนที่บดละเอียดมา 50 กรัม นำตัวอย่างมาสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยใช้วิธีการแช่หมักในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการเขย่าทุกวัน เช้า-เย็น หลังจากนั้น ทำการกรองสารละลายด้วยกรวยแก้วและกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) จนได้ปริมาตรประมาณ 10 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อตรวจสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3.2 ศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล

3.2.1 ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ

3.2.1.1 การเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (biowest, USA) ที่มี Fetal Bovine Serum (FBS) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรและสารละลายยาปฏิชีวนะที่มี Penicillin ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ Streptomycin ความเข้มชัน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร บ่มในตู้บ่มเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ก่อนทดสอบแต่ละครั้งต้องทำให้เซลล์อยู่ในลักษณะแขวนลอย โดยใส่ถ่ายอาหารเลี้ยงเก่าทิ้ง แล้วล้างผิวเซลล์ด้วยสารละลาย Dullbecco's phosphate buffer saline (PBS) ขูดเซลล์ให้หลุดออกจากผิว flask ด้วย cell scrapper อย่างเบามือ ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทิ้งสารละลายส่วนใส เติมอาหารเลี้ยงใหม่ลงไปอีกครั้ง และดูดพ่นกระจายให้เซลล์แขวนลอยเดี่ยวๆ ก่อนนำไปทำการทดสอบ

3.2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Griess's reagent assay (Kim et al., 2004)

เตรียมเซลล์ทดสอบปริมาตร 200 ไมโครลิตรใน 96-well plate บ่มร่วมกับตัวอย่างทดสอบหรือสารละลาย lipopolysaccharide (LPS) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งใช้เป็นสารควบคุมเชิงบวก ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารทดสอบออกเพื่อนำไปทดสอบหาปริมาณไนตริกออกไซด์ โดยการเติมตัวอย่างทดสอบลงในหลุมทดสอบปริมาตรหลุมละ 85 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย nitrate reductase และ enzyme cofactor ปริมาตรหลุมละ 5 ไมโครลิตรบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาเติมสารละลาย enhancer ปริมาตรหลุมละ 5 ไมโครลิตร นำกลับไปบ่มที่สภาวะเดิมนาน 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Griess' reagent R1 และ Griess's reagent R2 ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณหาความเข้มข้นของไนตริกออกไซด์จากกราฟมาตรฐาน

3.2.1.3 การเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ (primary filbroblast)

เพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ (primary flbroblast) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่เติม fetal bovine serum (FBS) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร และเติมยาต้านจุลชีพ ได้แก่ penicillin-streptomycin ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในภาชนะถาดหลุมชนิด 24-well plate โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์เท่ากับ $2x10^5$ เซลล์ต่อหลุมนำเซลล์บ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเติบโตของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับปรากฏลักษณะของเซลล์ แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์การสมานผิวต่อไป

3.2.1.4 การทดสอบฤทธิ์การสมานผิว (wound healing)

นำเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ที่ เพาะเลี้ยงใน 24-well plate ตามหัวข้อ 3.2.1.3 ออกจากตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ จากนั้นดูดอาหารเก่าที่อยู่ในแต่ละหลุมทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ใช้ cell scratcher ขูดลงไปในแต่ละหลุมเกิดเป็นช่องว่างตรงกลางหลุมทดสอบ บ่มเซลล์ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 7.81, 15.62 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการถ่ายภาพเพื่อดูการสมานของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ เป็นเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำ

ภาพถ่ายที่ได้แต่ละช่วงเวลามาวัดระยะห่างของช่องว่างจากนั้นคำนวณอัตราการเคลื่อนที่ ของเซลล์ที่เคลื่อนเข้าหากัน (ไมโครเมตร/ชั่วโมง)

3.2.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมตามวิธีของ Folin-Ciocalteau method (Torres และคณะ, 1987) โดยการนำสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 1N Folin-Ciocalteau's phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 nm โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid (0 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งรายงานเป็นหน่วย มิลลิกรัมของแกลลิค/กรัม ต่อสารสกัด)

3.2.2.2 การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารมาตรฐาน DPPH หนัก 0.0788 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (AR grad) ในบีกเกอร์ คนให้สารละลายจนหมดแล้วเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเมทานอล จะได้ Metabolic DPPH จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox โดยใช้ Methanol เป็นตัวทำละลาย เตรียม 5 ความเข้มข้น แล้วเตรียมสารสกัด 5 ความเข้มข้น

วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง UV

เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารสกัดตัวอย่าง ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงในคิวเวต จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Methanol 2.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น blank คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และรายงานผลในรูป IC50 โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ด้วยวิธี Enzymatic assay โดยประยุกต์ตามวิธีของ Muddathir et.al. (2017)

เตรียมความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.0010, 0.010, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล ตามลำดับ จากนั้น นำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ดังตาราง

สารที่ใช้ทดสอบ	Phosphate buffer **(ไมโครลิตร)**	Kojic acid **(ไมโครลิตร)**	**สารตัวอย่าง (ไมโครลิตร)**	Enzyme Tyrosinase **(ไมโครลิตร)**	L-Dopa **(ไมโครลิตร)**
100% Tyrosinase	70	-	-	30	110
Background ของ Enzyme Tyrosinase	100	-	-	-	110
สารมาตรฐาน	-	10	-	30	110
Background ของสารมาตรฐาน	30	10	-	-	110
สารตัวอย่าง	-	-	10	30	110
Background ของสารตัวอย่าง	30	-	10	-	110

เมื่อเตรียมปฏิกิริยาครบแล้ว นำ 96-well plate เข้าเครื่อง Incubator shaker เพื่อให้สารทดสอบทำปฏิกิริยา บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย % การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (% inhibition) ดังสูตร

$$\text{Tyrosinase inhibition activity (\%)} = \frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} \times 100$$

เมื่อ A คือ 100% ปฏิกิริยาเอนไซม์ไทโรซิเนส

B คือ Background ของ 100% ปฏิกิริยาเอนไซม์ไทโรซิเนส

C คือ ปฏิกิริยาของสารมาตรฐาน

D คือ Background ของปฏิกิริยาสารมาตรฐาน

3.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique (ดัดแปลงตามวิธีการของ CLSI M2-A9 (2006) และ Sutter, V และคณะ (1980))

3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

บ่มเพาะเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหาร THCK ภายใต้สภาวะแบบไม่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. เมื่อครบเวลาบ่มเพาะนำชื้อมาปรับปริมาณให้ได้เทียบเท่ากับ 0.5 Mc Farland standard (1-2x10^8 CFU/มล.) ด้วยอาหาร THCK

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี agar diffusion เตรียมจานอาหารทดสอบ BA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร วางไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง ป้ายหัวเชื้อทดสอบที่เตรียม จากข้อ 3.4.1 ลงในแต่ละจานอาหารทดสอบ เจาะเนื้อวุ้นอาหารทดสอบให้เกิดเป็นรูตรงกลางและเติมตัวอย่างสารทดสอบ ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม กระทำการทดสอบเช่นเดียวกันนี้กับกลุ่มควบคุม และอาหารทดสอบ BA บ่มเพาะจานอาหาร ทดสอบดังกล่าวตามสภาวะเดียวกับที่ระบุไว้ในหัวข้อการเตรียมหัวเชื้อทดสอบ (3.4.1) ตรวจสอบและบันทึกผลทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของตัวอย่างทดสอบ อ่านผลความแรงต้านเชื้อทดสอบของตัวอย่างทดสอบ โดยวัดขนาดความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (หน่วย: มิลลิเมตร)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เมื่อต้องการเปรียบเทียบจะเทียบโดย T-test

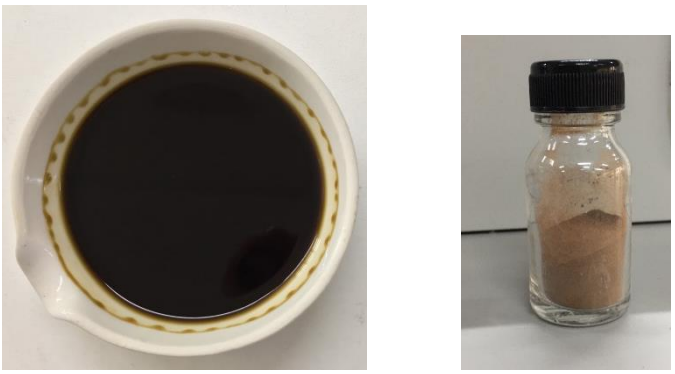
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการนำเปลือกต้นสะตอ มาทำการสกัดด้วยวิธีการสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอล จากนั้นนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator และนำสารสกัดที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ มีผลการทดสอบเป็นดังนี้

4.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ

นำตัวอย่างเปลือกสะตอที่สด ล้างให้สะอาด และนำมาอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน หรือจนกว่า เปลือกสะตอจะแห้งสนิท บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำส่วนที่บดละเอียดมา 500 กรัม นำตัวอย่างมาสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 5000 มิลลิลิตร โดยใช้วิธีการแช่หมักในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการเขย่าทุกวัน เช้า-เย็น หลังจากนั้น ทำการกรองสารละลายของแต่ละตัวอย่างด้วยกรวยแก้วและกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) พบว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่สกัดด้วยเอทานอล ได้น้ำหนักหลังสกัด คือ 50.528 กรัม คิดเป็น %Yield คือ 11.06 แล้วเก็บสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอต่อไป



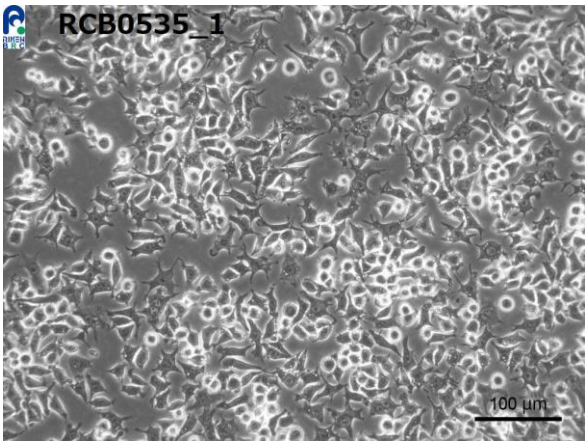
ภาพที่ 4.1 สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ได้ภายหลังการสกัดด้วยเอทานอล

4.2 ศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล

4.2.1 ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ

4.2.1.1 การเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

หลังจากเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ผ่านการเลี้ยงและทำให้เซลล์อยู่ในลักษณะแขวนลอย ตามข้อ 3.2.1.1 จนได้เซลล์ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ลักษณะเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7

(ที่มา https://cellbank.brc.riken.jp/cell_bank/CellInfo/?cellNo=RCB0535 สืบค้นเมื่อ 25 สิงหาคม 65)

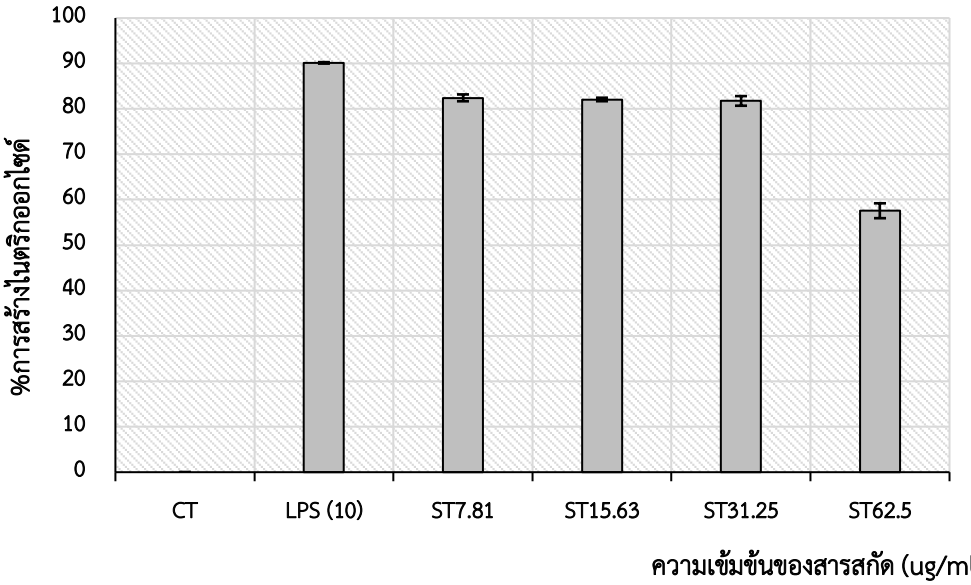
4.2.1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Griess's reagent assay (Kim et al., 2004)

เมื่อบ่มตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้น 7.81, 15.63 , 31.25 และ 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ RAW 264.7 นาน 24 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างไนตริกออกไซด์ด้วยวิธี Griess's reagent assay ความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์แสดงดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3 โดยกลุ่มควบคุมหมายถึง เซลล์ปกติที่ไม่ได้รับตัวอย่างทดสอบใดๆ (คิดเป็น 0 เปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์) กลุ่มควบคุมเชิงบวก คือ เซลล์ที่ได้รับสารละลาย LPS เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 5.68±0.16 ไมโครโมลาร์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์เท่ากับ 90.13±0.16 เปอร์เซ็นต์ และเซลล์ในการทดสอบที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 7.81 และ 15.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้มาก

ที่สุดคิดเป็น 82.43±0.75 และ 82.07±0.38 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสะตอทำให้มีการสร้างของไนตริกออกไซด์ลดลงเหลือ 57.57 ± 1.64 เปอร์เซ็นต์ และเนื่องจากการสร้างไนตริกออกไซด์จะแปรผันตรงกับฤทธิ์การอักเสบ ดังนั้น เมื่อมีการสร้างไนตริกออกไซด์ลดลงจะส่งผลให้มีการอักเสบลดลงเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืดต่อการสร้างไนตริกออกไซด์โดยสารสกัดใบรางจืดที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดการสร้างไนตริกออกไซด์ได้ 36.81 เปอร์เซ็นต์, 46.91 เปอร์เซ็นต์ และ 61.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (สันติ โพธิ์ศรี และคณะ, 2008) ขณะที่ พงศ์ปณต ร่วมแก้ว และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในสารสกัดใบหมีเหม็น (MLE) พบว่า ที่ขนาดความเข้มข้นของสารสกัด 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดใบหมีเหม็นสามารถ ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถยับยั้งได้ 26.64 เปอร์เซ็นต์, 31.30 เปอร์เซ็นต์, 32.66 เปอร์เซ็นต์, 37.15 เปอร์เซ็นต์ และ 53.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์ RAW 264.7 เมื่อผ่านการทดสอบ

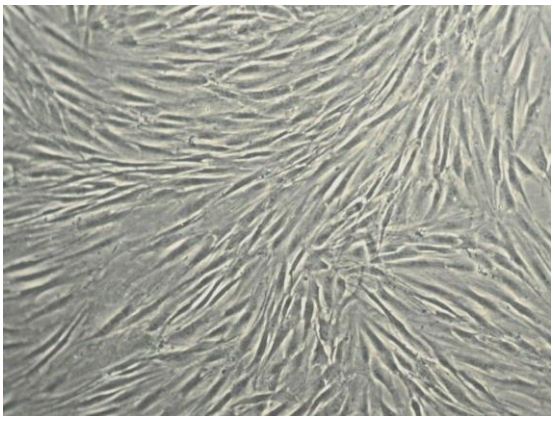
ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ไนตริกออกไซด์ (ไมโครโมลาร์)**	**การสร้างไนตริกออกไซด์ (%)**
กลุ่มควบคุม	0.56 ± 0.14	-
LPS (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	5.68 ± 0.16	90.13 ± 0.16
7.81	3.19 ± 1.14	82.43 ± 0.75
15.63	3.13 ± 0.07	82.07 ± 0.38
31.25	3.07 ± 0.18	81.75 ± 1.06
62.50	1.32 ± 0.13	57.57 ± 1.64



ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์ RAW 264.7 เมื่อผ่านการทดสอบ

4.2.1.3 การเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ (primary filbroblast)

หลังจากเลี้ยงเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ ที่ผ่านการเลี้ยงและตรวจสอบการเติบโตของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับปรากฏลักษณะของเซลล์ ตามข้อ 3.2.1.3 ดังแสดงในภาพที่ 4.4

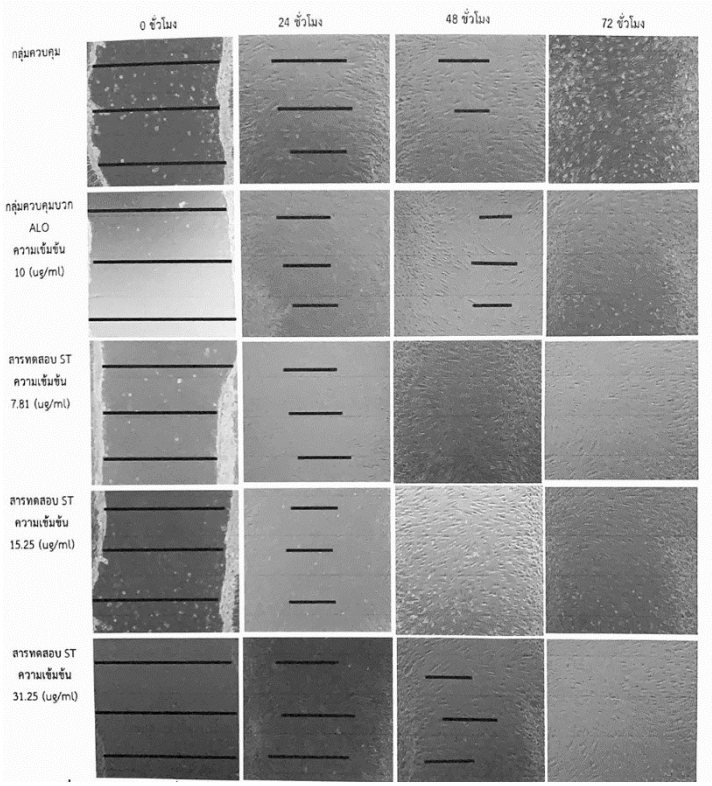


ภาพที่ 4.4 ลักษณะเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์

(ที่มา https://www.phenion.com/products/primary-human-skin-cells สืบค้นเมื่อ 25 สิงหาคม 65)

4.2.1.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การสมานผิวของเซลล์ผิวหนัง (wound healing)

ผลการทดสอบฤทธิ์สมานผิวของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ต่อการทดสอบสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 7.81, 15.62 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบระยะของช่องว่างและคำนวณอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ที่เคลื่อนเข้าหากัน (rate of cell migration) พบว่าที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์มากที่สุด (ภาพที่ 4.5) และสอดคล้องกับค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์สมานผิวดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 7.81 และ 15.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์และค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ กลุ่มควบคุมเชิงบวก (ALO) ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์และค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิวอยู่ที่ 31.58±2.54 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 7.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการสมานแผลได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเดียวกัน (24 และ 48 ชั่วโมง) (ตารางที่ 4.2-4.3)



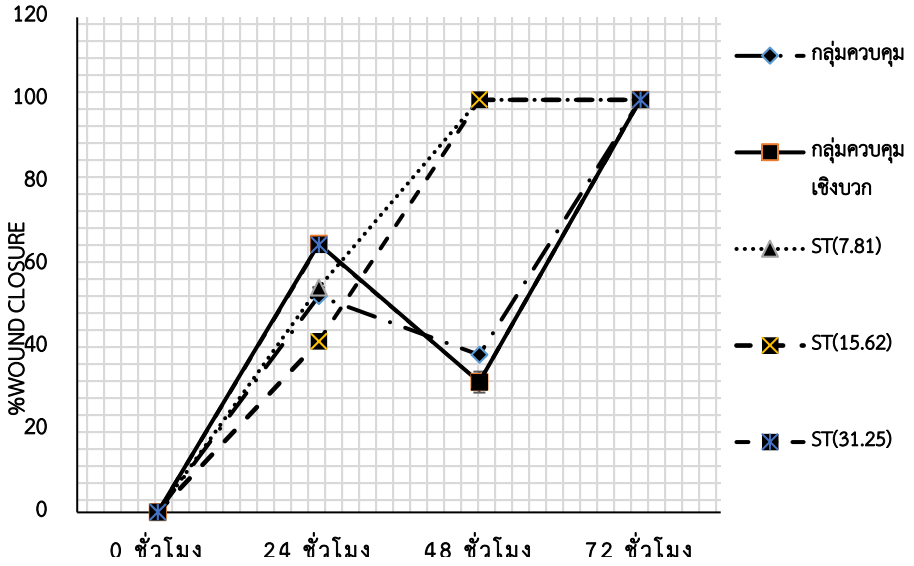
ภาพที่ 4.5 การเคลื่อนที่ของเซลล์ที่เคลื่อนเข้าหากันของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์

ตารางที่ 4.2 ค่าความสัมพันธ์ของอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ (ไมโครเมตร/ชั่วโมง) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

กลุ่มและตัวอย่างทดสอบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	อัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ต่อชั่วโมง			
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0.000	0.022	0.007	0.000
กลุ่มควบคุมเชิงบวก	0.000	0.027	0.006	0.000
ความเข้มข้นของตัวอย่างของสารสกัดเปลือกสะตอ				
7.81	0.000	0.023	0.000	0.000
15.62	0.000	0.017	0.000	0.000
31.25	0.000	0.027	0.006	0.000

ตารางที่ 4.3 ค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

กลุ่มและตัวอย่างทดสอบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure)			
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	0.00±0.11	52.41±0.01	38.22±0.10	100.00±0.00
กลุ่มควบคุมเชิงบวก	0.00±0.11	65.03±1.00	31.58±2.54	100.00±0.00
ความเข้มข้นของตัวอย่างของสารสกัดเปลือกสะตอ				
7.81	0.00±0.11	54.50±0.14	100.00±0.00	100.00±0.00
15.62	0.00±0.11	41.37±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
31.25	0.00±0.11	64.84±1.10	31.57±2.90	100.00±0.00

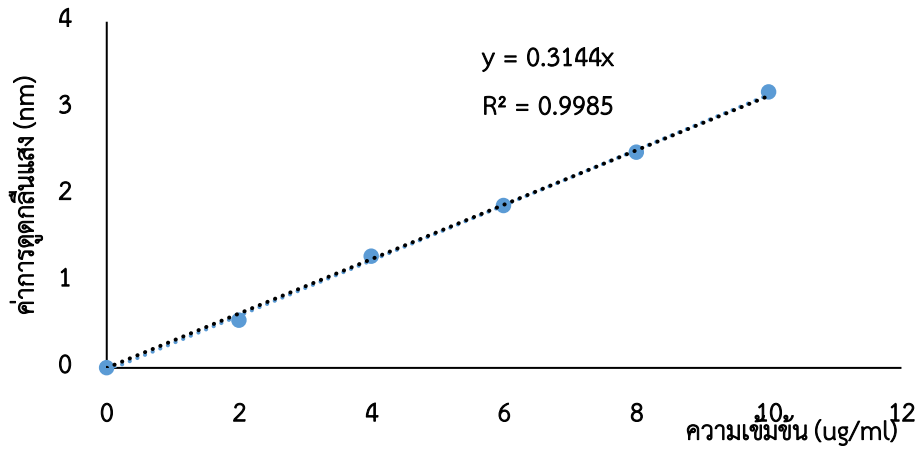


ภาพที่ 4.6 ค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) กับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

4.2.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมตามวิธีของ Folin-Ciocalteau method (Torres และคณะ, 1987) โดยการนำสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 1N Folin-Ciocalteau's phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 nm โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid (0 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งรายงานเป็นหน่วย มิลลิกรัมของแกลลิค/กรัม ต่อสารสกัด) ซึ่งผลของการหาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน คือ 0, 0.544, 1.284, 1.871, 2.487 และ 3.183 นาโนเมตร ตามลำดับ จะได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี liner regression equation ของกราฟมาตรฐาน คือ y = 0.3144x และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.9985 (ภาพที่ 4.7) โดยเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกสะตอมาทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม โดยใช้ 0.1 มิลลิลิตร พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 69.175±3.633 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมของส่วนสกัด



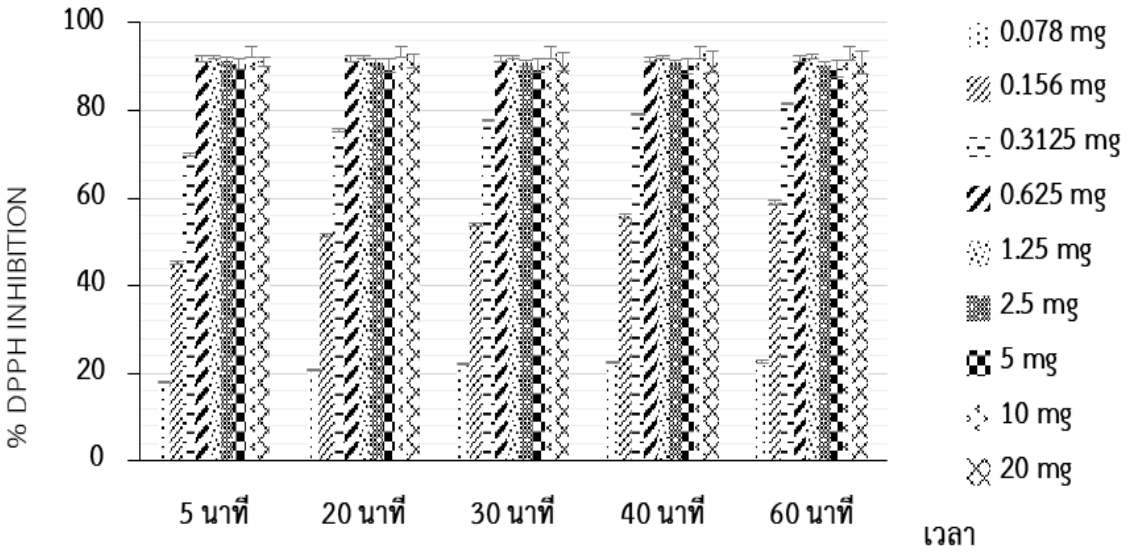
ภาพที่ 4.7 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิคในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

4.2.2.2 ผลการทดสอบสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

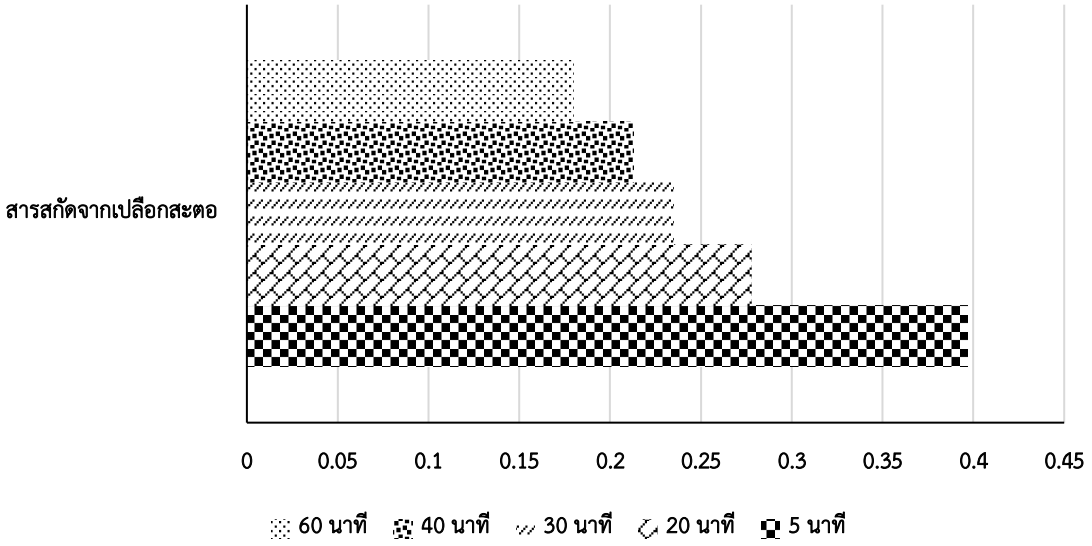
การวิเคราะห์ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยนำสารตัวอย่าง ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงในคิวเวต จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Methanol 2.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น blank จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกสะตอ โดยแสดงปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลง 50% (IC_{50}, 50% of inhibitory concentration) ซึ่งในการวิจัยนี้ใช้ trolox เป็นตัวควบคุมเชิงบวกในการทดสอบใช้ DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น (Prapairat และคณะ, 2011) โดยการทดสอบนี้เป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระภายนอกเซลล์ ซึ่งสาร DPPH จะมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และเมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สีม่วงจางลงเป็นสีเหลืองนวลดังสมการ (บุหรัน พันธุ์สุวรรค์, 2556)

$$DPPH^{\bullet} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.078, 0.156, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 5, 20, 30, 40 และ 60 นาที โดยแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) ดังแสดงในภาพที่ 4.8 พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ของเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.625 – 20.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่เวลา 5 นาที เป็นต้นไป (ภาพที่ 4.8) โดยเมื่อนำผลการทดสอบดังกล่าวมาแสดงสมบัติการยับยั้ง (IC_{50}) ที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที พบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 0.397 0.278 0.245 0.213 และ 0.188 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9)



ภาพที่ 4.8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) ของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) ของสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity) ด้วยวิธี Enzymatic assay โดยประยุกต์ตามวิธีของ Muddathir et.al. (2017)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซมีไทโรซิเนส ด้วยวิธี Enzymatic assay การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Enzymatic assay โดยใช้ Koji acid เป็นสารมาตรฐาน (กลุ่มควบคุมเชิงบวก) ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่าง ST ที่ความเข้มข้น 0.0001 0.0010, 0.0100, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับร้อยละ 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 และ 88.234 ± 0.003 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารมาตรฐาน (กลุ่มควบคุมเชิงบวก) Kojic acid ที่ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 83.887 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงมากเมื่อเทียบกับสารควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถึงประมาณ 1000 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นการยับยั้ง Enzyme Tyrosinase ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ

Sample	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นการยับยั้ง Enzyme Tyrosinase
Tyrosinase inhibitor (Kojic acid)	1.42	83.887 ± 0.001
สารสกัดจากเปลือกสะตอ	0.0001	89.983 ± 0.010
	0.0010	88.916 ± 0.003
	0.0100	87.858 ± 0.001
	0.1000	86.323 ± 0.002
	1.0000	88.234 ± 0.003

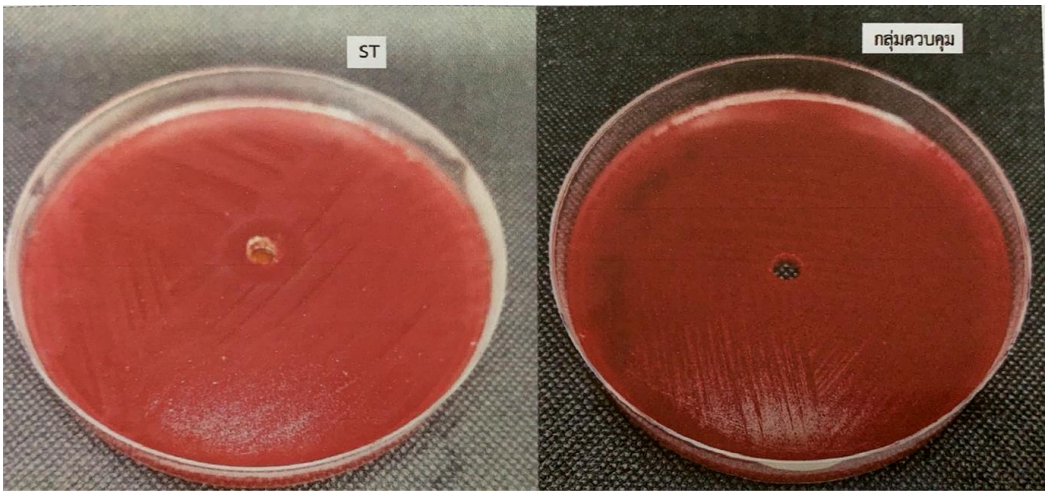
4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P.acnes* DMST 14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 0.8 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม ด้วยวิธี agar diffusion โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative Control) และกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Possitive Control) คือ Clindamycin ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร/หลุม และอาหารทดสอบ BA บ่มเพาะจานอาหาร อ่านผลความแรงต้านเชื้อทดสอบของตัวอย่างทดสอบ โดยวัดขนาดความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (หน่วย: มิลลิเมตร) พบว่า การสร้างโซนใสต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P.acnes* DMST 14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 8.66 ± 0.17 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.10) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Possitive Control) คือ Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 30.04 ± 0.40 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.11)

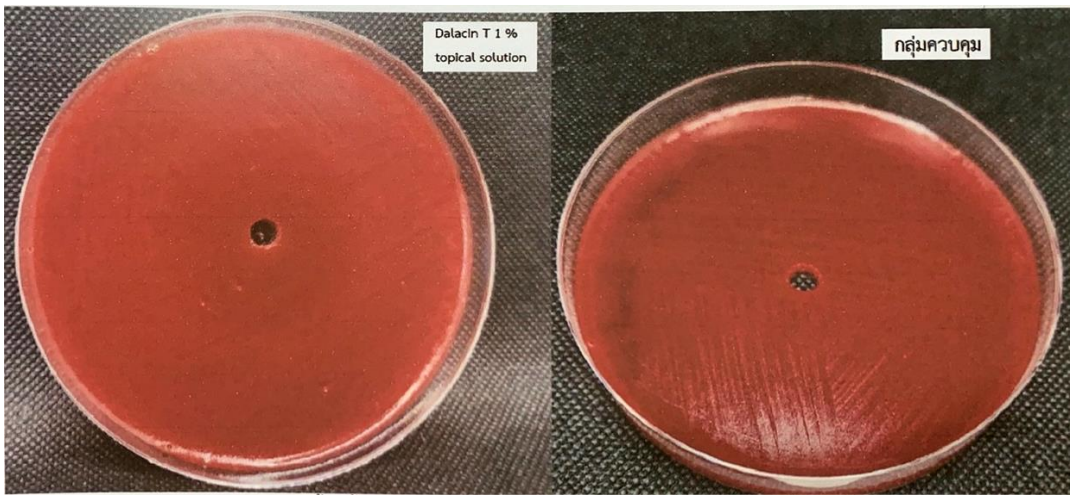
ตารางที่ 4.5 ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสของสารสกัดจากเปลือกสะตอ กลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative Control) และกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Possitive Control) คือ Clindamycin ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P.acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี agar diffusion

ตัวอย่างทดสอบ	**ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสในการต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P.acnes* DMST 14916 (มิลลิเมตร) ***
กลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative Control)	0.00 ± 0.00
สารสกัดจากเปลือกสะตอ	8.66 ± 0.17
กลุ่มควบคุมเชิงบวก (Possitive Control)	30.04 ± 0.40

หมายเหตุ : * ความกว้างของโซนใสแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อน



ภาพที่ 4.10 บริเวณโซนใสในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes* DMST 14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มความคุมเชิงลบ



ภาพที่ 4.11 บริเวณโซนใสในการยับยั้งเชื้อ *P.acnes* DMST 14916 กลุ่มควบคุม (Possitive Control) คือ Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มความคุมเชิงลบ

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากวัตถุประสงค์ของการวิจัย เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกสะตอ เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกสะตอ และเพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ โดยสรุปและข้อเสนอแนะดังนี้

5.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกสะตอ

ผลการศึกษาพบว่า จากการนำเปลือกสะตอที่ผ่านการอบและบดเป็นผงมา 500 กรัม นำตัวอย่างมาสกัดต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 5000 มิลลิลิตร ได้น้ำหนักหลังสกัด คือ 50.528 กรัม คิดเป็น %Yield คือ 11.06 แล้วเก็บสารสกัดหยาบที่ได้เพื่อฤทธิ์ต้านการอักเสบ การสมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อสิว Propionibacterium acnes ของสารสกัดจากเปลือกสะตอต่อไป

5.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการสมานแผล

5.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ ด้วยวิธี Griess's reagent assay

พบว่า เซลล์ในการทดสอบที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 7.81 และ 15.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้มากที่สุดคิดเป็น 82.43 $\pm$ 0.75 และ 82.07 $\pm$ 0.38 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสะตอทำให้มีการสร้างของไนตริกออกไซด์ลดลงเหลือ 57.57 $\pm$ 1.64 เปอร์เซ็นต์ และเนื่องจากการสร้างไนตริกออกไซด์จะแปรผันตรงกับฤทธิ์การอักเสบ ดังนั้น เมื่อมีการสร้างไนตริกออกไซด์ลดลงจะส่งผลให้มีการอักเสบลดลงเช่นเดียวกัน

5.2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การสมานผิวของเซลล์ผิวหนัง

ผลการทดสอบฤทธิ์สมานผิวของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ต่อการทดสอบสารสกัดจากเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 7.81, 15.62 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบระยะของช่องว่างและคำนวณอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ที่เคลื่อนเข้าหากัน (rate of cell migration) พบว่าที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์มากที่สุด และสอดคล้องกับค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิว (%wound closure) ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์สมานผิวดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 7.81 และ 15.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์และค่าเปอร์เซ็นต์การสมานผิวเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

5.2.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดจากเปลือกสะตอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 69.175±3.633 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมของส่วนสกัด จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกสะตอที่ความเข้มข้น 0.078 0.156 0.3125 0.625 1.25 2.5 5.0 10.0 และ 20.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที โดยแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH (%DPPH inhibition) พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ของเปลือกสะตอที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.625 – 20.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่เวลา 5 นาที เป็นต้นไป (ภาพที่ 4.8) โดยเมื่อนำผลการทดสอบดังกล่าวมาแสดงสมบัติการยับยั้ง (IC_{50}) ที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที พบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 0.397 0.278 0.245 0.213 และ 0.188 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

5.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity)

ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่าง ST ที่ความเข้มข้น 0.0001 0.0010, 0.0100, 0.1000 และ 1.0000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ไทโรซิเนส เท่ากับร้อยละ 89.983 ± 0.010, 88.916 ± 0.003, 87.858 ± 0.001, 86.323 ± 0.002 และ 88.234 ± 0.003 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสาร มาตรฐาน (กลุ่มควบคุมเชิงบวก)

Kojic acid ที่ความเข้มข้น 1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 83.887 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* DMST 14916 ด้วยวิธี Agar diffusion technique

การสร้างโซนใสต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P.acnes* DMST 14916 ของสารสกัดจากเปลือกสะตอ ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 8.66 ± 0.17 มิลลิเมตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Possitive Control) คือ Clindamycin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 30.04 ± 0.40 มิลลิเมตร

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *P. acnes* แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกสะตอ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการอักเสบที่ดี โดยมีสาระสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ และมีความสามารถในการสมานแผลในระดับดี อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในสารสกัดจากเปลือกสะตอเพิ่มเติม เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาและพัฒนาสารสกัดหรือสารสำคัญจากสารสกัดจากเปลือกสะตอเพื่อนำมาเป็นส่วนผสมสำคัญในเครื่องสำอางในอนาคตได้

5.5 ข้อเสนอแนะ

1. ระยะเวลาในการทำวิจัยค่อนข้างสั้น และงบประมาณค่อนข้างน้อย จึงทำให้ยังขาดผลการวิจัยบางส่วนที่จะสนับสนุนการพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากเปลือกสะตอได้

2. ในงานวิจัยต่อยอดจะนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแล้วนำไปทดสอบหาปริมาณสารปนเปื้อนต่างๆ และเข้าสู่กระบวนการทดสอบอาการแพ้ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่นำออกสู่ท้องตลาดต่อไป

บรรณานุกรม

ขวัญใจ แซ่ลิ่ม. (2552:5). ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสะตอ วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

จินตนา จุลทรรศน์ ปิยะพร ทรจักร์ และกัญญารัตน์ เป็งงาเมือง.(2018). ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของสารสกัดผลหนามแท่ง. Journal of Traditional Thai Medical Research Vol.4 No.2 (July-December 2018). 57-65

นิสาพร มูหะมัด. (2564). การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกสะตอ. รายงานวิจัย คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 47 หน้า.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2544). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). การตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนีความเครียดออกซิเดชัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21(3), 276-284.

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2528). เทคนิคทางเคมี. มหาสารคาม: ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ มหาสารคาม.

ปิยตา อารี และ วิชนี มีโต. (2557). การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก (*Mangiferaindica Linn.*). ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ* ครั้งที่ 1 (The 1st RUSNC). พระนครศรีอยุธยา หันตรา.

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย ทิพวรรณ ผาสกุล และราตรี มงคลไทย. (2554). เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 42(2) (พิเศษ), 385-388.

พงศ์ปณต ร่วมแก้ว นาฏศจี นวลแก้ว และปราโมทย์ มหคุณากร (2016) การศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและสมานแผลของสารสกัดใบหมีเหม็น. The national and international graduate research conference 2016. Graduate School Khon Kaen University, Thailand and Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Indonesia. 751-761

มธุกร สายนาคา และ วรัญญา เนียมขา. (2020). ฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อการชะลอวัย. Science and Technology RMUTT Journal. Vol.10 No.1 (2020) : 170-182

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และ ทรงพร จึงมั่นคง. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 8(2), 76-88.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วาทินี เสล่าราษฎร์. (2559). การสกัด การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรียของทุเรียนเทศ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา

วิยดา กวานเหียน และ กิ่งกาญจน์ บรรลือพืช (2018). ความเป็นพิษต่อเซลล์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาห้ารากที่สกัดด้วยน้ำ. วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช. Vol. 37 Special Issues June – August 2018. 27-38

วรพร ศีลศร. (2554). การเตรียมสารสกัดมาตรฐานกล้วยไม้หวายม่วงแดงเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

สุนันต์ ใจสมุทร, จินตนา จุลทัศน์ และ อรพรรณ ใจสมุทร (2564). การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบบัวบกในเซลล์แมคโครฟาจ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มรย. ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2564. 137-144

สันติ โพธิ์ศรี ปราโมทย์ มหคุณากร และอัจฉรา ศรีสดใส. (2008).ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืด: ผลต่อการสร้าง nitric oxide และ prostaglandin E2 ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7). การประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 10. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุวดี โพธิ์วิจิตร ปิยานี รัตนชานอง อุดมลักษณ์ มาตย์สถิตย์ และ วีระศักดิ์ อัศววงศ์อารยะ. (2019). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยพื้นบ้านสะค้านและมะแขว่นในเขตท้องถิ่นภาคเหนือ. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi, 18(1),* 25-39.

Ayub Ali, K. Victoria Chanu, and L. Inaotombi Devi, (2011) “ Antioxidant capacities of vegetables consumed in north east India assessed by three different in vitro

assays," International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, vol. 2, no. 2, pp. 118–123

Hasim, Faridah DN, Kurniawati DA. (2015). Antibacterial activity of *Perkia speciosa* Hassk. Peel to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria Journal of Chem. Pharma Res 7: 239-243.

Liliwirianis, N. L.W.Musa,W. Z.W. M. Zain, J. Kassim, and S. A. Karim, (2011) "Preliminary studies on phytochemical screening of ulam and fruit from Malaysia," E-Journal of Chemistry, vol. 8, no. 1, pp. S285–S288

Maisuthisakul P., S. Pasuk, and P. Ritthiruangdej (2008) Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants," Journal of Food Composition and Analysis, vol. 21, no. 3, pp. 229–240

Mah S.H. Teh S.S. and Ee G.C. (2017). Anti inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sida rhombifolia*. *Pharm Biol.* 55(1), 920-928.

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. (2009). Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14(6), 2167- 2180.

Suchanuch Wonghirundecha, Soottawat Beniakul, Punnanee Sumpavapol, (2014). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of stink bean (*Parkia speciosa* Hassk.) pod extacts. Songklanakarin Journal of Science and Technology; 36 (3):301-8

Tunsaringkarn T., S. Soogarun, A. Rungsiyothin, and A. Palasuwan, (2012) " Inhibitory activity of Heinz body induction in vitro antioxidant model and tannin concentration of Thai mimosaceous plant extracts," Journal of Medicinal Plants Research, vol.6, no. 24, pp. 4096–4101

Yusof Kamisah, Faizah Othman, Hj Mohd Saad Qodriyah, and Kamsiah Jaarin. (2013). *Parkia speciosa* Hassk.: A Potential Phytomedicine. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2013

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวนิสาพร มูหะมัด

ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Nisaporn Muhamad

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางและความงาม สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทั่วไป (เคมี-ชีววิทยา)) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

ปริญญาเอก ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- ชีวเคมีทางด้านพืช
- เอนไซม์และโปรตีน
- การสกัดสารจากธรรมชาติ
- กระบวนการบำบัดน้ำเสียโดยวิธีชีวภาพ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกสะตอ (2564) งบบำรุงการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินสำหรับการตั้งตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส (2563) งบบำรุงการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
- การกำจัดสีย้อมโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพและการดูดซับจากเปลือกกล้วยหิน (2560) งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวอุบล ตันสม

ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Ubol Tansom

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรเคมี สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี การศึกษาบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สงขลา

ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ชีวเคมี)

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- พลังงานทดแทนแก๊สชีวภาพ
- การสกัด น้ำมันหอมระเหย
- ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดคำแสด

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

2553 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาหลา

2553 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเห็ดนางฟ้า เห็ดนางรมและเห็ดฟาง

2554 การวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในดอกดาหลา

2555 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์

2557 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดคำแสด

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย

   ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Piyasiri Soontornnon Sinchai

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรวิทยาศาสตร์ทั่วไป สาขาวิชาเคมี
   คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี ปริญญาตรี (วท.บ.เคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จ.สงขลา

ปริญญาโท ปริญญาโท (วท.ม. ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จ.สงขลา

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   - การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   2551 สารต้านอนุมูลอิสระในดอกดาหลา

   2553 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาหลา

   2554 การวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในดอกดาหลา

   2555 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากผลพิลังกาสา

   2556 การผลิตถ่านเชื้อเพลิงอัดแท่งจากเศษผักผลไม้

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นายลิขิต ลาเต๊ะ

   ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Likit Lateh

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม สาขาวิชาเคมี
   คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

   ปริญญาเอก ปรด. (เภสัชศาสตร์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (รออนุมัติจบ)

   ปริญญาโท วท.ม. (เภสัชศาสตร์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

   ปริญญาตรี วท.บ. (วิทยาศาสตร์ เคมี-ชีวิทยา) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   - เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
   - การควบคุมมาตรฐานสมุนไพร (active constituent-rich herbal extracts)
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์และการต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่น

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   -

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นางวรรณกัษมา ฮารน

ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Wankassama Haron

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางและความงาม
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี 1	วท.บ. (เคมี) มหาวิทยาลัยทักษิณ
ปริญญาตรี 2	ร.บ. (ทฤษฎีและเทคนิคทางรัฐศาสตร์) มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
ปริญญาโท	วท.ม. (เคมี) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ปริญญาเอก	ปร.ด. (เคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

เคมี, เคมีอินทรีย์, เคมีสิ่งแวดล้อม และวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : การกำจัดโลหะหนักมีพิษในน้ำโดยใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นตัวดูดซับ

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. การกำจัดโลหะหนักมีพิษในน้ำโดยใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นตัวดูดซับ. ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนบำรุงการศึกษา สถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนใต้ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ปีงบประมาณ 2561. (สัดส่วนการมีส่วนร่วม : ร้อยละ 70)

2. การสังเคราะห์และวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของสารประกอบนาโนออกไซด์ของนิกเกิล (NiO – general oxide, $LaNiO_3$ –perovskite และ $NiAl_2O_4$ – spinel) เพื่อนำไปใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนักมีพิษในน้ำ. ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2562 มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. (สัดส่วนการมีส่วนร่วม : ร้อยละ 100)

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาววารุณี หะยีมะสาและ

   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Warunee Hajimasalaeh

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรชีวเทคโนโลยีและนวัตกรรม

   สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

   ปริญญาตรี วท.บ. (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์น้ำ) มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

   ปริญญาโท วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

   ปริญญาเอก ปร.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   เทคนิคทางชีวโมเลกุล พันธุวิศวกรรม เทคนิคทางภูมิคุ้มกัน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสัตว์

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

   6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : การตรวจสอบการปนเปื้อน *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยแครงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี

   6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

   - ความปลอดภัยจากแบคทีเรียก่อโรคสกุล Vibrio ในหอยแครง (Anadara granosa) บริเวณอ่าวปัตตานี (2560)

   - การรับประทานหอยพอกอย่างปลอดภัย (2563)

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย)..... ลดาวัลย์ คงศรีจันทร์....

   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)... Ladawan Khongsrichan

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางและความงาม
   สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ประวัติการศึกษา

- ปริญญาเอก ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ -
  ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

   - เคมี
   - เคมีเชิงฟิสิกส์
   - กระบวนการดูดซับ

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

   6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : -

   6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว