



## รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของปาล์มสาคุ

Anti-tyrosinase Activity of Sago palm (*Metroxylon sagu* Rott.)

นางชฎาพร เกลียงจันทร์

Chadaporn Kleangjan

นางสาวสุวรรณ ผลใหม่

Suwanna Ponmai

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2560

## ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของปาล์มสาคุ

ชฎาพร เกลี้ยงจันทร์<sup>1</sup> สุวรรณ ผลใหม่<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในปาล์มสาคุ ซึ่งเป็นพืชที่มีบทบาทสำคัญในฐานะพืชหลักในพืชที่ชุ่มน้ำและป่าพรุทางภาคใต้ ภูมิปัญญาชาวบ้านในอดีตนิยมนำยางสาคุมาทาหน้าหลังฤดูเก็บเกี่ยวเพื่อรักษาผ้า จากการศึกษพบว่า การนำยางสาคุมาสกัดโดยการแช่และคนด้วยแท่งแม่เหล็กในน้ำ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง วัดหาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง เทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid สารสกัดจากยางสาคุมี % Tyrosinase inhibitory activity เท่ากับ  $98.81 \pm 1.03$  mg./ml. ที่ความเข้มข้น  $10 \mu\text{l}$  จากผลการศึกษาพบว่า มียางสาคุมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี จากนั้นนำมาพัฒนา เป็นผลิตภัณฑ์โดยการพัฒนาสูตรตำรับ ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและความคงตัว คัดเลือก สูตรตำรับที่ดีที่สุด จากสูตรตำรับ 5 สูตร ทำการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น และการประเมินความพึงพอใจเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัครจำนวน 10 ราย เมื่อนำมา พัฒนาดำรับโลชั่นบำรุงผิวที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากยางสาคุ 1 % พบว่าผลิตภัณฑ์มีลักษณะทางกายภาพ และความคงตัวที่ดี ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวและได้รับความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับดี

คำสำคัญ: ปาล์มสาคุ, ยางสาคุ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

<sup>1</sup>อาจารย์ สาขาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

<sup>2</sup>อาจารย์ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

## Anti-tyrosinase activity of Sago Palm (*Metroxylon sagu* Rott.)

Chadaporn Kleangjan<sup>1</sup> Suwanna Ponmai<sup>2</sup>

This research aimed to study the antityrosinase activity of the sago palm. Which is an essential plant in the watlands and swamp forest in the southern part of Thailand. Traditionally, sago palm gum has been utilized to treat melisma after the harvest season. In this study, sago palm gum extracted by stirring with amagnetic bar in water for 5 hours. The tyrosinase inhibitory activity of the extracts was tested *in vitro* by monitoring the appearance of dopachrome, an intermediate in the melanogenesis process. The efficacy of sago palm gum extract was compared with kojic acid. The percentage of sago palm gum extract of tyrosinase inhibitory activity equalled  $98.81 \pm 1.03$   $\mu\text{g/ml}$  the substance concentration 10 mg of gum weight/ml. The cosmeceutical formulation for whitening was prepared by using the most stable lotion base selected from the 5 preparations and their physical properties and stability of formulation were investigated. The test for irritation in 10 volunteers was performed. As the result, the volunteers gave high satisfaction and the skin irritation was not observed for these products

*Keywords:* sago palm, sago palm gum, anti-tyrosinase

<sup>1</sup> Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology, Rajamongala University of Technology Srivijaya, Thungsong, Nakhonsithamarat.

<sup>2</sup> Science, Faculty of Science and Technology, Rajamongala University of Technology Srivijaya, Thungsong, Nakhonsithamarat.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณแผ่นดิน ปี 2560 เป็นการศึกษาพื้นฐานเพื่อศึกษาปาล์มสาคุเป็นพืชที่มีบทบาทสำคัญในพื้นที่ชุ่มน้ำและป่าพรุ ซึ่งพบได้มากทางภาคใต้ มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของปาล์มสาคุ การตั้งตำรับโลชั่นที่ผสมสารสกัดจากยางสาคุ ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์โลชั่นยางสาคุ และความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาการแพทย์แผนไทย และผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ตลอด ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุ่ล่วงได้ด้วยดีตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใยเป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ ย่อมเป็นผลจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ชฎาพร เกลี้ยงจันทร์  
สุวรรณา ผลใหม่  
กันยายน 2561



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	6
บทที่ 2 วิธีการดำเนินวิจัย	7
บทที่ 3 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	11
บทที่ 4 สรุปผลวิจัยและคำแนะนำ	15
บรรณานุกรม	16



## สารบัญตาราง

หน้า	
ตารางที่ 1 แสดงการกำหนดค่าการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง	10
ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดยางสาकु	11
ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของโลชั่นจากยางสาकु	12
ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์	15

## สารบัญรูป

หน้า	
รูปที่ 1 โครงสร้างผิวหนัง	3



## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปาล์มสาคุ เป็นพืชที่มีบทบาทสำคัญในฐานะพืชหลักในพืชที่ชุ่มน้ำและป่าพรุ พบมากตั้งแต่จังหวัดชุมพรถึงจังหวัดนราธิวาส (นิพนธ์, 2550) พบมากที่จังหวัดนราธิวาส นครศรีธรรมราช ปัตตานี พัทลุง และตรัง ปาล์มสาคุ (ธนิตย์, 2545) ปาล์มสาคุเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ภายในลำต้นจะมีแบ่งเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 40 นอกจากคุณผลผลิตทางอาหารของปาล์มสาคุที่มีค่ามหาศาลแล้วนั้น ภูมิปัญญาชาวบ้านในอดีตยังนิยมนำมาทาหน้าหลังฤดูเก็บเกี่ยวเพื่อรักษาผิวหนัง ส่วนรากแขนงนำมาเป็นยาพื้นบ้านรักษาอาการปวดศีรษะ ผลสาคุช่วยลดความดันโลหิตสูงและเชื่อกันว่าบรรเทาอาการเบาหวานได้ (เสาวภา อักษรเนียม, 2548) ซึ่งจุดประสงค์ในการวิจัยในครั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการหาเส้นทางใช้ประโยชน์พืชชนิดนี้ว่าสามารถนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางป้องกันรักษาฝ้าจุดต่างดำได้หรือไม่

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีความนิยมในหมู่ผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย ผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาวมักใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเมลานิน เช่น สารทำให้ผิวขาว (whitening agents) เพื่อทำให้ผิวหนังบริเวณที่ได้รับสารชนิดนี้มีความขาวขึ้นหรือทำให้สีผิวอ่อนลง ตัวอย่างสารเคมีที่ยับยั้งการสร้างเมลานิน ได้แก่สารประกอบของปรอท (mercury compounds) และไฮโดรควิโนน (hydroquinone) สารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase แต่อาจเป็นอันตรายต่อผิว และระบบอื่นๆของร่างกาย ทั้งนี้กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศห้ามใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง (อรลักษณ์, 2554) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทางการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากปาล์มสาคุ หากพบว่าสารสกัดจากปาล์มสาคุมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ จะได้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในผลิตภัณฑ์เพื่อบำรุงผิวขาวต่อไป

### 1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. พืชที่ใช้ในการวิจัย

พืชที่นำมาใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้ คือ ปาล์มสาคุ ซึ่งมีลักษณะสรรพคุณ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Metroxylon sago</i> Rottb
ชื่อวงศ์	Palmae
ชื่อสามัญ	Sago palm
ชื่อท้องถิ่น	สาคุ

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

สาคุมีลำต้นสูงประมาณ 8 – 10 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 18 นิ้ว ใบมีรูปร่างคล้ายขนนก มีความยาว 5-7 เมตร มีใบย่อยประมาณ 100 คู่ ใบย่อยมีความยาว 0.5-1.6 เมตร กว้าง 3-6 เซนติเมตร มีหนามเล็กๆ อยู่บริเวณ ขอบใบ ก้านทางใบมีลักษณะแข็ง ใบสาคุคล้าย

ใบมะพร้าว แต่จะยาว หนา และแข็งกว่าใบย่อยมีมาก เรียงชิดกันเป็นระเบียบ ใบ เรียวแคบ ปลาย เรียวแหลม มีการเกิดใบเดือนละ 1 ใบ สาकुจะมีใบทั้งหมดประมาณ 18 ใบ (FAO, 1983) สาकुเริ่ม ออกดอกเมื่อ อายุประมาณ 8 ปี ช่อดอกออกที่ปลายยอด ลักษณะของช่อดอกแบบแผ่กระจายรูป สามเหลี่ยม สีน้ำตาล มีความยาวประมาณ 5 – 7 เมตร ดอกเป็นแบบมีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในลำต้นเดียวกัน (monoecious) แต่ละดอกมีเกสรตัวเมีย 3 ก้าน และเกสร ตัวผู้ 3 ก้าน มีโครโมโซมจำนวน 26 คู่ ผลของสาकुออกเป็นทะลาย คล้ายผลหลุมพี

ผลลักษณะกลมแบน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 – 4.5 เซนติเมตร สีน้ำตาลอมเหลือง เปลือกผลเป็นเกล็ดซ้อนกัน ผล มีรสหวานอมเปรี้ยวและฝาด ผลของสาकुจะแก่หลังจากติดดอก ประมาณ 2 ปี หลังจากนั้นต้นก็จะตาย (สุธิวงศ์ พงศ์ไพบูลย์และสมบุญ ณะสุข, 2542)

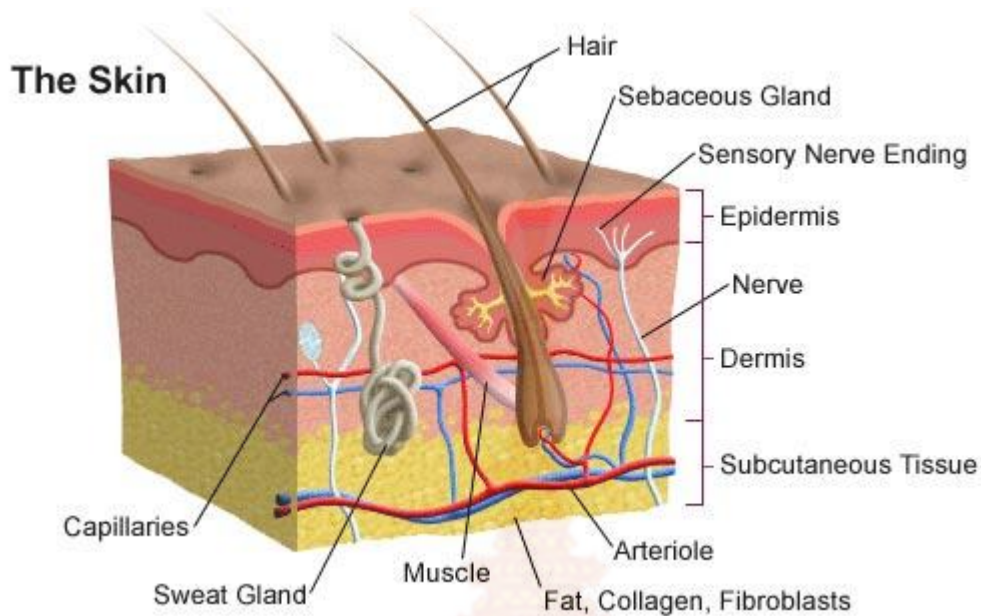
### **การใช้ประโยชน์จากสาकु**

ประชากรของชุมชนในพื้นที่ป่าพรุมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับป่าสาकुมาช้านาน มีความรู้และมองเห็นคุณค่าของสาकुอย่าง ลึกซึ้ง สาकुเป็นพืชที่ให้คุณประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อม เกี่ยวเนื่องกับวิถีชีวิตของผู้คนมายาวนาน เป็นพืชที่ใช้ได้สารพัด ประโยชน์ ชุมชนที่มีป่าสาकुจะรู้จัก วิธีการนำส่วนต่างๆ ของป่าสาकुมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในวิถีชีวิตเกือบทุกด้านจนกล่าว ได้ว่า สาकु คือพืชวัฒนธรรมมีความสำคัญต่อความเป็นอยู่ของประชากรในชุมชนนั้นๆ ทั้งทางด้าน อาหาร ยาสมุนไพร และวัฒนธรรมตลอดจนด้านศิลปกรรมในท้องถิ่น (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2542) สาकुจัดเป็นพืชสารพัดประโยชน์มาก ที่มีความสำคัญในระดับครอบครัวและทางด้านเศรษฐกิจ ได้แก่ การใช้ลำต้นเป็นอาหารสัตว์ ใช้เลี้ยงตัวงเป็นอาหาร และเป็น รายได้เสริม ใช้เนื้อในลำต้นมา สกัดทำแป้ง สำหรับทำขนมต่างๆ ส่วนเหลือจากการสกัดทำแป้งที่เป็นกากเนื้อในสาकुนำมาทำปุ๋ย เปลือกนอกของลำต้นใช้ทำเชื้อเพลิงในการประกอบอาหาร และนำมาทำฝาน้ำ หรือปูพื้น ใบสาकुเย็บ เป็นจากใช้ในการมุง หลังคาที่อยู่อาศัยและคอกสัตว์ เปลือกนอกของสาकुนำมาทำดอกสำหรับสานเสื่อ (นิพนธ์ ใจปลื้ม, 2549) และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่าเนื้อในลำต้นสาकुมีแป้งเป็น องค์ประกอบสูงถึง 82.71% โปรตีน 1.23% ไขมัน 0.13% เส้นใย 3.72% และเถ้า 2.57% (กล้า ณรงค์ และคณะ, 2542) ซึ่งแป้งจากสาकुจัดเป็นสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่สามารถให้พลังงานได้ เป็นอย่างดี

### **2. โครงสร้างผิวหนัง**

การที่ผิวหนังแต่ละส่วนจะทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์จำเป็นต้องมีโครงสร้างแต่ละส่วนที่ แข็งแรง ทำงานประสานงานกันอย่างมีประสิทธิภาพโดยผิวหนังมีโครงสร้างต่างๆ ที่สำคัญดังนี้





รูปที่ 1 โครงสร้างผิวหนัง

ที่มา; <http://student.mahidol.ac.th/>

- 2.1. ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) ชั้นหนังกำพร้า เป็นชั้นของเซลล์ที่ตายแล้ว และชั้นหนังกำพร้าที่ยังมีชีวิตอยู่ ผิวชั้นซีไคลเป็นชั้นนอกสุดของผิวหนังกำพร้า ลักษณะเป็นเซลล์แบนมีสี เรียงขนานกับผิว ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีกระบวนการเมทาบอลิซึม มีปริมาณความชื้นต่ำ มีส่วนประกอบหลัก คือเคราติน และไขมัน ความหนาประมาณ 10-20 ไมโครลิตร โดยความหนาจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความถี่ในการสัมผัสสิ่งแวดล้อม ผิวชั้นนี้จะมีการผลัดเปลี่ยนทุก 2-3 สัปดาห์ มีหน้าที่หลักคือเป็นตัวกีดกันอันตรายให้กับร่างกาย ป้องกันการสูญเสียน้ำให้กับร่างกายและป้องกันสิ่งแปลกปลอมจากภายนอก
- 2.2. ชั้นหนังแท้ (Dermis) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของร่างกายประกอบด้วยระบบเส้นเลือดฝอย ระบบประสาทรับความรู้สึกและระบบน้ำเหลือง ดังนั้นผิวหนังชั้นนี้จึงมีหน้าที่เป็นแหล่งให้สารอาหารแก่ผิวหนัง ควบคุมอุณหภูมิของร่างกายและตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจน ช่วยในการค้ำจุนโครงสร้าง และรองรับแรงจากภายนอก และเยื่อเกี่ยวพันอีลาสติก ช่วยให้ความยืดหยุ่น ในชั้นนี้จะมีเซลล์อยู่น้อยเมื่อเทียบกับเซลล์ชั้นหนังกำพร้า เซลล์ที่สำคัญได้แก่ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเซลล์สร้างสีผิว (melanocyte) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสีผิว (melanin) เป็นต้น
- 2.3. ชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous tissue, hypodermis) เป็นชั้นที่อยู่ลึกมากที่สุดมีหน้าที่ควบคุมความร้อนและเก็บพลังงาน ส่วนประกอบหลัก คือไขมันเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) และ macrophages

### 3. ปัญหา ร้อยหมองคล้ำบนใบหน้า

ปัญหาผิวพรรณความหมองคล้ำบนใบหน้า นับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญ เพราะใบหน้าเป็นบริเวณที่เกิดปัญหาได้ง่ายและเห็นชัดที่สุด ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการสัมผัสกับแสงแดดเป็นประจำเนื่องจากแสงแดดเป็นตัวกระตุ้นการผลิตเม็ดสีเมลานินมากกว่าปกติ ซึ่งปัญหาบนใบหน้าที่พบบ่อย ได้แก่ ปัญหาฝ้าและกระ

3.1 ฝ้า (melasma) ฝ้ามีลักษณะเป็นรอยปื้นสีน้ำตาลอ่อนจนถึงเข้มที่ปรากฏบนใบหน้า เกิดจากความผิดปกติของการสร้างสีผิวของผิวหนังบางแห่งและเป็นเฉพาะบางคนเท่านั้น ฝ้าเกิดได้หลายๆ บริเวณบนใบหน้า เนื่องจากผิวหนังที่หน้ามีเซลล์สร้างสีผิวมากกว่าบริเวณอื่น ๆ โดยเฉพาะโหนกแก้มและสันจมูกเป็นบริเวณที่มีฝ้าเกิดขึ้นได้บ่อย เนื่องจากเป็นบริเวณที่รับแสงแดดมากที่สุด ฝ้าพบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย มีปัจจัยหลายๆ อย่างที่ทำให้เป็นฝ้า เช่น แสงแดด ฮอร์โมน ยา รับประทาน เครื่องสำอาง การขาดสารอาหาร และพันธุกรรม (ปารยะ อาศนะเสน , 2551)

3.2 กระ (freckles or ephelides) กระเป็นรอยดำที่ผิวหนัง มีลักษณะเป็นจุดเล็กๆ กระกระจายทั่วไป มีขอบเขตชัดเจน ซึ่งต่างกับฝ้า เพราะมีลักษณะเป็นปื้นและขนาดใหญ่กว่า กระเกิดจากการที่เซลล์สร้างเม็ดสีมากขึ้นผิดปกติเมื่อถูกแสงแดดในช่วง UV-B ที่ได้สะสมมานาน มักเกิดในคนผิวขาวมากกว่าคนผิวดำ หากตากแดดเป็นประจำทำให้กระเพิ่มจำนวนมากขึ้นได้ นอกจากนี้ยังเชื่อกันว่ากระเป็นความผิดปกติของผิวสีบเนื่องจากกรรมพันธุ์ (วิไล ธารสารอักษร , 2546)

### 4. เม็ดสีผิวและการทดสอบการยับยั้งการสร้างเม็ดสีผิว

#### 4.1. เม็ดสีผิว (Melanin)

เม็ดสีผิว แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ยูเมลานิน (eumelanin) จะเป็นเม็ดสีสีน้ำตาล-ดำ คนเอเชียและคนที่ผิวคล้ำทั้งหลายจะมีเม็ดสีชนิดนี้ มากกว่าคนผิวขาว ชนิดที่สอง คือ พีโอเมลานิน (pheo-melanin) เป็นเม็ดสีแดงหรือสีเหลือง ในคนผิวขาวจะมีเม็ดสีนี้มากกว่าคนผิวดำ เม็ดสีเหล่านี้สร้างจากเซลล์ที่เรียกว่า melanocyte

Melanocyte เป็นเซลล์ที่พบกระจายอยู่ระหว่าง keratinocytes ของ stratum basal และ stratum spinosum และยังพบใน hair follicle และชั้นหนังแท้ด้วย เซลล์มีนิวเคลียสกลมขนาดเล็ก และมีแขนงของเซลล์ (dendritic processes) จำนวนมากยื่นออกไปอยู่ระหว่าง keratinocytes หน้าที่ของเซลล์นี้คือ สร้างเมลานินอยู่ใน melanosomes ซึ่งเป็น แกรนูลที่มีเยื่อหุ้ม (membrane-bound granules) ที่อยู่ในไซโทพลาซึมของเซลล์ ขบวนการสร้างเมลานินต้องอาศัยเอนไซม์ tyrosinase ถ้าขาดเอนไซม์ตัวนี้ไม่สามารถสร้างเมลานินได้ เรียกว่า albinism เมลานินที่สร้างขึ้นจะถูกส่งออกจาก melanocyte เข้าไปอยู่ใน keratinocyte และมีการสะสมกันมากขึ้นในที่สุดจะรวมกันกับไลโซโซม จึงทำให้ไม่พบเมลานินในเซลล์ชั้นบนของหนังกำพร้า จำนวนของ melanocytes ต่อหน่วยพื้นที่ไม่มีความแตกต่าง ในเพศหรือเชื้อชาติ ความแตกต่างของสีผิวในเพศหรือเชื้อชาติ ความแตกต่างของสีผิวในแต่ละเชื้อชาติขึ้นกับจำนวนและขนาดของ melanosomes

สีของผิวหนังเกิดจากปัจจัยที่สำคัญ 3 ประการ คือ สีน้ำตาลดำของเมลานินที่มีปริมาณแตกต่างกัน สีเหลืองส้มของแคโรทีนที่สะสมอยู่ใน stratum corneum และในเซลล์ไขมันของหนังแท้และชั้นใต้ผิวหนังนอกจากนี้ยังเกิดจากสีแดงของหลอดเลือดในเส้นเลือดที่อยู่ในชั้นหนังแท้

#### 4.2 เอนไซม์ไทโรซิเนสและกระบวนการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการผลิตเม็ดสีเมลานินซึ่งทำให้เกิดสีผิว โดยเอนไซม์นี้จะไปกระตุ้นให้ tyrosine เปลี่ยนเป็น dihydroxyphenyl alanine (DOPA) และ DOPAquinone ตามลำดับ จากนั้นโดยกระบวนการ auto-oxidation สาร DOPAquinone จะเปลี่ยนเป็น DOPochrome ในกระบวนการผลิตยูเมลานิน DOPochrome จะเปลี่ยนเป็น 5,6-dihydroxyindole หรือ 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) โดยเอนไซม์ DOPochrome tautomerase หรือ TRP-2 จากนั้น DHICA ที่ได้จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ DHICA oxidase หรือ TRP-1 แล้วได้ indole 5,6 quinone carboxylic acid ซึ่งจะทำปฏิกิริยา polymerization ได้เป็นยูเมลานินซึ่งมีสีน้ำตาล-ดำ ส่วนการผลิตฟีโอเมลานิน กรดอะมิโน glutathione หรือ cysteine จะทำปฏิกิริยากับ DOPA quinone ได้เป็น glutathione DOPA หรือ cysteinyl DOPA ทำให้เกิดเม็ดสีฟีโอเมลานินซึ่งมีสีแดง-เหลือง (อรัญญา มโนสร้อย และธีรเดช มโนสร้อย, 2556)

#### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิรุสลินี (2545) ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสมุนไพรที่ระบุไว้ในเครื่องสำอางและยังไม่พบรายงานการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของต้นชะเอมเทศ เถาบอระเพ็ด เหง้าवानชักมดลูก และผลส้มแขก โดยการหมักกับเมทานอล แล้วนำมาเทียบฤทธิ์ต้านเอนไซม์กับกรดโคจิกที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยวิธี dopachrome โดยมี L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) เป็น substrate วิธีทดสอบนี้ใช้ microplate reader (BIO-RAD, model 450) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร จากนั้น นำผลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และเปอร์เซ็นต์การต้านเอนไซม์ ไทโรซิเนส จากผลการทดสอบสรุปได้ว่าฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดของชะเอมเทศ ( $IC_{50} = 8.47$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ดีกว่ากรดโคจิก ( $IC_{50} = 25.12$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดของบอระเพ็ด วานชักมดลูก และส้มแขก ( $IC_{50} > 100$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อยกว่ากรดโคจิก

มนสิชาและคณะ (2550) ศึกษาวิธีการสกัดสารจากส่วนเถาชะเอมไทยทดสอบความคงตัว ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมของสารสกัด พบว่า สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย 80% methanol และ 80% ethanol และกลุ่มของสารสกัดด้วย ตัวทำละลาย diethyl ether, ethyl acetate และ methanol มีร้อยละของสิ่งสกัด คือ 3.23, 6.12, 0.49, 0.16 และ 4.77 ตามลำดับ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ( $IC_{50}$ ) คือ  $11.77 \pm 1.18$ ,  $11.77 \pm 1.19$ ,  $6.76 \pm 0.32$ ,  $6.79 \pm 1.52$  และ  $5.82 \pm 0.16$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม เท่ากับ  $10.54 \pm 0.34$ ,  $10.18 \pm 0.18$ ,  $2.95 \pm 0.10$ ,  $22.71 \pm 1.70$  และ  $21.34 \pm 0.24$  มิลลิกรัม แกลลิกแอซิดต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

พัชรี (2551) ศึกษาสารประกอบเคอร์คิวมินอยด์ ที่ได้จากขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) เป็นสารจำพวก Diferylolmethane ซึ่งมีลักษณะเป็นสารสีเหลือง ประกอบด้วยสารฟีนอลิก 3 ชนิด คือ Curcumin, Demethoxycurcumin และ Bisdemethoxycurcumin สำหรับในผลการวิจัยพบว่า Curcumin มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุด รองลงมาคือ Demethoxycurcumin โดยมี

ค่า IC50 เท่ากับ 43.6 และ 67.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งที่แรงกว่าอาร์บูตินแต่มีฤทธิ์ยับยั้งอ่อนกว่ากรดโคจิกซึ่งมีค่า IC50 มีค่าเท่ากับ 2.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน Bisdemethoxycurcumin มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่อ่อนมาก

สุพัตรา (2552) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบพญาอและลูกเดียว หอตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดหยาบพญาอและลูกเดียวที่เสริมฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสนำไปพัฒนาเป็นเจลล้างหน้าจากสารสกัดหยาบพญาอและลูกเดียว ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบพญาอและลูกเดียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 45.21 และ 38.24  $\mu\text{g/ml}$  และมีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 33.76 และ 22.08  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ สารสกัดหยาบพญาอพบกลุ่มสารหลัก สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ , ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ส่วนสารสกัดหยาบลูกเดียวพบ สเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ และ ฟลาโวนอยด์ สารสกัดหยาบพญาอ และลูกเดียวมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC50 เท่ากันคือ 0.28 อัตราส่วนของสารสกัดหยาบพญาอและลูกเดียวที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส คือ 1:1 โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 0.18 mg/ml. เจลล้างหน้า มีสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นสารสกัดเล็กน้อย เกิดฟองกับน้ำได้ดีและมีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.7 จันทิมา (2554) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเอทิลอะซีเตต จากจันทิมา (2554) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเอทิลอะซีเตต จากผลมะขามป้อมทั้ง 4 แหล่งในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี,บุรีรัมย์,ประจวบคีรีขันธ์และมหาสารคาม พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซีเตตของผลมะขามป้อมเป็นของเหลวกึ่งแข็งเหนียวมาก มีกลิ่นเฉพาะตัวของผลมะขามป้อมและมีสีเขียวเข้มจนถึงสีน้ำตาลเข้มขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูกโดยมีร้อยละของสารสกัดมะขามป้อมที่ได้จากประจวบคีรีขันธ์,กาญจนบุรี,มหาสารคามและบุรีรัมย์ ได้แก่ 2.32, 1.87, 1.28 และ 0.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (IC50) เท่ากับ 0.403 $\pm$ 0.055, 0.293 $\pm$ 0.051, 0.710 $\pm$ 0.026 และ 0.151 $\pm$ 0.072 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

### 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อทดสอบสารสกัดจากส่วนต้นของสาकुที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส
2. เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส่วนต้นของสาकु

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารสกัดในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีกลุ่มเป้าหมายคือวงการเครื่องสำอาง
2. สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปต่อยอดเชิงพาณิชย์ เพื่อนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม

### 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

ปาล์มสาकु พืชตระกูลปาล์ม ชนิดก้านใบและขอบใบย่อยเรียบไม่มีหนาม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Metroxylon sagu* Rottb.

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### การสกัดเตรียมสารสกัดจากยางสาคุ

การสกัดด้วยการคนด้วยแท่งแม่เหล็ก

สกัดโดยการแช่และคนโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย โดยใช้ยางสาคุหนัก 10 กรัม ในน้ำ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอากากออก และนำสารสกัดไปใช้

### การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ในการหาประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสประกอบไปด้วยขั้นตอนที่สำคัญ ได้แก่ การเตรียมสารละลายตัวอย่าง การเตรียมสารละลายมาตรฐาน การเตรียมสารละลายโซเดียม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส และการเตรียมสารละลาย L-DOPA จากนั้นนําสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับ สารละลายมาตรฐาน กรดโคจิก (Kojic acid) ตามรายละเอียดต่อไปนี้

#### 1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

1.1 ชั่งสารสกัดหยาบจากปาล์มสาคุชนิดละ 0.010 กรัม ละลายด้วยเอทานอล เข้มข้น 20% เขย่า 30 นาที เพื่อช่วยการละลาย ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

1.2 นำมาเจือจางด้วยเอทานอลเข้มข้น 20% ให้ได้ความเข้มข้น 200, 160, 120, 80 และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

นําสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) เขย่าให้สารละลายผสมกันดี แล้วบ่มที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ในจานหลุม (microplate reader) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม

การคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้สูตร

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

โดย A, B และ C คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ระหว่างค่าที่วัดได้ ก่อนการบ่ม และหลังบ่มแล้ว 2 นาที

#### 3. การผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นสารสกัดจากปาล์มสาคุ

โดยการตั้งตำรับโลชั่นจำนวน 5 สูตร จากตำรับโลชั่นพื้นประเภทต่างๆมาทำการทดลองเปรียบเทียบการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัว คัดเลือกสูตรตำรับที่ดีที่สุด นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากยางสาคุ 1 % มีสูตรตำรับดังนี้

สูตร 1 : Nonionic type (o/w emulsion)

Oil phase	Steric acid	7.0 %
	lanolin	0.5 %
	Aracel	83 0.5 %
	Tween 60	2.5 %
	Propyl paraben	0.15 %
Water phase	Sorbitol (70% w/w)	10.0 %
	Methyl paraben	0.15 %
	Water	67.2 %
	Dye, Perfume	

สูตร 2 : Nonionic-Anionic type (o/w emulsion)

Oil phase	Mineral oil	6.0 %
	Lanolin	2.0 %
	Steric acid	2.0 %
	Glyceryl monostearate	2.0 %
Water phase	Propylene glycol	5.0 %
	Sodium lauryl sulfate	1.0 %
	Veegum	0.5 %
	Water	81.5 %
	Dye , Perfume	

สูตรที่ 3 : Non-ionic cream base

Oil phase	stearyl alcohol	7.0%
	Cetyl alcohol	5.0%
	Liquid paraffin	5.0 %
Water phase	Cetomacrogol 1000	3.0%
	Propylene glycol	10.0 %
	Water	
	Dye, Perfume	

สูตรที่ 4 : Anionic cream base

Oil phase	Stearyl alcohol	7.0 %
-----------	-----------------	-------

Cetyl alcohol	3.0 %
Liquid paraffin	10.0 %
Water phase	Sodium lauryl sulfate 3.0 %
Propylene glycol	10.0 %
Water	
Paraben concentrate	
Dye, Perfume	

สูตรที่ 5 : Non-ionic buffer cream base

Oil phase	Cetosteryl alcohol	10.0 %
	White soft paraffin	10.0 %
	Liquid paraffin	10.0 %
	Chlorocresol	0.15 %
Water phase	Cetomacrogol 1000	3.0 %
	Sodium dihydrogen phosphate	2.50 %
	Citric acid monohydrate	0.5 %
	EDTA	0.01 %
	Propylene glycol	5.00%
	Water	
	Dye, Perfume	

### 3.1 การเตรียมโลชั่น

3.1.1 แบ่งส่วนประกอบของตำรับออกเป็นวัฏภาคน้ำ ( water phase ) และวัฏภาคน้ำมัน (oil phase )

3.1.2 อุ่นวัฏภาคทั้งสองบนหม้ออังไอน้ำ โดยอุ่นให้อุณหภูมิของวัฏภาคน้ำสูงถึง 73-78 °C และอุ่นวัฏภาคน้ำมัน ให้อุณหภูมิสูงถึง 70-75°C ( ให้อุณหภูมิวัฏภาคน้ำสูงกว่าวัฏภาคน้ำมัน 2-3 °C )

3.1.3 ค่อยๆเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน โดยเทผ่าน stirring rod ให้เป็นสายพรอมทั้งคนเบาๆ ติดต่อกันนานๆ

3.1.4 คนจนกระทั่งโลชั่นเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำหอม

### การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีของโลชั่นพื้น

3.2 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ และความคงตัวของผลิตภัณฑ์

3.2.1 ประเมินความคงตัวทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะเนื้อโลชั่น การแยกชั้นการตกตะกอนและกลิ่น ทดสอบความเป็นกรด- ด่าง โดยใช้ pH-meter และทดสอบความหนืด โดยใช้

เครื่องวัดความหนืดของผลิตภัณฑ์ เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ และเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน, โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

3.2.2 ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาพเร่ง โดยทำ Freeze and Thaw cycle จำนวน 5 รอบโดยนำผลิตภัณฑ์เก็บในเย็น ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้เก็บในตู้อบอุณหภูมิเป็น 45 °C นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ กำหนด 5 รอบ

### 3.3 การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์

3.3.1 คัดเลือกอาสาสมัครอายุ ระหว่าง 20-50 ปี จำนวน 10 คนไม่มีประวัติแพ้ยา และไม่มีภูมิแพ้ของผิวหนังบริเวณท้องแขนด้านใน

3.3.2 เช็ดผิวหนังบริเวณท้องแขนด้านในด้วยน้ำสะอาดรอจนแห้ง

3.3.3 ให้แผ่นสำลีที่ทาด้วยสารที่ต้องการทดสอบ 3 ชนิด ชนิดละ 1.0 มิลลิตรมาทาที่ท้องแขนด้านในแล้วปิดทับด้วย occlusive patch โดยสารที่ใช้ ทดสอบได้แก่ น้ำกลั่น, ครีมเบส และโลชั่นสารสกัดจากยางสาคร

3.3.4 ทาบนาน 24 ชั่วโมง แกะล้างออกด้วยน้ำสะอาดรอให้แห้ง

3.3.5 อ่านและบันทึกผลลงตาราง

3.3.6 สังเกตผลซ้ำหลังจากอ่านผลครั้งแรก 24 ชั่วโมง ถ้ายังมีรอยแดง ให้สังเกตต่อไปไปอีก 3-4 วัน กำหนดค่าการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง ดังตารางที่ 1  
ตารางที่ 1 แสดงการกำหนดค่าการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง

คะแนน	การเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง
0	ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง (ผิวหนังปกติ)
1	ผิวแดงเพียงเล็กน้อย
2	ผิวหนังแดงปานกลางอาจมีการบวมที่ขอบ และตุ่มนูนอาจปรากฏ
3	ผิวหนังแดงปานกลาง มีตุ่มนูนบวม
4	ผิวแดงมาก มีตุ่มนูนบวมรุนแรงและอาจพบตุ่มน้ำใส
5	มีปฏิกิริยาการแพ้อย่างรุนแรงลามออกไปรอบนอกบริเวณทดสอบ

### 3.4 การประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์โลชั่นสารสกัดจากยางสาคร

การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร จะใช้อาสาสมัครกลุ่มเดียวกับการทดสอบการระคายเคืองผิวหนัง โดยหัวข้อที่จะประเมินผลิตภัณฑ์ จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังความเหนอะหนะกลิ่น และความน่าใช้



## ผลการวิจัย และอภิปรายผล

### ผลการสกัดสารจากยางสาคุ

การสกัดด้วยแช่และการคนในน้ำกลั่น เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืด สีขาวขุ่น ปัญหาที่เกิดขึ้นคือ ยางสาคุเมื่อเก็บไว้นานจะมีลักษณะเหนียวแข็ง ยากต่อการสกัด จึงควรทำการสกัดทันทีเมื่อได้ยางสาคุมาจากต้น

ยางสาคุเมื่อแห้งจะมีลักษณะเป็นก้อน สารสกัดจะมีสีน้ำตาลและถ้าสกัดเป็นเวลานานจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น ซึ่งน่าจะเกิดจากสารบางชนิดถูกออกซิไดส์ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างสาคุ และเก็บรักษา สารสกัดจึงต้องไม่ให้สัมผัสแสงและอากาศ

### ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสของยางสาคุ

จากการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากยางสาคุ โดยวิธี Dopachrome วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุม (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ดังแสดงใน ตารางที่ 1

#### ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดยางสาคุ

ความเข้มข้นของยางสาคุ	% การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
10	98.81±1.03
50	37.22±6.2
100	35.20±8.4
150	11.06±6.7
200	-9.7±9.1

**ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีของโลชั่นจากยางสาคุ**

ผลการประเมินความคงตัวของกายภาพ โดยสังเกตลักษณะเนื้อโลชั่น การแยกชั้นการตกตะกอนและกลิ่น ทดสอบความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH-meter และ ทดสอบความหนืด

**ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของโลชั่นจากยางสาคุ**

สภาวะ	สูตร	คุณสมบัติ				
		ลักษณะเนื้อ	สี	pH	การแยกชั้น	ความรู้สึกเมื่อทา
เมื่อเตรียมเสร็จ ใหม่ๆ	1	เนียนละเอียดเหลว	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวได้ดี
	2	เนื้อเนียน มีค้อยข้างหนืด	ขาว	7	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวได้ดี แต่ขณะทาเป็นป็นสีขาว
	3	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก รู้สึกเหนียวเหนอะหนะ
	4	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก ขณะทาเป็นเป็อน และเหนียวขาวเหนอะหนะ
	5	เนื้อเนียนละเอียด ค้อยข้างหนืด	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวดี
อุณหภูมิห้อง	1	เนียนละเอียดเหลว	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวได้ดี
	2	เนื้อเนียน มีค้อยข้างหนืด	ขาว	7	ไม่แยกชั้น	ทายาก ขณะทาเป็นป็นสีขาว
	3	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก เหนียวเหนอะหนะ
	4	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก ขณะทาเป็นเป็อน และเหนียวเหนอะหนะ
	5	เนื้อเนียนละเอียด ค้อยข้างหนืด	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวดี

สภาวะ	สูตร	คุณสมบัติ				
		ลักษณะเนื้อ	สี	pH	การแยกชั้น	ความรู้สึกเมื่อทา
Freeze and Thaw cycle	1	เนียนละเอียด เหลว	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ไม่เหนอะหนะ
	2	เนื้อเนียน มีค้อยข้างหนืด	ขาว	7	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวได้ดี
	3	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก เหนียวเหนอะหนะ ไม่ซึมสู่ผิว
	4	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่แยกชั้น	ทายาก ขณะทาเป็นเปื้อน และเหนียวเหนอะหนะ
	5	เนื้อเนียนละเอียด ค่อนข้างหนืด	ขาว	6	ไม่แยกชั้น	ท่าง่าย ซึมเข้าผิวดี

โลชั่นจากยางคูดี้ที่ได้เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆมีความหนืดพอเหมาะ นาไซแต่เมื่อตั้งทิ้งไว้พบว่ามีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทำให้กุดออกมาจากขวดและเมื่อทาซึมเข้าผิวได้ช้า

### ผลการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

จากผลการทดสอบพบว่าโลชั่นจากยางสาครได้รับความพึงพอใจโดยรวมจากอาสาสมัครอยู่ในระดับ ดี และสูตรที่ได้รับความพึงพอใจจากอาสาสมัครมากที่สุด คือสูตรที่ 5 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

สูตร	การซึมผ่านผิวหนัง	ความเหนอะหนะ	กลิ่น	ความน่าใช้
1	+++	+++	+++	+++
2	+++	++	+++	++
3	++	+	+++	+
4	++	+	+++	+
5	++++	++++	+++	++++

++++ หมายถึงดีมาก, +++ หมายถึงดี, ++ หมายถึง พอใช้, + หมายถึงควรปรับปรุง

### ผลทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์โลชั่นยางสาคร

จากการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ พบว่าสูตรที่อาสาสมัครให้ความพึงพอใจมากที่สุดคือ สูตรที่ 5 จึงนำสูตรนี้มาทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์โลชั่นยางสาคร ผลการทดสอบพบว่า มีค่าดัชนีการระคายเคืองผิวเป็นศูนย์ โดยไม่มีอาสาสมัครรายใดเลยที่ เกิดการระคายเคืองต่อโลชั่นจากยางสาคร แสดงให้เห็นว่าโลชั่นจากยางสาคร เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิว

## สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

### สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากยางสาคร โดยเทียบกับ สารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) จากผลการทดลองพบว่าหลังบ่มสารสกัดจากยางสาครที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที สารสกัดที่ความเข้มข้น 10  $\mu\text{l}$  ให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุด เทียบเท่ากับกรดโคจิก และสารสกัดที่ความเข้มข้น 100, 150, 200  $\mu\text{l}$  ให้ผลยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสลดลงตามลำดับ

สูตรตำรับโลชั่นที่ผสมสารสกัดจากยางสาคร 1 % มีความคงตัว การทดสอบผลิตภัณฑ์เบื้องต้นในอาสาสมัครไม่พบการระคายเคือง และสูตรตำรับที่ 5 เป็นสูตรที่ได้รับการยอมรับในระดับดี ในอาสาสมัคร สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์โลชั่นจากยางสาครนี้เหมาะสำหรับการทำวิจัยขั้นต่อไป

### ข้อเสนอแนะ

1) จากผลการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าจากการทดสอบซ้ำทั้ง 3 ครั้ง ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของยางสาคร ผลที่ได้ออกมาไม่ค่อยน่าเชื่อถือ เนื่องจากความคลาดเคลื่อนของผู้ทำวิจัย ได้แก่

1.1) การเก็บรักษาเอนไซม์ไม่ได้ทำการเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมี การนำออกมาใช้งานบ่อยทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสลดลง

1.2) ในขณะที่ทำการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เอนไซม์มีลักษณะแข็งและแห้งและเกาะติดกันเป็นก้อนทำให้ความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่เท่ากันในแต่ละครั้งที่เปิดตเอนไซม์มาใช้

1.3) การเก็บสารสกัดจากยางสาครนานเกินไปอาจทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดลดลง

2) จากการทดสอบผลิตภัณฑ์เบื้องต้นในอาสาสมัครไม่พบการระคายเคือง ควรมีการทดสอบตัวผลิตภัณฑ์ในระดับที่สูงขึ้น คือการวัดสภาพผิว การวัดปริมาณเม็ดสีผิว การวัดปริมาณความชื้นของอาสาสมัคร เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ในขั้นๆต่อไป

## บรรณานุกรม

- กรรมล ท่องธรรมชาติ และคณะ .2548.ภูมิอากาศไทย(ออนไลน์).สืบค้นจาก :  
จาก:<https://th.wikipedia.org/wiki> [12 ธันวาคม 2560]
- กัลยาภรณ์ จันตรี. 2553. วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง (ออนไลน์). สืบค้นจาก :  
<http://www.cos.sci.dusit.ac.th/sci/assets/userfiles/files> [12 ธันวาคม 2560]
- กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2546. คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์จากแป้งสาคุ. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- กิตติศักดิ์ ลิขิตวิฑูวฒิ. 2554. เอนไซม์ไทโรซิเนส. (ออนไลน์).สืบค้นจาก :  
[http://www.research.chula.ac.th/web/rs\\_news/2551/N006\\_22.html](http://www.research.chula.ac.th/web/rs_news/2551/N006_22.html) [15 ธันวาคม 2560]
- กุหลาบ จิตต์มิตรภาพ . 2546. สาเหตุที่ทำให้เกิดริ้วรอยก่อนวัยอันควร. (ออนไลน์). สืบค้นจาก :  
[http://acnecaresite.blogspot.com/2012/07/blog-post\\_8696.html](http://acnecaresite.blogspot.com/2012/07/blog-post_8696.html) [15 ธันวาคม 2560]
- จารุณี ทองผาสุก และ ปิยานุช ทองผาสุก. 2548.ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระและหยุดยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของรังไหมและใบหม่อน. คลังความรู้แหล่งที่มา  
[http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec\\_l/paper/stt31\\_L0001.pdf](http://www.scisoc.or.th/stt/31/sec_l/paper/stt31_L0001.pdf). [14 ธันวาคม 2559]
- ญาณปภา พรหมผลิน. 2558. โครงสร้างของผิวหนัง. (ออนไลน์). สืบค้นจาก :  
<http://www.derminet.com/> [14 ธันวาคม 2560]
- นิพนธ์ ใจปลื้มและคณะ. 2550. ปาล์มสาคุ. พิมพ์ครั้งที่ 1. ตรีง : สมาคมขยายตผน
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2540. การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของยาพื้นบ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โอ.เอส. พรีนติ้งเฮาส์
- สมศักดิ์ เหล่าเจริญสุข. 2530. การใช้ลาต้นสาคุเลี้ยงสัตว์. วารสาร วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2(1) : 35-40.
- อัมรินทร์ วงศ์ธิรา. 2550. “ความผิดปกติของเม็ดสี”, นิตยสารชีวจิต. 2(16 พฤศจิกายน 2550), 11-12
- อัมพวัน ตันตระกูลและคณะ. 2545. สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเม็ดสาคุ. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. ปีที่ 25 ฉบับที่ 4 ตุลาคม-ธันวาคม 2545
- Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 1958 ; 181 :1199-1200
- Chan. E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, L.F., Lianto, F.S., Wong, S.K., Lim, K.K., Joe, C.E. and Lim, T.Y. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. Food Chemistry, 2008; 109 : 477-483.
- Chun Liang a , Ju-Hwan Lim b , Seung-Hyung Kim c , Dong-Seon Kim. 2012. Dioscin: A synergistic tyrosinase inhibitor from the roots of Smilax china. Food Chemistry 134 (2012) 1146–1148

- Flach, M.1997. Sago Palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) Rome. IPGRI K. and Ozeki, H. Chemical analysis of melanins and its application to the study of the regulation of melanogenesis. *Pigment Cell Research*, 2000; 13(8) : 103-109.
- Lee K.T., B.J. KIM and J.H. KIM. 1997. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (I): inhibitory activities of tyrosinase and DOPA auto-oxidation. *International Journal of Cosmetic Science* 19: 291-298
- Li Chia-ying, E-Jian Lee and Tian-Shung Wu. 2004. Antityrosinase Principles and Constituents of the Petals of *Crocus sativus*. *J. Nat. Prod* 67: 437-440
- Nerya O., R. Ben-Arie, T. Luzzatto, R. Musaa, S. Khativ and J. Vaya. 2006. Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors. *Postharvest Biology and Technology* 39: 272-277
- Yi-Shyan Chen, Shu-Mei Lee, Chih-Chien Lin, Chia-Yi Liu, Meng-Chen Wu, and Wun-Ling Shi. 2013. Kinetic study on the tyrosinase and melanin formation inhibitory activities of carthamus yellow isolated from *Carthamus tinctorius* L. *Journal of Bioscience and Bioengineering* VOL. 115 No. 3, 242e245, 2013



