การวิเคราะห์สารพฤกษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการเตรียมโลชั่นผสมสารสกัดพรอพอลิสจากผึ้งชันโรง

Phytochemical Analysis Screening, Antioxidant Activity and Preparation of Lotion Containing Propolis Extract from Stingless Bees

อิมรอน มีชัย[1*] ดรุณี ยือแร[1] และ อิสมะแอ เจ๊ะหลง[2]

Imron Meechai[1*], Darunee Yuerae[1] and Isma-ae Chelong[2]

Received: 21 January 2020, Revised: 30 March 2020, Accepted: 2 April 2020

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สารพฤกษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการเตรียมโลชั่นผสมสารสกัดพรอพอลิสจากผึ้งชันโรงสายพันธุ์ *Geniotrigona thoracica* สารสกัดหยาบพรอพอลิสถูกสกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสกัดหยาบส่วนเอทานอล (EE) ถูกสกัดแยกด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลอะซิเตทตามลำดับได้สารสกัดหยาบ 3 ส่วน ได้แก่ สารสกัดหยาบส่วนเฮกเซน (HE) สารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตท (EAE) และสารสกัดส่วนที่ไม่ละลาย (RE) ในการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด ประกอบด้วยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ ในส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบ EAE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 262.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 60.13 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิส ดังนั้นส่วนสกัดหยาบ EAE จึงถูกเลือกนำไปเตรียมโลชั่น โดยโลชั่นถูกเตรียมทั้งหมด 5 สูตร (F1-F5) ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดรพรอพอลิสแตกต่างกัน และทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัว ผลการศึกษาพบว่าโลชั่นทุกสูตรมีลักษณะอิมัลชันเป็นประเภทน้ำมันในน้ำ (O/W) และมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.53-6.50 โดยที่โลชั่นสูตร F3 เป็นสูตรที่ดี ซึ่งมีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความ

---

[1] สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา 133 ถนนเทศบาล 3 ตำบลสะเตง อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000

[1] Chemistry Department, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, 133 Thetsaban 3 Road, Tambol Sateng, Amphoe Mueang, Yala Province 95000, Thailand.

[2] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา 133 ถนนเทศบาล 3 ตำบลสะเตง อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000

[2] Biology Department, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, 133 Thetsaban 3 Road, Tambol Sateng, Amphoe Mueang, Yala Province 95000, Thailand.

[*] ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): imron.me@yru.ac.th Tel: 08 5674 1130

คงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 15 วัน และ 30 วัน อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระนั้นลดลงเมื่อถูกเก็บไว้เป็นเวลานาน จากข้อมูลวิจัยนี้อาจใช้ในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพรอพอลิสต่อไป

คำสำคัญ: พรอพอลิส, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก, อิมัลชัน, โลชั่น

ABSTRACT

The purpose of this research was to analyze the phytochemical screening, antioxidant activity and preparation of lotion containing propolis extract from Stingless bees (*Geniotrigona thoracica*). The propolis was extracted by reflux method with ethanolic extraction for 1 hour. The ethanol extract (EE) of propolis was extracted with hexane and ethyl acetate, respectively, to obtain hexane extract (HE), ethyl acetate extract (EAE) and residue extract (RE). In the phytochemical screening analysis, chemical composition of all extracts included flavonoid, coumarin, saponin, terpenoid, steroid and cardiac glycoside. The result of antioxidant activity showed that EAE had the highest antioxidant activity with the IC_{50} value at 262.43 µg/mL and total phenolic content at 60.13 mg GAE/g extract. Therefore, the EAE was selected to prepare the lotion. Five formulations (F1-F5) of lotion were prepared with various concentrations of propolis extract. All of lotion formula represented the oil in water (O/W) type of emulsion and the range of pH with 6.12-6.50. The F3 lotion yielded better result than other formula which revealed homogeneity emulsion and stability temperature changes at temperature of 30±2 and 4±2 °C for 7, 15 and 30 days. However, the efficiency of antioxidant activity decreased after being stored for a long time. Based on this research, the data might be further used for the development of lotion formulations containing propolis extract in cosmetic industry.

Key words: propolis, antioxidant activity, phenolic compound, emulsion**,** lotion

บทนำ

ปัจจุบันการดูแลสุขภาพและความสวยความงามเป็นที่ได้รับความสนใจมากขึ้น โดยเฉพาะการนำสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพและความงาม เนื่องจากผู้บริโภคมีความรู้สึกปลอดภัยต่อการใช้สารสกัดจากธรรมชาติความมากกว่าการใช้สารเคมีสังเคราะห์ นอกจากนี้สารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดมีการรายงานถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย จึงถูกนำมาเป็นสารเติมแต่งและสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ความสวยความงามและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Phromyothin *et al*., 2016) โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ความงามนั้นมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพผิว ซึ่งผลิตภัณฑ์ความงามเพื่อการดูแลผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันผิวจากรังสียูวีเอและยูวีบีที่หากได้รับเป็นเวลานานเกินไปก็อาจทำให้เกิดเป็นโรคมะเร็งผิวหนังได้ (Muthukumarasamy *et al*., 2016)

ชันโรง (Stingless bees) จัดอยู่ในวงศ์ Apidae เป็นแมลงขนาดเล็กที่มีพฤติกรรมเก็บน้ำหวานจากดอกไม้ และละอองเกสร (เรณู) มาใช้เป็นอาหาร จำพวกผึ้งแต่ไม่มีเหล็กในจึงไม่สามารถต่อยได้ (Moreno *et al*., 2000) พรอพอลิสเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากผึ้งชันโรง โดยจะเก็บยางเหนียวมาจากพืชแล้วนำมาสะสมไว้ที่รังเพื่อใช้อุดรอยรั่วของรัง จากรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสนั้นพบว่าพรอพอลิสที่ได้จากบริเวณที่มีภูมิประเทศที่แตกต่างกันนั้นมักจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วย อาทิเช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ได้แก่ ฟลาโวนส์ (flavones) และฟลาวาโนนส์ (flavanones) เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของพรอพอลิสแตกต่างกันออกไป พรอพอลิสมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายและน่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านเนื้องอก ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านจุลชีพ ดังนั้นพรอพอลิสจึงเป็นสมุนไพรที่ได้รับความสนใจและมีงานวิจัยออกมาอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันมีการนำพรอพอลิสมาใช้ในส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง สบู่และยาสีฟัน (Athikomkulchai, 2008)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อปฏิกิริยา เนื่องจากเป็นสารที่อะตอมหรือโมเลกุลมีลักษณะแบบอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) โดยอนุมูลอิสระจะเข้าทำลายสารชีวโมเลกุลของสิ่งมีชีวิตโดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไม่ว่าจะเป็นเซลล์หรือองค์ประกอบของเซลล์ เช่น โปรตีน (protein) ลิพิด (lipid) และดีเอ็นเอ (DNA) เป็นต้น ซึ่งก่อให้เกิดโรคหลายชนิด (Lobo *et al*., 2010) สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) เป็นสารสำคัญที่พืชสร้างขึ้นจากกระบวนการชีวสังเคราะห์เพื่อความอยู่รอด เช่น การป้องกันโรคและป้องกันศตรูพืช เป็นต้น ซึ่งสารพฤกษเคมีอาจแบ่งตามโครงสร้างของโมเลกุลเป็นกลุ่มสาร เช่น สเตอรอยด์ (Steroids) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และแทนนิน (Tannins) โดยพืชแต่ละชนิดมีการสร้างสารพฤกษเคมีที่แตกต่างกันไปเป็นผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน โดยเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ทีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Boonsong and Natedungta, 2014)

ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจในการนำสารสกัดจากพรอพอลิสมาใช้ในการศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และพัฒนาเป็นโลชั่นที่มีส่วนผสมของพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์โลชั่นเพื่อใช้ในการบำรุงผิว และเพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับวัตถุดิบที่มีในประเทศไทยและเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรในพื้นที่ (Buachoon and Sunthornsart, 2015)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่างสารสกัดพรอพอลิส

งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างพรอพอลิสของผึ้งชันโรงสายพันธุ์ *Geniotrigono thorocica* จากตำบลปะเสะยาวอ อำเภอสายบุรี จังหวัดปัตตานี ซึ่งตัวอย่างพรอพอลิสถูกสกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์ (Reflux) ตามวิธีของ Pellati *et al*. (2013) และ Moreno *et al*. (2000) โดยนำพรอพอลิส 1 กรัม เติมเอทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วรีฟรักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนที่เป็นของเหลวใสเหนือตะกอนออกแล้วระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส และเก็บสารสกัดหยาบตั้งต้น (EE) ไว้รอการทดสอบต่อไป

2. การสกัดแยกพรอพอลิสด้วยด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane) และเอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate)

ชั่งสารสกัดหยาบตั้งต้น (EE) จากข้อ 1 มา 10 กรัม แล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ โดยใช้ตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตัวทำละลายละ 3 ครั้ง นำส่วนที่เป็นของเหลวใสเหนือตะกอนออกของแต่ละตัวทำละลายมาระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบส่วนเฮกเซน (HE) สารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตท (EAE) และสารสกัดหยาบส่วนที่ไม่ละลาย (RE) เก็บสารสกัดหยาบไว้รอการทดสอบต่อไป

3. ตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemicals screening)

การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบตั้งต้น (EE) สารสกัดหยาบส่วนของเฮกเซน (HE) เอทิลอะซิเตท (EAE) และส่วนที่ไม่ละลาย (RE) ที่ได้จากพรอพอลิสของผึ้งชันโรง โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ทำตามวิธีของ Ayoola *et al*. (2008)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพรอพอลิสด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยทำตามขั้นตอนของ Moreno *et al*. (2000) ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน (y=9.3627x + 0.0098; R^2 = 0.9999) ที่ความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอลและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่นำมาทดสอบอยู่ที่ 1000, 500, 250, 125 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ในการทดสอบผสมสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร กับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 2.94 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและตั้งไว้เป็นเวลา 15 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-ยูวีวิสสิเบิล สเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร โดยสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างที่ถูกทดสอบจะทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ ซึ่งมีแบลงค์ (Blank) เป็นเอทานอล ส่วนชุดควบคุมทำการทดสอบเช่นเดียวกับสารมาตรฐานและสารตัวอย่างแต่เปลี่ยนเป็นเอทานอลแทน ทำการบันทึกผลแล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระและค่าความเข้มข้นที่สารมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง (inhibition concentration 50: IC_{50}) โดยสมการการคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระคำนวณได้จากสมการข้างล่าง

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

5. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบพรอพอลิส โดยทำตามขั้นตอนของ Mouhoubi-Tafinine *et al*. (2016) ซึ่งใช้แกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (y=0.0071x + 0.0588; R^2 = 0.9977) ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 และ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเมทานอล และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบผสมสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ

สารละลายโฟลินซีโอคาล์ทู (Folin ciocalteu reagent) ความเข้มข้น 2 นอร์มัล ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรและตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องยูวี-วิสสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างที่ถูกทดสอบจะทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ ซึ่งมีแบลงค์ (Blank) เป็นเอทานอล ส่วนชุดควบคุมทำการทดสอบเช่นเดียวกับสารมาตรฐานและสารตัวอย่างแต่เปลี่ยนเป็นเอทานอล จากนั้นทำการบันทึกผลและรายงานผลให้อยู่ในรูปของมิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิส

6. กระบวนการเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่น

กระบวนการเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่นเริ่มจากการนำสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่มีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาทำผลิตภัณฑ์โลชั่น ทำการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพบางประการ เช่น สี กลิ่น การแยกชั้นของเนื้อโลชั่น คุณสมบัติทางเคมีบางประการโดยวัดความเป็นกรด-ด่างและความคงตัวของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

6.1 ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวกาย

การเตรียมโลชั่นดัดแปลงจากวิธีของ Buachoon and Sunthornsart (2015) โดยมีวิธีการดังนี้

1. ชั่งสารตามปริมาณที่กำหนดตามสูตรของโลชั่น ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมโลชั่นผสมสารสกัดพรอพอลิส

Ingredients	Percentages
Phase A	
Propolis extract	x.xx
Water	x.xx
Tween 80	4.52
Phase B	
Stearic acid	5.00
Glyceryl monostearate	5.00
White bee wax	1.00
Span 80	3.84
Isopropyl myristate	3.48
Phase C	
Microcare PHC	0.16
Fragrance	1.00

2. ใส่สารที่เป็นเฟส A ได้แก่ Tween 80 สารสกัดจากพรอพอลิส และน้ำ ลงในบีกเกอร์

3. ใส่สารที่เป็นเฟส B ได้แก่ White bee wax, Stearic acid, Glyceryl monostearate, Span 80, Isopropyl myristate ตามลำดับ รวมกันลงในบีกเกอร์

4. นำบีกเกอร์ในข้อ 2 และ ข้อ 3 ตั้งบน Water bath แล้วทำการวัดอุณหภูมิของสารละลาย โดยให้อุณหภูมิของสารละลายในบีกเกอร์ของเฟส A มีอุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของสารละลายในบีกเกอร์ของเฟส B มีอุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส คนสารละลายทั้งสองเฟสละลายจนหมดจนเป็นเนื้อเดียวกัน

5. เทสารในบีกเกอร์วัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน พร้อมคนผสมให้เข้ากันอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งอุณหภูมิของสารที่ผสมลงมาเหลือประมาณ 40 องศาเซลเซียส

6. จากนั้นเติมสารที่เป็นเฟส C ลงไปหลังสุด ได้แก่ Microcare PHC และกลิ่น ทิ้งไว้จนเย็นที่อุณหภูมิห้องจะได้เป็นผลิตภัณฑ์โลชั่น โดยดำเนินการทดสอบ 3 ซ้ำ

6.2 ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของโลชั่น

นำโลชั่นที่ได้จากการเตรียมมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ การวัดค่าพีเอช การตรวจสอบประเภทของอิมัลชัน ความเป็นเนื้อเดียวกัน ความรู้สึกหลังการใช้ ผลของการทิ้งไว้ตามวิธีการของ Muthukumarasamy *et al*. (2016)

7. การทดสอบความคงตัวของโลชั่น

การทดสอบความคงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ทำตามวิธีของ Phromyothin *et al.* (2016) โดยการเก็บรักษาโลชั่นไว้ที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 15 วัน 30 วัน ตามลำดับ จากนั้นนำมาวัดค่าพีเอช ประเภทของอิมัลชัน และทดสอบความคงสภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่มีอยู่ในโลชั่นที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 องศาเซลเซียส

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากพรอพอลิสด้วยวิธีรีฟลักซ์ (reflux method)

การสกัดสารสกัดหยาบพรอพอลิสด้วยวิธีรีฟลักซ์ ในอัตราส่วนของตัวอย่างพรอพอลิสกับตัวทำละลายเอทานอลที่ 1:10 ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นสารเหนียว สีน้ำตาลเข้ม ให้ร้อยละสารสกัดอยู่ที่ 41.14 ของน้ำหนักตัวอย่าง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลผลิตร้อยละของสารสกัดหยาบพรอพอลิส

วิธีการสกัด	น้ำหนักสาร (กรัม)	ร้อยละ
รีฟลักซ์	41.14	41.14

2. ผลการสกัดแยกสารสกัดหยาบพรอพอลิสด้วยตัวทำละลาย

การสกัดแยกพรอพอลิสด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตท (EAE) มีปริมาณร้อยละสารสกัดสูงสุดที่ 64.5 ส่วนสารสกัดหยาบส่วนเฮกเซน (HE) ร้อยละ 31.9 และสารสกัดหยาบส่วนที่ไม่ละลาย (RE) ในตัวทำละลายทั้งสองร้อยละ 3.6 ดังตารางที่ 3 สารสกัดหยาบพรอพอลิสจะละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และละลายได้บางส่วนในเฮกเซน โดย

สมบัติการละลายของสารสกัดหยาบขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารตามสภาพขั้วของสารและของตัวทำละลาย ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าสารส่วนใหญ่เป็นสารที่มีสภาพขั้วต่ำถึงค่อนข้างมีขั้ว (Montes *et al*., 2003) อาจเนื่องจากส่วนประกอบสำคัญของพรอพอลิสได้จากยางและเรซินจากพรรณพืชหลากหลายชนิด (Athikomkulchai, 2008)

ตารางที่ 3 ผลผลิตร้อยละการสกัดแยกพรอพอลิสด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด

สารสกัดหยาบ	น้ำหนักสาร (กรัม)	ร้อยละ
Hexane (HE)	3.19	31.9
Ethyl acetate (EAE)	6.45	64.5
Residue extract (RE)	0.36	3.6

3. ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemicals screening)

การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของของสารสกัดหยาบ โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

Test	Sample			
	Ethanol Extract (EE)	Hexane Extract (HE)	Ethyl acetate Extract (EAE)	Residue Extract (RE)
Alkaloids	-	-	-	-
flavonoids	+	+	+	+
Anthraquinones	-	-	-	-
Coumarins	+	+	+	+
Saponins	+	+	+	+
Tannins	-	-	-	-
Terpenoid	+	+	+	+
Steroids	+	+	+	+
Cardiac glycoside	+	+	+	+

หมายเหตุ เครื่องหมายบวก (+) แสดงว่าพบ เครื่องหมายลบ (-) แสดงว่าไม่พบ

จากผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบพรอพอลิส พบว่าในสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด ประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอ

คไกลโคไซด์ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสนั้นส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวนส์ (flavones) และ ฟลาวาโนนส์ (flavanones) เป็นต้น ซึ่งพบได้มากในพืช องค์ประกอบที่ตรวจพบเหล่านี้ ส่วนหนึ่งมาจากผึ้งชันโรงนั้นมีพฤติกรรมเก็บน้ำหวานจากเกสรดอกไม้มาใช้เป็นอาหารอีกทั้งยังเก็บยางเหนียวมาจากต้นไม้เพื่อใช้อุดรูรั่วของรัง เป็นต้น (Athikomkulchai, 2008)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพรอพอลิสของผึ้งชันโรงสายพันธุ์ *Geniotrigono thorocica* ด้วยวิธี DPPH ที่ได้จากสารสกัดหยาบตั้งต้น สารสกัดหยาบส่วนของเฮกเซน สารสกัดหยาบส่วนของเอทิล อะซิเตท และสารสกัดหยาบส่วนของเอทานอลจากพรอพอลิสของชันโรง โดยใช้สารละลายวิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐาน

ตารางที่ 5 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบพรอพอลิสต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

Samples and standard	IC_{50} (µg/ml) ±SD*
Ethanol Extract (EE)	292.95±8.85[c]
Hexane Extract (HE)	>1000
Ethyl acetate (EAE)	262.43±8.54[b]
Residue Extract (RE)	>1000
Vitamin C	5.341±0.25[a]

หมายเหตุ *ความแตกต่างของตัวอักษรภาษาอังกฤษบ่งชี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p value < 0.05)

ในการทดสอบพบว่าความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ดีที่สุดคือสารสกัดหยาบส่วนของเอทิล อะซิเตท (EAE) อยู่ที่ 262.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบตั้งต้น (EE) อยู่ที่ 292.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p value > 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินซีพบว่าสารสกัดหยาบทั้งสองยังมีประสิทธิภาพที่น้อยกว่า ส่วนสารสกัดหยาบส่วนของเฮกเซน (HE) และสารสกัดหยาบส่วนที่ไม่ละลาย (RE) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำโดยให้ค่า IC_{50} >1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 5 ดังนั้นสารสกัดหยาบส่วนของเอทิล อะซิเตท (EAE) จึงถูกเลือกเป็นส่วนผสมในการพัฒนาโลชั่นผสมสารสกัดพรอพอลิส

5. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ดังตารางที่ 6 ที่ได้จากสารสกัดหยาบตั้งต้น สารสกัดหยาบส่วนของเฮกเซน สารสกัดหยาบส่วนของเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบส่วนของเอทานอลจากพรอพอลิสของชันโรง

ตารางที่ 6 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพรอพอลิส

Sample	mg GAE/ g extract
Ethanol Extract (EE)	35.21±0.93[a]
Hexane Extract (HE)	43.94±2.21[b]
Ethyl acetate (EAE)	60.13±2.28[c]
Residue Extract (RE)	38.22±4.85[a]

หมายเหตุ *ความแตกต่างของตัวอักษรภาษาอังกฤษบ่งชี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p value < 0.05)

ผลการทดสอบแสดงให้เห็นถึงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในตัวอย่างพรอพอลิสที่ได้จากสารสกัดหยาบตั้งต้น (EE) และจากการสกัดหยาบอีก 3 ชนิด ได้แก่สารสกัดหยาบส่วนของเฮกเซน (EH) สารสกัดหยาบส่วนของเอทิลอะซิเตท (EAE) และสารสกัดหยาบส่วนที่ไม่ละลาย (RE) จากพรอพอลิสของชันโรงพบว่าสารสกัดหยาบ EAE มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดอยู่ที่ 60.13 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิส ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดตัวอื่นๆ รองลงมาคือสารสกัดหยาบ EH เท่ากับ 43.94 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิสและปริมาณฟีนอลิกต่ำที่สุดคือสารสกัดหยาบ RE อยู่ที่ 38.22 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ และสารสกัดหยาบ EE เท่ากับ 35.21 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิส ซึ่งมีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในงานวิจัยของ Piluzza and Bullitta (2011) ได้ระบุไว้ว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่สารสกัดหยาบส่วน EAE ให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมสูงจึงให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ดี และจากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบพรอพอลิส พบว่าสารสกัดหยาบส่วนด้วยเอทิลอะซิเตท (EAE) ให้ค่าความเข้มข้นที่สารมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง (IC_{50}) และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด จึงนำมาเป็นส่วนผสมในการเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่น

6. ผลการเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่น

การเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่นได้เตรียมออกเป็น 5 สูตร โดยแต่ละสูตรจะเติมสารสารสกัดที่ต่างกัน คือ สูตรที่ 1 ถึงสูตรที่ 5 โดยเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบพรอพอลิสในแต่ละสูตรอยู่ที่ 0.01% 0.05% 0.1% 0.15% 0.2%ตามลำดับ โลชั่นทั้ง 5 สูตรจะต้องทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ แสดงผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของการเตรียมโลชั่น ทั้ง 5 สูตร

สูตรที่	พารามิเตอร์				
	ค่า pH	ประเภทอิมัลชัน	ความเป็นเนื้อเดียวกัน	ความรู้สึกหลังการใช้	Loss on drying
F1	5.86	O/W	เป็นเนื้อเดียวกัน	ซึมซาบง่ายและลื่นไหลง่าย ร้อยละ 25	0.25%
F2	5.53	O/W	เป็นเนื้อเดียวกัน	ซึมซาบง่ายและลื่นไหลง่าย ร้อยละ 35	0.22%
F3	5.53	O/W	เป็นเนื้อเดียวกัน	ซึมซาบง่ายและลื่นไหลง่าย ร้อยละ 55	0.21%
F4	5.51	O/W	เป็นเนื้อเดียวกัน	ซึมซาบง่ายและลื่นไหลง่าย ร้อยละ 10	0.27%
F5	5.51	O/W	เป็นเนื้อเดียวกัน	ซึมซาบง่ายและลื่นไหลง่าย ร้อยละ 30	0.28%

หมายเหตุ ค่า pH ของโลชั่นทั้ง 5 สูตรพบว่า ค่า pH เทียบตามมารตราฐานของอุตสาหกรรมเอส 15-2561 ต้องอยู่ระหว่าง 3.5-7.5

จากการนำโลชั่น ทั้ง 5 สูตร โดยให้นักศึกษาและบุคคลทั่วไปได้ทดลองใช้ 20 คน ในจำนวนผู้ทดลองใช้ ทั้ง 20 คน ชอบสูตร F1 จำนวน 5 คน คิดเป็นร้อยละ 25 ชอบสูตร F2 จำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 35 สูตร F3 จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 55 สูตร F4 จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 10 และสูตร F5 จำนวน 6 คน คิดเป็นร้อยละ 30 จากการประเมินความพึงพอใจพบว่าสูตรที่ดีที่สุด คือ สูตร F3 ซึ่งเกณฑ์ที่การให้คะแนนในแต่ละสูตรจะเป็นการทดสอบทางกายภาพของโลชั่น เช่น การเป็นเนื้อเดียวกัน การซึมซาบง่าย ลื่นไหลง่าย และการล้างออก เป็นต้น

7. ผลการทดสอบความคงสภาพของโลชั่น

ผลการทดสอบความสภาพต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ โดยการเก็บรักษาโลชั่นไว้ที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC เป็นเวลา 7 วัน 15 วัน 30 วัน ตามลำดับ พบว่าอิมัลชันยังคงมีความคงตัวดีไม่เกิดการแยกชั้น มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ค่าพีเอชมีค่าอยู่ในช่วง 6.12-6.50 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2561 (Thai Industrial Standards Institute, 2018) ซึ่งถือว่ามีความเหมาะสมกับสภาพผิว ซึ่ง Phromyothin *et al*. (2016) ได้ทำการทดสอบความคงตัวต่อการเปลี่ยนแปลง โดยเก็บรักษาโลชั่นไว้ที่อุณหภูมิ 4±2 และ 25±2 ºC เป็นเวลา 7 วัน 15 วัน และ 30 วัน ตามลำดับ พบว่าในระยะเวลาต่างๆ อิมัลชันไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ขนาดของอนุภาคอิมัลชันทั้งก่อนและหลังทำการทดสอบมีขนาดใกล้เคียงกับก่อนทำการทดสอบไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบความคงสภาพ โลชั่นของสูตรที่ 3 ที่มีส่วนผสมสารสกัดจากพรอพอลิส 0.1 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC ในการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 7 วัน 15 วัน และ 30 วัน

ระยะเวลา	สภาวะ	ชนิดของสาร	IC_{50} (µg/ml) ±SD*
วันแรก	-	A	>1000
		B	507.92±0.29[a]
7 วัน	อุณหภูมิ 30 ºC	A	>1000
		B	715.76±4.13[c]
	อุณหภูมิ 4 ºC	A	>1000
		B	578.24±11.90[b]
15 วัน	อุณหภูมิ 30 ºC	A	>1000
		B	929.32±54.51[e]
	อุณหภูมิ 4 ºC	A	>1000
		B	762.55±4.39[d]
30วัน	อุณหภูมิ 30 ºC	A	>1000
		B	>1000
	อุณหภูมิ 4 ºC	A	>1000
		B	929.32±54.51[e]

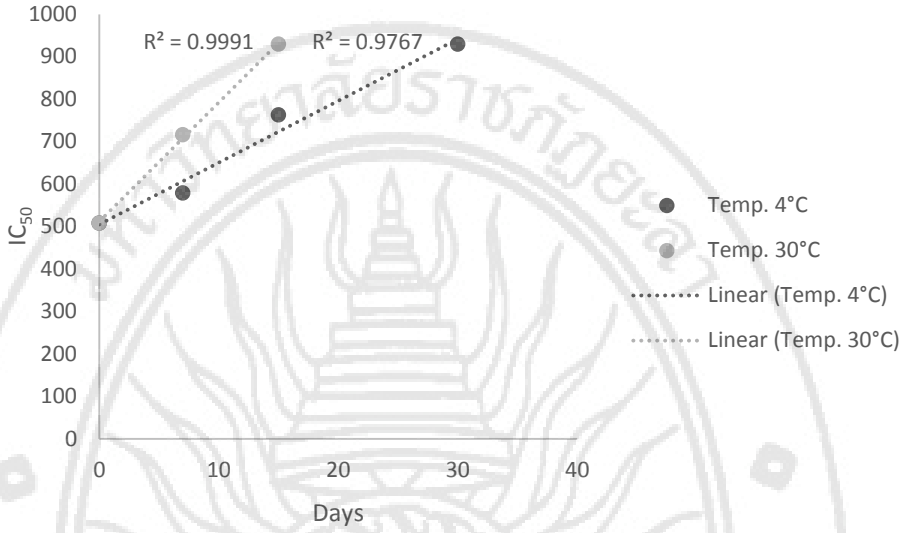
หมายเหตุ สาร A = Lotion without Extract

สาร B = Lotion with Extract 0.1%

* ความแตกต่างของตัวอักษรภาษาอังกฤษบ่งชี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p value < 0.05)

ผลการทดสอบความคงสภาพในการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นที่ปราศจากส่วนผสมสารสกัดหยาบพรอพอลิส (A) และมีส่วนผสมสารสกัดหยาบพรอพอลิส (B) พบว่าโลชั่น A ให้ค่าความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ต่ำอยู่ที่ >1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตั้งแต่วันแรกจนครบ 30 วัน ทั้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 4 ºC สำหรับโลชั่น B ซึ่งผสมสารสกัดพรอพอลิส 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าวันแรกให้ค่า IC50 อยู่ที่ 507.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 7 และ 15 ที่อุณหภูมิ 30 ºC อยู่ที่ 715.76 และ 929.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p value > 0.05) และเมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 30 วันที่อุณหภูมิดังกล่าวให้ค่า IC_{50} >1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในการเก็บที่อุณภูมิ 4 ºC ระยะเวลา 7, 15 และ 30 วัน พบว่า ค่า IC_{50} อยู่ที่ 578.24, 762.55 และ 929.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่น B ชี้ให้เห็นว่าสูตรที่มีส่วนผสมของสารสกัดเป็นปัจจัยสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้เมื่อเก็บรักษาโลชั่น B ที่ช่วงเวลาต่างๆ พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC แสดงให้เห็นว่า

ประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นโดยค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของโลชั่นที่เก็บที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC มีความสัมพันธ์เชิงบวก ดังภาพที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามหากต้องการเก็บรักษาโลชั่นเพื่อให้มีความคงสภาพต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งควรเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ºC เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของค่า IC_{50} บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลง ดังนั้นจึงควรเก็บรักษาโลชั่นไว้ที่อุณหภูมิ 4±2 ºC หรืออาจเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 ºC ตามตารางที่ 8



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์เชิงเส้น (correlation coefficient :R) ระหว่างค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระและระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC

สรุป

พรอพอลิสของชันโรงสายพันธุ์ *Geniotrigona thoracica* สกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์ในตัวทำละลายเอทานอล ได้สารสกัดหยาบพรอพอลิสตั้งต้นคิดเป็นร้อยละ 41.142 โดยทำการสกัดแยกด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและ เอทิลอะซิเตท สารสกัดหยาบที่ทำการสกัดแยกนั้นละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถสกัดแยกสารได้ถึงร้อยละ 64.5

ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบตั้งต้น การสกัดหยาบส่วนเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และส่วนที่ไม่ละลาย ตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่าในสารสกัดหยาบพรอพอลิสทั้ง 4 ชนิด จะพบฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดหยาบที่ทำการสกัดแยกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด อยู่ที่ 262.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบที่ผ่านการสกัดแยกด้วยตัวทำละลายเอทิล อะซิเตต มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด อยู่ที่ 60.13 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดพรอพอลิส รองลงมา คือ สารสกัดหยาบเฮกเซน (EAE) และปริมาณฟีนอลิกต่ำสุดคือสารสกัดหยาบส่วนไม่ละลาย (RE) และ สารสกัดหยาบตั้งต้น (EE)

ผลการเตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่นเตรียมจากสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่ให้ฤทธิ์การยับยั้งสูงสุด โดยเตรียมจากสารสกัดหยาบส่วนเอทิลอะซิเตท ที่ผ่านการประเมินความพึงพอใจจากผู้ทดลองใช้ทั้ง 20 ท่าน พบว่า สูตรที่ได้รับความพึงพอใจมากที่สุดคือสูตรที่ 3 คิดเป็นร้อยละ 55 ค่าพีเอชอยู่ที่ 5.58 มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ลื่นไหลง่ายและ ซึมซาบง่าย อิมัลชันเป็นประเภท O/W และผลการทดสอบความคงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ โดยการเก็บรักษาโลชั่นไว้ที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC เป็นเวลา 7 วัน 15 วัน และ 30 วัน ตามลำดับ พบว่าอิมัลชันยังคงมีความคงตัวดีไม่เกิดการแยกชั้น มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ค่าพีเอชมีค่าอยู่ในช่วง 6.12-6.50 ตามมาตรฐานอุสาหกรรมเอส 15-2561 (Thai Industrial Standards Institute, 2018) เหมาะกับสภาพผิว และเมื่อไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งในระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่า โลชั่นที่ผสมสารสกัด 0.1 เปอร์เซ็นต์นั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิ 30±2 และ 4±2 ºC แสดงให้เห็นว่าค่า IC_{50} เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาและที่อุณหภูมิต่ำให้ค่า IC_{50} น้อยกว่า แต่อย่างไรก็ดีหากต้องการเก็บรักษาโลชั่นเพื่อให้มีความคงสภาพต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งควรเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ºC หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 ºC และบริเวณที่พ้นแสงแดด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่เอื้อเฟื้อวัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมีต่างๆ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Athikomkulchai, S. 2008. Propolis: A Gift from Nature. **Thai Pharmaceutical and Health Science Journal** 3(2): 286-295. (in Thai)

Ayoola, G.A., Coker, H.A.B., Adesegun, S.A., Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., and Atangbayila, T.O. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research** 7(3): 1019-1024.

Boonsong, P. and Natedungta, W. 2014. Radical scavenging activity and phytochemical compositions of some tropical fruit plant leaves. **The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok** 24(3): 624-633. (in Thai)

Buachoon, N. and Sunthornsart, P. 2015. Development of lotion from *Albizia myriophylla* Benth cured extracts as antioxidant. **VRU Research and Development Journal Science and Technology** 10(2): 97-106. (in Thai)

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews** 4(8): 118-126.

Montes, I., Lai, C. and Sanabria, D. 2003. Like dissolves like: A classroom demonstration and a guided-inquiry experiment for organic chemistry. **Journal of Chemical Education** 80(4): 447-449.

Moreno, M., Isla, M., Sampietro, A. and Vattuone., M. 2000. Comparison of the free redical-scavenging acivity of propolis from several regions of Argentina. **Journal of Ethnopharmacology** 71(1-2): 109-114.

Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemouckh, S. and Tamendjari, A. 2016. Antioxydantactivity of some algerian honey and propolis. **Industrial Crops and Products** 88(2016): 85-90.

Muthukumarasamy, R., Ilyana, A., Fithriyaani, N., Najihah, N. A., Asyiqin, N. and Sekar, M. 2016. Formulation and evaluation of natural antioxidant cream comprising methanolic peel extract of *Dimocarpus longan*. **International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research** 8(9): 1305-1309.

Pellati, F., Prencipe, F.P., Bertelli, D. and Benvenuti, S. 2013. An efficient chemical analysis of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by microwave-assisted extraction combined with high-performance liquid chromatography using the fused-core technology. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 81-82: 126-132.

Piluzza, G. and Bullitta, S. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. **Pharmaceutical Biology** 49(3): 240-247.

Thai Industrial Standards Institute (TISI). 2018. **Herbal Body Cream/Lotion Product.** THAI SMEs STANDARD 15-2018. Available Source: https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/15-2561.pdf, February 26, 2019. (in Thai)