



การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลมาสก์ป้องกันสิวชนิดลอกออกที่มีส่วนผสม

จากสารสกัดผลมะเขว่น

DEVELOPMENT OF ANTI-ACNE GEL MASK PRODUCT

CONTAINING *Zanthoxylum Limonella* Alston

PERICARP EXTRACTS

ฉันทิรฐ วรค์วังไพศาล

วิทยาสาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาสาสตรเครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาสาสตรเครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลมาสก์ป้องกันสิ่วชนิดลอกออกที่มีส่วนผสม
จากสารสกัดผลมะแขว่น

DEVELOPMENT OF ANTI-ACNE GEL MASK PRODUCT
CONTAINING *Zanthoxylum Limonella* Alston
PERICARP EXTRACTS

ธันยรัศ วังศ์วังไพศาล

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลมาส์กป้องกันสิวชนิดลอกออกที่มีส่วนผสม
จากสารสกัดผลมะแขว่น

DEVELOPMENT OF ANTI-ACNE GEL MASK PRODUCT
CONTAINING *Zanthoxylum Limonella* Alston
PERICARP EXTRACTS

ฉันทิรา วังศ์วิงไพศาล

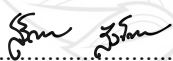
การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
2567

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง)



อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง)



กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรีดา สังข์ทอง ที่ให้คำแนะนำ และการสนับสนุนอย่างเต็มที่ตลอดระยะเวลาการทําวิจัยนี้ อาจารย์ได้สละเวลาอันมีค่าในการชี้แนะ และให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งจนทำให้ข้าพเจ้าสามารถดําเนินการศึกษาค้นคว้าอิสระนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ข้าพเจ้าขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง ประธาน กรรมการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม กรรมการสอบที่ได้ให้ความกรุณาในการตรวจสอบและเสนอแนะที่มีคุณค่าเพื่อปรับปรุงงานวิจัยนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ คุณโสภณ เตศรีบุรพกุล และนักวิทยาศาสตร์ คุณธนินชา ประเสริฐ ณ อาครปัญญภูมิ ที่คอยให้คำแนะนำช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และข้อมูลที่เป็นต่าง ๆ ตลอดจน ประสานงานอำนวยความสะดวกตลอดการศึกษา

ข้าพเจ้าขอขอบคุณพ่อแม่ และครอบครัวที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจที่ไม่มีที่สิ้นสุด ทั้งทางด้านการศึกษาและด้านจิตใจตลอดระยะเวลาการศึกษาและการทําวิจัยนี้

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณเพื่อน ๆ และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในด้านต่าง ๆ อาทิ การให้ข้อมูล การแบ่งปันประสบการณ์ และความร่วมมือในการทำงานวิจัยนี้

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบคุณสถาบันการศึกษามหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่ได้มอบโอกาสและทรัพยากรในการดําเนินการวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ธันยรัส วงศ์วังไพศาล

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลมาส์กป้องกันสิวชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมจากสารสกัดผลมะแขว่น
ชื่อผู้เขียน	ฉันทิรา วงศ์วังไพศาล
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาผลของสารสกัดจากผนังผลมะแขว่นในเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) น้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่น (ZL oil) และการผสมสารสกัดทั้งสองแบบ 1:1 (ZL mixed) ต่อประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) และฤทธิ์ด้านการอักเสบ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในโรคสิว นอกจากนี้ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารประกอบสำคัญที่มีอยู่ในสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยใช้เทคนิค GC/MS และ LC-MS/MS-QTOF เพื่อทำความเข้าใจเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์หลักที่มีส่วนช่วยในการต้านเชื้อ *C. acnes* และลดการอักเสบ

การวิจัยเริ่มต้นด้วยการทบทวนวรรณกรรมเพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการสกัดและทดสอบสารสกัดจากผนังผลมะแขว่น รวมถึงการวิเคราะห์ทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. acnes* และการอักเสบ การทดลองในครั้งนี้ได้ดำเนินการสกัดสารจากผนังผลมะแขว่นโดยใช้การแช่ในเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) และการกลั่นด้วยน้ำ (ZL oil) ผลการสกัดพบว่า ZL extract ได้ผลผลิตร้อยละ 22.86 ± 0.9 ขณะที่ ZL oil ได้ผลผลิตร้อยละ 26.55 ± 0.48

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมใน ZL extract เท่ากับ 104.831 ± 1.98 mgGAE/g sample และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมใน ZL extract เท่ากับ 25.49 ± 0.84 mgQE/g extract การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *C. acnes* พบว่า ZL extract มีค่าโซนยับยั้งเชื้อ 8.67 ± 0.58 มิลลิเมตร และ

ZL oil มีค่าโซนยับยั้งเชื้อ 7.00 ± 0 มิลลิเมตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) สำหรับ ZL extract คือ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC สำหรับ ZL oil และ ZL mixed เท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และฤทธิ์ด้านการอักเสบพบว่า สารสกัดทั้งสามชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 39-5000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มากกว่า 80% การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบด้วยวิธี Griess test พบว่า ZL extract มีค่าเฉลี่ย IC_{50} เท่ากับ 66.804 ± 3.823 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ ZL oil มีค่าเฉลี่ย IC_{50} เท่ากับ 77.379 ± 3.972 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ ZL mixed มีค่าเฉลี่ย IC_{50} เท่ากับ 70.246 ± 4.327 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

จากการทดสอบด้วยเครื่อง GC/MS พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่น มีสารประกอบหลัก ในกลุ่ม Monoterpenes กลุ่ม Monoterpene alcohols กลุ่ม Aldehydes และกลุ่ม Sesquiterpenes ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่นประกอบด้วย สารประกอบที่ได้อรวม 18 ชนิด โดยที่พบมากที่สุด คือ limonene ร้อยละ 40.96 และ sabinene ร้อยละ 32.39 และ β -ocimene ร้อยละ 9.43 ซึ่งเป็นสารกลุ่ม Monoterpenes ที่มีคุณสมบัติหอมระเหยสูง นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่น ๆ เช่น β -myrcene ร้อยละ 1.84 และ α -phellandrene ร้อยละ 1.91 สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และลดการอักเสบ ผลจากการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF) จะได้ข้อมูลเชิงคุณภาพ จากสารสกัดผนังผลมะแขว่นในเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) พบสารสำคัญ 23 ชนิดจากสภาวะไอออนบวก และจากสภาวะไอออนลบ โดยสารที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารโพลีฟีนอล อันได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ Alkaloid นอกจากนี้ยังพบกลุ่มสารกรดอนุพันธ์ไขมันและลิพิด กลุ่มแอมมีน และเอไมด์ กลุ่มคาโบไฮเดรตและไกลโคไซด์ ที่เป็นกลุ่มสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และยับยั้งการอักเสบรวมถึงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีส่วนสำคัญในการยับยั้งกระบวนการเกิดสิว และลดการอักเสบรวมถึงการต้านเชื้อก่อสิว อันได้แก่ *C. acnes* ได้

การพัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel พบว่า สูตรที่ดีที่สุด คือ สูตร 1 ที่มี ZL extract 1.25% ซึ่งเป็นอัตราส่วนร้อยละของความสามารถยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ได้อย่างมีประสิทธิภาพและคงตัวได้ดีทดสอบต่อความเป็นกรดต่างรวมถึงความคงตัวของความหนืด ตลอดจนความคงตัวของค่าสี โดยเฉพาะในสภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสูงและการเร่งร้อนสลับเย็นที่ตำรับนี้แสดงความคงทนสูงสุด ขณะที่สูตรที่มีน้ำมันหอมระเหย ZL oil มีความไวต่อความร้อนสูงและส่งผลให้ค่า pH ลดลงอย่างชัดเจน

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากผนังผลมะแขว่นและน้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* และลดการอักเสบ โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ Anti-acne peel-off gel ที่สามารถพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ได้

คำสำคัญ: มะแขว่น, น้ำมันหอมระเหย, ต้านเชื้อสิว, ต้านการอักเสบ, สารประกอบฟีนอลิก, สารประกอบฟลาโวนอยด์, เจลล์มาสก์ผิว

Independent Study Title Development of Anti-acne Gel Mask Product Containing
Zanthoxylum Limonella Alston Pericarp Extracts

Author Thanyarus Wongwangpaisan

Degree Master of Science (Cosmetic Science)

Advisor Asst. Prof. Sarita Sangthong, Ph. D.

ABSTRACT

This research focuses on the effects of the 50% ethanol extract from *Zanthoxylum limonella* pericarp (ZL extract), the essential oil from *Zanthoxylum limonella* pericarp (ZL oil), and a 1:1 mixture of both extracts (ZL mixed) on antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) and anti-inflammatory properties, which are significant issues in acne. The study also aims to identify the key compounds in the extracts and essential oil using GC/MS and LC-MS/MS-QTOF techniques to understand the main active ingredients that contribute to antibacterial and anti-inflammatory effects.

The research began with a literature review to gather information on extraction and testing methods of plant extracts, including chemical analysis of compounds with antibacterial and anti-inflammatory effects. The experiments involved extracting the pericarp of *Zanthoxylum limonella* using 50% ethanol (ZL extract) and steam distillation (ZL oil). The extraction results showed that ZL extract had a yield of $22.86 \pm 0.9\%$, while ZL oil had a yield of $26.55 \pm 0.48\%$.

The analysis of phenolic and flavonoid compounds in the extracts showed that the total phenolic content in ZL extract was 104.831 ± 1.98 mg GAE/g sample, and the total flavonoid content in ZL extract was 25.49 ± 0.84 mg QE/g extract. Antibacterial

tests against *C. acnes* revealed that ZL extract had an inhibition zone of 8.67 ± 0.58 mm, and ZL oil had an inhibition zone of 7.00 ± 0 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) for ZL extract was 12.5 mg/ml, while the MIC for ZL oil and ZL mixed was 25 mg/ml.

Cytotoxicity and anti-inflammatory tests showed that all three extracts were non-toxic to cells at concentrations of 39-5000 $\mu\text{g/ml}$, with cell survival rates exceeding 80%. Anti-inflammatory tests using the Griess method revealed that ZL extract had an average IC_{50} of 66.804 ± 3.823 $\mu\text{g/ml}$, ZL oil had an average IC_{50} of 77.379 ± 3.972 $\mu\text{g/ml}$, and ZL mixed had an average IC_{50} of 70.246 ± 4.327 $\mu\text{g/ml}$.

GC/MS analysis of the essential oil from pericarp of *Zanthoxylum limonella* identified 18 compounds, with the main constituents being limonene (40.96%), sabinene (32.39%), and β -ocimene (9.43%), which are monoterpenes with high volatility. Other identified compounds included β -myrcene (1.84%) and α -phellandrene (1.91%). These compounds possess antibacterial and anti-inflammatory properties. LC-MS/MS-QTOF analysis of the 50% ethanol extract (ZL extract) identified 23 key compounds in positive and negative ion modes, mainly belonging to polyphenols such as phenolics, flavonoids, and alkaloids, along with fatty acid derivatives, lipids, amines, amides, carbohydrates, and glycosides, which have antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties against acne-causing *C. acnes*.

Development of an Anti-acne peel-off gel formulation found that the best formula was Formula 1, containing 1.25% ZL extract. This formula exhibited effective *C. acnes* inhibition, maintained stability in pH, viscosity, and color, especially under high temperature and accelerated thermal conditions. The formula with ZL oil showed high sensitivity to heat, causing a significant pH decrease.

In conclusion, the extracts and essential oil from *Zanthoxylum limonella* pericarps have the potential to be developed into skincare products effective against *C. acnes* and reducing inflammation, particularly in Anti-acne peel-off gels, which can be commercialized.

Keywords: *Zanthoxylum limonella*, Essential Oil, Anti-acne, Anti-inflammatory, Phenolic Compounds, Flavonoid Compounds, Peel-off Gel



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(7)
สารบัญตาราง	(13)
สารบัญภาพ	(14)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของปัญหาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2 การทบทวนวรรณกรรม	5
2.1 มะแขว่น	5
2.2 สิว	18
2.3 เจลมาสก์ชนิดลอกออก Peel-off Gel Mask	22
2.4 สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรมะแขว่น	23
2.5 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรมะแขว่น	25
2.6 น้ำมันหอมระเหย	29
2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรมะแขว่นในห้องปฏิบัติการ	30
2.8 การวิเคราะห์สารสำคัญน้ำมันหอมระเหยโดยเครื่อง GC-MS	32
2.9 การวิเคราะห์สารสำคัญเชิงเคมีของสารสกัดโดยเครื่อง Liquid Chromatography-mass Spectrometry, LC-MS)	33

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
2.10 การอักเสบ (Inflammation)	36
2.11 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด (Toxicity Testing of Extracts)	38
2.12 สมบัติการทดสอบความคงทน (Stability Testing) ของเครื่องสำอาง	39
3 วิธีดำเนินการวิจัย	43
3.1 สารเคมี วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	43
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	45
3.3 วิเคราะห์ค่าทางสถิติ	58
4 ผลการวิจัย	59
4.1 การเตรียมตัวอย่างผนังผลมะเขว่น	59
4.2 การสกัดสารจากผนังผลมะเขว่น	60
4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และหาปริมาณ สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสาร ZL Extract	62
4.4 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง <i>Cutibacterium acnes</i> (<i>C. acnes</i>)	64
4.5 การวิเคราะห์หาสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS)	68
4.6 ผลวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF)	70
4.7 ทดสอบความเป็นพิษ	74
4.8 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ	75
4.9 การพัฒนาตำรับ	77

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	92
5.1 สรุปผลวิจัย	92
5.2 ข้อเสนอแนะ	95
รายการอ้างอิง	97
ภาคผนวก	113
ภาคผนวก ก ภาพประกอบการเตรียมสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย	114
ภาคผนวก ข การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์รวม	117
ภาคผนวก ค การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Cutibacterium acnes</i> (<i>C. acnes</i>)	121
ภาคผนวก ง ภาพประกอบทำการวิจัย วิเคราะห์สารประกอบน้ำมันหอมระเหย ด้วยเครื่อง GC/MS	123
ภาคผนวก จ ส่วนหนึ่งของผลการวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยเครื่อง LC-MS/MS-QTOF	126
ภาคผนวก ฉ ภาพประกอบทำการวิจัยพัฒนาสูตร ANTI-ACNE PEEL-OFF GEL	129
ประวัติผู้เขียน	132

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 พืชตระกูล Zanthoxylum ของแต่ละประเทศ	5
2.2 กลุ่มสารที่พบในส่วนต่าง ๆ ของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น	10
3.1 สูตรสำหรับทดสอบตำรับสูตรพื้น	52
3.2 การวิเคราะห์ความคงทนของตำรับโดยประสาทสัมผัส (สภาวะเจล)	54
3.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของตำรับโดยประสาทสัมผัส (สภาวะแผ่นฟิล์ม)	57
3.4 ทดสอบความคงทนของตำรับโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี (physicochemical analysis) ด้วยเครื่องวัด	57
4.1 ผลทางกายภาพของสารตัวอย่าง ZL extract และ ZL oil	62
4.2 ผลทดสอบขนาดโซนยับยั้งเชื้อ <i>C. acnes</i>	66
4.3 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ <i>C. acnes</i> ของสารแต่ละชนิด	68
4.4 ผลการวิเคราะห์สารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น ด้วยวิธี GC/MS	70
4.6 สารสำคัญที่พบในสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) จากการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง LC-MS/MS-QTOF	72
4.7 ผลทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	74
4.8 ลักษณะทางกายภาพในรูปแบบเจล และในรูปแบบแผ่นฟิล์ม	79
4.9 ผลสรุปการสังเกตลักษณะทางกายภาพในรูปแบบเจล	79
4.10 ผลสรุปการทดสอบแผ่นฟิล์ม	81

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะต้นมะแขว่น	7
2.2 ลำต้นมะแขว่น	7
2.3 ผลอ่อนมะแขว่น	8
2.4 ผลสุกมะแขว่น	8
2.5 ผลแห้งและกิ่งแห้งมะแขว่น	9
2.6 ลักษณะของผิวและกลไกการเกิดผิว	20
2.7 ลักษณะแผ่นของ Peel-off mask	22
2.8 หลักการทำงานของ LC-Q-TOF-MS/MS (a) LC. (b) Q-TOF-MS/MS	34
4.1 ผลมะแขว่นพร้อมกิ่ง (ก) ผนังผลมะแขว่นที่เอาเมล็ดออก (ข) และผนังผลมะแขว่นบด (ค)	59
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract)	64
4.3 กราฟเปรียบเทียบโซนยับยั้งเชื้อ <i>Cutibacterium acnes</i> ของสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ก) น้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น (ข) Gentamicin (ค) Clindamycin (ง) Erythromycin (จ)	65
4.4 ผลทดสอบร้อยละความสามารถในการยับยั้งการอักเสบของสารสกัด (ก) ZL extract (ข) ZL oil และ (ค) ZL mixed ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.78-5000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	76
4.5 ความสามารถต้านการอักเสบได้ 50% (IC50) ของ 3 ตัวอย่างสาร ได้แก่ สาร ZL extract สาร ZL oil และสาร ZL mixed	77
4.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสูตรพื้น และสูตรต่าง ๆ หลังจากผ่านการทดสอบในสภาวะ Heating-cooling cycle (c1 ถึง c4) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า pH ในวันเริ่มต้น (day 0)	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
4.7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในแต่ละสูตรในสภาวะอุณหภูมิต่างกัน โดยเทียบที่สภาวะวันเริ่มต้น (day 0) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)	84
4.8 ค่าความหนืด (viscosity, cP) ของแต่ละสูตร โดยเทียบที่สภาวะวันเริ่มต้น (day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)	85
4.9 ค่า $L^* a^* b^*$ จากการวัดค่าที่ทำการทดสอบความคงตัวของเจลในสภาวะ heating-cooling ทั้ง 4 cycles เปรียบเทียบกับ day 0 ของแต่ละสูตร	87
4.10 ผลวัดค่าสี $L^* a^* b^*$ ของตำรับสภาวะเจลด้วยเครื่องวัดสี ภายใต้สภาวะการทดสอบที่ต่างอุณหภูมิ ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)	88
4.11 ผลวัดค่าสี $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่องวัดสีสภาวะแผ่นฟิล์ม ภายใต้สภาวะการทดสอบต่างอุณหภูมิ ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) ที่ วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)	90

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหาและความสำคัญ

มะแขว่น เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย ในเขตภาคเหนือตอนบน อันได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย น่าน แพร่ พะเยา ลำปาง รวมถึงจังหวัดลำพูน (ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ, 2557) โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zanthoxylum Limonella* Alston นิยมนำมาปรุงอาหารโดยใช้ทั้ง ใบอ่อน เมล็ด และผลแห้ง ให้รสเผ็ดร้อนคล้ายพริกไทย ทั้งนี้ยังใช้เป็นยาสมุนไพร รักษาอาการต่าง ๆ เช่น ท้องร่วง ท้องเสีย กระจายอาหารและลำไส้อักเสบ เป็นต้น (Xainhiaxang et al., 2018) สารสกัดมะแขว่นมีฤทธิ์ทางเครื่องสำอาง อันได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ฤทธิ์ต้านการอักเสบรวมถึงฤทธิ์ได้จุลินทรีย์และแบคทีเรีย โดยงานวิจัยของ ปภัสรา พันธิ์ธัญ (2563) พบว่าการสกัดส่วนผนังผลมะแขว่นด้วยวิธีเขย่าในสารทำละลายเอทานอล 50% มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ในการทดลองด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย Wipoosanapan (2018) พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ด นอกจากนี้ ผลทดสอบโดย ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ (2557) ได้พบว่า ผลร้อยละผลิตน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่นนั้นสูงกว่าจากเมล็ด และจากผลรวม (ทั้งผนังเปลือกและเมล็ด) และพบว่า ออกฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหาร รวมถึงในงานวิจัยของ จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตระเจริญกุล (2553) และวันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล และคณะ (2560) ได้พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิว *Cutibacterium acnes* ได้ นอกจากนี้ในการศึกษาของ สิริภา ฐะคำ (2562) มีการทดสอบพบว่า สามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้รวมถึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพด้านคุมเชื้อ และเสริมเป็นกันเสียในตำรับ ความคงตัวของสารสกัดผนังผลมะแขว่นทั้งน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดเอทานอลมีความคงตัวดีในตำรับรวมถึงมีการทดสอบในอาสาสมัครยังมีความพึงพอใจในกลิ่นเฉพาะตัวของมะแขว่นที่อยู่ในตำรับ นอกจากนี้ในงานวิจัยของ ชุติ ยมภักดี และวรินทร์ ชวศิริ (2554) ได้มีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่น พบว่าสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ ยกเว้นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

และออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสารบริสุทธิ์ Sabinene สารสำคัญหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหย ผนังผลมะแขว่น คือ กลุ่ม Monoterpene hydrocarbon ได้แก่ limonene, alpha-pinene, o-cymene, Linalool และ Sabinene ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Mahizan et al., 2019) รวมถึงมีการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ (do Amaral et al., 2007) จากข้อมูลเหล่านี้ทำให้เพิ่มความน่าสนใจในฤทธิ์ของสารสกัดมะแขว่น โดยเฉพาะในส่วนของผนังผลมะแขว่นที่ให้ผลผลิต ร้อยละที่สูง รวมถึงให้ปริมาณสารกลุ่ม Monoterpene หลายชนิดที่เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ ยับยั้งเชื้อปริมาณสูงกว่าส่วนอื่น และยังสามารถนำมาพัฒนาเป็นตำรับเครื่องสำอางได้ การไม่ได้ใช้ทั้งผลนั้น เหตุเพราะการใช้ทั้งผลทั้งให้ปริมาณ Essential oil ที่น้อยกว่า และเมล็ดเป็นแหล่งรวมไขมันอิ่มตัวที่สามารถแยกเพื่อพัฒนาเป็นสารอื่น

โรคผิวหนังเป็นโรคที่พบบ่อย คนที่เป็นสิวมักรู้สึกประหม่า และกลัวการถูกปฏิเสธจากสังคม ยิ่งไปกว่านั้นอาจทำให้เกิดโรคซึมเศร้าได้ (Rubinow et al., 1987) เมื่อสิวยาวแล้วอาจเหลือร่องรอยได้หลายแบบ ได้แก่ สิวผดปกติ (รอยแดงหรือรอยดำ) เกิดพังผืด (fibrosis) เกิดแผลเป็นเป็นหลุมหรือแผลเป็นนูนเป็นต้น ขึ้นกับชนิดและความรุนแรงของการเกิดสิว (Sibbald, 2017) รูปแบบการรักษา สิวที่นิยมใช้ คือ โดยการทายาภายนอกและการทานยา การรักษาโดยการทายาภายนอก topical treatment เป็นรูปแบบการรักษาที่เหมาะสมสำหรับการรักษาสิวในระยะเริ่มจนถึงอาการไม่รุนแรงมาก สำหรับอาการรุนแรงมากอาจต้องพึ่งการรักษาด้วยการทานยาร่วมด้วย (Zaenglein et al., 2016) โดยเชื้อสำคัญในกระบวนการเกิดโรคสิว คือ Cutibacterium acnes เชื้อ Cutibacterium acnes (เดิมคือ Propionibacterium acnes) ซึ่งเป็นเชื้อหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนเพิ่มจำนวนในรอยสิวเป็นเชื้อที่กระตุ้นการอักเสบและอาจทำให้เกิดภาวะแพ้ (hypersensitivity) (Rao, 2017) การใช้ยารักษา อาการสิวทำให้เกิดผลข้างเคียงต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นแพ้ยาเกิดการอักเสบร่วมและรวมถึงการดื้อยาปฏิชีวนะ มีงานวิจัยพบว่า ผู้ป่วยร้อยละ 82.8 มีปัญหาดื้อยา โดยพบปัญหาดื้อด้วยยา Clindamycin และ Erythromycin มากที่สุด (Ross et al., 2003) ดังนั้นการใช้ตำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของ สารสกัดจากธรรมชาติ เป็นอีกทางเลือกที่ปลอดภัยและช่วยการลดปัญหาดื้อยาจากการใช้ยาปฏิชีวนะ (Tobiasz et al., 2022)

รูปแบบตำรับทาภายนอกมีหลายรูปแบบ เช่น เจล ครีม เซรั่ม บาล์ม โดย peel-off gel เป็นรูปแบบเจลตำรับหนึ่งของเครื่องสำอางสำหรับทาผิว วิธีใช้ คือ ทาทิ้งไว้จนแห้งสนิท โดยประมาณ 15-20 นาที เมื่อแห้งแล้วจะเป็นฟิล์มเคลือบปกคลุมผิว (occlusive film layer) และสามารถลอกออกได้ (peel-off) (Rahmawanty et al., 2015) โดย peel-off gel ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นมากกว่า อิมัลชันชนิด oil-in-water (Velasco et al., 2014) และเพิ่มประสิทธิภาพให้สารออกฤทธิ์ทำงานบน ผิวได้ดีขึ้น (Beringhs et al., 2013; Vieira et al., 2009) โดยเมื่อลอกออกแล้ว ให้ผิวสะอาดขึ้นโดยสามารถจัดเซลล์ผิวตาย สิ่งสกปรก สิวเสี้ยน หรือสิหัวดำได้อย่างดี (Kulkarni et al., 2019) ยังมี

งานวิจัยของ (Handayani & Qamariah, 2022) ได้พัฒนาตำรับ peel-off mask และทดสอบตำรับในการยับยั้งเชื้อสิว *Cutibacterium acnes* พบว่า สามารถออกฤทธิ์ได้ดี ถือว่าเป็นตำรับหนึ่งที่สามารถให้สารทำงานออกฤทธิ์ได้

จากข้อมูลข้างต้นพบว่า ยังไม่เคยมีงานวิจัยฤทธิ์ต้านสิวใสสารสกัดมะเขว่นนอกเหนือจากน้ำมันหอมระเหย และยังมีงานวิจัยน้อยมากเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านสิว และเนื่องจากฤทธิ์หลากหลายทางเครื่องสำอางของมะเขว่นรวมถึงสารสกัดผนังผลมะเขว่นให้ปริมาณร้อยละที่มีประสิทธิภาพทำให้ทางผู้วิจัยมีความสนใจในการพัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel ที่มีส่วนผสมของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่น รวมถึงศึกษาสารสำคัญเพิ่มเติม หาปริมาณรวมฟีนอลิก หาปริมาณรวมฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* โดยอ้างอิงสูตรพัฒนาตำรับจาก (Apriani et al., 2022; Kulkarni et al., 2019) ในตำรับนี้ใช้ PVA เป็น Film-former ซึ่งให้คุณสมบัติแห้งไว ให้เนื้อเจลที่มีความใส และให้ฟิล์มที่แข็งแรง โดยเบสเจลที่ดีที่สุดจะนำมาใช้เป็นตำรับผสมกับสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย โดยมีการทดสอบประสิทธิภาพในการใช้และความคงทนของตำรับเพื่อประโยชน์ในทางการรักษา และการวิจัยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อทราบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่น และศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อสิว *Cutibacterium acnes*

1.2.2 เพื่อพัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel จากสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่น และ ทดสอบความคงตัวของตำรับ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1.3.1 เก็บตัวอย่างมะเขว่นจากบ้านผาหลัก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน และทำการแยกเฉพาะส่วนผนังผล (pericarp)

1.3.2 เตรียมสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 จากผนังผลมะเขว่นด้วยวิธีการเขย่าในสารละลาย ethanol 50% และเตรียมน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะเขว่น ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ด้วยเครื่อง Clevenger apparatus

1.3.3 ทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50

1.3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 ด้วยเทคนิค LC-MS/MS-QTOF และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC-MS

1.3.5 เตรียมสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 แบบเดี่ยว น้ำมันหอมระเหยแบบเดี่ยว และแบบผสมสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 และน้ำมันหอมระเหย 1:1 ในความเข้มข้นต่าง ๆ และทดสอบความเป็นพิษ และทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

1.3.6 เตรียมสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 แบบเดี่ยว น้ำมันหอมระเหยแบบเดี่ยว และแบบผสมสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 และน้ำมันหอมระเหย 1:1 ทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อ *Cutibacterium acnes* ด้วยวิธี agar disc diffusion method, broth dilution method

1.3.7 พัฒนาและทดสอบความคงตัวของตำรับ Anti-acne peel off mask

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบถึงการสกัด และสารสำคัญ ในสารสกัดผนังผลมะแขว่นมะแขว่น

1.4.2 ได้ผลการศึกษารอกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อสิว *Cutibacterium acnes*

1.4.3 ได้ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบและความเป็นพิษ

1.4.4 ได้ศึกษาสารประกอบสำคัญของสารสกัดผนังผลมะแขว่น

1.4.5 ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์

1.4.6 สามารถพัฒนาตำรับที่มีความคงตัว

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

2.1 มะแขว่น

มะแขว่น เป็นพืชตระกูล Zanthoxylum โดยมะแขว่นอยู่ในวงศ์ Rutaceae โดยวงศ์ Rutaceae ส่วนใหญ่เป็นพืชที่มีกลิ่นหอม ซึ่งใบ ผล เมล็ด ประกอบด้วยส่วนผสมที่ซับซ้อนของสารประกอบกลิ่นหอมระเหย มะแขว่นมีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ *Zanthoxylum Limonella* Alston (อิงจากสายพันธุ์ของแต่ละประเทศ ดูได้จากตารางที่ 2.1) โดยมีชื่ออื่น ๆ ได้แก่ หมากแคน กำจัด กำจัดต้น ลูกกระมาศ หมากมาด มะแขว่น บ่าแขว่น มะแข่น บ่าแข่น (ภาคเหนือ) พริกหอม (วุฒิวุฒิ ธรรมเวช, 2540)

ตารางที่ 2.1 พืชตระกูล Zanthoxylum ของแต่ละประเทศ

พืชตระกูล Zanthoxylum	ประเทศ
<i>Z. acanthopodium</i>	เกาะสุมาตราเหนือ ประเทศอินโดนีเซีย
<i>Z. alatum</i>	เทือกเขาหิมาลัย ประเทศเนปาล
<i>Z. americanum</i>	แคนาดาและอเมริกาเหนือ
<i>Z. armatum</i>	อินเดีย จีน ไต้หวัน เนปาล มาเลเซีย และปากีสถาน
<i>Z. bungeanum</i>	จีนและกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
<i>Z. limonella</i>	ไทย
<i>Z. nitidium</i>	อินเดีย ควีนส์แลนด์เหนือ และออสเตรเลีย
<i>Z. piperitum</i>	ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน
<i>Z. rhetsa</i>	อินเดีย
<i>Z. schinifolium</i>	ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน
<i>Z. syncarpum</i>	อเมริกาเหนือและอเมริกาใต้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

พืชตระกูล <i>Zanthoxylum</i>	ประเทศ
<i>Z. rhoifolium</i>	ชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติก
<i>Z. zanthoxyloide</i>	แคเมอรูน

ที่มา Wijaya et al. (2019)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะแขว่นมีลักษณะเฉพาะของส่วนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1.1 ลำต้น เป็นไม้ขนาดกลางถึงใหญ่มีความสูงประมาณ 5-10 เมตร ดังภาพที่ 2.1 โดยรอบลำต้นมีหนามแหลมขนาดใหญ่ปกคลุม ดังภาพที่ 2.2 (การุณย์ มะโนใจ, 2550)

2.1.1.2 ใบ มีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก ประกอบด้วย ก้านใบหลักยาวประมาณ 15-20 เซนติเมตร มีหนามเป็นระยะ แต่ละใบมีใบย่อย 10-25 ใบ ใบย่อยแต่ละใบมีก้านใบสั้น 0.5-1 เซนติเมตร และส่วนแผ่นใบย่อยแต่ละใบมีลักษณะรูปไข่ ปลายเรียวแหลม เรียบ ใบกว้างประมาณ 4-5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-14 เซนติเมตร จะมีกลิ่นหอมเมื่อขยี้ใบ และมียาง

2.1.1.3 ดอก เป็นช่อลักษณะแบบกลุ่มย่อยมีสีขาวอมเทา มีความยาวประมาณ 10-20 เซนติเมตร มีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกอยู่คนละต้น

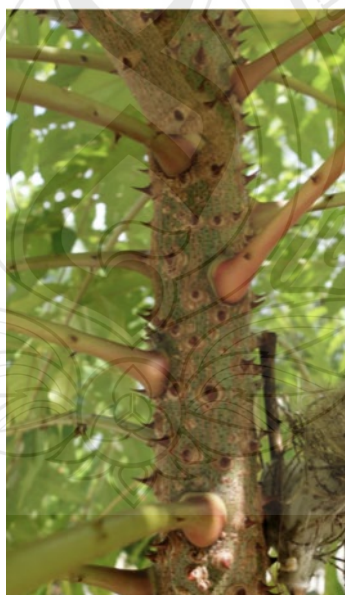
2.1.1.4 ผล มีลักษณะทรงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-0.7 เซนติเมตรโดยประมาณ ผลอ่อนมีเปลือกของผลสีเขียว ดังภาพที่ 2.3 และเมื่อผลสุกจะมีสีเขียวปนแดงเข้มขึ้น ดังภาพที่ 2.4 มีกลิ่นฉุนคล้ายผักชี รสเผ็ดเล็กน้อย เปลือกผล (ผนังผล) มีผิวขรุขระ และปริแตกออกเป็น 2 ซีก สีส่อน้ำตาล เมื่อแก่จัด และแห้งจนเห็นเมล็ดด้านใน

2.1.1.5 เมล็ด มีลักษณะกลมขนาดประมาณ 0.25-0.35 เซนติเมตร เปลือกเมล็ดมีสีดำ และเป็นมัน โดยผลมะแขว่นพร้อมเมล็ดนี้ นิยมใช้เป็นเครื่องเทศประกอบอาหาร มีรสเผ็ดร้อน และมีกลิ่นหอมแรง ดังภาพที่ 2.5 (เมย์วิสาข์, 2566)



ที่มา การุณย์ มะโนใจ (2550)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นมะแขว่น



ที่มา การุณย์ มะโนใจ (2550)

ภาพที่ 2.2 ลำต้นมะแขว่น



ที่มา Shutterstock (2019)

ภาพที่ 2.3 ผลอ่อนมะแขว่น



ที่มา Shutterstock (2023)

ภาพที่ 2.4 ผลสุกมะแขว่น



ที่มา Shutterstock (2023)

ภาพที่ 2.5 ผลแห้งและกิ่งแห้งมะแขว่น

2.1.2 ลักษณะทางเคมี

กลุ่มสารที่พบใน มะแขว่น ได้แก่ terpenes, flavonoids, coumarins, phenolic acids, and alkaloids ซึ่งแต่ละส่วนจะค้นพบสารประกอบ และปริมาณเหมือนหรือแตกต่างกันไป ดังตารางที่ 2.2 แสดงสารสำคัญหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น คือ กลุ่ม Monoterpene hydrocarbon ได้แก่ limonene, alpha-pinene, o-cymene, linalool, sabinene ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติด้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Mahizan et al., 2019) และในงานวิจัยของ จันทรเพ็ญ ตั้งจิตเรจริญกุล และคณะ (2553) ได้ค้นพบสาร limonellone (4-methoxy-3-(3-methyl-2-oxobut-3-enyl) quinolin-2(1H)-one) ในน้ำมันหอมระเหยของผลมะแขว่น จัดเป็นสารใหม่ชนิด quinolone alkaloid ในน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วย สารอื่นอีกหลายชนิด เช่น alpha-terpinene, pinenes, beta-phellandrene, mullilamdiol, terpinen-4-ol, 1,4-cineol, octanal, cuminic aldehyde, cryptone, decanal และ phlorophenone dimethyl ether สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการอักเสบและต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (วรานันท์ บัวจิบ และคณะ, 2560; Bubpawan et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า พบสารกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ เช่น lupeol และสารกลุ่มสเตอรอล เช่น stigmasteryl glucoside, beta-sitosterol และ beta-sitosteryl glucoside (วรานันท์ บัวจิบ และคณะ, 2560) นอกจากนี้ น้ำมันจากเมล็ดมะแขว่นยังมีสาร Limonene ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์และยับยั้งการอักเสบอีกด้วย น้ำมันจากเมล็ดมะแขว่นยังมี omega 3-6-9 (Bubpawan et al., 2015) ประกอบด้วย linoleic acid methyl ester, alpha-linolenic acid methyl ester, oleic acid methyl ester, stearic acid methyl ester และ palmitic acid

methyl ester กรดไขมันเหล่านี้สัมพันธ์กับปริมาณของ linoleic ester (LA, omega-6), alpha-linolenic acid (ALA, omega-3), oleic acid (OA, omega-9), stearic acid และ palmitic acid ซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพและการลดการอักเสบในร่างกาย

ตารางที่ 2.2 กลุ่มสารที่พบในส่วนต่าง ๆ ของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น

Plant part	Compound	Chemical category
Stem	Limonellone	Quinolone alkaloid
	(-)-Asarinin	Lignan
	Dihydroalataamide	Aromatic amide
	(-)-Tembamide	
	Dictamnine	Fluroquinoline alkaloid
	N-Nornitidine	Benzophenanthridine alkaloid
Stem bark	Lupeol	Triterpene
	Xanthoxyletin	Pyronocoumarin
	Osthol	O-methylated coumarin
	Scopoletin	Hydroxycoumarin
Fruit	Rutaecapine	Quinazolinocarbolin alkaloid
	Xanthoxylene	Phenolic compound
	Linalool	Monoterpenoid
	Limonene	Monoterpene hydrocarbons
	Sabinene	
	O-cymene	
	3-Carene	
	Alpha-Pinene	
	Beta-Pinene	
	Beta-Myrcene	
	Gamma-Terpinene	
	Alpha-Terpinene	
	Alpha-Terpineol	Oxygenated monoterpene
	Terpinen-4-ol	
	4-iso-propylcyclohex-2-en-1-ol	
	p-Cymene	Alkybenzene monoterpene

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Plant Part	Compound	Chemical category
Pericarp	Linalool	Monoterpenoid
	Geranyl Acetate	
	2-ethylxylacetate	
	Limonene	Monoterpene hydrocarbons
	Sabinene	
	O-cymene	
	Alpha-Pinene	
	Beta-Pinene	
	Beta-Myrcene	
	Gamma-Terpinen	
	Alpha-Terpinene	Oxygenated monoterpene
	Alpha-Terpineol	
	Terpinen-4-ol	
	4-iso-propylcyclohex-2-en-1-ol	Alkybenzene monoterpene
	p-Cymene	
	2-undecanone	
Seed	Linalool	Monoterpenoid
	Geranyl Acetate	
	Limonene	
	Sabinene	Monoterpene hydrocarbons
	Alpha-Pinene	
	Beta-Pinene	
	Beta-Myrcene	
	Gamma-Terpinene	
	Alpha-Terpinene	
	Alpha-Terpineol	Oxygenated monoterpene
	p-Cymene	
	3-carene	
	Neo-allo-ocimene	Alkybenzene monoterpene
	Caryophyllene	
		Bicyclic sesquiterpene

ที่มา ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ (2557), จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตเรจริญกุล และคณะ (2553) และ Wipoosanapan (2018)

2.1.3 ฤทธิ์ทางเภสัชศาสตร์ และเครื่องสำอาง

2.1.3.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. สุวดี โพธิ์วิจิตร และคณะ (2562) พบว่า สารสกัดจากก้านและเมล็ดมะแขว่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกับแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี และสารสกัดจากก้านและเมล็ดมะแขว่นสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดน้ำมันจากผลมะแขว่นแต่น้อยกว่าส่วนของลำต้น สารที่เป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ อีกทั้งการสกัดพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจะสามารถดึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารฟฤษเคมีในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ประเภท phenolic acids และ polyphenol ออกจากพืชสมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นยังมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี

2. Wipoosanapan (2018) ได้วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านออกซิเดชัน พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นมีปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากเมล็ดมะแขว่น โดยงานวิจัยได้ใช้ Dimethylsulfoxide (DMSO) ในการสกัด

2.1.3.2 ฤทธิ์ยับยั้งการผลิตเมลานิน

มีการศึกษาเพื่อสกัดสารยับยั้งไทโรซิเนสจากมะแขว่นและศึกษาการกักเก็บสารสกัดมะแขว่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสสูงสุดในไลโปโซม โดย ปภัสรา พันธิรัญ (2563) การสกัดทำการเปรียบเทียบส่วนของมะแขว่น 3 ส่วน ได้แก่ ก้าน ผนังผล และเมล็ด สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธีการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ให้ร้อยละผลผลิตสูงสุดที่ร้อยละ 17.37 ± 0.02 และสามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 ± 0.03 mg/mL โดยงานวิจัยนี้เลือกสารสกัดผนังผลที่สกัดด้วยเอทานอล 50% มากักเก็บในไลโปโซม และได้ทำการทดสอบพบว่า การกักเก็บในไลโปโซมช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสกัดมะแขว่นได้

2.1.3.3 ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและจุลินทรีย์

1. งานวิจัยน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่น *Zanthoxylum limonella* Alston ของจันทร์เพ็ญ ตั้งจิตเรเจริญกุล (2553) พบสารประกอบหลัก คือ monoterpenes ร้อยละ 88.3 โดยใน monoterpene นี้ มีสำคัญ คือ สาร sabinene ร้อยละ 42.7 สาร limonene (39.1%) และ terpinen-4-ol (5.4%) และอื่น ๆ โดยออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (MSSA) and *Escherichia coli*

2. ญัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ (2557) พบว่า ผลร้อยละผลิตน้ำมันหอมระเหยจากผนังเปลือกมะแขว่นนั้นสูงกว่าจากเมล็ดและจากผลรวม (ทั้งผนังเปลือกและเมล็ด) นอกจากนี้ยังพบ

ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*

3. สารสกัดมะแขว่นสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้ ซึ่ง *Escherichia coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักของโรคท้องร่วง โรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสเลือด สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella typhimurium* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเป็นพิษ ปวดท้อง ท้องเสีย กระจายลำไส้อักเสบ และสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้กระจายอาหารและลำไส้อักเสบ (Netweera et al., 2016; Xainhiang et al., 2018)

4. น้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่มีศักยภาพในการถนอมอาหารและเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อสำหรับใช้ในทางการแพทย์ พบว่า ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น ได้ผลดีกว่า สาร Sabinene โดยสามารถกำจัดเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 9 นาที (จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตรเจริญกุล, 2553)

5. สารสกัดเปลือกมะแขว่นได้มีการนำมาเป็นส่วนผสมในยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปาก พบว่า ยาสีฟันที่มีส่วนผสมสารสกัดเปลือกมะแขว่นสามารถยับยั้ง *S.mutans*, KPSK2 *Lactobacillus* และ *C.albicans* ATCC 13802 ไม่แตกต่างจากยาสีฟันยี่ห้ออื่น ๆ ในท้องตลาด ส่วนน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกมะแขว่นสามารถยับยั้ง *C. albicans* ATCC 13802 แต่ไม่สามารถยับยั้ง *S. mutans*, KPSK2 *Lactobacillus* spp. ได้ (วรานันท์ บัวจิบ และคณะ, 2560)

6. สารสกัดจากผลมะแขว่นถูกนำมาเป็นส่วนผสมในลูกกลิ้งแต้มสิว พบว่า ลูกกลิ้งแต้มสิวที่มีส่วนผสมจากสารสกัดผลมะแขว่นสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต้มสิวได้ 7 ชนิด *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* และ *C. albicans* (เขื่อนารณ งามนนท์, 2556)

7. มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว *Propionibacterium acnes* (หรือ *Cutibacterium acnes*) จากสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตักแตน (*Anethum graveolens* Linn.) เทียนขาว (*Cuminum cyminum* L.) เทียนยาวพาณี (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) และสมุนไพรที่มีสารฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบจากหอมแดง (*Alliumascalonicum* L.) ด้วยวิธี agar disc diffusion method และ broth dilution method ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิวล *P. acne* ของน้ำมันหอมระเหยจากเทียนตาตักแตน เทียนยาวพาณี เทียนขาว มะแขว่น และสารสกัด 50% EtOH จากหอมแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิวล มีค่า inhibition zone เท่ากับ 18.66 ± 1.15 , 85.00 ± 0.00 , 41.66 ± 2.88 , 15.66 ± 0.57 และ 6.44 ± 0.19 ตามลำดับ ส่วนสารมาตรฐานยา gentamycin ($40 \mu\text{g/ml}$) ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* เท่ากับ 14.66 ± 0.57 ,

14.33±0.57 และ 15.66±0.57 มม. ตามลำดับ โดยปริมาณน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่ใช้ในการศึกษานี้คือ 15 μ l (วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล และคณะ, 2560)

8. ในงานวิจัยของ ชูลี ยมภักดี และวรินทร์ ขวศิริ (2554) ได้มีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นพบว่า สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ ยกเว้นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสารบริสุทธิ์ Sabinene ขณะเดียวกัน ในอัตราส่วนที่เท่ากัน สาร limonene ไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อทดสอบ ส่วนสาร terpinene-4-ol มีฤทธิ์อ่อนถึงปานกลางต่อเชื้อทดสอบ โดยได้มีการสรุปว่า สารหลักในการออกฤทธิ์คือ สาร sabinene โดยการทดสอบได้พบอีกว่า น้ำมันหอมระเหยผลมะแขว่นสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ เชื้อ *E. coli* ได้อย่างสมบูรณ์ในเวลา 9 นาที โดยใช้ความเข้มข้นเป็นสองเท่าของค่าความเข้มข้นน้อยสุดในการฆ่าเชื้อ และยังคงพบว่า น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต่อเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะอีกด้วย ทั้งนี้งานวิจัยได้มีการทดสอบสารบริสุทธิ์ ได้แก่ สาร limonene สาร terpinene-4-ol ทั้งนี้ได้มีส่งสารทดสอบด้วยเครื่อง GC/MS พบสารทั้งหมด 26 ชนิด แยกเป็นสารประกอบกลุ่ม monoterpenes โดยในสารประกอบเหล่านี้พบสาร sabinene ร้อยละ 43 ส่วนสาร limonene ร้อยละ 39 และ terpinen-4-ol ร้อยละ 5.4

2.1.3.4 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

1. มีการศึกษาฤทธิ์ในการต้านการอักเสบในเซลล์แผลช่องปากด้วยเจลทาเฉพาะที่ที่มีส่วนผสมน้ำมันผลมะแขว่น โดยพบว่า สามารถลดการอักเสบได้ใน 2 วัน (Netweera et al., 2016)

2. ในการศึกษาของ Imphat et al. (2021) ได้มีการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบกับ *Zanthoxylum rhetsa* ไม่ใช่ *Zanthoxylum limonella* การศึกษานี้มุ่งเน้นการประเมินฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะแขว่น (*Zanthoxylum rhetsa*) โดยเฉพาะเปลือกผล (pericarp) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดด้วยเฮกเซนและเอทานอล 95% จากเปลือกผลและน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบสูงสุด โดยสารสำคัญที่พบในเปลือกผล คือ 2,3-Pinenediol และในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ด คือ terpinen-4-ol ซึ่งสนับสนุนการใช้มะแขว่นในทางการแพทย์พื้นบ้านเพื่อบรรเทาอาการปวดและการอักเสบในภาวะเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยผลความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถต้านอักเสบได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) ของสารสกัดผนังผลมะแขว่นด้วยตัวทำละลาย Hexane เอทานอลร้อยละ 95 เอทานอลร้อยละ 50 ด้วยวิธี Maceration ในการสกัด คือ 11.99±1.66, 15.33±1.05, 67.55±2.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนในน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นด้วยน้ำ และในการต้มด้วยน้ำ มีค่าประมาณเดียวกันที่ IC₅₀ มากกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.1.4 สิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้อง

2.1.4.1 สิทธิบัตรที่เกี่ยวข้อง

มีการพัฒนาสารสกัดผสมของผลมะแขว่นและผลมะขามป้อมอบแห้งเพื่อนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์และต้านอักเสบรวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ด้านเอนไซม์ไทโรซิเนสและต้านออกซิเดชัน โดยนำผลมะแขว่น และผลมะขามป้อมอบแห้ง มาบดเป็นผงแล้วหมักแยกกันด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ ทำการกรองและนำสารสกัดไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยลดความดันแบบหมุน หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ 2 ชนิดในอัตราส่วนที่เหมาะสมผสมให้เข้ากันโดยทำละลายในตัวทำละลายเล็กน้อยก่อนนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ (บุปผาชาติ พตด้วง และคณะ, 2559ก)

2.1.4.2 อนุสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้อง

1. น้ำมันมะแขว่นถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สบู่เพื่อลดการอักเสบของผิวและทำให้ผิวขาว ซึ่งสบู่มะแขว่นประกอบด้วย สบู่กลีเซอรินรูปแบบใสหรือขุ่น น้ำผึ้ง น้ำมันมะแขว่น สารสกัดจากผลไม้ ได้แก่ ส้ม สับปะรด สตอเบอร์รี่ (มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง, 2561)

2. น้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นถูกนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดพบว่า น้ำมันหอมระเหยของมะแขว่นสามารถระงับอาการปวดหรือระงับการอักเสบได้ เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยของมะแขว่นมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ เช่น สารประกอบกลุ่มโมโนเทปีนส์ (monoterpenes) หลายชนิด ที่สำคัญ คือ ลิโมนีน (limonene) ซึ่งผ่านการทดสอบแล้วว่าสามารถลดระดับของอาการปวดในกลุ่มตัวอย่างได้ (จรีภรณ์ อัมพพันธ์ และคณะ, 2559)

3. สารสกัดจากผลมะแขว่นได้มีการนำมาผสมกับสารสกัดผลมะขามป้อม เพื่อพัฒนาสูตรตำรับและกระบวนการผลิตครีมให้มีความชุ่มชื้น ซึ่งสารผสมนี้มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ต้านออกซิเดชัน ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน และลดการอักเสบการระคายเคืองจึงเหมาะกับผิวแพ้ง่าย (บุปผาชาติ พตด้วง และคณะ, 2559ข)

4. ผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปากประกอบด้วยสารสกัดทางชีวภาพที่สกัดจากผลมะแขว่นในรูปของน้ำมันหอมระเหยซึ่งพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก โดยเฉพาะเชื้อสเตรปโตค็อกคัส มิวแทนส์ *Streptococcus mutans* และเป็นส่วนประกอบของยาฟันบ้าน โดยเป็นการใช้สมุนไพรฟันบ้าน ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อในช่องปากได้ (มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง และคณะ, 2561)

5. สารสกัดจากผลมะแขว่นได้มีการนำมาผสมกับสารสกัดผลมะขามป้อม เพื่อเป็นส่วนผสมในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์โรลออนระงับกลิ่นกายซึ่งสารผสมนี้มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ต้านออกซิเดชัน ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน และลดการอักเสบการระคายเคืองจึงเหมาะกับผิวแพ้ง่าย (บุปผาชาติ พตด้วง และคณะ, 2559ข)

6. สารสกัดจากผลมะแขว่นได้มีการนำมาผสมกับสารสกัดผลมะขามป้อม เพื่อเป็นส่วนผสมในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์โลชั่นทาผิวหนังซึ่งสารผสมนี้มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ต้านออกซิเดชัน ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน และลดการอักเสบการระคายเคืองจึงเหมาะกับผิวแพ้ง่าย (บุปผาชาติ พตด้วง และคณะ, 2559ข)

7. สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งการอักเสบของผิวหนังที่มีน้ำมันตะไคร้ต้นและน้ำมันมะแขว่นเป็นส่วนผสมพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสำหรับยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุของการอักเสบของผิว (ญานี พงษ์ไพบูลย์ และกรวรรณ ศรีงาม, 2558)

8. สูตรผสมสารสกัดจากใบชาเมี่ยงและน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่น ซึ่งเป็นสารละลายเข้มข้นทั้งที่อยู่ในรูปแบบสเปรย์และรูปแบบอื่น ๆ มีสีเขียวเข้ม มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5 - 5.5 พบว่า สามารถใช้ลดการอักเสบในช่องปากได้ (ญานี พงษ์ไพบูลย์, 2557)

9. สารสกัดจากผลมะแขว่นได้มีการนำมาผสมกับสารสกัดผลมะขามป้อม เพื่อเป็นส่วนผสมในสูตรเจลสำหรับล้างทำความสะอาดผิวซึ่งสารผสมนี้มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ต้านออกซิเดชัน ต้านไทโรซิเนสและลดการอักเสบการระคายเคืองจึงเหมาะกับผิวแพ้ง่าย (บุปผาชาติ พตด้วง และคณะ, 2559ข)

2.1.5 ทดสอบการก่อกการกลายพันธุ์ (Antimutagenic Activity)

Antimutagenic Activity คือ ฤทธิ์ด้านการก่อกการกลายพันธุ์ เซลล์ไปเปลี่ยนรูปเป็นเซลล์มะเร็ง ทั้งนี้ได้มีการทำการทดสอบการก่อกการกลายพันธุ์ของสารสกัดเมล็ดมะแขว่นและสารสกัดผนังผลมะแขว่น (Wipoosanapan, 2018) ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกการกลายพันธุ์โดยตรงพบว่า สารสกัดเมล็ดมะแขว่นไม่แสดงฤทธิ์ก่อกการกลายพันธุ์โดยตรงต่อเชื้อ *S. typhimurium* ทั้งสายพันธุ์ TA98 และ TA100 โดยวิธีทดสอบแอมส์สายพันธุ์ TA98 และ TA100 โดยวิธีทดสอบแอมส์ ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีไนโตรต์ นอกจากนี้สารสกัดเมล็ดยังสามารถยับยั้งการก่อตัวของสารก่อกการกลายพันธุ์มาตรฐานระหว่างการทำปฏิกิริยาของ 1-อะมิโนพิริรีนและไนโตรต์ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดเมล็ดแสดงผลการเสริมฤทธิ์ก่อกการกลายพันธุ์ของสารก่อกการกลายพันธุ์มาตรฐานได้เล็กน้อย สำหรับสารสกัดผนังผลเมื่อทำปฏิกิริยากับไนโตรต์แสดงฤทธิ์การก่อกการกลายพันธุ์โดยตรงและเสริมการก่อตัวของสารก่อกการกลายพันธุ์มาตรฐานระหว่างการทำปฏิกิริยาของ 1-อะมิโนพิริรีนและไนโตรต์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 อย่างไรก็ตามสารสกัดผนังผลสามารถยับยั้งการก่อกการกลายพันธุ์ของสารก่อกการกลายพันธุ์มาตรฐานที่เกิดขึ้นหลังจากการทำปฏิกิริยาของ 1-อะมิโนพิริรีนและไนโตรต์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ได้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงกลไกที่แตกต่างกันของสารสกัดจากผนังผลและเมล็ดมะแขว่นในการยับยั้งฤทธิ์ก่อกการกลายพันธุ์ของสารก่อกการกลายพันธุ์มาตรฐาน แต่อย่างไรก็ตามควรหลีกเลี่ยง

การรับประทานผลของมะแขว่นร่วมกับไนไตรท์หรืออาหารที่มีส่วนประกอบของไนไตรท์เพื่อป้องกันการก่อตัวของสารก่อกลายพันธุ์

2.1.6 การศึกษาความเป็นพิษ

สารสกัดผลมะแขว่นได้มีการทดสอบความเป็นพิษ ที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ผิวหนังมนุษย์ โดยใช้วิธีทดสอบ MTT ASSAY พบว่า สารสกัดผลมะแขว่นที่ความเข้มข้น 500, 400, 300, 200, 100, 50, 25 และ 12.5 µg/ml ทำการทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า มีค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 391.8 ± 0.01 µg/ml ซึ่งค่า IC_{50} แสดงถึงการอยู่รอดของเซลล์ต่อสารสกัด โดยถ้าสารสกัดมีความเข้มข้นต่ำกว่าค่า IC_{50} หมายถึงเซลล์จะมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น และมีการศึกษาความเป็นพิษของผนังผลมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล โดยทำการทดสอบด้วยวิธี MTT ASSAY เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้ แต่ทำการศึกษาในเซลล์เนื้อเยื่อของหนูถีบจักร (murine aneuploidy fibrosarcoma cell line) ซึ่งพบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นที่ความเข้มข้น 0.1% เซลล์มีชีวิตเหลืออยู่ร้อยละ 96.46 แสดงว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษในระดับต่ำ (วรานันท์ บัวจิบ และคณะ, 2560)

2.1.7 วิธีการปลูกดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยวมะแขว่น

มะแขว่นเป็นพืชที่เติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 800-1000 เมตร โดยต้องการสภาพอากาศที่ค่อนข้างเย็นและความชื้นในอากาศสูง พืชชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีในสภาพกลางแจ้ง ไม่ต้องการน้ำมาก และชอบดินที่มีการระบายน้ำได้ดี ดังนั้น จึงควรปลูกในพื้นที่ตามไหล่เขา หรือพื้นที่ที่มีความชื้นสูง (เฉลิมเกียรติ โกศาวัฒนา และคณะ, 2545)

2.1.7.1 วิธีการปลูกมะแขว่น

การย้ายปลูกมะแขว่นควรทำในฤดูฝน เพื่อให้ดินมีความชุ่มชื้นและไม่แห้งน้ำซึ่งอาจทำให้กล้าเน่าตายได้ ใช้ระยะปลูก 4x4 เมตร ประมาณ 100 ต้นต่อไร่ ในระยะแรกควรให้มะแขว่นเติบโตตามธรรมชาติ การพรุนดินหรือกำจัดวัชพืชต้องทำด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากรากของมะแขว่นอยู่ที่ระดับผิวดิน การกระทบกระเทือนระบบรากอาจทำให้ต้นมะแขว่นตายหรือชะงักการเจริญเติบโตได้ เมื่อมะแขว่นมีอายุ 1-2 ปี ควรทำการตัดยอดเพื่อให้แตกกิ่งก้าน เป็นการเพิ่มผลผลิตและทำให้ต้นเตี้ย ซึ่งสะดวกต่อการเก็บเกี่ยว ในระยะ 1-3 ปีแรก ต้นมะแขว่นจะไม่สามารถแยกต้นเพศผู้และต้นเพศเมียได้ จนกระทั่งเริ่มออกดอกในปีที่ 3 หรือ 4 โดยต้นเพศเมียจะเริ่มติดผล แต่ต้นเพศผู้ดอกจะร่วงและไม่ติดผล เกษตรกรจึงนิยมตัดต้นเพศผู้บางส่วนทิ้ง และใช้วิธีเสียบยอดแทน โดยตัดส่วนยอดออกเหลือต้นสูงประมาณ 1-1.5 เมตร แล้วใช้วิธีเสียบยอดของต้นเพศเมียแทนต้นเดิม (พรชัย ปรีชาปัญญา, 2550)

2.1.7.2 การดูแลรักษามะเขว่น

มะเขว่นเป็นพืชที่เติบโตในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ การดูแลรักษาจึงค่อนข้างง่าย เนื่องจากเป็นพืชที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่แห้ง แต่ปัญหาที่พบบ่อยได้แก่ ปลวกกัดกินรากและโคนต้น ทำให้ต้นกลวงและถูกมดดำเข้าทำลายจนต้นตาย หรือถูกสัตว์เช่นตุ่นกัดกินรากจนทำให้ต้นตาย บางส่วน นอกจากนี้ ในฤดูแล้ง ควรทำการถากหญ้าเพื่อป้องกันไฟป่าที่อาจทำลายต้นมะเขว่น (การุณย์ มะโนใจ, 2553)

2.1.7.3 การเก็บเกี่ยวมะเขว่นและการทำแห้ง

มะเขว่นจะเริ่มให้ผลผลิตเมื่ออายุ 3-5 ปี โดยมีพันธุ์หนักรและพันธุ์เบา พันธุ์เบาจะเริ่มออกดอกในเดือนกรกฎาคม และเก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน ส่วนพันธุ์หนักรจะเริ่มออกดอกในเดือนสิงหาคมและเก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม การเก็บเกี่ยวผลมะเขว่นควรเก็บเมื่อผลแก่จัด ซึ่งเมื่อแห้งจะมีสีน้ำตาล และมีกลิ่นหอม หากเก็บผลมะเขว่นอ่อนจะทำให้ผลแห้งมีสีเปลือกไม่ดี ผลเหี่ยว เป็นเชื้อราได้ง่าย กลิ่นเสื่อมสภาพเร็ว และตลาดไม่ต้องการ (ภัสรา ขวประดิษฐ์, 2554)

2.1.7.4 การทำแห้งมะเขว่น

การทำแห้งมะเขว่น เกษตรกรนิยมมัดเป็นกำแล้วแขวนผึ่งแดดบนราวตากพื้น ตากแดดประมาณ 3-4 วันจนแห้งสนิท และเก็บเข้าในเวลากลางคืนทุกวันเพื่อป้องกันความชื้นจากน้ำค้างที่ทำให้เกิดเชื้อรา การอบด้วยเครื่องอบลมร้อนเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำให้ได้คุณภาพดีและมีความสม่ำเสมอ โดยกระบวนการอบแห้ง คือ ตัดมะเขว่นจากช่อใหญ่ให้มีขนาดช่อเล็กลง วางเกลี่ยบนตะแกรงอบใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วลดอุณหภูมิลงทีละ 5 องศาเซลเซียสทุกชั่วโมงจนแห้งสนิท ใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง อัตราส่วนผลผลิตสดต่อผลผลิตแห้ง คือ ผลสด 3 กิโลกรัม ตากแห้งเหลือ 1 กิโลกรัม การเก็บรักษาเพื่อให้มีกลิ่นหอมและคุณภาพดี ควรเก็บในถุงฟลอยด์ที่ปิดผนึกซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน (ภัสรา ขวประดิษฐ์, 2554)

2.2 สิว

โรคสิว (acne vulgaris) คือ โรคที่เกิดการอักเสบของหน่วยรูขุมขนและต่อมไขมัน (pilosebaceous unit) โดยมากมักเป็นบริเวณหน้า คอ และลำตัวส่วนบน ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่อยู่หนาแน่น สิวจะปรากฏอาการในผู้หญิงช่วงอายุ 14-17 ปี และในผู้ชายช่วงอายุ 16-19 ปี ความรุนแรงของสิวมักขึ้น 3-5 ปี หลังจากเริ่มเป็นสิว และมักหายไปในช่วงอายุ 20-25 ปี แต่บางคนอาจเป็น ๆ หาย ๆ จนอายุเลย 40 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดสิว ร้อยละ 85

ของผู้เป็นสิ่ว จะเป็นชนิดไม่รุนแรง มีเพียงร้อยละ 15 ที่เป็นสิ่วอักเสบรุนแรง (นภดล นพคุณ และคณะ, 2554; มนตรี อุดมเพทยกุล, 2561) คนที่เป็นสิ่วมักรู้สึกประหม่าและกลัวการถูกปฏิเสธจากสังคมยิ่งไปกว่านั้นอาจทำให้เกิดโรคซึมเศร้าได้ (Koo, 1995; Rubinow et al., 1987).

2.2.1 สาเหตุการเกิดสิ่ว

สิ่ว (acne vulgaris) อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การใช้เครื่องสำอางบางชนิด ขี้ผึ้งจัดแต่งทรงผม การใช้ยา เช่น steroids, lithium, ยากันชัก และ iodides โรคของต่อมไร้ท่อที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง androgen มากเกิน เช่น congenital adrenal hyperplasia, polycystic ovary syndrome การตั้งครรภ์ การอดนอนจากการวัด เช่น การใช้สายคาดศีรษะ แผ่นรองบ่า กระเป่าเป้ สิ่วเป็นโรคที่เกิดจากปัจจัยร่วมหลากหลายโดยมีปัจจัยสำคัญ คือ พันธุกรรม

ในงานวิจัยของ Rao (2017) และ มนตรี อุดมเพทยกุล (2561) ได้อธิบายถึงปัจจัยสำคัญในการเกิดสิ่ว 4 ประการ คือ

2.2.1.1 ภาวะผิวหนังอักเสบและปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกัน (inflammation and immune reactions) คือ ภาวะการอุดตันของรูขุมขนโดยผนังของรูขุมขนขยายตัวจนแตกและกระทบชั้นหนังแท้ จากการรวมตัวกันของเคราติน ไขมัน และแบคทีเรียจนเกิดการอักเสบขึ้น

2.2.1.2 รูขุมขนอุดตันจากการสร้างเคราตินมากเกินไป (follicular hyperkeratinization) ร่วมกับผิวหนังหลุดลอก (desquamation) ลดลง ทำให้เกิดหัวสิ่ว (microcomedone)

2.2.1.3 เชื้อ *Cutibacterium acnes* (เดิมคือ *Propionibacterium acnes*) เป็นแบคทีเรียสำคัญในการทำให้เกิดสิ่ว พบในผู้ที่มีอายุต่ำกว่า 12 ปี และพบมากที่ส่วนช่วงอายุ 15-16 ปี พบในสิ่วหัวขาวร้อยละ 77 และในสิ่วหัวดำร้อยละ 72 เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน คือเป็นเชื้อหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงชอบอยู่ในที่มีความดันออกซิเจนต่ำ คือ ส่วนลึกของต่อมไขมันเพิ่มจำนวนในรอยสิ่วเป็นเชื้อที่กระตุ้นการอักเสบและอาจทำให้เกิดภาวะแพ้ (hypersensitivity) ได้ โดยเชื้อ *Cutibacterium acnes* ในต่อมไขมันจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับความรุนแรงของสิ่ว

2.2.1.4 ภาวะสร้างไขมัน (sebum) มากเกิน อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของฮอร์โมนและสารตัวกลาง (mediator) เช่น androgen, adrenal androgen dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), growth hormone และ insulin-like growth factor

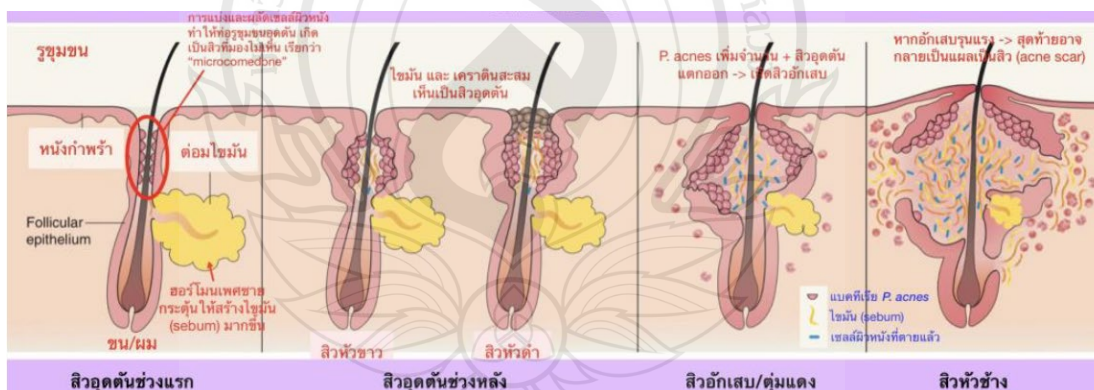
2.2.2 ลักษณะทางคลินิกของสิ่ว

สามารถแบ่งได้เป็นสิ่วอักเสบและสิ่วไม่อักเสบ

2.2.2.1 สิวไม่อักเสบ (non-inflammatory acne) หรือสิवादุดัน (comedonal acne, ductal hypercornification) เป็นสิวที่เกิดจากการอุดตันของขุมขน มี 3 ลักษณะ คือ สิวอดุดันขนาดเล็ก (microcomedone) สิวหัวปิด (closed comedone) หรือสิวหัวขาว (whitehead comedone) เป็นตุ่มนูนสีเนื้อหรือสีขาวขนาดเล็กซึ่งจะเห็นชัดขึ้นเมื่อดึงผิวหนังให้ตึงหรือโดยการคลำ ท่อเปิดมีขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า เนื่องจากขุมขนมีการขยายไม่มากพอ สิวชนิดนี้อาจเกิดการอักเสบตามมาในภายหลัง และสิวหัวเปิด (open comedone) หรือสิวหัวดำ (blackhead comedone) เป็นตุ่มนูนมีจุดดำอยู่ตรงกลาง ท่อไขมันขยายตัวและมีเคราติน เมลานิน และไขมันที่ถูกออกซิไดซ์อุดแน่นอยู่จึงเห็นเป็นสีดำ

2.2.2.2 สิวอักเสบ (inflammatory acne) มีลักษณะเป็นตุ่มแดงขนาดเล็ก (erythematous papule) ตุ่มหนอง (pustule) ตุ่มนูนขนาดใหญ่ (nodule) ภายในมีหนองปนเลือด และถุงชีสต์ (cyst) อาจเป็น acne fulminans ซึ่งมีอาการรุนแรงมากและมีอาการทางระบบ เช่น ไข้ ปวดข้อ และรู้สึกไม่สบายตัวร่วมด้วย (Rao, 2017) เมื่อสิวหายแล้วอาจเหลือร่องรอยได้หลายแบบ ได้แก่ สีผิวผิดปกติ (รอยแดงหรือรอยดำ) เกิดพังผืด (fibrosis) เกิดแผลเป็น (เป็นหลุมหรือแผลเป็นนูน) เป็นต้น ขึ้นกับชนิดและความรุนแรงของการเกิดสิว (Sibbald, 2017)

โดยภาพที่ 2.6 ได้แสดงถึงลักษณะของสิวและกลไกการเกิดสิว ได้อย่างชัดเจนและเห็นภาพยิ่งขึ้น



ที่มา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2565)

ภาพที่ 2.6 ลักษณะของสิวและกลไกการเกิดสิว

2.2.3 การรักษาสิว

งานวิจัย European evidence-based (S3) guideline for the treatment of acne (Nast et al., 2016) พบว่า การรักษาสิวที่นิยมใช้ในปัจจุบันมี 2 รูปแบบ ได้แก่ Topical Treatment คือการรักษาด้วยการทา และ Systemic Treatment คือการรักษาโดยการทานยา โดยการรักษาในรูปแบบการทอย่างเดียวยังสามารถได้ผลเฉพาะกับการรักษาสิวะระยะเริ่มจนถึงระดับที่ไม่รุนแรงเท่านั้น (Tobiasz et al., 2022) ยาปฏิชีวนะสำหรับทาภายนอก เช่น Erythromycin solution 2-4%, Clindamycin Solution 1% โดยการทดลองพบว่า ยาทา 2 ตัวนี้ให้ผลการรักษาที่ใกล้เคียงกัน โดยทำให้ลดปริมาณเชื้อ *Cutibacterium acnes* ลดกรดไขมันอิสระ และลดการอักเสบ (รัชนี อัครพันธุ์, 2548) และในปี 2016 ได้มีการออกแนวทางการรักษาสิวในวัยรุ่นและผู้ใหญ่ โดย The American Academy of Dermatology (AAD) (Zaenglein et al., 2016) ได้แนะนำให้ใช้ยา 4 ประเภทได้แก่ (1) ยาทาฆ่าเชื้อ (2) ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทาน (3) ยา Isotretinoin และ (4) ยาคุมกำเนิดชนิดรับประทาน โดยแนะนำให้ใช้ Benzoyl peroxide หรือ Retinoid เป็นยาทอย่างเดียวยังในการรักษาสิวอักเสบแบบไม่รุนแรง หรือใช้ผสมเป็นยาทาระหว่าง Benzoyl peroxide และ Retinoid หรือใช้ Benzoyl peroxide หรือ Retinoid เป็นยาทา อย่างใดอย่างหนึ่งร่วมกับยาปฏิชีวนะ สำหรับสิวะชนิดอักเสบปานกลางหรือรุนแรงแนะนำให้ใช้ยาทา retinoid ร่วมกับ Benzoyl peroxide เพียงอย่างเดียวหรือยาทา Retinoid ร่วมกับ Benzoyl peroxide และยาปฏิชีวนะชนิดทาโดยอาจพิจารณาให้ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทานหากมีสิวะ Isotretinoin ชนิดรับประทาน ในกรณีสิวะชนิดอักเสบปานกลางหรือรุนแรงในเพศหญิง อาจพิจารณาให้ยาคุมกำเนิดที่มีฮอร์โมนเอสโตรเจนหรือยา Spironolactone ร่วมด้วย

2.2.4 ปัญหาจากการใช้ยาปฏิชีวนะ

ส่วนใหญ่การรักษาสิวมักรักษาโดยหาซื้อยามาใช้เองหรืออาจหันไปใช้บริการสถาบันเสริมความงาม คลินิกโรคผิวหนัง หรือร้านขายยาซึ่งยาที่นิยมใช้กันนั้นมักเป็นยาปฏิชีวนะ (antibiotics) (Rattanaumpawan et al., 2010) และพบว่า ผู้ป่วยร้อยละ 82.8 มีปัญหาดื้อยา โดยพบปัญหาดื้อตัวยา Clindamycin และ Erythromycin มากที่สุด (Ross et al., 2003) เพื่อลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เป็น สาเหตุการเกิดสิวะ ซึ่งจะส่งผลให้มีโอกาสการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย และทำให้เกิดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกต้อง รักษายากขึ้น และส่งผลให้มีการเพิ่มอัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียซึ่งทำให้โรคมียุทธศาสตร์ ความรุนแรง กระทบต่อสุขภาพ เศรษฐกิจ และงบประมาณเพื่อค้นหาตัวยาใหม่ที่ให้ผลดีกว่า การใช้สมุนไพรจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า สมุนไพรจำนวนมากที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและมีคุณสมบัติที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อดูแลสุขภาพ ความสวยความงาม

2.3 เจลมาสก์ชนิดลอกออก Peel-off Gel Mask

Peel-off gel mask เจลมาสก์ชนิดลอกออก เป็นรูปแบบเครื่องสำอางสำหรับทาผิวที่แห้ง เป็นชั้นฟิล์ม Occlusion สามารถลอกออกได้หลังทา ดังภาพที่ 2.7 (Rahmawanty et al., 2015). โดยหลักการของฟิล์มเคลือบผิวนี้ ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว (occlusive) ช่วยให้ผิวกักน้ำได้นานขึ้น (skin hydration) และสามารถคุมให้สารออกฤทธิ์ได้ดี (control released) และนานขึ้น (Beringhs et al., 2013; Vieira et al., 2009) โดยส่วนผสมสำคัญในการทำ Peel-off gel คือ สารก่อฟิล์ม (film-forming agent) และ สารก่อเจล (gelling agent) ในงานวิจัยของ Beringhs et al. (2013) ได้ใช้ Poly vinyl alcohol (PVA) เป็นสารก่อฟิล์ม ปริมาณการใช้ PVA โดยให้ข้อมูลว่า การใช้ PVA ในตำรับ 2.5%-17.5% สามารถให้เจลที่แห้งไว ใส และให้ฟิล์มที่แข็งแรงและพบว่า ส่วนสัดส่วนที่ใช้ ในตำรับเจลมาสก์ชนิดลอกออก (peel-off mask) คือ 13% มีการศึกษา โดยการใช้ตำรับ peel-off mask โดยใช้ PVA เป็นส่วนประกอบในสูตรโดยมีสารสกัดหม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิว *Cutibacterium acnes* ผลทดสอบว่า Peel-off mask สามารถปลดปล่อยสารให้ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสิวได้ (Handayani & Qamariah, 2022) ในงานวิจัยของ Jaslina et al. (2022) และ Velasco et al. (2014) มีการทดสอบประสิทธิภาพของ Peel-off mask พบว่า สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวมากกว่าตำรับอิมัลชัน Oil-in-water เนื่องด้วยคุณสมบัติ Occlusive ของตำรับ



ที่มา Shutterstock (2024)

ภาพที่ 2.7 ลักษณะแผ่นของ Peel-off mask

2.4 สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร

กลุ่มสารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมาก สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (biosynthetic origin) ของสารเหล่านี้ได้เป็น 2 กลุ่ม (วันดี กฤษณพันธ์, 2544) คือ

2.4.1 สารปฐมภูมิ (Primary Metabolites)

สารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชเกือบทุกชนิด โดยส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) ไขมัน (lipids) โปรตีน (protein) กรดอะมิโน (amino acids) และ เอนไซม์ (enzymes)

2.4.2 สารทุติยภูมิ (Secondary Metabolites)

สารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ และมักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน สามารถแบ่งได้ดังนี้

2.4.2.1 อัลคาลอยด์ (alkaloids)

อัลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ พบในรูปของเอมีน เอมีนออกไซด์ หรืออาจอยู่ในรูปของเอไมด์และอีไมด์ อัลคาลอยด์มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น สารเบอร์เบอร์รีน (berberine) ที่มีสีเหลือง ใช้เป็นยาระงับปวด ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน และยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น

2.4.2.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิก (polyphenolic compounds) ประเภท ฟีนิลโครโมน (phenyl chromones) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น C6-C3-C6 ประกอบไปด้วยวงแหวน ไพแรน (pyran ring) จับกับคาร์บอนโซ่ 3 และวงเบนซีน 1 พบมากในธรรมชาติและมีสี (pigments) ที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น กลีบดอก ใบ และผล ฟลาโวนอยด์แบ่งออกเป็นหลายชนิด เช่น ฟลาโวนส์ (flavones) ฟลาโวนอล (flavonols) ชาลโคนส์ (chalcones) ออโรนส์ (aurones) และ แอนโธไซยานินส์ (anthocyanins) ฟลาโวนอยด์หลายชนิดใช้เป็นยาได้ เช่น รูทีน (rutin) ใช้รักษาโรค เส้นโลหิตฝอยเปราะบาง วอโกนิน (wogonin) ที่พบใน SBG ยับยั้งการอักเสบและควบคุมการแสดงออกของนิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบี (nuclear factor-kappaB; NF-KB) และนิวเคลียร์แฟกเตอร์อีริทรอยด์ทูรีเลทแฟกเตอร์ทู (nuclear factor erythroid 2-related factor 2; Nrf2) ในร่างกาย (Zhu et al., 2020)

2.4.2.3 แอนทราควิโนน (anthraquinones)

แอนทราควิโนนมีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน มีสีแดง-ส้ม ละลายในตัวทำละลาย เช่น เบนซีน อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม มีจุดหลอมเหลวสูง ส่วนใหญ่นำมาใช้เป็นยาระบายและยาถ่าย เช่น สารเซนโนไซด์ (sennosides) ในใบและฝักมะขามแขก สารอะโล-อีโมดิน (aloe-emodin) ในโกฐน้ำเต้าและฝักคูน และสารบาบาโลิน (barbaloin) ในเปลือกใบว่านหางจระเข้

2.4.2.4 คูมาริน (coumarin)

คูมารินมีโครงสร้างหลักเป็น 2-อัลฟาเบนโซไพโรน (2- α -benzopyrone) จัดเป็นสารจำพวกแลกโตนไกลโคไซด์ พบทั้งในพืชและจุลินทรีย์ มีออกซิเจนที่ตำแหน่ง C7 นำมาใช้ประโยชน์ เช่น สารบางตัวระเหยได้ ใช้แต่งกลิ่นหรือผสมในน้ำหอมและเครื่องสำอาง ใช้เป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือด

2.4.2.5 ซาโปนินหรือซาโปนินไกลโคไซด์ (saponins, saponins glycoside)

ซาโปนินมักมีโครงสร้างเป็นไกลโคไซด์ชนิดไฮโดรฟิลิก (ละลายน้ำ) จับกับสารอนุพันธ์ไตรเทอร์พีนชนิดละลายในไขมัน สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน เมื่อซาโปนินละลายน้ำจะเกิดเป็นฟองสบู่ และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ ตัวอย่างเช่น กลีเซอไรซิน (glycyrrhizin) ซาโปนินพบได้ทั้งในพืชและสัตว์ แต่พบมากในพืช เช่น ถั่ว ชะเอมเทศ ฝักโขม มัน หน่อไม้ฝรั่ง และชา สามารถพบได้ในรูปอื่น เช่น ไจเพโนไซด์ (gypenosides) ในเจียวกู่หลาน และจินเซนโนไซด์ (ginsenosides) ในโสม

2.4.2.6 แทนนิน (tannins)

แทนนินเป็นสารจำพวกโพลีฟีนอลิกที่มีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่และซับซ้อน พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่ พบได้น้อยในพืชชั้นต่ำ มีสถานะเป็นกรดอ่อนและรสฝาด แยกให้บริสุทธิ์ได้ยาก แทนนินมีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน ทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย จึงใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ใช้เป็นยาฝาดสมาน และยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผล เช่น แผลไฟไหม้ ทำให้แผลติดเร็วขึ้น ตัวอย่างเช่น แกลโลแทนนิน (gallotannin) ในองุ่น หนาม เปลือกต้นสีเสียด เปลือกมังคุด ทับทิม และใบฝรั่ง

2.4.2.7 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids)

เทอร์พีนอยด์เป็นสารทุติยภูมิที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ ประกอบขึ้นจากหน่วยไอโซพรีน (isoprene) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ ละลายได้ดีในไขมัน ไม่มีสี พบในกัญชาในไซโทพลาสซึมของเซลล์ หรือเนื้อเยื่อพิเศษ เช่น สควาลีน (squalene) ที่พบมากในปลาฉลาม และน้ำมันหอมระเหยในพืช

2.4.2.8 สเตียรอยด์ (steroids)

สเตียรอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น Cyclopentanoperhydrophenanthrene คล้ายคลึงกับ Tetracyclic Triterpenes เป็นกลุ่มสารที่มีประโยชน์ ใช้เป็นยาลดการอักเสบ ยารักษาโรคหัวใจ ยาขับปัสสาวะ ตลอดจนนำมาสังเคราะห์เป็นฮอร์โมนเพศ และยากุมกำเนิด

2.4.2.9 คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides)

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์เป็นสารในกลุ่มสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ ช่วยเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาโรคหัวใจวาย ผลการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของอะไกลโคโคนและจำนวนของน้ำตาล ซึ่งช่วยให้คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ละลายได้ดีขึ้น ส่งผลให้การดูดซึมและการกระจายตัวของสารในร่างกายเพิ่มขึ้น ทำให้การออกฤทธิ์ดีขึ้น เช่น โอลิกันดริน (oleandrin) พบในยี่โถ

2.5 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

นันทวัน บุญยะประภัศร (2544) ได้อธิบายถึงการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร ดังต่อไปนี้

2.5.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

เป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.5.1.1 การตรวจเอกลักษณ์ ต้องไม่มีพืชอื่นปนเพื่อให้ได้ข้อมูลพฤกษศาสตร์ที่ถูกต้อง

2.5.1.2 การปราศจากโรค พืชต้องปราศจากจุลินทรีย์และเชื้อโรคเพื่อไม่ให้ส่งผลกระทบต่อ

ต่อการสกัดสารสำคัญ

2.5.1.3 การบันทึกข้อมูล ต้องบันทึกสถานที่และเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช เนื่องจากมีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช

2.5.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

2.5.2.1 การกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) โดยนำพืชที่ต้องการสกัดใส่ลงไปในภาชนะ ซึ่งในภาชนะนั้นมักจะมีตะแกรงสำหรับวางพืชที่ต้องการกลั่น จากนั้นเติมน้ำจนท่วมพืชที่ต้องการกลั่นแล้วต้มจนน้ำเดือดกลายเป็นไอน้ำ การใช้ตะแกรงเพื่อป้องกันไม่ให้ความร้อนถูกกับพืชโดยตรง เพราะน้ำมันหอมระเหยที่ได้อาจมีกลิ่นไหม้ ไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยในพืชชนิดนั้น ๆ จะระเหยขึ้นไปแล้วถูกทำให้เย็นลงเพื่อให้กลับมาเป็นของเหลวอีกครั้ง ในขั้นตอนนี้น้ำมันหอมระเหยจะถูกแยกออกจากน้ำ

2.5.2.2 การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) โดยนำพืชที่ต้องการกลั่นใส่ในหม้อ แล้วให้ความร้อนกับน้ำเพื่อให้กลายเป็นไอน้ำ แล้วให้ไอน้ำผ่านในพืชที่ต้องการกลั่น ซึ่งปกติอุณหภูมิของไอน้ำจะไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส

2.5.2.3 การบีบเย็น ทีบเย็น หรือสกัดเย็น (cold expression) ส่วนมากมักใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้ม ขั้นตอนคือนำเปลือกผลไม้ทำให้ชิ้นเล็กลงแล้วนำไปบีบ จะได้ของเหลวที่มีทั้งน้ำและน้ำมันหอมระเหยผสมกัน รอให้น้ำมันลอยตัวแยกออกจากน้ำแล้ว จึงแยกส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยออกมา วิธีนี้มีต้นทุนในการผลิตต่ำที่สุด แต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะไม่บริสุทธิ์มากและมีอายุไม่นานประมาณ 6 เดือนถึง 1 ปี กลิ่นและคุณสมบัติจะค่อย ๆ หดสภาพไป ขณะที่น้ำมันพื้นฐานอาจมีอยู่นานกว่าคือประมาณ 1 ปี ทั้งนี้ขึ้นกับการเก็บรักษาด้วย

2.5.2.4 การสกัดสารระเหยที่สกัดจากพืช (aromatic extracts) มีหลายวิธีคือ

1. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

การสกัดแบบนี้จะนำสารทำละลายประเภทไฮโดรคาร์บอนใส่ลงไปกับพืชที่ต้องการสกัดเพื่อให้ไขมันหอมระเหยละลายออกมา จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นโดยผ่านกระบวนการกลั่น จะได้สารที่มีส่วนประกอบของเรซินอยู่ด้วย ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายแว็กซ์ที่มีไขมันหอมระเหยผสมอยู่ภายใน จากนั้นนำแอลกอฮอล์บริสุทธิ์มาละลายเอาไขมันหอมระเหยออกมาแล้วทำให้แอลกอฮอล์ระเหยไปคงเหลือแต่น้ำมันหอมระเหย

2. Enfleurage เป็นวิธีสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกไม้ โดยน้ำมันหอมระเหยจะถูกเก็บอยู่ในเซลล์พาราฟินไคมา เช่น ดอกกุหลาบ มะลิ เป็นต้น วิธีนี้ได้ความหอมจากธรรมชาติมากที่สุด ขั้นตอนคือ ใช้น้ำมันหรือไขมันที่ไม่มีกลิ่นเป็นตัวดูดซับน้ำมันที่ระเหยออกมาจากเซลล์ โดยนำตัวดูดซับแผ่นบางบนถาดแล้ววางกลีบดอกไม้เรียงบนตัวดูดซับเก็บไว้ในภาชนะปิด ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วเปลี่ยนกลีบดอกไม้ใหม่ ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ จนตัวดูดซับอิ่มตัวด้วยน้ำมันหอมระเหย นำตัวดูดซับมาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกด้วยแอลกอฮอล์

3. การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว (critical carbon dioxide extraction) วิธีนี้เสียค่าใช้จ่ายสูง แต่มีข้อดีเพราะเป็นสารไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นพิษ ไม่ติดไฟ เมื่อสกัดแล้วแยกออกจากน้ำมันได้ง่าย วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายมักจะมีสารอื่นติดมาด้วยทำให้ดูสกปรก สีเข้มดำคล้ำ แต่กลิ่นคล้ายเดิมมากที่สุด

4. การสกัดด้วยซอกซ์เลต (soxhlet extraction) ชุดสกัด Soxhlet เป็นเทคนิคการแยกสารที่ใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารแล้วจะถูกทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมาเมื่อเจอกับระบบหล่อเย็น ทำให้สกัดได้อีกเป็นลักษณะหมุนเวียน โดยตัวทำละลายที่ใส่ลงไปในเครื่องมือจะหมุนเวียนผ่านสารที่ต้องการสกัดหลาย ๆ ครั้ง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด จนกระทั่งสารที่ต้องการสกัดออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ หลักการ คือ

สารที่ต้องการสกัดจะละลายออกมาจากวัสดุด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่กลั่นและควบแน่นวนกลับมาอย่างต่อเนื่อง กระบวนการนี้ใช้เวลามากกว่า 3 ชั่วโมง หรือจนกว่าไม่มีสารที่ละลายออกมาแล้ว อาจสังเกตได้จากสารละลายที่สกัดนั้นไม่มีสีของสารที่ต้องการ วิธีนี้ประหยัดตัวทำละลายและทำให้สารสกัดที่ได้มีความเข้มข้นสูงมากขึ้น (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.5.2.5 มาเซอเรชัน (maceration หรือ immersion) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยวิธีการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ปากขวดกว้างหรือถังสแตนเลส เป็นต้น ทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (marc) ให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้แล้วนำไปกรอง การสกัดให้หมดจดอาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.5.2.6 เพอร์โคเลชัน (percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (percolator) หมักสมุนไพรกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ค่อย ๆ บรรจุผงยาที่ละเอียดเป็นชั้นในเพอร์โคเลเตอร์ เติมตัวทำละลายลงไปในระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเริ่มไซสารสกัดออกมาโดยค่อย ๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบเอากากสารสกัดออกให้ได้มากที่สุดนำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปกรองวิธีนี้อาจพบปัญหาผงสมุนไพรจับตัวเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปสกัดได้ การพองตัวมากทำให้ต้องใช้ความดันและอาจทำให้อุดตัน การบรรจุไม่สม่ำเสมอจะเกิดร่องซึ่งตัวทำละลายจะไหลผ่านร่องแทนการแทรกซึมไปตามผงสมุนไพร ทำให้สกัดไม่สมบูรณ์ (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.5.2.7 การสกัดด้วยวิธีเขย่า (shaking extraction) การสกัดด้วยวิธีเขย่าเป็นเทคนิคที่ใช้ในการสกัดสารประกอบจากพืชหรือวัสดุอื่น ๆ โดยการใช้ตัวทำละลายและการเขย่าเพื่อเพิ่มการแทรกซึมของตัวทำละลายเข้าสู่วัสดุ ขั้นตอนการทำเริ่มจากการเตรียมวัสดุและตัวทำละลาย เลือกพืชหรือวัสดุที่ต้องการสกัด และเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมเช่น แอลกอฮอล์ เอทานอล หรือน้ำ จากนั้นนำวัสดุใส่ลงในภาชนะที่มีฝาปิด แล้วเติมตัวทำละลายลงไปปริมาณที่เพียงพอที่จะคลุมวัสดุ ปิดฝาภาชนะให้แน่นแล้วทำการเขย่าเพื่อให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าสู่วัสดุ การเขย่าสามารถทำได้ด้วยมือหรือใช้เครื่องเขย่าอัตโนมัติ ระยะเวลาในการเขย่าขึ้นอยู่กับวัสดุและตัวทำละลายที่ใช้ หลังจากการเขย่าเสร็จสิ้น ทำการกรอง หรือแยกสารละลายที่สกัดได้ออกจากกากของวัสดุ โดยใช้กระดาษกรองหรือเครื่องกรอง แล้วนำสารสกัดที่ได้มาเก็บในภาชนะที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และการเสื่อมสภาพ ข้อดีของวิธีนี้คือวิธีง่ายและไม่ซับซ้อน ต้นทุนต่ำ ข้อจำกัด คือ ประสิทธิภาพการสกัดต่ำและอาจใช้เวลานานในการเขย่าเพื่อให้สารประกอบที่ต้องการถูกสกัดออกมาอย่างเพียงพอ (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.5.3 ปัจจัยในการเลือกวิธีการสกัด

การเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ดังนี้

2.5.3.1 คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญ อาจใช้วิธีง่ายไม่ซับซ้อน

2.5.3.2 ลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ หากเป็นพืชที่มีเนื้อเยื่อแข็ง ควรใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง

2.5.3.3 ความสามารถในการละลายของสารสำคัญ หากสารละลายได้น้อยอาจต้องใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง

2.5.3.4 ความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน หากสารไม่ทนต่อความร้อน ควรใช้วิธีการหมัก

2.5.4 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่ดีควรมีสมบัติดังนี้

2.5.4.1 ละลายสารที่ต้องการได้ดี

2.5.4.2 ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

2.5.4.3 ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

2.5.4.4 ไม่เป็นพิษ

2.5.4.5 มีความคงตัวดีและมีราคาไม่แพง

2.5.5 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

หลังจากสกัดสารจากพืชแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาณมากและเจือจาง จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้น โดยวิธีดังนี้

2.5.5.1 การระเหย (free evaporation) การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อน

2.5.5.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (vacuum distillation) การระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ

2.5.5.3 การแช่แข็ง (freezing) วิธีนี้เหมาะสมกับสารที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน

2.5.5.4 อัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) การทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน

2.6 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (essential oil, volatile oil, ethereal oil, essence) ได้จากการสกัดน้ำมันที่สร้างขึ้นจากพืชสมุนไพรโดยเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น ราก และเหง้า เป็นสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนขององค์ประกอบ ซึ่งมีกลิ่นอยู่ในเซลล์หรือในต่อมเฉพาะ อันได้แก่ oil glands, veins, oil sacs, glandular hairs เป็นต้น มีลักษณะเป็นของเหลว และระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชแต่ละชนิด เช่น น้ำมันตะไคร้หอมประกอบด้วย geraniol, citronella และ borneol ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติในการไล่แมลง หรือน้ำมันตะไคร้ประกอบด้วย citral, linalool และ geraniol ซึ่งทำให้มีคุณสมบัติช่วยในการขับลม แก้อาการท้องเสีย (สิริลักษณ์ มาลาเนียม, 2545) น้ำมันหอมระเหยที่บริสุทธิ์ ไม่เพียงแต่มีกลิ่นหอมที่ส่งผลต่อระบบประสาทส่วนกลางเท่านั้น แต่ยังมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส นอกจากนี้อนุภาคขนาดเล็กของน้ำมันยังซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี ทำให้มีผลต่อส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และจิตใจ น้ำมันหอมระเหยเมื่อเข้าสู่จมูกไปสู่เส้นประสาทรับรู้กลิ่น จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นกระแสประสาทส่งต่อไปสมองส่วน limbic system ซึ่งจะส่งผลต่อระบบต่าง ๆ ภายในร่างกาย (ฐาปณีย์ หงส์รัตนารกิจ, 2550)

2.6.1 สารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหย

2.6.1.1 โมโนเทอร์พีน (monoterpenes) เป็นสารเคมีหลักในน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติหลากหลาย เช่น ลิโมนีนซึ่งพบในน้ำมันส้มและน้ำมันเลมอน มีสรรพคุณในการต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ และชาปีนีนซึ่งพบในน้ำมันโรสแมรี่และน้ำมันทีทรี มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านการอักเสบ (Bakkali et al., 2008; Miyake et al., 1993)

2.6.1.2 เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) มีสรรพคุณทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ปีต้า-คาร์โอฟิลลีนที่พบในน้ำมันกานพลูและน้ำมันพริกไทยดำ มีคุณสมบัติต้านการอักเสบและลดอาการปวด ในขณะที่จิงจิบีลีนที่พบในน้ำมันขิง และน้ำมันพริกไทยดำ มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านการอักเสบ (Gertsch et al., 2008; Singh et al., 2005).

2.6.1.3 แอลกอฮอล์เทอร์พีน (terpene alcohols) ได้แก่ ลินาลูลและเจรานีอลเป็นตัวอย่างของแอลกอฮอล์เทอร์พีนที่มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ และต้านเชื้อแบคทีเรีย ลินาลูลพบในน้ำมันลาเวนเดอร์และน้ำมันกุหลาบมีสรรพคุณในการบรรเทาอาการตึงเครียด ขณะที่เจรานีอลพบในน้ำมันกุหลาบ และน้ำมันเจอเรเนียมมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา (Köhler et al., 2002; Peana et al., 2002)

2.6.1.4 เอสเทอร์ (esters) เอสเทอร์ในน้ำมันหอมระเหย เช่น ลินาลิลอะซิเตตที่พบในน้ำมันลาเวนเดอร์มีสรรพคุณในการต้านการอักเสบและบรรเทาอาการปวด ส่วนเจอรานิอะซิเตตที่พบในน้ำมันกุหลาบและน้ำมันเจอเรเนียมมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านเชื้อรา (Buchbauer et al., 1993; Russo et al., 2014)

2.6.1.5 ฟีนอล (phenols) ในน้ำมันหอมระเหยมีสรรพคุณเด่นเช่นโรสมอลที่พบในน้ำมันโรม์ มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระ และยูจินอลที่พบในน้ำมันกานพลู มีสรรพคุณในการต้านการอักเสบและช่วยในการบรรเทาอาการปวด (Fichi et al., 2007; Lambert et al., 2001)

2.6.1.6 คีโตน (ketones) เช่น เมนโทนที่พบในน้ำมันเปปเปอร์มินต์ มีสรรพคุณต้านการอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่คามโพรที่พบในน้ำมันโรสแมรี่มีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและช่วยในการหายใจ (McKay & Blumberg, 2006)

2.6.1.7 แล็กโตน (lactones) เช่น คอสตาเล็กทอนที่พบในน้ำมันคอมพรี มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านมะเร็ง เป็นตัวอย่างที่สำคัญของกลุ่มสารนี้ (Bohlmann et al., 1983)

2.6.1.8 อัลดีไฮด์ (aldehydes) อัลดีไฮด์เช่นซินนามัลดีไฮด์ที่พบในน้ำมันซินนามอน มีสรรพคุณในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ ซึ่งทำให้เป็นสารที่มีความสำคัญในน้ำมันหอมระเหย (Chang et al., 2001).

2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร และคณะ (2551) ได้อธิบายว่า ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ คือความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (microbiostatic) และหรือความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (microbicidal) ส่วนการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ คือ การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่มีอยู่ในสมุนไพร

2.7.1 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ

The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นวิธีมาตรฐาน โดยมีขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิดของเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมเชื้อในการทดสอบ อุณหภูมิ เวลา และสภาวะในการบ่มเพาะเชื้อ ตลอดจนการอ่านและแปลผล ดังนั้น

ห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติตามแบบแผนอย่างถูกต้องทุกขั้นตอน จึงจะทำให้ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื่อถือได้และทำให้การอ่านและแปลผลถูกต้อง

2.7.1.1 MIC (minimal inhibitory concentration)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้ นำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่ง ๆ ต่อยาต้านจุลชีพหลาย ๆ ชนิด รวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาต่อเชื้อ ในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ยาควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่า (2-fold serial dilution)

2.7.1.2 MLC (minimal lethal concentration)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถทำลายเชื้อ (หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด) หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย อาจใช้คำที่จำเพาะเจาะจงกว่า คือ MBC (minimal bactericidal concentration) แต่ถ้าเป็นรา อาจใช้คำว่า MFC (minimal fungicidal concentration) ยาต้านจุลชีพที่มีวิธีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย (microbicidal) จะมีค่า MIC และ MLC เหมือนหรือใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น; $\text{MLC/MIC} \leq 4$) ยกเว้นแบคทีเรียบางชนิด

2.7.1.3 วิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อยามีหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรียและรา สามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวและอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง โดยมีวิธีหลักอยู่ 2 รูปแบบ คือ (1) Dilution susceptibility test และ (2) Agar diffusion test

2.7.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ

2.7.2.1 Dilution Susceptibility Test หรือ การทดสอบ MIC

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ทำลายเชื้อได้และใช้ทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ (anaerobe) หลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบแบบ Broth และ Agar dilution susceptibility test จะคล้ายคลึงกัน คือ เตรียมเชื้อที่ทดสอบให้ได้ขนาด โดยอาจใช้วิธีเทียบความขุ่นกับ McFarland เบอร์ 0.5 หรืออาจใช้การวัดความขุ่นด้วย Spectrophotometer แล้วเจือจางลงสารสกัดสมุนไพรในอาหารเลี้ยงเชื้อในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า (2-fold serial dilution) ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสมุนไพรภายหลังการบ่มเพาะ ให้ดูค่า MIC ทั้งนี้โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของ broth และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบน agar วิธี Broth dilution test วิธีการนี้ยังสามารถแบ่งเป็น Macrodilution test ที่ทำในหลอดทดลอง และ Microdilution test ที่ทำใน Microtiter plate 96-well เนื่องจากสมุนไพรบางชนิดมีสีและความขุ่น หากดูความขุ่นด้วยตาเปล่าอาจทำให้การแปลผลคลาดเคลื่อน เพื่อให้อ่านค่า

ได้ง่ายขึ้น จึงอาจใช้สารบางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อได้ดังเช่นงานการวิจัยของ Eloff (1998) ที่พบว่า p-Iodonitrotetrazolium violet จะสามารถเปลี่ยนสารที่ไม่มีสีเป็นสารสีได้หากพบเชื้อมีการเจริญ ซึ่งวิธีการนี้สามารถทำได้รวดเร็ว แม่นยำ

2.7.2.2 วิธีการทดสอบ Microbicidal activity

การทดสอบ Minimal lethal concentration (MLC) จะทำต่อเนื่องจากการหาค่า MIC โดยการ subculture เชื้อจาก broth ที่ไม่มีเชื้อขึ้นตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป streak บน agar plate จากนั้นนำไปบ่มแล้วดูการเจริญของเชื้อเพื่ออ่าน MLC (MBC หรือ MFC) โดยที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะต้องไม่มีเชื้อขึ้นหรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (99.9% ของเชื้อถูกฆ่า)

2.8 การวิเคราะห์สารสำคัญน้ำมันหอมระเหยโดยเครื่อง GC-MS

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่รวมการแยกสารด้วย Gas Chromatography (GC) และการตรวจจับสารด้วย Mass Spectrometry (MS) เข้าด้วยกัน เทคนิคนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในหลากหลายสาขา เช่น เคมี ชีวเคมี วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และการวิเคราะห์อาหารและยา เนื่องจากมีความไวและความสามารถในการระบุสารได้อย่างแม่นยำ GC ใช้สำหรับแยกส่วนประกอบในตัวอย่างที่เป็นแก๊สหรือระเหยได้ โดยใช้คอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) ซึ่งตัวอย่างจะถูกทำให้เป็นแก๊สและนำเข้าไปในคอลัมน์ด้วยแก๊สพาหะ (carrier gas) ส่วนประกอบต่าง ๆ ของตัวอย่างจะถูกแยกออกตามความสามารถในการโต้ตอบกับเฟสคงที่และถูกตรวจวัดในเวลาต่างกัน MS ใช้สำหรับระบุและวัดมวลของโมเลกุลโดยการทำให้โมเลกุลแตกตัวเป็นไอออนและวัดมวลของไอออนเหล่านั้น สเปกตรัมมวลที่ได้จากการวัดจะเป็นลักษณะเฉพาะที่สามารถใช้ระบุสารแต่ละชนิดได้อย่างแม่นยำ GC/MS ใช้กันอย่างแพร่หลายในสาขาเคมีอินทรีย์ เช่น การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหาร การตรวจจับสารเคมีในสิ่งแวดล้อม และการวิจัยด้านเภสัชวิทยา การวิเคราะห์สารอินทรีย์ด้วย GC/MS สามารถให้ข้อมูลที่แม่นยำเกี่ยวกับโครงสร้างและความเข้มข้นของสารที่สนใจ เทคนิค GC/MS ยังใช้ในการวิเคราะห์สารระเหย (volatile compounds) ในพืชเพื่อศึกษาองค์ประกอบและการทำงานของสารเหล่านี้ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหย (essential oils) เพื่อระบุสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.9 การวิเคราะห์สารสำคัญเชิงเคมีของสารสกัดโดยเครื่อง Liquid Chromatography-mass Spectrometry, LC-MS)

LC-MS/MS-QTOF เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ผสมผสานระหว่างการแยกสารด้วยโครมาโตกราฟีของเหลว (liquid chromatography, LC) และการวิเคราะห์มวลสาร (mass spectrometry, MS) โดยมีการใช้เครื่องวิเคราะห์ชนิด Quadrupole Time-of-Flight (QTOF) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีความละเอียดสูง

2.9.1 หลักการทำงานของ LC-MS/MS-QTOF

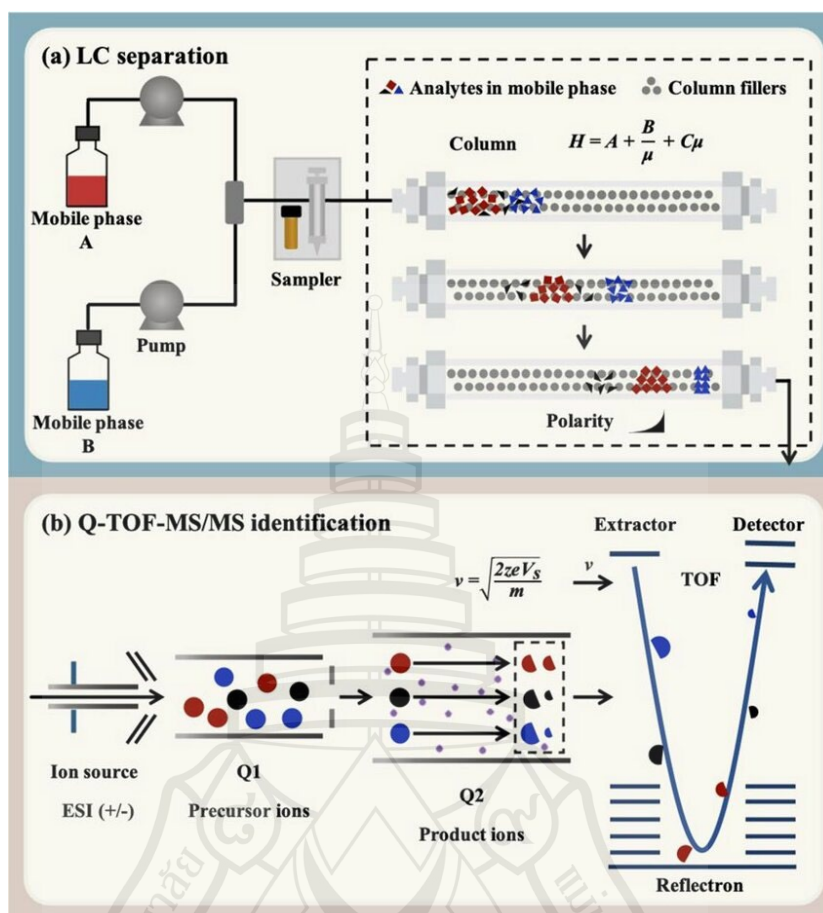
2.9.1.1 Liquid Chromatography (LC) โดย LC ประกอบด้วยเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งเป็นของเหลวที่พาสารผ่านเฟสคงที่ (stationary phase) ที่อยู่ในคอลัมน์ สารประกอบในตัวอย่างจะถูกแยกตามความแตกต่างของการเกิดปฏิสัมพันธ์กับเฟสคงที่ ตัวอย่างที่เตรียมพร้อมจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์ LC สารประกอบในตัวอย่างจะถูกแยกออกเป็นองค์ประกอบย่อย ๆ ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมี เช่น ขั้วบวกหรือขั้วลบ

2.9.1.2 Mass Spectrometry (MS) โดย สารประกอบที่ถูกแยกจากขั้นตอน LC จะถูกทำให้เป็นไอออนผ่านกระบวนการแตกตัว (ionization) เช่น Electrospray Ionization (ESI) หรือ Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) ไอออนที่เกิดขึ้นจะถูกส่งเข้าไปยังตัววิเคราะห์มวล Quadrupole (Q) คือตัวกรองไอออนจะทำการคัดกรองไอออนตามมวลต่อประจุ (m/z) และเลือกไอออนเป้าหมาย (precursor ions) เพื่อส่งไปยัง Time-of-Flight Analyzer (TOF)

2.9.1.3 Time-of-Flight (TOF) โดย ไอออนที่ผ่านการคัดกรองจาก Quadrupole จะถูกเร่งด้วยไฟฟ้าและปล่อยให้วิ่งผ่านท่อสุญญากาศ การวัดเวลาที่ไอออนใช้ในการเดินทางจะช่วยให้สามารถคำนวณมวลต่อประจุของไอออนได้

การรวมกันของ LC-MS/MS-QTOF นี้ทำให้สามารถแยก วิเคราะห์ และระบุสารประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง โดยเฉพาะในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความซับซ้อน เช่น การระบุสารปนเปื้อนในอาหาร การวิจัยทางเภสัชศาสตร์ และการศึกษาเมแทบอลิซึมในชีวภาพ

ภาพประกอบ ภาพที่ 2.8 แสดงถึงหลักการทำงานของ LC-MS/MS-QTOF เพื่อให้เห็นภาพชัดเจนยิ่งขึ้น



ที่มา Yang et al. (2021)

ภาพที่ 2.8 หลักการทำงานของ LC-Q-TOF-MS/MS (a) LC. (b) Q-TOF-MS/MS

2.9.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลที่ได้จากการใช้เทคนิค LC-MS/MS-QTOF เป็นข้อมูลที่มีความละเอียดสูงและสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อได้ในหลายรูปแบบ โดยผลที่ได้นั้นสามารถแบ่งออกเป็นสองส่วนหลัก ๆ ได้แก่

2.9.2.1 ผลจาก Liquid Chromatography (LC) คือ ผลลัพธ์จะเป็นกราฟที่เรียกว่า โครมาโตแกรม (chromatogram) ซึ่งแสดงการแยกสารต่าง ๆ ตามเวลา สารประกอบต่าง ๆ จะปรากฏเป็นยอด (peaks) บนโครมาโตแกรม โดยแต่ละยอดจะแทนสารประกอบแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมา

2.9.2.2 ผลจาก Mass Spectrometry (MS) คือ ผลลัพธ์จะเป็นกราฟที่เรียกว่า สเปกตรัมมวล (mass spectrum) ซึ่งแสดงการกระจายตัวของไอออนตามมวล-ต่อ-ประจุ

(m/z ratio) สเปกตรัมนี้จะแสดงเป็นยอดเช่นเดียวกัน โดยแต่ละยอดจะแทนไอออนแต่ละชนิดที่ถูกวิเคราะห์ เมื่อใช้ MS/MS จะได้ Fragmentation Pattern ซึ่งเป็นการแสดงการกระจายตัวของไอออนที่เกิดจากการแตกตัวของโมเลกุล ทำให้สามารถระบุโครงสร้างของสารประกอบได้

2.9.2.3 ผลลัพธ์จาก QTOF จะให้ข้อมูลที่มีความแม่นยำสูงในเรื่องมวลของไอออน ทำให้สามารถระบุสารประกอบได้อย่างละเอียดและแม่นยำมากขึ้น

2.9.2.4 ผลลัพธ์การประมวลผลข้อมูล (data processing) ข้อมูลจากโครมาโตแกรมและสเปกตรัมมวลจะถูกนำมาประมวลผลเพิ่มเติมด้วยซอฟต์แวร์เฉพาะทาง เพื่อให้สามารถระบุสารประกอบ วิเคราะห์ความเข้มข้น และทำการเทียบเคียงกับฐานข้อมูลสารมาตรฐาน

2.9.2.5 ไอออนไนเซชัน (electrospray ionization, ESI), มีหลายสัญลักษณ์ที่ใช้เพื่อบ่งบอกประเภทของไอออนที่สร้างขึ้น แต่ละสัญลักษณ์แสดงถึงวิธีการที่ไอออนนั้นถูกสร้างขึ้น ได้แก่

1. (M+H)⁺ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการเติมโปรตอนให้กับโมเลกุล (M) ในกระบวนการนี้โมเลกุลได้รับโปรตอนเพิ่มเติม ทำให้เกิดไอออนที่มีประจุบวก

2. (M-H)⁻ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการสูญเสียโปรตอนหนึ่งจากโมเลกุล (M) ส่งผลให้เกิดไอออนที่มีประจุลบ

3. (M+Na)⁺ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการเติมโซเดียม (Na) เข้าไปในโมเลกุล ซึ่งทำให้เกิดไอออนที่มีประจุบวก

4. (M+K)⁺ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการเติมโพแทสเซียม (K) เข้าไปในโมเลกุล ซึ่งทำให้เกิดไอออนที่มีประจุบวก

5. (M+NH₄)⁺ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการเติมแอมโมเนียม (NH₄) เข้าไปในโมเลกุล ซึ่งทำให้เกิดไอออนที่มีประจุบวก

6. (M+HCOO)⁻ หมายถึงไอออนที่เกิดจากการเติมกลุ่มฟอร์มेट (HCOO⁻) เข้าไปในโมเลกุลพื้นฐาน (M). สัญลักษณ์นี้บ่งบอกว่าไอออนดังกล่าวมีประจุลบและได้มาจากการเติมแอนไอออนฟอร์มेटเข้ากับโมเลกุลตั้งต้น

ภาพรวมแล้ว ผลลัพธ์ที่ได้จาก LC-MS/MS-QTOF จะเป็นข้อมูลที่สามารถใช้ในการระบุชนิดของสารประกอบ วิเคราะห์ปริมาณของสาร และศึกษาคุณสมบัติเชิงโครงสร้างของสารประกอบต่าง ๆ ได้อย่างละเอียดและแม่นยำ LC-MS/MS-QTOF ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารในหลายสาขา เช่น ในทางการแพทย์ใช้การวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลในเลือด ปัสสาวะ หรือเนื้อเยื่อ เพื่อการวินิจฉัยโรค การเกษตร การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของยา ในการวิจัยและพัฒนายาใหม่ทางการเกษตรใช้ในการตรวจสอบสารตกค้างในอาหารและผลิตผลการเกษตร และในทางวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมได้ประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบสารพิษในน้ำ ดิน และอากาศ

2.10 การอักเสบ (Inflammation)

การอักเสบ (inflammation) เป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมีของร่างกายที่ตอบสนองต่อการบาดเจ็บหรือการติดเชื้อ กระบวนการอักเสบประกอบด้วยหลายขั้นตอนและมีบทบาทสำคัญในการปกป้องร่างกายจากสิ่งแปลกปลอม อย่างไรก็ตาม การอักเสบที่ไม่เหมาะสมหรือเรื้อรังอาจนำไปสู่โรคภัยต่าง ๆ

2.10.1 กลไกการอักเสบ

กระบวนการอักเสบเริ่มต้นเมื่อร่างกายตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บหรือการติดเชื้อ โดยกระบวนการหลัก ๆ มีดังนี้

2.10.1.1 การกระตุ้นสิ่งกระตุ้น (triggering stimulus) ได้แก่ การบาดเจ็บ การติดเชื้อ หรือสารเคมี

2.10.1.2 การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immune response) คือ การปล่อยสารเคมี เช่น Cytokines, Prostaglandins, และ Histamine เพื่อดึงดูดเซลล์ภูมิคุ้มกัน

2.10.1.3 การขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) คือ การขยายตัวของหลอดเลือด และการเพิ่มการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด

2.10.1.4 การสะสมของของเหลวและเซลล์ภูมิคุ้มกัน (accumulation of fluid and immune cells) คือ การสะสมของของเหลวและเซลล์ภูมิคุ้มกันในบริเวณที่มีการอักเสบ

2.10.1.5 การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (tissue repair) คือ กระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหายหลังจากการกำจัดสิ่งกระตุ้น

2.10.2 สารต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory Agents)

สารต้านการอักเสบมีบทบาทในการลดการอักเสบและอาการปวด โดยการยับยั้งการผลิตและการทำงานของสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ สารต้านการอักเสบจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ มีการวิจัยอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น ขมิ้นชัน (curcumin) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิต Prostaglandins และ Cytokines ขิง (gingerol) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ COX-2 ว่านหางจระเข้ (aloe vera) ลดการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ Cytokines

การอักเสบแสดงให้เห็นว่าสารจากธรรมชาติหลายชนิดมีศักยภาพในการลดการอักเสบ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์และเครื่องสำอางได้ การวิจัยเพิ่มเติมยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารเหล่านี้ (Medzhitov, 2010)

2.10.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบ (Anti-inflammatory Testing)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบเป็นกระบวนการที่สำคัญในการประเมินประสิทธิภาพของสารต่าง ๆ ในการลดการอักเสบที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์หรือสิ่งมีชีวิต วิธีที่นิยมใช้มีดังนี้

2.10.3.1 การทดสอบในระดับเซลล์ (in vitro)

1. การทดสอบการยับยั้งการสร้าง Cytokines โดยใช้เซลล์ภูมิคุ้มกัน เช่น Macrophages หรือ Monocytes กระตุ้นเซลล์ด้วยสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เช่น LPS (lipopolysaccharides) วัดปริมาณ Cytokines ที่สร้างขึ้น เช่น TNF- α , IL-1 β และ IL-6 โดยใช้เทคนิค ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

2. การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ COX (cyclooxygenase inhibition assay) โดยใช้เซลล์ที่แสดงออกของเอนไซม์ COX-1 และ COX-2 วัดการผลิต Prostaglandins โดยใช้เทคนิค ELISA

3. การทดสอบการยับยั้งการทำงานของ NF- κ B (NF- κ B inhibition assay) โดยใช้เซลล์ที่แสดงออกของโปรตีน NF- κ B วัดการทำงานของ NF- κ B โดยใช้เทคนิค Western blot หรือ Luciferase reporter assay

4. การทดสอบการปล่อย NO (nitric oxide assay) โดยใช้เซลล์ Macrophages ที่กระตุ้นด้วย LPS วัดปริมาณไนตริกออกไซด์ที่ปล่อยออกมาโดยใช้ Griess reagent

2.10.3.2 การทดสอบในระดับสิ่งมีชีวิต (in vivo)

1. การทดสอบในหนูตะเภา (rodent models) โดยใช้หนูหรือหนูตะเภาในการทดสอบ กระตุ้นการอักเสบโดยการฉีดสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เช่น Carrageenan หรือ LPS เข้าสู่เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง วัดการบวมของเนื้อเยื่อหรือการเปลี่ยนแปลงในระดับ Cytokines ในเลือด

2. Carrageenan-Induced Paw Edema Test ใช้การฉีด Carrageenan เข้าสู่เท้าหนูเพื่อกระตุ้นการอักเสบ วัดการบวมของเท้าในระยะเวลาที่กำหนด

3. Formalin-Induced Paw Edema Test ใช้การฉีดฟอร์มาลินเข้าสู่เท้าของสัตว์ทดลองเพื่อทำให้เกิดการอักเสบ วัดขนาดของการบวมและเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

4. Adjuvant-Induced Arthritis Test ใช้อะดีแวนท์ (adjuvant) ในการกระตุ้นการอักเสบในข้อต่อของสัตว์ทดลองวัดการบวมและอาการทางคลินิกของข้อต่อ

5. Tetradecanoylphorbol Acetate (TPA) Induced Ear Edema โดยการทา TPA บนใบหูของหนูเพื่อกระตุ้นการอักเสบ วัดการบวม และการสะสมของสารสกัดที่ตรวจพบในหู

การทดสอบฤทธิ์ด้านอักเสบในห้องทดลองสามารถทำได้ทั้งในระดับเซลล์และระดับสิ่งมีชีวิต การทดสอบเหล่านี้มีความสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพของสารด้านการอักเสบ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการพัฒนายาและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์

2.11 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด (Toxicity Testing of Extracts)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเป็นขั้นตอนสำคัญในการประเมินความปลอดภัยของสารต่าง ๆ โดยเฉพาะสารสกัดจากพืชหรือสารเคมีใหม่ ๆ ที่อาจนำมาใช้ในทางการแพทย์หรือผลิตภัณฑ์สุขภาพ การทดสอบความเป็นพิษสามารถทำได้ทั้งในระดับเซลล์ (in vitro) และในระดับสิ่งมีชีวิต (in vivo)

2.11.1 การทดสอบความเป็นพิษในระดับเซลล์ (In Vitro)

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity assay) ได้แก่

2.11.1.1 MTT Assay โดยวัดการทำงานของเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase ในเซลล์ ซึ่งสามารถแปลง MTT (yellow tetrazolium salt) ให้เป็น formazan (purple) เซลล์ที่มีชีวิตสามารถทำให้เกิดสีม่วงที่สามารถวัดได้โดยใช้ spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 nm

2.11.1.2 Neutral Red Uptake Assay ใช้สารสี Neutral Red ที่เซลล์ที่มีชีวิตสามารถดูดซับและเก็บสะสมใน lysosome การวัดการดูดซับของสีสามารถประเมินความมีชีวิตของเซลล์ได้

2.11.1.3 Lactate Dehydrogenase (LDH) Assay โดยการวัดปริมาณเอนไซม์ LDH ที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ที่เสียหายหรือถูกทำลาย การเพิ่มขึ้นของ LDH ในสื่อเพาะเลี้ยงบ่งชี้ถึงการตายของเซลล์

2.11.1.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาท (neurotoxicity assay) โดยใช้เซลล์ประสาทหรือเซลล์สมองในหลอดทดลองวัดการเปลี่ยนแปลงในระดับโปรตีนหรือการตายของเซลล์โดยใช้เทคนิคต่าง ๆ เช่น MTT assay, LDH assay

2.11.2 การทดสอบความเป็นพิษในระดับสิ่งมีชีวิต (In Vivo)

2.11.2.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity test) โดยทดสอบในสัตว์ทดลอง เช่น หนู โดยการให้สารสกัดทางปากหรือทางฉีดสังเกตอาการทางคลินิกและการตายของสัตว์ทดลองในระยะเวลา 14 วันหลังการให้สาร

2.11.2.2 การทดสอบความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity test) โดยให้สารสกัดแก่สัตว์ทดลองเป็นเวลานาน (เช่น 90 วัน) สังเกตอาการทางคลินิก การเจริญเติบโต น้ำหนักตัว และการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายใน

2.11.2.3 การทดสอบความเป็นพิษทางพันธุกรรม (genotoxicity test)

1. Ames Test คือการทดสอบการก่อการกลายพันธุ์ของสารสกัดโดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium*

2. Micronucleus Test โดยการวัดการเกิด micronuclei ในเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์ทดลองเพื่อประเมินความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเป็นขั้นตอนสำคัญในการประเมินความปลอดภัยของสารต่าง ๆ การทดสอบเหล่านี้ช่วยให้สามารถระบุระดับความปลอดภัยของสารและใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์และสุขภาพ

2.12 สภาวะการทดสอบความคงทน (Stability Testing) ของเครื่องสำอาง

การทดสอบความเสถียร (stability testing) ของเครื่องสำอางเป็นขั้นตอนสำคัญเพื่อประเมินความสามารถของผลิตภัณฑ์ในการรักษาคุณภาพและประสิทธิภาพภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ การทดสอบนี้ครอบคลุมหลายสภาวะการทดสอบเพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์จะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเก็บรักษาและใช้งาน ในการทดสอบความเสถียรของเครื่องสำอางที่อุณหภูมิต่าง ๆ จำเป็นต้องตรวจสอบหลายปัจจัยเพื่อประเมินความสามารถของผลิตภัณฑ์ในการรักษาคุณภาพและประสิทธิภาพ เริ่มจากการตรวจสอบความหนืด (viscosity) ด้วยเครื่องวัดความหนืด (viscometer) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เช่น 4°C, 25°C, และ 40°C เพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์คงความหนืดที่เหมาะสมในการใช้งาน ต่อมาเป็นการสังเกตการแยกชั้น (phase separation) ของผลิตภัณฑ์ในภาชนะเก็บ เพื่อประเมินว่าผลิตภัณฑ์ยังคงความคงตัวและไม่แยกชั้น การเปลี่ยนแปลงของสี (color change) จะถูกตรวจสอบด้วยเครื่องวัดสีเพื่อตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์ยังคงสีที่เหมาะสมและสวยงาม นอกจากนี้ การวัดค่า pH ของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ จะช่วยให้อุ่นใจว่าผลิตภัณฑ์ยังคงค่า pH ที่เหมาะสมและไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง การตรวจสอบความเสถียรของสารออกฤทธิ์ (active ingredient stability) ด้วยเทคนิค HPLC จะช่วยประเมินว่าสารออกฤทธิ์ยังคงประสิทธิภาพในการทำงาน การเปลี่ยนแปลงของกลิ่น (odor change) จะถูกตรวจสอบโดยการวิเคราะห์กลิ่นเพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์ยังคงกลิ่นที่ดีและไม่เหม็นหืน สุดท้าย การทดสอบจุลชีววิทยา (microbiological testing) จะตรวจสอบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

โดยใช้การเพาะเชื้อเพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์ไม่มีการเจริญเติบโตของจุลชีพที่อาจเป็นอันตราย (Sinko, 2006)

สภาวะอุณหภูมิที่นิยมใช้ในการทดสอบ ได้แก่ (Chaudhary & Nema, 2013)

2.12.1 สภาวะการทดสอบที่มาตรฐาน

2.12.1.1 อุณหภูมิห้อง (room temperature) เก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ที่ $25^{\circ}\text{C} - 32^{\circ}\text{C}$ วัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเสถียรในสภาวะการเก็บรักษาที่พบได้ทั่วไป

2.12.1.2 อุณหภูมิสูง (high temperature) เก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ที่ $40^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$ วัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเสถียรภายใต้สภาวะที่เร่ง (accelerated conditions) และตรวจสอบการเสื่อมสภาพที่อาจเกิดขึ้นในระยะเวลายาวนาน

2.12.1.3 อุณหภูมิต่ำ (low temperature) เก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ที่ 4°C วัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของอุณหภูมิต่ำต่อผลิตภัณฑ์

2.12.2 สภาวะการทดสอบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (Heating-Cooling Cycle)

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสภาวะเร่ง (heating-cooling cycle) คือ การเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะที่เปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจาก 4°C เป็น 4°C ทุก 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ โดยปกติจะนิยมทดสอบที่ 3, 4, 6, 12 รอบแล้วแต่การออกแบบการทดสอบ วัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่รุนแรงต่อผลิตภัณฑ์

2.12.3 สภาวะการทดสอบแสง (Light Stability)

การทดสอบความเสถียรทางแสง (light stability testing) โดยเก็บผลิตภัณฑ์ภายใต้แสง UV และแสงธรรมชาติ โดยให้ตัวอย่างสัมผัสแสงตามมาตรฐาน ICH Q1B วัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของแสงต่อผลิตภัณฑ์ เช่น การเปลี่ยนสีหรือการเสื่อมสภาพของส่วนประกอบ

2.12.4 สภาวะการทดสอบความชื้น (Humidity Testing)

การทดสอบความชื้น (humidity testing) โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่ $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ที่ $85\% \pm 5\%$ วัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลกระทบของความชื้นสูงต่อผลิตภัณฑ์

2.12.5 การวัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$

การวัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ (lab color space) เป็นวิธีที่ใช้ในการกำหนดและเปรียบเทียบสีอย่างแม่นยำ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้วัดเรียกว่า คัลเลอร์มิเตอร์ (colorimeter) หรือ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) อุปกรณ์เหล่านี้สามารถตรวจวัดสีได้อย่างแม่นยำและมีความเที่ยงตรงสูงโดยระบบสี Lab* ประกอบด้วยสามแกนหลักโดย

ค่า L (Lightness)* แกนแนวตั้งที่บ่งบอกถึงความสว่างของสี โดยมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ซึ่ง 0 คือ สีดำสนิท และ 100 คือ สีขาวสนิท

ค่า a* แกนแนวนอนที่บ่งบอกถึงสีแดง-เขียว โดยมีค่าเป็นบวก (+) แสดงถึงสีแดง และค่าเป็นลบ (-) แสดงถึงสีเขียว

ค่า b* แกนแนวนอนที่บ่งบอกถึงสีเหลือง-น้ำเงิน โดยมีค่าเป็นบวก (+) แสดงถึงสีเหลือง และค่าเป็นลบ (-) แสดงถึงสีน้ำเงิน

โดยขั้นตอนในการทดสอบความเสถียรด้วยการวัดค่าสี

1. การเตรียมตัวอย่าง แบ่งผลิตภัณฑ์บำรุงผิวออกเป็นหลาย ๆ ตัวอย่าง แล้วเก็บรักษาในสภาวะต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิสูง อุณหภูมิต่ำ สภาวะแสงแดดแรง และความชื้นสูง

2. การวัดค่าสีเริ่มต้น ใช้คอลอริมิเตอร์ (colorimeter) หรือสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) วัดค่าสี $L^*a^*b^*$ ของผลิตภัณฑ์ทุกตัวอย่างก่อนเริ่มการทดสอบ (Sharma & Bala, 2017)

3. การเก็บข้อมูลระหว่างการทดสอบ โดยวัดค่าสีของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในช่วงเวลาต่าง ๆ เช่น ทุกสัปดาห์หรือทุกเดือน เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี

4. การคำนวณ Delta E (ΔE) โดยคำนวณค่า Delta E ระหว่างค่าสีที่วัดได้ในแต่ละช่วงเวลาและค่าสีเริ่มต้น เพื่อดูว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีมากน้อยเพียงใด (Sharma & Bala, 2017) โดย ΔE เป็นตัวชี้วัดที่ใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสองสีในระบบ $L^*a^*b^*$ ค่ายิ่งต่ำ แสดงว่า สีทั้งสองมีความคล้ายคลึงกันมาก ค่ายิ่งสูงแสดงว่าสีทั้งสองมีความแตกต่างกันมาก โดยคำนวณจากสมการ:

ระดับการแปลการวัดค่า Delta E (ΔE) (Sharma & Bala, 2017)

0 - 1: มนุษย์ไม่สามารถมองเห็นความแตกต่างของสีได้

1 - 2: ความแตกต่างของสีเล็กน้อยมาก มนุษย์บางคนอาจสามารถมองเห็นได้

2 - 3: ความแตกต่างของสีเล็กน้อย มนุษย์สามารถมองเห็นได้เมื่อสังเกตอย่างละเอียด

3 - 6: ความแตกต่างของสีที่มองเห็นได้ชัดเจน แต่ยังไม่ชัดเจนมาก

6 - 12: ความแตกต่างของสีที่มองเห็นได้ชัดเจนและชัดเจนมาก

>12: ความแตกต่างของสีที่มองเห็นได้ชัดเจนอย่างมาก

การทดสอบความเสถียร (stability testing) ของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวมีประโยชน์สำคัญในการประเมินคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาภายใต้สภาวะต่าง ๆ ช่วยให้ผลิตภัณฑ์สามารถปรับปรุงสูตรและบรรจุภัณฑ์

เพื่อให้ผลิตภัณฑ์คงคุณภาพที่ดีตลอดอายุการใช้งาน นอกจากนี้ยังช่วยให้มั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ออกสู่ตลาดมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับผู้บริโภค



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1	95% Ethanol (Lab grade)	(J.T. Baker)
3.1.1.2	Gallic acid (C ₇ H ₆ O ₅)	(Sigma-Aldrich, USA)
3.1.1.3	Folin-Ciocalteu's reagent	(Merck, Germany)
3.1.1.4	Sodium bicarbonate (Na ₂ CO ₃)	(Carlo Erba)
3.1.1.5	Dimethylsulfoxide (DMSO)	(RCI labscan limited, Thailand)
3.1.1.6	Quercetin (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)	(Sigma-Aldrich, USA)
3.1.1.7	Aluminum chloride (AlCl ₃)	(Sigma-Aldrich, USA)
3.1.1.8	Potassium acetate (CH ₃ CO ₂ K)	(Sigma-Aldrich, USA)
3.1.1.9	PVA	(MyskinReceipt, Bangkok)
3.1.1.10	Glycerin	(Namsiang Co., Ltd., Bangkok)
3.1.1.11	HPMC	(MyskinReceipt, Bangkok)
3.1.1.12	Phenoxyethanol	(ไทยสงวนวิวัฒน์, กรุงเทพฯ)
3.1.1.13	95% Ethanol	(All Chemical Supply, Thailand)
3.1.1.14	ผง Brain heart infusion agar (BHI)	(Himedia, India)

3.1.2 พืชตัวอย่าง

ผนังผลมะเขว่น

จ.น่าน, ประเทศไทย

3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์และเซลล์ในการทดสอบ

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 3.1.3.1 เชื้อโคโลนิของแบคทีเรีย | (คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล) |
| C. acnes (DMST 14916) | |
| 3.1.3.2 เซลล์มาโครฟาจ (RAW 267.7) | ATCC (American Type Culture Collection) |

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|---|--|
| 3.1.4.1 เครื่องบดสมุนไพร | (DAMING, China รุ่น DMF-16A) |
| 3.1.4.2 เครื่องเขย่า | (Labnet รุ่น Orbit 1000, New Zealand) |
| 3.1.4.3 เครื่องระเหยสารสูญญากาศ
(Rotary evaporator) | (Eyela/รุ่น N-1000/รุ่น CCA – 1110, USA) |
| 3.1.4.4 Graham Condenser | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.5 Heating Mantle | (Mtop/รุ่น MS-E103 500ML, Korea) |
| 3.1.4.6 Round bottom flask
แบบมีช่องเสียบวัดอุณหภูมิ | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.7 แท่งแก้ววัดอุณหภูมิ | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.8 เครื่องเขย่าสั่นความถี่สูง
(Sonicator) | (Crest/ รุ่น Tru-Sweep, Malaysia) |
| 3.1.4.9 เครื่อง Centrifuge | (Thermo IEC, Germany) |
| 3.1.4.10 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง | (Precisa/XB2200C, Switzerland) |
| 3.1.4.11 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง | (Precisa รุ่น XB2200C, Switzerland) |
| 3.1.4.12 ขวด Vial 2ml สีชา | (Septa, China) |
| 3.1.4.13 Microplate reader | (BMG Labtech รุ่น FLUOstar OMEGA, Germany) |
| 3.1.4.14 ขวดปรับปริมาตร 5 ml | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.15 ขวดปรับปริมาตร 10 ml | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.16 ขวดปรับปริมาตร 25 ml | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.17 ปีกเกอร์: ขนาด 25ml | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.18 ปีกเกอร์: ขนาด 50 ml | (Duran, Germany) |
| 3.1.4.19 ปีกเกอร์: ขนาด 100 ml | (Duran, Germany) |

3.1.4.20 LC-MS/MS-QTOF	(Agilent Technologies รุ่น 6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.08.00, USA)
3.1.4.21 Pitri dishes	(Greiner Item-No. 6281xx / 628160-TRI, Thailand)
3.1.4.22 เครื่องวัดความหนืด (Viscometer)	(BROOKFIELD, Model: DV-II+Pro, USA)
3.1.4.23 96 well plate	(Spl life, Korea)
3.1.4.24 GC/MS	(Agilent Technologies รุ่น 7890 B, Triple Quadrupole mass selective detector รุ่น 7000 D, USA)
3.1.4.25 Microplate reader	(BMG Labtech, Model: FLUOstar OMEGA, Germany)
3.1.4.26 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	(QIS,Suntex ,Model: B200, SP2100, Taiwan)
3.1.4.27 เครื่องวัดความหนา	(Taurus307, China)
3.1.4.28 กระดาษกรอง (25.4x76.2 มม.)	(Sail Brand, China)
3.1.4.29 เครื่องวัดสี (Colormeter)	(KONICA MINOLTA, Model: CM-700d, JAPAN)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างผนังผลมะแขว่น

นำตัวอย่างมะแขว่น จากบ้านผาหลัก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน ประเทศไทย เก็บเกี่ยวมะแขว่นตอนผลแห้งช่วง เดือนธันวาคม 2566 ทำแห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และลดอุณหภูมิลงทีละ 5 องศาเซลเซียสทุกชั่วโมงเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และทำการสกัดหลังเก็บเกี่ยวและทำแห้งทันที ไม่ควรเกิน 90 วันหลังทำแห้ง หลังจากนั้นคัดแยกส่วนของผนังผล นำมาบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร ร่อนผ่านตะแกรกร่อน 60 mesh และนำไปสกัดทันที

3.2.2 การสกัดสารจากผนังผลมะแขว่น

ในงานวิจัยนี้ต้องการสารสกัดที่ 2 สภาวะ คือ

3.2.2.1 การเตรียมสารสกัดผนังผลมะแขว่นด้วยวิธีการเย้าในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract)

นำตัวอย่างผนังผลมะแขว่น ที่ร้อนผ่านตระแกรงร้อนแล้ว มาทำการสกัดด้วยวิธีการเย้าตลอดเวลา ด้วยอัตราส่วนผนังผลมะแขว่นแห้งต่อตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 เท่ากับ 1:10 บรรจุขวดชมพูแล้วนำไปเย้าด้วยเครื่องเย้าอัตโนมัติ (auto shaking machine) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 150 rpm (รอบต่อนาที) หลังจากนั้นทำการกรองสารสกัด (ส่วนเอทานอลคือส่วนสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ) ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 และทำระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้งสนิท (โดยดูจาก น้ำหนักของสารคงที่) สารที่ได้คือ Crude extract (ซึ่งในงานวิจัยนี้เรียกว่า ZL extract) เก็บสารสกัดในตู้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คำนวณหาร้อยละผลผลิต

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้}}{\text{น้ำหนักผนังผลที่บด}} \times 100$$

3.2.2.2 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น

นำตัวอย่างผนังผลมะแขว่นที่ผ่านการร้อนแล้ว ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี Water distillation ด้วยเครื่อง Clevenger apparatus ชนิดน้ำมันเบากว่าน้ำ ซึ่งตัวอย่างผนังผลมะแขว่นที่เตรียมไว้ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาณ 200 มล. ใส่ใน Round bottom flask ขนาด 500 มล. กลั่นนาน 6 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ใช้ 100 องศาเซลเซียส วัดปริมาณและเก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วันวิสาข คุณะวัฒนกุล และคณะ, 2560) อ้างอิงอุณหภูมิที่ใช้จาก จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตรเจริญกุล (2553)

3.2.3 ทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ในสารสกัดผนังผลมะแขว่นเอทานอลร้อยละ 50

3.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocalteu assay ด้วยเครื่อง microplate reader (ดัดแปลงวิธีจาก Amin et al., 2006)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml นำไปเจือจาง DI Water ลดลงทีละ 2 เท่า (two-fold serial dilution ให้มีความเข้มข้นช่วง 0.0078125 – 0.5 mg/ml (7.8125-500 µg/ml)

2. เตรียม microplate โดย ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Gallic acid และสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 µl ปิเปต Folin-Ciocalteu reagent (เจือจาง 10 เท่า) ปริมาตร 100 µl ผสมให้เข้ากัน และทิ้งไว้ 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติม 7.5% (w/v) Na₂CO₃ (sodium carbonate)

ปริมาตร 80 μL ผสมให้เข้ากัน และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm รายงานผลเป็นปริมาณ Gallic acid equivalent (μg GAE/g หรือ mg GAE/g)

โดยการทดสอบสารสกัดใช้วิธีการเดียวกันกับการทดสอบ Gallic acid

3.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric assay ด้วยเครื่อง microplate reader (Chang et al., 2002)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Quercetin ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml นำไปเจือจาง DI Water ลดลงทีละ 2 เท่า (two-fold serial dilution ให้มีความเข้มข้นช่วง 0.0078125 – 0.5 mg/ml (7.8125-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

2. เตรียมไมโครปิเปต (micropipette) โดย ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Quercetin และสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 25 μL ปิเปต 95% ethanol ปริมาตร 75 μL ผสมให้เข้ากัน เติม 10% AlCl_3 ปริมาตร 5 μL , 1 M potassium acetate ปริมาตร 5 μL และน้ำกลั่น ปริมาตร 140 μL ผสมให้เข้ากัน และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm รายงานผลเป็นปริมาณ Quercetin equivalent (μg QE/g หรือ mg QE/g)

3.2.4 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง *Cutibacterium acnes* ด้วยวิธี Disc Diffusion Method

ดัดแปลงวิธีจาก (Bakht et al., 2014; Zaidan et al., 2005)

3.2.4.1 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

1. เตรียมอาหาร Brains heart infusion agar โดยชั่งน้ำหนักผง Brains heart infusion agar ตามสัดส่วนที่กำหนด (37 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร) แล้วตวงน้ำกลั่น 1 ลิตรใส่ภาชนะทนความร้อน จากนั้นเทผง Brains heart infusion agar ลงในน้ำกลั่นแล้วคนให้ละลายโดยใช้ hotplate หรือ magnetic stirrer นำสารละลายเข้า autoclave ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นปล่อยให้เย็นลงเล็กน้อย (45-50°C) เทลงใน Petri dishes แล้วปล่อยให้แข็งตัวในสภาวะปลอดเชื้อ เมื่อแข็งตัวแล้ว ปิดฝาและเก็บในตู้เย็นที่ 2-8°C จนกว่าจะนำไปใช้

2. เตรียมสารละลายเชื้อ โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารรุ้น Brains heart infusion agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในน้ำร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อ ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5

3.2.4.2 ทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารทดสอบ

ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งของสารทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion โดยเพาะเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ลงบนอาหารทดสอบ Brains hear infusion agar โดย

ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงใน suspension ของเชื้อที่ต้องการทดสอบ บิดให้แห้งพอหมาด ๆ กับข้างหลอดทดลอง จากนั้นทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหาร ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นนำแผ่นทดสอบ ZL extract (สารสกัดในเอทานอลร้อยละ 50) ZL Oil (น้ำมันหอมระเหย) และ ZL mixed (แบบผสมระหว่างสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 และน้ำมันหอมระเหย แบบ 1:1) วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเอทานอลร้อยละ 50 ใช้เป็น Negative control ส่วนสาร Gentamicin สาร Clindamycin และสาร Erythromycin ใช้เป็น Positive control ในการทดสอบครั้งนี้

3.2.4.3 ตรวจสอบผลการทดสอบ

เมื่อทำการบ่มจนครบระยะเวลาทำการตรวจผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อ

3.2.5 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

3.2.5.1 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

1. การเตรียมอาหาร Brains Heart Infusion Agar โดย ชั่ง Brains Heart Infusion (Difco, USA) ปริมาณ 37 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นและนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออุณหภูมิอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงถึงประมาณ 45 องศาเซลเซียส จึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจาน

2. วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย โดย นำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารวุ้น Brains Heart Infusion Agar (BHA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเจือจางด้วยสารละลาย 0.85% NaCl ที่ปราศจากเชื้อ ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 (ปริมาณเชื้อเท่ากับ 108 cfu/ml (Kirby-Bauer)) แล้วนำมาเจือจางด้วยอาหารในอัตราส่วน 1:200 (MHB 10 ml ต่อสารละลายเชื้อ 0.05 ml)

3. วิธีการเตรียมสารทดสอบ โดยละลายสารทดสอบด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) แล้วกรองด้วย Syringe Filter (whatman) ที่มีขนาดรูกรอง 0.45 ไมครอน สารทดสอบที่ได้จะนำไปเจือจางอีกครั้งด้วยวิธี Two-Fold Dilution โดยเตรียมความเข้มข้นของสารทดสอบระดับเดียวกัน

3.2.5.2 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

โดยทำการปิเปตอาหาร Brains Heart Infusion Broth สำหรับทดสอบเชื้อ *C. acnes* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมทั้ง 96 หลุม จากนั้นปิเปตสารทดสอบ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมและเจือจางด้วยวิธี Two-Fold Dilution โดยการปิเปตสารทดสอบลง Microtiter Plate หลุมแรก ผสมสารทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยใช้ปิเปตดูดขึ้นลง 4-5 ครั้ง จากนั้นดูดสารผสมปริมาตร 100 ไมโครลิตรจากหลุมแรกลงหลุมที่สอง ทำเช่นนั้นจนถึงหลุมสุดท้าย จากนั้นปิเปตสารผสมหลุมสุดท้ายทิ้งไป 100 ไมโครลิตร แล้วปิเปตสารละลายเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละหลุม โดยหลุมที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อและสารทดสอบเป็น Positive Control และหลุมที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อแบคทีเรียเป็น Negative Control นำไปบ่ม

3.2.5.3 การตรวจผลการทดสอบ

1. การตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อและหาค่า MIC (minimum inhibitory concentration) โดยตรวจสอบหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความขุ่น

2. การตรวจสอบการทำลายเชื้อแบคทีเรียและหาค่า MBC (minimum bactericidal concentration)

ตามวิธีการของ Basri et al. (2005) โดยนำสารละลายในหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Brains Heart Infusion Agar (BHA) และรายงานค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นค่า MBC

3.2.6 การวิเคราะห์หาสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่นด้วยเทคนิค GC/MS

เตรียมขวดสีชา Vial ขนาด 2 ml บรรจุน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น กรองด้วย syringe filter 0.2 μm ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) ใช้เครื่องมือจาก Agilent Technologies รุ่น 7890 B พร้อม Triple Quadrupole mass selective detector รุ่น 7000 D โดยใช้คอลัมน์ HP-5MS ขนาด 30 ม. x 0.25 มม. หนา 0.25 ไมครอน อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 50 °C และเพิ่มขึ้นถึง 230 °C ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 4 °C/นาที ตัวฉีดตัวอย่างใช้อัตราส่วนแบบ pulse split ที่ 50:1 ที่อุณหภูมิ 250 °C และตรวจจับด้วยโหมดสแกนที่ 40-400 amu ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพาในความดัน 11.01 psi อัตราการไหล 1.2 มล./นาที ความเร็วเฉลี่ย 40 ซม./วินาที ฐานข้อมูลที่ใช้ในการเปรียบเทียบคือ Wiley 11th และ NIST 2014+2017

3.2.7 การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF)

เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างในเชิงคุณภาพและปริมาณ สารที่นำมาวิเคราะห์จะต้องเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลาย โดยเครื่องมือที่ใช้ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 คือ เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ทำหน้าที่แยกสารผสมให้ออกจากกันและทำให้สารบริสุทธิ์มากขึ้น โดยการใช้คอลัมน์เฉพาะทางในการแยกสารตามความแตกต่างในคุณสมบัติทางเคมี ส่วนที่ 2 คือ แมสสเปกโตรมิเตอร์ (mass spectrometer) เป็นชนิด High Resolution ใช้หลักการ Quadrupole-Time-of-Flight (Q-TOF) ทำหน้าที่เป็นส่วนวิเคราะห์สารโดยการคัดแยกมวลต่อประจุ (m/z) มีแหล่งกำเนิดไอออนเป็นแบบ Electro Spray Ionization (ESI) และ Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) เพื่อตรวจจับและวิเคราะห์สารเคมีที่แยกได้จาก HPLC อย่างละเอียด รวมถึงแสดงผลออกมาในรูปสเปกตรัมมวลต่อประจุของสาร (mass spectrum) ซึ่งเป็นกราฟที่แสดงค่ามวลต่อประจุ (m/z) ของไอออนที่ตรวจวัดได้ กับค่าการตอบสนอง (response) ต่อเครื่องตรวจวัดที่แสดงออกมาในรูปของร้อยละความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ (%relative abundance) ค่า m/z ที่ตรวจพบมักอยู่ในรูป Molecular ion เช่น M^+ , $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M-H]^-$, หรือ $[M+nH]^+$

การเตรียมสารในการทดสอบโดยละลายสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) ผสมกับเมทานอลเกรด HPLC เพื่อความปลอดภัยจากการเจือปนและระเหยง่ายต่อการทดสอบ โดยอัตราส่วนที่ผสม คือ 1mg/ml กรองด้วย syringe filter 0.2 μ m บรรจุในขวดสีชา Vial ขนาด 2 ml ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF) ชื่อเครื่อง Agilent Technologies รุ่น 6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.08.00 ที่มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย โดยทำการแยกสารด้วย Agilent 6200 Series HPLC, Reversed column: VertiSep UPS C18 HPLC Column, 4.6x250 mm, 5 μ m, Detector: QTOF-MS, Mobile Phase: Acetonitrile:formate buffer, Flow rate 0.9 mL/min, Column Temperature: 40°C, Injection volume: 20 μ L

ทั้งนี้อ้างอิงวิธีการจาก คณิษฐา จิรัฐติกาล (2565)

3.2.8 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ จะทำการทดสอบกับสาร 3 ตัวอย่าง คือ สารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) น้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น (ZL oil) และ แบบผสม 1:1 (ZL mixed) ขึ้นตอนดังนี้

3.2.8.1 เตรียมสารตัวอย่าง

1. โดยเตรียมสารตัวอย่างเข้ากับตัวทำละลาย DMSO (dimethyl sulfoxide) ด้วย Vortex โดยให้ความเข้มข้นที่ 100mg/ml
2. ตั้งทิ้งไว้ในเครื่อง Sonicator เพื่อใช้คลื่นความถี่สูงมาช่วยในการละลายของสารเป็นเวลา 30 นาที
3. ทำการเจือจางด้วยตัวทำละลาย DMSO เพื่อให้ได้ตัวอย่างสารที่ความเข้มข้น 10 mg/ml (working solution)
4. กรองด้วย syringe filter 0.2 μm เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับทดสอบในเซลล์
5. เจือจาง working solution (ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.8.2 ทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay

1. ทำการเลี้ยงเซลล์ RAW 264.7 ใน 96 well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์ 1×10^5 cells/well แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. เติมน้ำอาหารที่เลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบตามความเข้มข้น 5000, 2500, 1250, 625, 313, 78 และ 39 $\mu\text{g/mL}$ จากนั้นทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ทำการเติมสารละลาย MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเพื่อให้เอนไซม์ succinate dehydrogenase ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เปลี่ยน MTT ไปเป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan (formazan)
4. เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการละลายผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan ด้วย DMSO และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570/630 nm โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของผลิตภัณฑ์ฟอร์มazan ซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต

3.2.8.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ของสารทดสอบด้วยวิธี Griess test

1. เตรียมเซลล์ โดยเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ (RAW 264.7) ใน 96 well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์ 1×10^5 cells/well บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. เตรียมสารทดสอบและการกระตุ้นการอักเสบโดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก และล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง บ่มเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสารทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 100 $\mu\text{g/mL}$ และทำการเจือจางลง 2 เท่าเป็นจำนวน 8 ความเข้มข้น บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่

อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กระตุ้นการอักเสบด้วย LPS (lipopolysaccharide) ที่ความเข้มข้น 1 µg/mL

3. การบ่มหลังการกระตุ้น โดยบ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. การเตรียมสารละลาย Sulfanilamide โดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกมาปริมาตร 25 µL จากแต่ละหลุม เติม Sulfanilamide reagent ปริมาตร 25 µL แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่เปลี่ยนไนไตรท์เป็นกรดไนตริส

5. การเตรียมสารละลาย NED โดยเติม NED reagent ปริมาตร 25 µL แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่จับกับกรดไนตริส และเกิดเป็นสารประกอบเอโซ (azo) ที่มีสีชมพูอมม่วง

6. การวัดค่าดูดกลืนแสง: วัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 nm ความเข้มข้นของสีชมพูอมม่วงที่เกิดขึ้นจะแปรผันตามปริมาณของไนไตรท์ในตัวอย่างทดสอบ

7. การคำนวณผล โดยแทนค่าที่ได้เทียบกับสมการของกราฟมาตรฐานของสารไนไตรท์ (nitrite) เพื่อหาปริมาณการหลั่งไนไตรท์จากเซลล์ที่ทดสอบด้วยสารทดสอบ

3.2.9 การพัฒนาตำรับ Anti-acne Peel Off Gel

3.2.9.1 เตรียมตำรับสูตรพื้น (base) โดยยังไม่ใส่สารสกัด หรือน้ำมันหอมระเหย

ในการพัฒนาตำรับ peel off gel จะเตรียมส่วนผสมตามตารางที่ 3.1 (ดัดแปลงตามวิธีของ Apriani et al., 2022; Kulkarni et al., 2019) โดยสารหลักในการก่อฟิล์มคือ PVA (poly vinyl alcohol)

ตารางที่ 3.1 สูตรสำหรับทดสอบตำรับสูตรพื้น

Part	Chemical	Function	Optimized Concentration (%)		
			B1	B2	B3
A	DI water	Solvent	30	30	30
	Poly vinyl alcohol (PVA)	Film former	12	13	14

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

Part	Chemical	Function	Optimized Concentration (%)		
			B1	B2	B3
B	Water	Solvent/Diluent	To 100	To 100	To 100
	HPMC	Texture Modifier /Gelling Agent	0.5	0.5	0.5
C	Glycerin	Humectant	1	0.5	1
	Tween 20	Emulsifier	0.5	0.5	0.5
	Ethanol	Dryness Agent	1	2	2
D	Phenoxyethanol	Preservative	1	1	1

ขั้นตอนเตรียม

1. ผสม Part A โดยละลาย PVA ในน้ำที่อุณหภูมิ 75°C คนต่อเนื่องเบา ๆ จนละลาย
2. โปรง HPMC ในน้ำอุ่นจนจนใสละลายดี เติม Glycerin และ Tween20
3. ผสม Part B กับ Part A คนจนเข้ากันดี
4. ผสม C กับ AB ตามลำดับการทดสอบทางกายภาพและทดสอบประสิทธิภาพของตำรับ (สภาวะเจล)
5. ทดสอบสูตรพื้นที่เหมาะสมที่สุดในการลงสารสกัด โดยเลือกตำรับที่เหมาะสมดูจากปัจจัยดังนี้ การเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น ทดสอบโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที มีอัตราการเกลี่ยที่ดี (spreadability) การสร้างฟิล์มที่แข็งแรงไม่ขาดง่าย (film-forming ability) และการแห้งที่เหมาะสม (dryness time) < 30 นาที

3.2.9.2 พัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel

พัฒนาตำรับสูตรพื้นที่เลือกมาทดสอบกับสารสกัด หรือน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* (ที่ค่า MIC) อ้างอิงการทดสอบจาก Berings et al. (2013) and Hariyadi et al. (2020) หลังจากนั้นทำการทดสอบตำรับและสังเกตทางกายภาพของทั้งสภาวะเจล (gel form) และประสิทธิภาพของสภาวะแผ่นฟิล์ม (film form) โดยสูตรคำนวณความเข้มข้นร้อยละของสารสกัดที่ต้องใช้ในสูตร คือ

$$\%w/w = (\text{น้ำหนักของสารสกัด} / \text{น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด}) \times 100$$

3.2.9.3 การทดสอบความคงทนและประสิทธิภาพของตำรับ

1. การวิเคราะห์ความคงทนของตำรับทางกายภาพโดยประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ทดสอบทางกายภาพของตำรับ สังเกตและอธิบายลักษณะทางกายภาพของตำรับทั้ง สภาวะเจล และ ฟิล์ม จากการเห็น ดม สัมผัส (physical appearance) ทั้งสองสภาวะ คือ สภาวะ เจล (gel form) และสภาวะแผ่นฟิล์ม (film form) สังเกตลักษณะเนื้อเจล การแยกชั้น สี กลิ่น ความหนืด (viscosity) รวมถึงการทดสอบประสิทธิภาพของตำรับในการทำงานในรูปแบบแผ่นฟิล์ม อันได้แก่ อัตราการเกลี่ยที่ดี (spreadability) การสร้างฟิล์มที่แข็งแรงไม่ขาดง่าย (film-forming ability) ความคงตัวของหยดเจล (droplet holding ability) ความหนาของแผ่นฟิล์ม (thickness) และการแห้งที่เหมาะสม (dryness time) โดยใช้เนื้อเจล 0.1 g ทดสอบกับ กระดาษสไลด์ เพื่อใช้วัดผล ในการทดสอบ ดังตารางที่ 3.2 และตารางที่ 3.3

2. การวิเคราะห์ความคงทนของตำรับทางกายภาพและเคมี (physicochemical analysis) ด้วยเครื่องวัด

แบ่งการทดสอบเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มสภาวะเจล (gel form) และกลุ่มสภาวะฟิล์ม (film form) โดยทำการทดสอบสภาวะเจลวันที่ 0 (day 0) และ 30 (day 30) เก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง 28°C-30°C, ทดสอบที่ 4°C, ทดสอบที่ 45°C และทำการทดสอบโดยสภาวะเร่งที่ อุณหภูมิร้อนสลับเย็น 4 รอบ (heating-cooling cycle 1-4) โดยเก็บตำรับในขวดแก้วใสที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทั้งหมดจำนวน 4 รอบ (ดัดแปลงวิธีจาก Navarro-Pérez et al., 2021) วัดค่าสีแต่ละสภาวะด้วย (colorimeter test) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer โดยวัดค่า L*, a*, b* วัดค่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทดสอบความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter และวัดค่าความหนืด (viscosity) ด้วยเครื่อง Rheometer ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.2 การวิเคราะห์ความคงทนของตำรับโดยประสาทสัมผัส (สภาวะเจล)

ลักษณะ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
ลักษณะทางกายภาพรวม (overall physical appearance)	- Room temperature	Day 0, Day 30	สังเกตด้วยตาเปล่า
	- Heatinging -Cooling	Cycle 4	บอกลักษณะโดยรวมของ
	4cycle	Day 30	เนื้อของความโปร่งใส สี
	- Cool 4°C	Day 30	
	- Heat 45°C		

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ลักษณะ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
การแยกชั้นโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า (phase separation by sight)	- Room temperature	Day 0, Day 30	สังเกตด้วยตาเปล่า
	- Heatinging-Cooling	Cycle 4	โดย บอกถึงความเป็นเนื้อเดียวกัน กับไม่เป็น และ
	4cycle	Day 30	บันทึกว่า แยกชั้น หรือ
	- Cool 4°C	Day 30	ไม่แยกชั้น
ความแข็งแรงของหยดเจล (droplet holding ability)	- Heat 45°C		
	- Room temperature	Day 0, Day 30	หยดเนื้อเจล 0.1 กรัมบน
	- Heatinging cooling	Cycle 4	แผ่นสไลด์ สังเกตความ
	4cycle	Day 30	สมบูรณ์ของหยดเจล
	- Cool 4°C	Day 30	โดยให้คะแนน 0-5
ความหนืด (viscosity)	- Heat 45°C		โดย Score 0-5 คือ
	- Room temperature	Day 0, Day 30	0=แย่, 1-2=พอใช้ระดับ1
	- Heatinging cooling	Cycle 4	และ 2, 3=ปานกลาง,
	4cycle	Day 30	4=ดี, 5=ดีมาก
	- Cool 4°C	Day 30	สังเกตด้วยตาเปล่า
กลิ่น (odor)	- Heat 45°C		โดย บอกถึงความเป็นเนื้อเดียวกัน กับไม่เป็น และบันทึกว่า เหลว, หนืดน้อย, หนืดปานกลาง, หนืดมาก
	- Room temperature	Day 0, Day 30	สังเกตด้วยการดม โดยบอกถึงกลิ่นที่ปรากฏ และ
	- Heatinging cooling	Cycle 4	บันทึก เช่น กลิ่นเฉพาะตัวของเคมี หรือ สารใด ๆ
	4cycle	Day 30	
	- Cool 4°C	Day 30	
	- Heat 45°C		

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ลักษณะ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)	- Room Temperature	Day 0	สังเกตด้วยตาเปล่า และ บันทึกภาพ และให้ผลเป็น มีตะกอน หรือ ไม่มีตะกอน
ความแข็งแรงของหยดเจล (droplet holding ability)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	หยดเนื้อเจล 0.1 กรัมบน แผ่นสไลด์ สังเกตความรูปร่างของหยดเจลโดยไม่ไหล เป็นหยดคงตัวดี ให้คะแนน 0-5 โดย Score 0-5 คือ 0=แย่มาก, 1-2=พอใช้ระดับ 1 และ 2, 3=ปานกลาง, 4=ดี, 5=ดีมาก
อัตราการเกลี่ย (spreadability)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	หยดเนื้อเจล 0.1 กรัมบน แผ่นสไลด์ เกลี่ยเจลไป ทิศทางเดียวกันเป็นเป็น สี่เหลี่ยมในความกว้างxสูง คือ 3 x 2.5 cm สังเกต ความความง่ายในการเกลี่ย โดยให้คะแนน 0-5 โดย Score 0-5 คือ 0=แย่มาก, 1-2=พอใช้ระดับ 1 และ 2, 3=ปานกลาง, 4=ดี, 5=ดีมาก
อัตราการก่อฟิล์ม (film forming ability)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	สังเกตจากเนื้อเจลที่ทาแล้ว ในสไลด์ ดูความสามารถในการก่อฟิล์มได้แผ่นฟิล์มที่ แนบสนิทและแห้งกลืนไปกับ ผิว ให้คะแนน Score 0-5 คือ 0=แย่มาก, 1-2=พอใช้ระดับ 1 และ 2, 3=ปานกลาง, 4=ดี, 5=ดีมาก

ตารางที่ 3.3 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของตำรับโดยประสาทสัมผัส (สภาวะแผ่นฟิล์ม)

ลักษณะ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
ความแห้งไว Drying time (min)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	โดย สังเกตจากเนื้อเจลที่ทาแล้วในสไลด์ เวลาที่แห้งสนิทเป็นแผ่นฟิล์มทุก 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที บันทึกช่วงเวลาสุดท้ายที่แห้งสนิท เป็น วินาที (min)
ความแข็งแรงเมื่อลอกออก (Peel off ability)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	โดย สังเกตจากการลอกแผ่นฟิล์มบันทึกค่า ลอกง่าย-ยาก ชาด-ไม่ชาด
ความหนาของแผ่นฟิล์ม Film Thickness (mm)	- Room temperature - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Day 30 Day 30	ทดสอบแผ่นฟิล์มที่ลอกแล้ว โดยใช้เครื่องวัดความหนา ทดสอบ 3 ซ้ำ 3 จุดของแผ่นฟิล์ม บันทึกหน่วยวัดเป็น มิลลิเมตร (mm)

ตารางที่ 3.4 ทดสอบความคงทนของตำรับโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี (physicochemical analysis) ด้วยเครื่องวัด

สภาวะตัวอย่าง	ทดสอบ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
สภาวะเจล	ค่า pH	- Room temperature - Heatinging cooling 4cycle - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Cycle 1-4 Day 30 Day 30	วัดด้วยเครื่องวัดค่า pH โดยทดสอบ 3 ซ้ำ โดยมีการปรับจุดทดสอบ ที่อุณหภูมิห้อง 25-28°C
ค่าความหนืด (Viscosity)		- Room temperature - Heatinging cooling 4cycle - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Cycle 1-4 Day 30 Day 30	ด้วยเครื่องวัดค่าความหนืดทำการทดสอบ 5 ซ้ำ โดยมี การปรับจุดตำแหน่งทดสอบ บันทึกหน่วยเป็น Centipoint (cP) ที่อุณหภูมิห้อง 25-28°C
ค่าสี L*a*b*		- Room temperature - Heatinging cooling 4cycle - Cool 4°C - Heat 45°C	Day 0, Day 30 Cycle 1-4 Day 30 Day 30	ทดสอบแผ่นฟิล์มที่ลอกแล้ว โดยใช้เครื่องวัดความหนา ทดสอบ 3 ซ้ำ 3 จุดของแผ่นฟิล์ม บันทึกหน่วยวัดเป็น มิลลิเมตร (mm) ที่อุณหภูมิห้อง 25-28°C

ตารางที่ 3.4 (ต่อ)

สภาวะตัวอย่าง	ทดสอบ	สภาวะทดสอบ	ระยะเวลาที่ทดสอบ	วิธีทดสอบ
สภาวะแผ่นฟิล์ม	ค่าสี L*a*b*	- Room temperature	Day 0, Day 30	ทดสอบแผ่นฟิล์มที่ลอกแล้ว
		- Heatinging cooling 4cycle	Cycle 1-4	โดยใช้เครื่องวัดความหนา
		- Cool 4°C	Day 30	ทดสอบ 3 ซ้ำ 3 จุดของ
		- Heat 45°C	Day 30	แผ่นฟิล์ม บันทึกหน่วยวัดเป็น
				มิลลิเมตร (mm) ที่
				อุณหภูมิห้อง 25-28°C

3.3 วิเคราะห์ค่าทางสถิติ

โดยใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ร้อยละ (%) ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้วิธี One-way Analysis of Variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan (post hoc tests) กำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ $p < 0.5$

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมตัวอย่างผนังผลมะแขว่น

นำตัวอย่างมะแขว่น จากบ้านผาหลัก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน ประเทศไทย จำนวน 2,034 กรัม เก็บเกี่ยวมะแขว่นตอนผลแห้งช่วงเดือน ธันวาคม 2566 และใช้วิธีอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมงโดยลดอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสทุก ๆ ชั่วโมงจนครบ 4 ชั่วโมง เก็บในภาชนะมิดชิดเก็บที่แห้งสนิทอุณหภูมิไม่เกิน 25-30 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยในพืช หลังจากนั้นนำมาคัดแยกเฉพาะส่วนของผนังผลอย่างเบามือระวังการแตกหักของเปลือกไม่ควรบีบเปลือกขณะแยกเมล็ดออก นำมาบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร ร่อนผ่านตะแกรงร่อน 60 mesh พบว่า มีสีน้ำตาลอ่อนอมเหลือง มีกลิ่นฉุนหอมเฉพาะตัว ลักษณะเป็นผงหยาบเปื่อยและปานกลางและมีความมันเมื่อสัมผัส ลักษณะของมะแขว่นพร้อมกิ่งที่ได้รับก่อนคัดแยก ผนังผลที่คัดแยกแล้ว และผนังผลที่ได้ทำการบดแล้ว ดังภาพที่ 4.1 ทั้งนี้เมื่อบดแล้วให้ทำการสกัดทันทีไม่ควรบดทิ้งไว้นานเนื่องจากเกิดการระเหยของน้ำมันหอมระเหยขณะการเตรียมให้มากที่สุด



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 4.1 ผลมะแขว่นพร้อมกิ่ง (ก) ผนังผลมะแขว่นที่เอาเมล็ดออก (ข) และผนังผลมะแขว่นบด (ค)

4.2 การสกัดสารจากผนังผลมะแขว่น

ผู้วิจัยได้จัดเตรียมสารสกัดจากผนังผลมะแขว่น 2 วิธี วิธีแรกคือสกัดด้วยวิธีเยย่าในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 ซึ่งเรียกว่า ZL extract ในการศึกษาครั้งนี้ และวิธีที่สองด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ ซึ่งเรียกว่า ZL oil ในการศึกษาครั้งนี้

4.2.1 การเตรียมสารสกัดผนังผลมะแขว่นด้วยวิธีเยย่าในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL Extract)

เตรียมสารสกัด ZL extract โดยนำตัวอย่างผนังผลมะแขว่นที่ได้ทำการบดและร่อนแล้วนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 ด้วยการเยย่าที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมงด้วยเครื่องเยย่า ผลสรุปดังตารางที่ 4.1 จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นยางเหนียวมีความหนืดมาก โดยได้มีการสกัดวิธีเดียวกันนี้เป็นการทดสอบ 3 ครั้ง ผลผลิตร้อยละที่ได้ คือ 22.86 ± 0.9 (เปอร์เซ็นต์กรัมต่อผนังผลแห้ง) มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวของมะแขว่นอ่อน ๆ โดยให้ผลผลิตมากงานวิจัยก่อนหน้านี้โดย ปภัสรา พันศิริ (2563) ซึ่งได้ทำการสกัดในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (เช่นเดียวกันกับงานวิจัยนี้) และเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธีเยย่า ให้ผลผลิตร้อยละ 17.37 ± 0.02 และ 12.41 ± 0.02 ตามลำดับและเมื่อนำสารที่ได้ไปประหยให้ลักษณะที่ได้คล้ายกัน คือ ลักษณะเป็นยางเหนียวหนืดแต่ให้สีเขียวยอมเหลืองต่างจากการวิจัยครั้งนี้ที่ได้สีออกน้ำตาลเข้มเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า หากใช้พืชส่วนเดียวกัน ตัวทำละลายเดียวกัน และวิธีสกัดเดียวกัน แต่ยังคงพบว่า สารสกัดหยาบมีสีต่างกัน อาจเกิดจากปัจจัยภายในของพืชเอง เช่น ความหลากหลายในทางพันธุกรรมของพืชแต่ละตัว แม้จะเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่อาจมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ หรือ แอนโทไซยานินที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ สภาพแวดล้อมที่พืชเติบโต เช่น แสงแดด ความชื้น ดิน และสารอาหารก็อาจมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของพืช และทำให้สีของสารสกัดต่างกันได้ (Sun et al., 2017; Yang et al., 2018)

4.2.2 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น (ZL Oil)

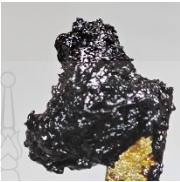
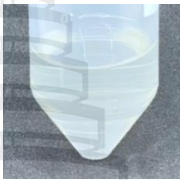
เตรียมสาร ZL oil โดยนำตัวอย่างผนังผลมะแขว่นที่ได้ทำการบดและร่อนแล้วนำมาสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (water distillation) ด้วยชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย Clevenger apparatus ผลที่ได้จากการกลั่นประกอบด้วย 2 ส่วน คือ น้ำมันหอมระเหยชนิดน้ำมันเบากว่าน้ำ โดยจะลอยอยู่บนผิวน้ำมีกลิ่นหอม และ ส่วนน้ำที่เรียกว่าไฮโดรซอล (hydrosol) คือ น้ำที่เหลือจากกระบวนการกลั่นที่ละลายสารหอมบางส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำมันได้และมีกลิ่นหอมอ่อน ๆ (Chemat et al., 2006) ทั้งสองส่วนนี้ให้กลิ่นเฉพาะตัวของมะแขว่น โดยให้ความใส่ใจไม่มีสีทั้งส่วนน้ำมันและส่วนน้ำ

โดยส่วนน้ำมันหอมระเหยจะให้กลิ่นที่หอมชัดเจนกว่าส่วนน้ำ ทั้งนี้ส่วนที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นเฉพาะส่วนน้ำมันหอมระเหย และจากการทดสอบการสกัดด้วยวิธีการเดียวกันนี้ 3 ครั้ง ผลผลิตร้อยละที่ได้คือ 26.55 ± 0.48 (เปอร์เซ็นต์กรัมต่อผนังผลแห้ง) โดยผลที่ได้ดังตารางที่ 4.1 เมื่อเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าพบว่า ผลผลิตในงานวิจัยนี้ให้ร้อยละผลผลิตมากกว่า โดยงานวิจัยของ สิริภา ธูระคำ (2562) ได้ผลผลิตร้อยละ 2.70 ± 0.06 และ 3.65 ± 0.02 ในการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำระยะเวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ ในงานวิจัยของ ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ (2557) ได้ผลผลิตร้อยละของน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น คือ 9.4 ± 0.1 และในงานวิจัยของ จุริภรณ์ อัมพพันธุ์ และคณะ (2559) ได้ผลผลิตร้อยละ 3.6 ทั้งนี้ทำการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำระยะเวลา 3 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีเดียวกันนั้นก็อาจได้ผลผลิตร้อยละที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นกับระยะเวลาในการสกัด อุณหภูมิและความสม่ำเสมอที่ใช้รวมถึงความใหม่ของตัวอย่างพืช การปลูก การเก็บเกี่ยว วิธีการเก็บ รวมถึงเทคนิคในการเตรียมสารสกัดนั้นมีผลอย่างมาก

ดังนั้นร้อยละผลิตของวิธีสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ จะให้ผลผลิตร้อยละที่สูงกว่าการสกัดในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดในงานวิจัยของ สิริภา ธูระคำ (2562) ที่ได้ร้อยละการผลิตร้อยละมากกว่างานวิจัยนี้ด้วยวิธีชอกห์เลตในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง คือ 37.87 ± 0.01 และ 47.40 ± 0.02 ตามลำดับ และมีการสกัดด้วยวิธีชอกห์เลตในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้ร้อยละผลผลิตคือ 19.30 ± 0.02 และ 23.25 ± 0.05 โดยใช้ระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ ทั้งนี้อาจเพราะการสกัดด้วยวิธีชอกห์เลตทำงานเป็นวงจรต่อเนื่อง โดยมีการกลั่นและการกลั่นกลับซ้ำ ๆ ทำให้สารละลายที่ใช้ในการสกัดสามารถสัมผัสกับตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่องและสมบูรณ์มากขึ้น (Buchholz et al., 2019) รวมถึงตัวทำละลายและอุณหภูมิในการสกัดมีความสำคัญอีกหนึ่งปัจจัยในการทำให้มีผลต่อปริมาณสารที่ได้ ทั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วยเช่นความสมบูรณ์ของตัวอย่างพืช

กลิ่นเฉพาะตัวมะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) มีลักษณะกลิ่นที่ซับซ้อนและเป็นเอกลักษณ์ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นสามชั้นตามแนวกลิ่น (fragrance notes) ได้แก่ Top Note Middle Note และ Base Note. ในส่วนของ Top Note มีกลิ่นสดชื่นและหอมเปรี้ยวจากสาร Sabinene และสาร Limonene ที่ทำให้รู้สึกสดชื่นเมื่อแรกสัมผัสกลิ่น ส่วน Middle Note มีลักษณะกลิ่นเผ็ดร้อนและสมุนไพรที่มาจากสารในกลุ่ม Alkaloids เช่น ไฮโดรเจนไนโอเน (hydrogenation) และซานโททอกซิน (xanthotoxin) ทำให้กลิ่นมีความซับซ้อนและเข้มข้นขึ้น และสุดท้าย Base Note มีความกลมกล่อมของกลิ่นสมุนไพรและไม้จากสารฟีนอลิกส์ (phenolics) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งทำให้กลิ่นมีความลึกซึ้งและติดทนนาน. การผสมผสานของกลิ่นทั้งสามชั้นนี้ทำให้มะแขว่นมีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์และสามารถระบุตัวได้ง่ายในหลายบริบท เช่น การแพทย์ อุตสาหกรรมน้ำหอม เครื่องสำอาง และการประกอบอาหาร (Jirovetz et al., 2005)

ตารางที่ 4.1 ผลทางกายภาพของสารตัวอย่าง ZL extract และ ZL oil

วิธีสกัด	ร้อยละผลผลิต	ลักษณะทางกายภาพ	ความหนืด	สี
ZL Extract	22.86±0.9		+++	สีน้ำตาลเข้ม
ZL Oil	26.55±0.48		+	ใสไม่มีสี

หมายเหตุ ++++ หมายถึง ความหนืดมากที่สุด, +++ หมายถึง ความหนืดมาก, ++ หมายถึง ความหนืดปานกลาง, + หมายถึง มีความหนืดเล็กน้อย

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสาร ZL Extract

จากการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalten assay และ หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric assay โดยสารมาตรฐาน คือ Gallic และ Quercetin ตามลำดับ ผลที่ได้ดังภาพที่ 4.2

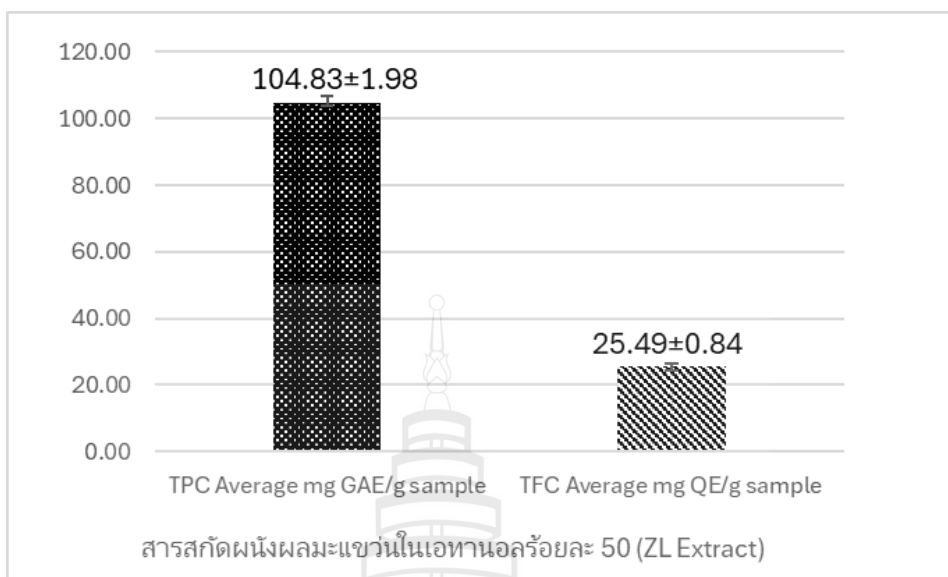
4.3.1 ผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากการทดสอบผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัด ZL extract ได้ค่าเท่ากับ 104.831 ± 1.98 mgGAE/g sample (milligrams of gallic acid equivalents per gram of sample) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid โดยผลสารประกอบฟีนอลิกในการศึกษานี้ ได้ทำการสกัดด้วยวิธีเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้าของ ปกัสร่า พันธิ์รัฐ (2563) ที่ได้มีการศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกรวมของผนังผลมะเขว่นที่สกัดด้วยวิธีแช่ในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 แล้วพบว่า สารประกอบฟีนอลิกรวมในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 นั้นให้ปริมาณมากกว่า โดยค่าที่ได้ คือ 108.66 ± 0.80 mgGAE/g sample ในขณะที่

สารสกัดผนังผลมะเขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ให้ผล คือ 22.86 ± 0.17 mgGAE/g sample โดยการศึกษานี้ได้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คือ 104.831 ± 1.98 mgGAE/g sample ซึ่งมีร้อยละผลผลิตที่ใกล้เคียงกัน ส่วนในวิจัยของ สิริภา ธูระคำ (2562) โดยได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คือ 149 ± 3.60 mgGAE/g sample สำหรับสารสกัดผนังผลมะเขว่นที่ทำการสกัดโดยวิธีซอกซ์เลตในเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งให้ปริมาณมากกว่างานวิจัยครั้งนี้ และได้ค่าสารประกอบฟีนอลิกรวม คือ 66.74 ± 2.13 mgGAE/g sample สำหรับสารสกัดผนังผลมะเขว่นที่ทำการสกัดโดยวิธีซอกซ์เลตในเฮกเซน แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายและวิธีการสกัดมีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกที่ได้ จึงสรุปได้ว่า สารประกอบในฟีนอลิกของมะเขว่นนั้นจัดว่ามีขั้ว ซึ่งอธิบายได้ว่าทำไมการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ถึงให้ปริมาณสารฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95

4.3.2 ผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

จากการทดสอบผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมพบว่า สารสกัด ZL extract ได้ค่าเท่ากับ 25.49 ± 0.84 mgQE/g extract (milligrams of quercetin equivalents per gram of extract) ซึ่งเป็นหน่วยที่ใช้ในการวัดปริมาณของฟลาโวนอยด์ในสารสกัด เทียบกับกราฟมาตรฐาน Quercetin โดยการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดแบบเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้า (ปัทมรา พันธ์ิธิญ, 2563) โดยใช้ตัวทำละลายเดียวกัน โดยผลที่ได้ในงานวิจัยนี้มีค่าน้อยกว่างานวิจัยก่อนหน้า ที่มีค่าเท่ากับ 81.71 ± 0.20 การที่ผลปริมาณฟลาโวนอยด์รวมน้อยกว่างานวิจัยก่อนหน้าแม้จะสกัดด้วยวิธีเดียวกันอาจมีสาเหตุจากความแตกต่างของวัตถุดิบ ความสดของวัตถุดิบ กระบวนการเตรียมวัตถุดิบก่อนสกัด สภาพแวดล้อมในระหว่างการสกัด ความแตกต่างในการปรับแต่งวิธีการสกัด (Smith et al., 2020)



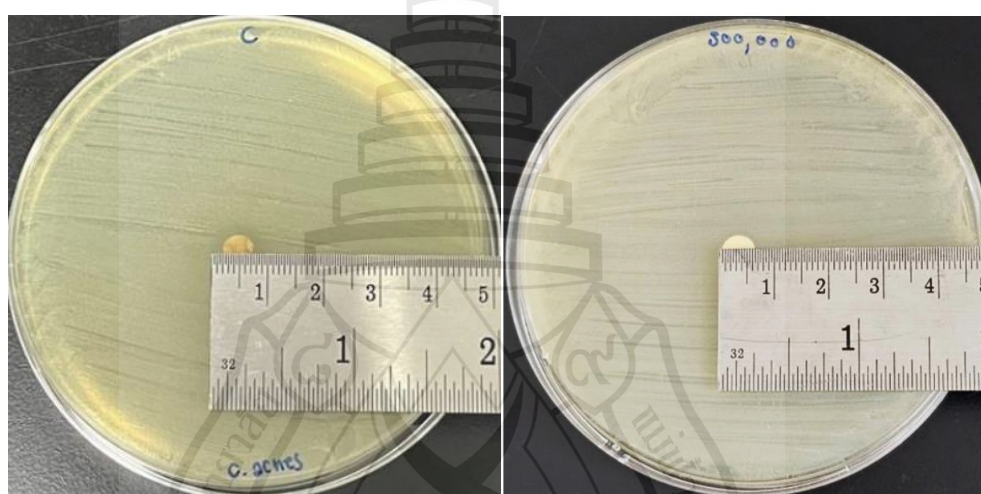
ภาพที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดผนังผลมะเขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract)

4.4 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*)

4.4.1 ผลทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ด้วยวิธี Disc Diffusion Method

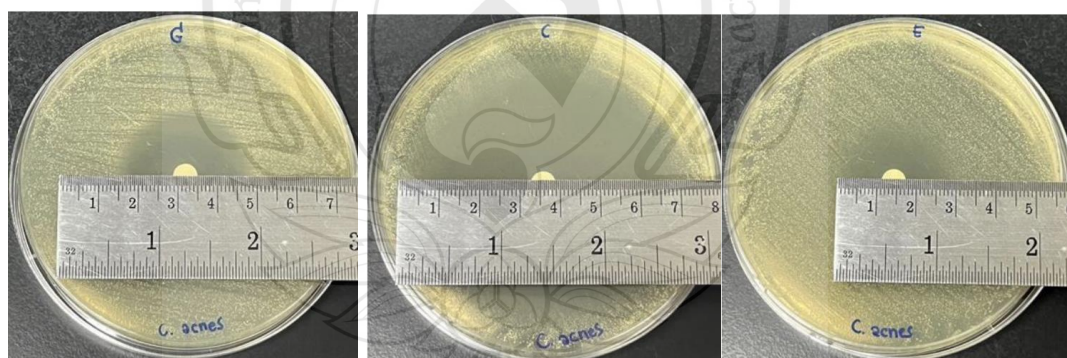
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ด้วยวิธี Disc diffusion โดยใช้ความเข้มข้นเท่ากันที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัด ZL extract และ ZL oil โดยมีสาร Clindamycin สาร Gentamicin และสาร Erythromycin เป็น Positive control โดยปิเปตสารในการทดสอบที่ 15 ไมโครลิตรจากตัวอย่างที่เตรียมไว้ของทุกสารในการทดลอง ผลโซนที่ยับยั้งเชื้อสรุปได้ในตารางที่ 4.1 และรูปจากการทดสอบดูได้จากตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.3 จากผลการทดสอบพบว่า ZL extract มีค่าโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes* คือ 8.67 ± 0.58 mm ซึ่งมากกว่า ZL oil ที่มีค่าโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes* คือ 7.00 ± 0 mm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้ปริมาณเข้มข้นเท่ากันที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในการทดสอบ ทั้งนี้งานวิจัยก่อนหน้านี้โดย วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล และคณะ (2560) ได้ทำการทดสอบน้ำมันหอมระเหยจากผลแห้งมะเขว่นและสารสกัดหอมแดงในเอทานอลร้อยละ 50 เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* โดยให้ค่าโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes* เท่ากับ 15.66 ± 0.57 mm (ใช้ความเข้มข้น 15 ไมโครลิตร ในการทดสอบ) และ 6.44 ± 0.19 mm (ใช้ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) ตามลำดับ ซึ่งผลทดสอบว่า มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. acnes* ได้สอดคล้องกันกับงานวิจัยครั้งนี้ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน สาร Gentamicin สาร Clindamycin และ

สาร Erythromycin ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า มีขนาดโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes* เท่ากับ ค่า 32.00 ± 0.00 mm ค่า 55.33 ± 0.58 mm และค่า 19.67 ± 0.58 mm ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ZL extract และ ZL oil มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* แต่ยังคงมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร Clindamycin ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด การทดสอบหาค่าโซนยับยั้งเชื้อสิวเป็นเพียงเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อความแม่นยำและให้ทราบถึงความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อจึงต้องทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อเป็นการต่อไป



ก. ZL Extract

ข. ZL Oil



ค. Gentamicin

ง. Clindamycin

จ. Erythromycin

ภาพที่ 4.3 กราฟเปรียบเทียบโซนยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* ของสารสกัดผนังผลมะเขว่น ในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ก) น้ำมันหอมระเหยผนังผลมะเขว่น (ข) Gentamicin (ค) Clindamycin (ง) Erythromycin (จ)

ตารางที่ 4.2 ผลทดสอบขนาดโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	inhibition (mm)
		<i>C. acnes</i>
ZL Extract	500	8.67±0.58*
ZL Oil	500	7.00±0*
Gentamicin	25	32.00±0
Clindamycin	25	55.33±0.58
Erythromycin	25	19.67±0.58

หมายเหตุ *p value < 0.05 ZL Extract มีค่าโซนยับยั้งเชื้อ *C. acnes* มากกว่า ZL Oil อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.4.2 ผลทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลาย (MBC) เชื้อ *C. acnes*

สารทดสอบตัวอย่าง ได้แก่ ZL Extract, ZL Oil และ ZL Mixed (ผสม ZL Extract และ ZL Oil แบบ 1:1) โดยมี Positive control สาร Gentamicin สาร Clindamycin และ สาร Erythromycin คือ โดยละลายสารทดสอบด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) แล้วกรองด้วย Syring Filter (whatman) ที่มีขนาดรูกรอง 0.45 ไมครอน สารทดสอบที่ได้จะนำไปเจือจางอีกครั้งด้วยวิธี Two-Fold Dilution โดยเตรียมความเข้มข้นของสารทดสอบ 100 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร

4.4.2.1 ผลตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. acnes* และหาค่า MIC (minimum inhibitory concentration) โดยตรวจสอบหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความขุ่น ผลทดสอบ MIC (ตารางที่ 4.3) แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acnes* ได้ สำหรับ ZL Extract ค่า MIC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ ZL Oil ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่าผลงานวิจัยก่อนหน้า (วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล และคณะ, 2560) ซึ่งได้ค่า MIC เท่ากับ 8.461 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ ZL Mixed ค่า MIC เท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ Gentamicin และ Clindamycin มีค่า MIC ที่ต่ำ คือ 0.0061 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.0061 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วน Erythromycin มีค่า MIC เท่ากับ 0.7813 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acnes* แต่ประสิทธิภาพน้อยกว่า Gentamicin และ Clindamycin

4.4.2.2 ผลตรวจสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ *C. acnes* และหาค่า MBC (minimum bactericidal concentration) ตามวิธีการของ Basri and Fan (2005) โดยนำ

สารละลายในหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Brains Heart Infusion Agar (BHA) และรายงานค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเป็นค่า MBC ผลทดสอบ MBC (ตารางที่ 4.3) แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ สำหรับ ZL Extract ค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ ZL Oil และ ZL Mixed ค่า MBC เท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร Gentamicin และ Clindamycin มีค่า MBC ที่เท่ากัน คือ 0.006 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C. acnes* ในความเข้มข้นต่ำ เช่นเดียวกับค่า MIC ส่วน Erythromycin มีค่า MBC เท่ากับ 0.781 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งยังคงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C. acnes* แต่ต่ำกว่า Gentamicin และ Clindamycin

จากการทดสอบพบว่า สารสกัดตัวอย่างทั้งสาร ZL Extract สาร ZL Oil และ ZL Mixed มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. acnes* แต่ให้ฤทธิ์น้อยกว่ามาตรฐานในการทดสอบ เหตุผลที่สาร ZL Extract สาร ZL Oil และ ZL Mixed มีประสิทธิภาพต่ำกว่าอาจเนื่องมาจากสารสกัดธรรมชาติมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ต่ำกว่ายาปฏิชีวนะที่ผ่านกระบวนการสังเคราะห์ซึ่งมีความบริสุทธิ์และความเข้มข้นสูงกว่า นอกจากนี้ สารสกัดธรรมชาติอาจมีสารประกอบอื่น ๆ ที่อาจมีผลขัดขวางหรือเสริมฤทธิ์กัน ซึ่งแตกต่างจากยาปฏิชีวนะที่มีสารออกฤทธิ์เดี่ยวที่มีความเฉพาะเจาะจงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Andrews, 2001; Cowan, 1999) และเมื่อได้ศึกษางานวิจัยฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. acnes* จากสารสกัดหอมแดง โดยวิธีหมักแช่ด้วยเอทานอลร้อยละ 50 (พรภรณ์ สมขาว และคณะ, 2565) พบค่า MIC และ MBC มีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยค่า MIC ของสารสกัดหอมแดง มีค่าเท่ากับกับค่า MIC ของสารสกัด ZL Oil และ ZL Mixed แต่มากกว่า ของสารสกัด ZL Extract ของงานวิจัยครั้งนี้ และค่า MBC ของสารสกัดหอมแดง มากกว่าค่า MBC ของสารสกัด ZL Extract ของงานวิจัย นอกจากนี้มีงานวิจัยศึกษาของ นุศวัต พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม (2553) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *C. acnes* ได้ (MBC) ของสารสกัดขมิ้นชัน และสารสกัดใบบัวบก มีค่าเท่ากับ 50 และ 200 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าเชื้อนั้นใช้ปริมาณมากกว่าสารสกัดจากมะเขว่นในงานวิจัยครั้งนี้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่า สารสกัดพริกผลมะเขว่นและน้ำมันหอมระเหยพริกผลมะเขว่นจะให้ฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. acnes* ได้ดีกว่าสารสกัดหอมแดง สารสกัดขมิ้นชัน และสารสกัดใบบัวบก

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ของสารแต่ละชนิด

ตัวอย่าง	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
ZL Extract	12.5	12.5
ZL Oil	25	25
ZL Mixed	25	25
Gentamicin	0.006	0.006
Clindamycin	0.006	0.006
Erythromycin	0.781	0.781

4.5 การวิเคราะห์หาสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS)

จากการทดสอบด้วยเครื่อง GC/MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่นมีสารประกอบหลัก ในกลุ่ม Monoterpenes กลุ่ม Monoterpene alcohols กลุ่ม Aldehydes และกลุ่ม Sesquiterpenes ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะเขว่น ประกอบด้วยสารประกอบที่ได้อรวม 18 ชนิด (ดังตารางที่ 4.4) โดยที่พบมากที่สุด คือ limonene ร้อยละ 40.96 และ sabinene ร้อยละ 32.39 และ β -ocimene ร้อยละ 9.43 ซึ่งเป็นสารกลุ่ม Monoterpenes ที่มีคุณสมบัติหอมระเหยสูง นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่น ๆ เช่น β -ocimene ร้อยละ 9.43, β -myrcene ร้อยละ 1.84, และ α -phellandrene ร้อยละ 1.91

โดยแต่ละสารจำแนกได้ตามกลุ่มดังนี้ (Bakkali et al., 2008)

4.5.1 กลุ่ม Monoterpenes

ได้แก่ α -thujene ร้อยละ 0.53, α -pinene ร้อยละ 0.82, sabinene ร้อยละ 32.39, β -myrcene ร้อยละ 1.84, α -phellandrene ร้อยละ 1.91, p-cymene ร้อยละ 0.48, limonene ร้อยละ 40.96, β -ocimene ร้อยละ 9.43, γ -terpinene ร้อยละ 0.94, α -terpinolene ร้อยละ 0.38, และ linalool ร้อยละ 0.86 ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการให้กลิ่นหอมและมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียและการอักเสบ

4.5.2 กลุ่ม Monoterpene Alcohols

ประกอบด้วย terpinene-4-ol ร้อยละ 1.63 และ α -terpineol ร้อยละ 1.57 ที่มีคุณสมบัติในการให้ความชุ่มชื้นและด้านการอักเสบ

4.5.3 กลุ่ม Aldehydes

ประกอบด้วย decanal ร้อยละ 0.77 ซึ่งให้กลิ่นหอมเฉพาะตัว กลุ่ม Esters ประกอบด้วย decyl acetate ร้อยละ 0.61 และ geranyl acetate ร้อยละ 0.33 ที่มีคุณสมบัติในการให้กลิ่นหอมที่น่ารื่นรมย์และอาจใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม

4.5.4 กลุ่ม Sesquiterpenes

ประกอบด้วย caryophyllene ร้อยละ 0.80 และ germacrene D ร้อยละ 1.42 ซึ่งมีคุณสมบัติในการด้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ การศึกษาของ ชูลี ยมภักดี และวรินทร์ ชวศิริ (2554) พบสาร sabinene ร้อยละ 43 และสาร limonene ร้อยละ 39 นอกจากนี้ยังมีสาร terpinen-4-ol ร้อยละ 5.4 รวมถึงการศึกษาของ Itthipanichpong et al. (2002) ได้พบสาร limonene ร้อยละ 31.1 สาร terpinen-4-ol ร้อยละ 13.9 และสาร sabinene ร้อยละ 9.13 ซึ่งได้ค่าร้อยละของสาร sabinene น้อยกว่างานวิจัยครั้งนี้ นอกจากนี้ในรายงานผลงานวิจัยของ จันทรเพ็ญ ตั้งจิตเรเจริญกุล (2553) พบสาร sabinene ร้อยละ 42.7 สาร limonene ร้อยละ 39.1 และสาร terpinen-4-ol ร้อยละ 5.4 นอกจากนี้ในงานวิจัยครั้งนี้ได้พบสาร β -ocimene ร้อยละ 9.43 ซึ่งพบมากกว่างานวิจัยอื่นก่อนหน้านี้ ปริมาณสารองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดเดียวกันอาจแตกต่างกันได้เนื่องจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ความหลากหลายทางพันธุกรรม วิธีการปลูกและการสกัด ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว และสภาพการเก็บรักษา (Burt, 2004; Charles & Simon, 1990; Guenther, 1972)

จากผลวิเคราะห์ข้อมูลจากสารประกอบที่ได้นั้น limonene เป็นสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชตระกูลส้ม (citrus) โดย Zanthoxylum เป็นพืชในตระกูล Rutaceae ซึ่งจัดเป็นตระกูลเดียวกับพืชตระกูลส้ม โดยงานวิจัยของ ชูลี ยมภักดี และวรินทร์ ชวศิริ (2554) ได้สรุปผลวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่น พบว่าสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ ยกเว้นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสารบริสุทธิ์ Sabinene ขณะเดียวกัน ในอัตราส่วนที่เท่ากัน สาร limonene ไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อทดสอบ ส่วนสาร terpinene-4-ol มีฤทธิ์อ่อนถึงปานกลางต่อเชื้อทดสอบ โดยได้มีการสรุปว่า สารหลักในการออกฤทธิ์ คือ สาร sabinene โดยไม่พบการเสริมฤทธิ์กันเมื่อทดสอบกับ

สารเดี่ยว limonene และ terpinene-4-ol ส่วนงานวิจัยครั้งนี้ได้มุ่งเน้นทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อ *C. acnes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ผลที่ได้จากการทดสอบน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่นแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *C. acnes* ของน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น จึงสรุปได้ในทิศทางเดียวกันได้ว่าสารหลักที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อก่อโรคผิวหนัง *C. acnes* คือ สาร sabinene ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้า

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์สารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น ด้วยวิธี GC/MS

ลำดับที่	Retention Time (min)	%Relative area	Compounds สารประกอบเคมี	Quality ร้อยละ
1	5.81	842.26	α -thujene	0.53
2	5.98	850.28	α -pinene	0.82
3	7.10	898.74	sabinene	32.39
4	7.54	913.61	β -myrcene	1.84
5	7.93	926.53	α -phellandrene	1.91
6	8.56	947.13	p-cymene	0.48
7	8.75	953.29	limonene	40.96
8	9.31	971.85	β -ocimene	9.43
9	9.63	982.004	γ -terpinene	0.94
10	10.57	1011.88	α -terpinolene	0.38
11	10.95	1023.06	linalool	0.86
12	13.54	1099.26	Terpinene-4-ol	1.63
13	13.99	1112.24	α -terpineol	1.57
14	14.50	1126.94	decanal	0.77
15	14.72	1133.27	Decyl acetate	0.61
16	20.37	1298.72	Geranyl acetate	0.33
17	21.49	1333.24	caryophyllene	0.80
18	23.39	1391.79	germacrene D	1.42

4.6 ผลวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF)

ผลจากการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง Liquid Chromatography และ Mass Spectrometer ชนิด Triple Quadrupole (LC-MS/MS-QTOF) จะได้ข้อมูลเชิงคุณภาพ จากสารสกัดผนังผลมะแขว่น

ในเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) พบสารสำคัญ 23 ชนิดจากสภาวะไฮออนบวก และจากสภาวะไฮออนลบ โดยสารที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ (ตามตารางที่ 4.5) โดยผลสารประกอบที่ได้นั้นได้จัดแบ่งออกตามประเภทของสารได้ดังนี้

4.6.1 โพลีฟีนอล (Polyphenol)

สารเหล่านี้มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ แอนติออกซิแดนท์ และต้านไทโรซิเนส โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารด้านการอักเสบ คือ การยับยั้งการสร้าง cytokines เช่น TNF- α และ IL-6 ผ่านทางเดินสัญญาณ NF-KB ขณะที่ฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์เกิดจากการจับอนุมูลอิสระ และเพิ่มระดับเอนไซม์แอนติออกซิแดนท์ ส่วนฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสเกิดจากการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ลดการสร้างเมลานิน (Ganesan & Choi, 2016) จัดจำแนกตามกลุ่มย่อยได้ดังนี้

4.6.1.1 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

กลุ่มฟลาโวนอยด์ประกอบด้วย Quercetin 3'-xyloside, Naringenin 7-O-glucoside, Isochlorogenic acid b, Apigenin 7-(6"-crotonylglucoside), Rutin และ trans-p-Coumaric acid 4-glucoside

4.6.1.2 ฟีนอลิก เอซิด (phenolics acid)

กลุ่มฟีนอลิกประกอบด้วย Dihydrosinapic acid, 5Z-Caffeoylquinic acid, 5-O-Caffeoylshikimic acid, Embelin และ Homogentisic acid

4.6.1.3 อัลคาลอยด์ (alkaloid)

กลุ่มอัลคาลอยด์ประกอบด้วย capsaicin และ Dihydrocapsaicin เป็นสารในกลุ่ม Alkaloid โดยเฉพาะกลุ่มของ Capsaicinoids ซึ่งเป็นสารที่พบได้ในพริก Capsaicin มีฤทธิ์ด้านการอักเสบผ่านการยับยั้งการปลดปล่อยสาร neuropeptides เช่น substance P มีฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และมีฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์โดยการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและการจับอนุมูลอิสระ (Surh, 2002)

4.6.2 อนุพันธ์ของกรดไขมันและลิพิด (Fatty Acid Derivatives and Lipids)

กลุ่มนี้ประกอบด้วย Palmitoyl N-Isopropylamide, Hexadecyl ferulate, Dihydrocapsaicin และ 13R-HODE

4.6.3 แอมีนและเอไมด์ (Amines and Amides)

กลุ่มนี้ประกอบด้วย N-Cyclohexanecarbonylpentadecylamine, Capsiamide, 2-Phenyl-1,3-propanediyl monocarbamate และ Orthothymotinic acid สารเหล่านี้มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านจุลชีพ เช่น Capsiamide ที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบผ่านการยับยั้ง cytokines ที่

กระตุ้นการอักเสบและลดการบวม นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์โดยการจับอนุมูลอิสระและลดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Zhang et al., 2009)

4.6.4 คาร์โบไฮเดรตและไกลโคไซด์ (Carbohydrates and Glycosides)

กลุ่มนี้ประกอบด้วย 2,3-Butanediol glucoside, Glucosylisomaltol และ N-Jasmonoyl isoleucine สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์และต้านการอักเสบ เช่น Glucosylisomaltol ที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์โดยการจับอนุมูลอิสระ (Wasternack & Hause, 2013)

เมื่อทำการวิเคราะห์ถึงความเป็นไปได้ของสารประกอบหลักที่สามารถออกฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านเชื้อ *C. acnes* โดยสารสำคัญออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ สาร Quercetin สาร Naringenin สาร Rutin สาร Capsaicin สาร Dihydrocapsaicin โดยสาร Naringenin เป็นสารที่พบมากในพืชตระกูลส้ม ทั้งนี้เช่นเช่น *Zanthoxylum Limonella* เป็นพืชในตระกูล Rutaceae ซึ่งเป็นตระกูลเดียวกับพืชตระกูลส้ม (citrus) ด้วย โดยงานวิจัยของ Song et al. (2020) สาร Naringenin มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ MRSA ทั้งนี้เชื้อ MRSA ย่อมาจาก “Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*” เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในกลุ่ม *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดรวมถึงเมทิซิลลิน (methicillin) ทำให้ยากต่อการรักษาซึ่งได้รับการยืนยันจากการวิจัยในห้องปฏิบัติการโดยมีแนวโน้มว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ ดังที่แสดงในงานวิจัยที่เปรียบเทียบฤทธิ์และกลไกการทำงานของสาร Naringenin กับเชื้อ *S. aureus* และ *Escherichia coli* อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นของสาร Naringenin เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม สำหรับการยับยั้ง *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 1.47 mM พบว่า ความมีชีวิตของสายพันธุ์นี้ลดลงเกือบสามเท่า และการยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียสายพันธุ์นี้โดยสมบูรณ์ใน 14 ชั่วโมงเมื่อมี bioflavonoid นี้ที่ความเข้มข้น 2.20 mM สาร Naringenin มีปฏิสัมพันธ์กับเซลล์แบคทีเรียหลายวิธี ส่งผลต่อกรดไขมัน โปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ และสามารถจับกับ DNA ของ *S. aureus* ได้ จึงเป็นไปได้ว่าสาร Naringenin อาจประกอบหลักในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes*

ตารางที่ 4.6 สารสำคัญที่พบในสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) จากการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเครื่อง LC-MS/MS-QTOF

No.	Compound Name	Molecular Formula	RT (min)*	Ionization ESI (+/-)**	m/z***	Score****
1	Quercetin 3'-xyloside	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	16.5	(M-H)-	434.085	99.14
2	Naringenin 7-O-glucoside	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	15.441	(M-H)-	433.114	98.37
3	Isochlorogenic acid b	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	16.691	(M-H)-	515.119	99.27

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

No.	Compound Name	Molecular Formula	RT (min)*	Ionization ESI (+/-)**	m/z***	Score****
4	Apigenin 7-(6"-crotonylglucoside)	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₁	17.169	(M-H)-	499.124	91.24
5	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	15.318	(M-H)-	609.145	97.76
6	trans-p-Coumaric acid 4-glucoside	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	9.499	(M-H)-	325.093	99.43
7	Dihydrosinapic acid	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	2.669	(M+HCOO)-	271.082	99.72
8	5Z-Caffeoylquinic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	9.117	(M-H)-	353.088	98.64
9	5-O-Caffeoylshikimic acid	C ₁₆ H ₁₆ O ₈	11.848	(M-H)-	335.077	99.27
10	Embelin	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	18.375	(M+HCOO)-	339.182	99.43
11	Homogentisic acid	C ₈ H ₈ O ₄	9.718	(M-H)-	167.035	99.11
12	Capsaicin	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃	16.553	(M+H)+	306.206	99.9
13	Palmitoyl N-Isopropylamide	C ₁₉ H ₃₉ NO	20.588	(M+H)+	298.31	99.7
14	Hexadecyl ferulate	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	24.805	(M+H)+	419.315	97.93
15	Dihydrocapsaicin	C ₁₈ H ₂₉ NO ₃	18.32	(M+Na)+	330.204	98.36
16	13R-HODE	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	21.458	(M-H)-	295.228	99.5
17	N-Cyclohexanecarbonylpentadecylamine	C ₂₂ H ₄₃ NO	23.842	(M+H)+	338.342	99.79
18	Capsiamide	C ₁₇ H ₃₅ NO	17.744	(M+H)+	270.279	99.58
19	2-Phenyl-1,3-propanediyl monocarbamate	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃	20.468	(M-H)-	194.082	99.96
20	Orthothymotinic acid	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	19.416	(M-H)-	194.094	99.8
21	2,3-Butanediol glucoside	C ₁₀ H ₂₀ O ₇	2.905	(M+Na)+	275.11	99.83
22	Glucosylisomaltol	C ₁₂ H ₁₆ O ₈	2.446	(M+Na)+	311.074	99.6
23	N-Jasmonoylisoleucine	C ₁₈ H ₂₉ NO ₄	12.815	(M+Na)+	346.198	97.61

หมายเหตุ *RT= Retion Time,** Ionization ESI (Electrospray Ionization) ในโหมดบวก (+) และลบ (-), ***m/z หมายถึงอัตราส่วนมวลต่อประจุ (mass-to-charge ratio), ****Score หมายถึง ความน่าเชื่อถือของการจับคู่ระหว่างสเปกตรัมที่วัดได้กับสเปกตรัมอ้างอิงในฐานข้อมูลสารประกอบ

4.7 ทดสอบความเป็นพิษ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay เป็นขั้นตอนหนึ่งสำหรับการคัดกรองความเข้มข้นของสารทดสอบที่ไม่ส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ โดยทดสอบความเข้มข้นของสารตัวอย่าง คือ สารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) น้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น (ZL oil) และแบบผสม 1:1 ZL Mixed ระหว่างสารสกัดผนังผลมะแขว่นในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น (ZL mixed) โดยผลที่ได้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 4.7 แสดงผลที่ความเข้มข้นของสารทดสอบขนาด 39-5,000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร โดยมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มากกว่า 80% โดยค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้สรุปในตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.7 แสดงกราฟเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสารทดสอบที่ความเข้มข้น 8 ระดับ โดยผลสอดคล้องกันกับงานวิจัยของ วรานันท์ บัวจิบ และคณะ (2560) มีการศึกษาความเป็นพิษของผนังผลมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล โดยทำการทดสอบด้วยวิธี MTT ASSAY เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้ แต่ทำการศึกษาในเซลล์เนื้อเยื่อของหนูถีบจักร (murine aneuploidy fibrosarcoma cell line) ซึ่งพบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นที่ความเข้มข้น 0.1% เซลล์มีชีวิตเหลืออยู่ร้อยละ 96.46 แสดงว่าสารสกัดผนังผลมะแขว่นไม่มีความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษในระดับต่ำ

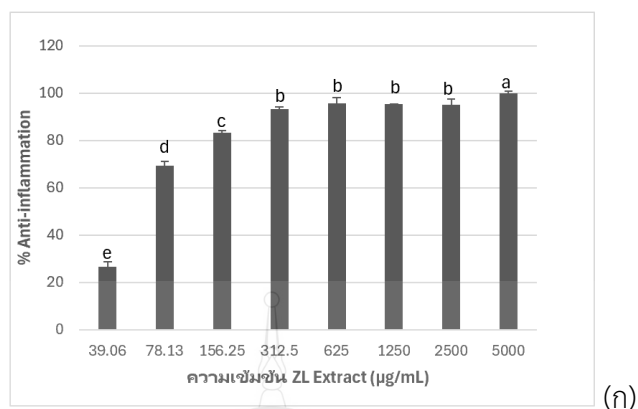
ตารางที่ 4.7 ผลทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	% Cell viability		
	ZL Extract	ZL Oil	ZL Mixed
39.06	100.40 $\pm$ 4.12 ^a	89.64 $\pm$ 0.14 ^{c,d}	92.36 $\pm$ 4.80 ^b
78.13	97.35 $\pm$ 5.03 ^{a,b}	89.09 $\pm$ 4.45 ^{c,d}	96.99 $\pm$ 3.33 ^{a,b}
156.25	92.48 $\pm$ 4.76 ^{b,c}	92.51 $\pm$ 3.01 ^{b,c}	95.96 $\pm$ 2.06 ^{a,b}
312.5	89.39 $\pm$ 4.04 ^c	92.31 $\pm$ 3.08 ^{b,c}	96.51 $\pm$ 0.64 ^{a,b}
625	91.72 $\pm$ 0.91 ^{b,c}	98.56 $\pm$ 0.65 ^a	97.86 $\pm$ 0.87 ^a
1250	99.88 $\pm$ 1.23 ^a	94.87 $\pm$ 0.44 ^{a,b}	95.13 $\pm$ 1.78 ^a
2500	98.02 $\pm$ 0.08 ^{a,b}	86.90 $\pm$ 0.21 ^d	95.80 $\pm$ 2.85 ^{a,b}
5000	86.26 $\pm$ 5.19 ^c	93.81 $\pm$ 0.14 ^b	95.29 $\pm$ 1.15 ^{a,b}

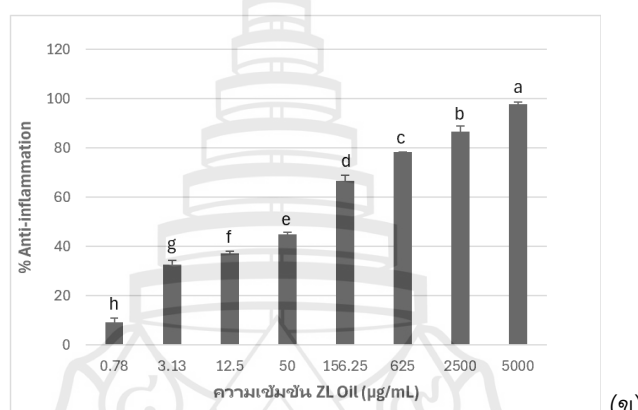
หมายเหตุ มุมขวาแสดงตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05

4.8 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

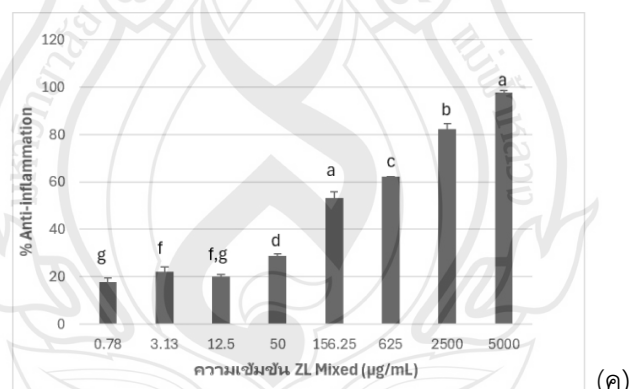
ทดสอบโดยเลือกความเข้มข้นจากการทดสอบคัดกรองความเข้มข้นของสารทดสอบที่ไม่ส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ โดยความเข้มข้นของสาร ZL Extract สาร ZL Oil และ สาร ZL Mixed เริ่มต้นที่ 5,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเจือจางลง 4-8 เท่า เพื่อนำไปประเมินความสามารถในการต้านการอักเสบ ผลทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังภาพที่ 4.4 โดยการทดสอบเป็นอัตราร้อยละของความสามารถในการต้านการอักเสบพบว่า ความสามารถในการลดการหลั่งไนไตรท์ (nitrite) ในลักษณะขึ้นอยู่กับขนาดยา (dose dependent inhibition) ในสามรูปแบบ คือ (ก) ZL Extract (ข) ZL Oil และ (ค) ZL Mixed ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อการต้านการอักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกราฟแรก (ก) ZL Extract พบว่า ความเข้มข้น 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไปมีผลการต้านการอักเสบสูงสุดที่ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในกราฟที่สองและสาม (ข) ZL Oil และ ZL Mixed พบว่า ร้อยละความสามารถในการยับยั้งการอักเสบมีผลผันแปรตามความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย โดยให้ร้อยละความสามารถในการยับยั้งการอักเสบมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น สรุปได้ว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ส่งผลให้การต้านการอักเสบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ 5000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ให้ผลการต้านการอักเสบสูงสุดและแตกต่างจากความเข้มข้นต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผลการทดสอบความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถต้านการอักเสบได้ร้อยละ 50 (IC50) สรุปได้ดังภาพที่ 4.5 กราฟแสดงความสามารถต้านการอักเสบได้ 50% (IC50) ของ 3 ตัวอย่างสาร ได้แก่ ZL Extract, ZL Oil และ ZL Mixed โดยค่าที่ได้มีดังนี้ ค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Extract คือ 66.804 ± 3.823 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Oil คือ 77.379 ± 3.972 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Mixed คือ 70.246 ± 4.327 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยค่า จากค่าที่ได้สามารถสรุปได้ว่า ZL Extract มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการอักเสบได้ไม่แตกต่างกับ ZL Mixed อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05) โดยค่าเปรียบเทียบที่ได้นั้น ไม่แสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์กันของ สาร ZL Extract และสาร ZL Oil ในการต้านการอักเสบ โดยค่า IC50 ของสาร ZL Mixed มีค่าไม่น้อยกว่า ค่า IC50 ของ ZL Extract เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (แต่เป็นผลของ *Zanthoxylum rhesa*) โดย Imphat et al. (2021) ให้การสรุปค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถต้านการอักเสบได้ร้อยละ 50 (IC50) ของส่วนผนังผลมะแขว่นสายพันธุ์ *rhesa* ในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 ด้วยวิธี Maceration มีค่าเท่ากับ 67.55 ± 2.22 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



(ก)



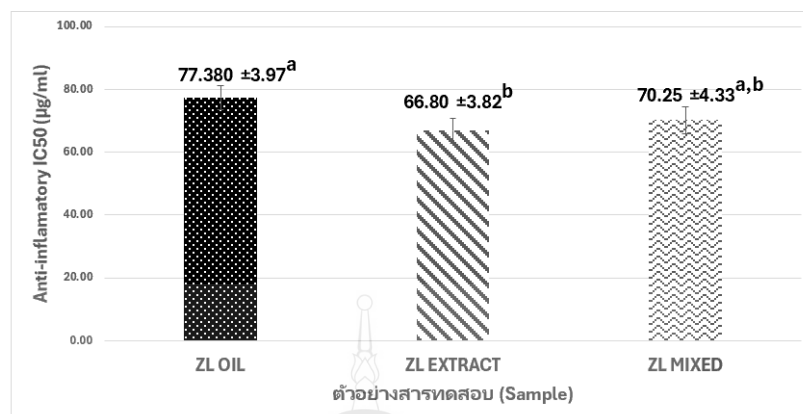
(ข)



(ค)

หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนแท่งกราฟภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทดสอบด้วยการใช้ ANOVA test ได้ค่า p value < 0.05

ภาพที่ 4.4 ผลทดสอบร้อยละความสามารถในการยับยั้งการอักเสบของสารสกัด (ก) ZL extract (ข) ZL oil และ (ค) ZL mixed ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.78-5000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร



หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนแท่งกราฟภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05

ภาพที่ 4.5 ความสามารถด้านการอักเสบได้ 50% (IC50) ของ 3 ตัวอย่างสาร ได้แก่ สาร ZL extract สาร ZL oil และสาร ZL mixed

4.9 การพัฒนาตำรับ

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพ กลิ่น สีของสารทั้ง 3 ตัวอย่าง คือ สาร ZL Extract สาร ZL Oil และสาร ZL Mixed มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* และมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ ดังนั้นจึงสามารถนำมาพัฒนาในตำรับ Anti-acne peel-off gel โดยอัตราส่วนร้อยละที่ใช้ในการพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในตำรับ โดยเลือกใช้ความเข้มข้นออกฤทธิ์จากค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* โดยผู้วิจัยได้เริ่มจากการพัฒนาตำรับสูตรพื้น (base) ที่เหมาะสม มีความคงทนต่อสาร และมีประสิทธิภาพต่อการใช้งาน โดยดูจากอัตราการเกลี่ยที่ดี (spreadability) การสร้างฟิล์มที่แข็งแรงไม่ขาดง่าย (film-forming ability) การคงตัวของหยดเจล (droplet holding ability) และการแห้งที่เหมาะสม (dryness time) แล้วจึงต่อยอดในการพัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel ที่มีสารออกฤทธิ์ รวมถึงทดสอบความคงตัวต่อไป โดยตำรับสูตรพื้นที่ได้ คือ ตำรับที่มี PVA 14% เป็นส่วนผสม

4.9.1 เตรียมตำรับ Peel-off Gel และทดสอบทางกายภาพและความคงตัวเบื้องต้น

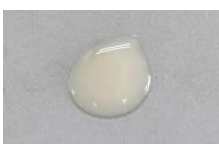
การพัฒนาตำรับนั้นจะพัฒนาด้วยกัน 4 สูตร คือ สูตรพื้น (base) ที่ไม่มีสารออกฤทธิ์ สูตรที่ 1, 2 และ 3 เป็นสูตรผสมสาร ZL Extract ในอัตราร้อยละ 1.25 สาร ZL Oil ในอัตราร้อยละ 2.5

และ ZL Mixed ในอัตราร้อยละ 2.5 ตามลำดับ จากนั้นบรรจุตัวรับตัวอย่างใน กระปุกแก้วใสขนาด 100 มิลลิลิตร เพื่อไปทดสอบสังเกตลักษณะทางกายภาพทั้งรูปแบบเจลและแบบแผ่นฟิล์ม การเตรียมสารส่วนของ ZL Extract จะทำการละลายสารสกัดหยากับน้ำให้ละลายดีก่อนนำไปผสมในตัวรับ โดยอ้างอิงอัตราส่วนความสามารถในการทำละลายจากงานวิจัยของ ปัทสรา พันศิริ (2563) ตามรายงานความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลร้อยละ 50 ของผนังผลมะแขว่นนั้นสามารถทำละลายกับน้ำ (di water) ที่อัตราส่วนร้อยละ 3.7 จะได้สารผสมสีส้มอมน้ำตาลเข้ม ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ได้สีเหลืองเขียว

4.9.2 การวิเคราะห์ความคงทนของตัวรับโดยประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)

จากการทดสอบได้ทำการสังเกตลักษณะภายนอก ดังตาราง 4.8 และคุณสมบัติของตัวรับเจลและแผ่นฟิล์มในสูตรต่าง ๆ ดังตารางที่ 4.9 และ ตารางที่ 4.10 ตามลำดับ พบว่า สูตรพื้นมีลักษณะใส ไม่มีสีกลิ่นเฉพาะตัวของ PVA ส่วนสูตร 1 มีความใสมีกลิ่นเฉพาะตัวของมะแขว่นเล็กน้อยแต่ไม่สามารถกลบกลิ่นสาร PVA ได้ทั้งหมดมีสีออกส้มอมน้ำตาล ส่วนสูตร 2 และสูตร 3 มี กลิ่นหอมเฉพาะตัวของมะแขว่นเด่นชัด โดยสูตร 2 มีความขุ่นไม่มีสี ต่างกับสูตร 3 ที่ออกขุ่นและมีสีเหลืองอมน้ำตาล ทุกสูตรมีเนื้อเจลเรียบเนียนเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่พบการแยกชั้นในทุกสภาวะอุณหภูมิของการทดสอบ เมื่อใส่สารทดสอบแล้ว สูตร 1 ที่มีสารสกัด ZL Extract ทำให้เนื้อสูตรพื้นขุ่นขึ้นเล็กน้อย ส่วนสูตร 2 ที่มีส่วนผสมของ ZL Oil พบว่า ทำให้สูตรพื้นเหลวขึ้นต่างจากสูตรพื้นเล็กน้อย โดยสูตร 3 ที่มีส่วนผสมของ ZL Mixed มีความใกล้เคียงกับตัวรับพื้น เมื่อนำตัวรับทดสอบสร้างแผ่นฟิล์มพบว่า มีอัตราการเคลือบที่ใกล้เคียงกัน และให้แผ่นฟิล์มที่ใสเมื่อแห้งแล้วในระดับที่ไม่ต่างกันมาก ความสามารถในการสร้างฟิล์มของทุกสูตรอยู่ในระดับดีเช่นกัน โดยใช้เวลาในการแห้งเท่ากันที่ 20 นาที ทั้งนี้กลิ่นสูตร 1 แผ่นฟิล์มค่อนข้างมีกลิ่น PVA ที่ชัดเจน ขณะที่สูตร 2 และ 3 ที่มีสาร ZL Oil ผสมอยู่ด้วย ให้กลิ่นเฉพาะตัวของสารยังคงเด่นชัดและสามารถกลบกลิ่นของ PVA ได้ ความหนาของแผ่นฟิล์มนั้นมีความบางโดยประมาณ 0.02 มิลลิเมตร เสมอกันทั่วแผ่น สามารถลอกออกได้เต็มแผ่นไม่ขาดง่ายทั้งนี้กลิ่นเมื่อครบกำหนดเวลา ความฉุนของสูตรที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบทั้งสูตร 2 และสูตร 3 นั้น เมื่อสังเกตเปรียบเทียบกับกลิ่นตั้งต้น Top nose ที่ออกกลิ่น Citrus จางลงความหอมกลิ่นออกหวาน Grapefruit ชัดขึ้น แต่ยังคงเป็นกลิ่นเฉพาะตัวของมะแขว่นได้ดี ซึ่งโทษสัที่ได้ทางกายภาพนั้นของสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยเดี่ยว ๆ กับสูตรที่มีส่วนผสมแบบผสมนั้นสอดคล้องกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ สิริภา ธูระคำ (2562)

ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางกายภาพในรูปแบบเจล และในรูปแบบแผ่นฟิล์ม

หัวข้อทดสอบ	สูตรพื้นฐาน (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
รูปลักษณะทาง กายภาพของเจล Gel form				
รูปลักษณะทาง กายภาพของ หยดเจล Gel droplets				
รูปลักษณะทาง กายภาพของ แผ่นฟิล์ม Film form				
ความเป็นเนื้อ เดียวกัน (Homogeneity)				

ตารางที่ 4.9 ผลสรุปการสังเกตลักษณะทางกายภาพในรูปแบบเจล

หัวข้อทดสอบ	สภาวะทดสอบ	สูตรพื้นฐาน (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
ลักษณะทาง กายภาพรวม (overall physical appearance)	Day 0	เจลกึ่งใส ไม่มีสี	เจลใสออก สีส้มอมน้ำตาล	เจลขุ่นกึ่งโปร่ง แสงไม่มีสี	เจลขุ่นออกเหลืองปน น้ำตาลอ่อน
	Heat-Cool Cycle 4	เจลกึ่งใส ไม่มีสี	เจลใสออก สีส้มอมน้ำตาล	เจลขุ่นกึ่งโปร่ง แสงไม่มีสี	เจลขุ่นออกเหลืองปน น้ำตาลอ่อน
	Room Temp-Day30	เจลกึ่งใส ไม่มีสี	เจลใสออก สีส้มอมน้ำตาล	เจลขุ่นกึ่งโปร่ง แสงไม่มีสี	เจลขุ่นออกเหลืองปน น้ำตาลอ่อน

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

หัวข้อทดสอบ	สภาวะทดสอบ	สูตรพื้น (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity)	4°C-Day 30	เจลกึ่งใส ไม่มีสี	เจลใสออก สีส้มอมน้ำตาล	เจลขุ่นกึ่งโปร่ง แสงไม่มีสี	เจลขุ่นออกเหลืองปน น้ำตาลอ่อน
	45°C-Day 30	เจลกึ่งใส ไม่มีสี	เจลใสออก สีส้มอมน้ำตาล	เจลขุ่นกึ่งโปร่ง แสงไม่มีสี	เจลขุ่นออกเหลืองปน น้ำตาลอ่อน
	Day 0	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน
	Room Temp-Day30	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน
	Heat-Cool Cycle 4	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน
	4°C-Day 30	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน
	45°C-Day 30	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน	ไม่มีตะกอน
	Day 0	5	5	4	4
	Room Temp-Day30	5	5	4	4
	Heat-Cool Cycle 4	5	5	4	4
ความแข็งแรงของหยดเจล Droplet holding ability (Score 0-5)	4°C-Day 30	5	5	4	4
	45°C-Day 30	5	5	4	4
	Day 0	กลิ่น PVA	กลิ่นเฉพาะตัวมะ แขวนเล็กน้อยแต่ กลิ่น PVA ชัดเจนกว่า	กลิ่นเฉพาะตัว มะแขวน	กลิ่นเฉพาะตัวมะแขวน
	Room Temp-Day30	กลิ่น PVA	กลิ่นเฉพาะตัวมะ แขวนเล็กน้อยแต่ กลิ่น PVA ชัดเจนกว่า	กลิ่นเฉพาะตัว มะแขวน	กลิ่นเฉพาะตัวมะแขวน
	Heat-Cool Cycle 4	กลิ่น PVA	กลิ่นเฉพาะตัวมะ แขวนเล็กน้อยแต่ กลิ่น PVA ชัดเจนกว่า	กลิ่นเฉพาะตัว มะแขวน	กลิ่นเฉพาะตัวมะแขวน
	4°C-Day 30	กลิ่น PVA	กลิ่นเฉพาะตัวมะ แขวนเล็กน้อยแต่ กลิ่น PVA ชัดเจนกว่า	กลิ่นเฉพาะตัว มะแขวน	กลิ่นเฉพาะตัวมะแขวน
	45°C-Day 30	กลิ่น PVA	กลิ่นเฉพาะตัวมะ แขวนเล็กน้อยแต่ กลิ่น PVA ชัดเจนกว่า	กลิ่นเฉพาะตัว มะแขวน	กลิ่นเฉพาะตัวมะแขวน
	Day 0	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น
	Room Temp-Day30	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น
	Heat-Cool Cycle 4	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น
ความหนืด (Viscosity)	Day 0	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น
	Room Temp-Day30	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น
	Heat-Cool Cycle 4	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตำรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตำรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับ ตำรับพื้น

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

หัวข้อทดสอบ	สภาวะทดสอบ	สูตรพื้น (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
อัตราการเคลือบ (Readability) (Score 0-5)	4°C-Day 30	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตัวรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตัวรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับตัวรับ พื้น
	45°C-Day 30	หนืดปานกลาง	หนืดปานกลาง โดย หนืดกว่าตัวรับพื้น เล็กน้อย	หนืดปานกลาง โดยเหลวกว่า ตัวรับพื้นเล็กน้อย	หนืดปานกลาง มีความ หนืดใกล้เคียงกับตัวรับ พื้น
	Day 0	5	5	4	5
	Room Temp-Day30	5	5	4	5
	Heat-Cool Cycle 4	5	5	4	5
	4°C-Day 30	5	5	4	5
	45°C-Day 30	5	5	4	5
	Day 0	5	5	5	5
	Room Temp-Day30	5	5	5	5
	Heat-Cool Cycle 4	5	5	5	5
	4°C-Day 30	5	5	5	5
	45°C-Day 30	5	5	5	5
	Day 0	5	5	5	5
	Room Temp-Day30	5	5	5	5
	Heat-Cool Cycle 4	5	5	5	5
	4°C-Day 30	5	5	5	5
	45°C-Day 30	5	5	5	5

หมายเหตุ Score 0-5 คือ 0=แย่, 1-2=พอใช้ระดับ1และ2, 3=ปานกลาง, 4=ดี, 5=ดีมาก

ตารางที่ 4.10 ผลสรุปการทดสอบแผ่นฟิล์ม

หัวข้อทดสอบ	สภาวะทดสอบ	สูตรพื้น (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
ความแห้งไว (นาท)	Day 0	20 min	20 min	20 min	20 min
Drying time (min)	Room Temp-Day30	20 min	20 min	20 min	20 min
	Heat-Cool Cycle 4	20 min	20 min	20 min	20 min
	4°C-Day 30	20 min	20 min	20 min	20 min
	45°C-Day 30	20 min	20 min	20 min	20 min

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

หัวข้อทดสอบ	สภาวะทดสอบ	สูตรพื้น (BASE)	สูตร 1 (BASE + ZL EXTRACT 1.25%)	สูตร 2 (BASE + ZL OIL 2.5%)	สูตร 3 (BASE + ZL MIXED 2.5%)
อัตราการผลิตฟิล์ม	Day 0	5	5	5	5
Film forming	Room Temp-Day30	5	5	5	5
ability (Score 0-5)	Heat-Cool Cycle 4	5	5	5	5
	4°C-Day 30	5	5	5	5
	45°C-Day 30	5	5	5	5
ความแข็งแรงเมื่อลอกออก (Peel off ability)	Day 0	ลอกง่าย ไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด
	Room Temp-Day30	ลอกง่าย ไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด
	Heat-Cool Cycle 4	ลอกง่าย ไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด
	4°C-Day 30	ลอกง่าย ไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด
	45°C-Day 30	ลอกง่าย ไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด	ลอกง่ายไม่ขาด
ความหนาของแผ่นฟิล์ม	Day 0	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
Film Thickness (mm)	Room Temp-Day30	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
	Heat-Cool Cycle 4	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
	4°C-Day 30	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0
	45°C-Day 30	0.02±0	0.02±0	0.02±0	0.02±0

หมายเหตุ Score 0-5 คือ 0=แย่, 1-2=พอใช้ระดับ1และ2, 3=ปานกลาง, 4=ดี, 5=ดีมาก

4.9.3 ทดสอบความคงทนของตำรับโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี (Physicochemical Analysis) ด้วยเครื่องวัด

การทดสอบและเครื่องที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ การทดสอบและวิเคราะห์ค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter แบรินด์ QIS, Suntex, Model: B200, SP2100, Taiwan) วัดค่าความหนืด (viscosity) หน่วยวัดเป็น Centi-point (cP) ด้วยเครื่อง เครื่องวัดความหนืด (viscometer แบรินด์ BROOKFIELD, Model: DV-II+Pro, USA) การทดสอบวัดค่าสี L^* , a^* , b^* , และค่า ΔE^* (Colorimeter (KONICA MINOLTA, Model: CM-700d, JAPAN))

โดยทำการทดสอบตัวอย่างสูตร 4 สูตร คือ สูตรพื้น สูตร 1 สูตร 2 และสูตรสาร โดยสูตรพื้น คือ สูตรที่ไม่ผสมสารสกัด สูตร1-3 ผสมสาร ZL Extract 1.25% สาร ZL Oil 2.5% และสาร ZL Mixed 2.5% ตามลำดับ ภายใต้สภาวะการทดสอบที่แตกต่างกัน ผลการทดสอบได้แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ ตามรูปแบบเจล (gel form) และรูปแบบฟิล์มที่แห้งแล้ว (film form) โดยนำตำรับทั้ง 4 ทดสอบในสภาวะต่างอุณหภูมิและระยะเวลา (ผลสรุปดังภาคผนวก ตาราง ฉ1 และ ฉ2)

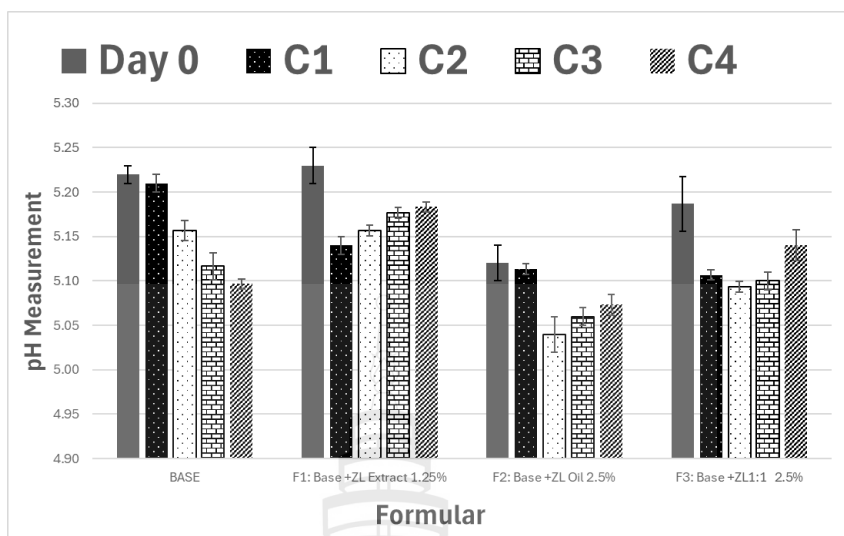
จากการทดสอบสูตรในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ ทั้งในรูปแบบเจลและฟิล์ม สามารถสรุปผลได้ดังนี้

4.9.3.1 ผลทดสอบความคงตัวของสภาวะตัวอย่างเจล

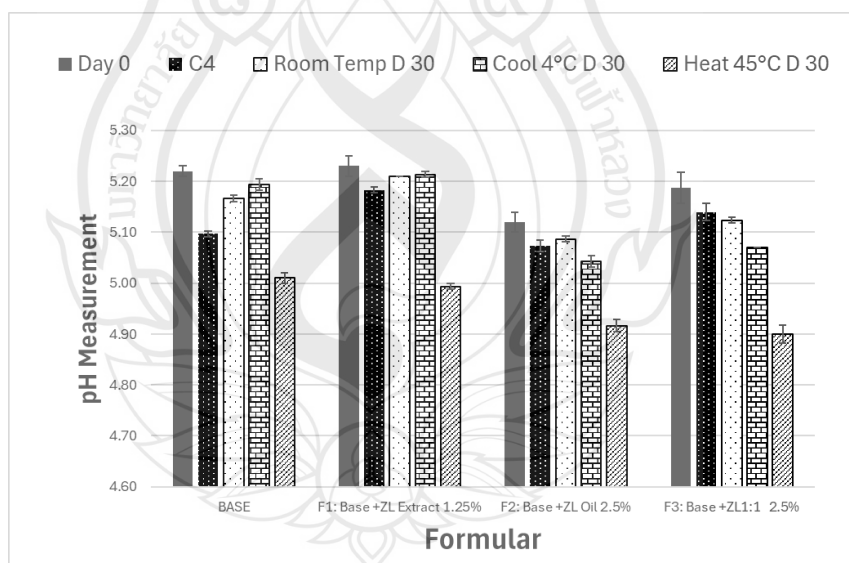
1. ผลการทดสอบวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของสภาวะตัวอย่างเจล โดยทดสอบที่สภาวะเร่ง ดังภาพที่ 4.6 กราฟแสดงการวัดค่า pH ของสูตรทั้ง 4 สูตร หลังจากผ่านการทดสอบในสภาวะ Heating-Cooling Cycle (C1 ถึง C4) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า pH ในวันเริ่มต้น (Day 0) พบว่า สูตรพื้น (BASE) มีค่า pH เริ่มต้นที่ 5.22 ± 0.01 และลดลงเป็น 5.10 ± 0.01 ใน Cycle 4 ส่วนสูตร 1 (Base + ZL Extract 1.25%) มีค่า pH เริ่มต้นที่ 5.23 ± 0.02 และลดลงเป็น 5.16 ± 0.01 ใน Cycle 4 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ สูตร 2 (Base + ZL Oil 2.5%) มีค่า pH เริ่มต้นที่ 5.12 ± 0.02 และลดลงเป็น 5.07 ± 0.01 ใน Cycle 4 และสูตร 3 (Base + ZL1:1 2.5%) มีค่า pH เริ่มต้นที่ 5.19 ± 0.03 และลดลงเป็น 5.14 ± 0.01 ใน Cycle 4 จากข้อมูลนี้ สูตร 1 แสดงถึงความเสถียรของค่า pH สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐานและสูตรอื่น ๆ โดยทุกสูตรเมื่อพบกับสภาวะเร่งนั้นทำให้ค่า pH ลดลง

เมื่อนำเปรียบเทียบกับกับสภาวะอุณหภูมิอื่น (ภาพที่ 4.7) ต่อความคงตัวของค่าความเป็นกรด-ต่างในแต่ละสูตร โดยเทียบที่สภาวะวันเริ่มต้น (Day 0) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30) ดังภาพที่ 4.9 จากกราฟการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในสูตรต่าง ๆ พบว่า อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อความคงตัวของสูตร โดยเฉพาะในสภาวะความร้อนสูง (heat 45°C day30) ที่ทำให้ค่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุกสูตร ยกเว้นสูตร F1: Base + ZL Extract 1.25% ที่ค่า pH ลดลงน้อยกว่าสูตรอื่น สูตรที่มี ZL Extract ซึ่งเป็นสารสกัดเอทานอลมีความเสถียรต่อความร้อนมากกว่าสูตรที่มีน้ำมันหอมระเหย ZL Oil ซึ่งมีแนวโน้มที่จะสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลงทางเคมีเมื่อเจอความร้อนสูง ส่งผลให้ค่า pH ลดลงมาก ในทางตรงกันข้าม สภาวะเย็น (cool 4°C d30) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (room temp d30) มีผลน้อยกว่าต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH สูตร F1 และ BASE มีค่า pH ที่ค่อนข้างคงที่ในสภาวะเหล่านี้ ซึ่งแสดงถึงความเสถียรของสารสกัด ZL Extract และส่วนประกอบของสูตร BASE ต่อการเก็บรักษาที่ไม่เปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว

สรุปได้ว่า สูตรที่มี ZL Extract เป็นส่วนประกอบมีความคงตัวของค่ากรดต่างเมื่อเก็บรักษาในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ทั้งความร้อนและความเย็น ขณะที่สูตรที่มีน้ำมันหอมระเหย ZL Oil มีความไวต่อความร้อนสูงและส่งผลให้ค่า pH ลดลงอย่างชัดเจน การที่น้ำมันหอมระเหยมีความไวต่ออุณหภูมิสูง ซึ่งอาจทำให้เกิดการสลายตัวทางเคมี (chemical degradation) หรือปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ทำให้เกิดสารประกอบใหม่ที่มีความเป็นกรดมากขึ้น ส่งผลให้ค่า pH ลดลง (Bakkali et al., 2008) ดังนั้น สูตร F1: Base + ZL Extract 1.25% ถือว่าเป็นสูตรที่มีความทนทานต่อทุกสภาวะต่อค่ากรดต่างทั้งในสภาวะปกติ อุณหภูมิต่ำ และอุณหภูมิสูง

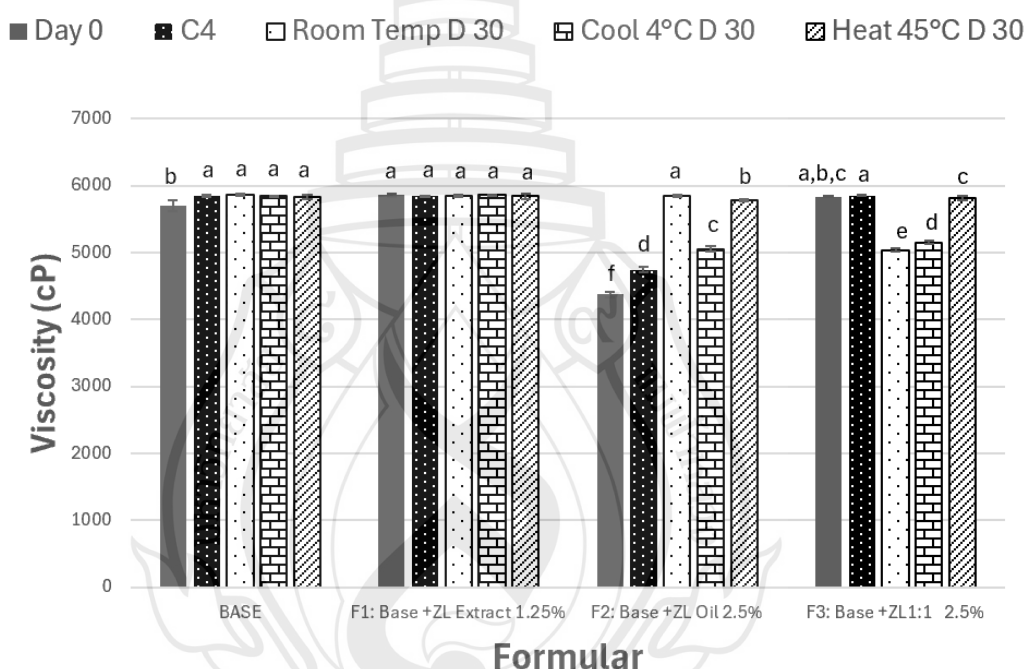


ภาพที่ 4.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสูตรพื้น และสูตรต่าง ๆ หลังจากผ่านการทดสอบในสภาวะ Heating-cooling cycle (c1 ถึง c4) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า pH ในวันเริ่มต้น (day 0)



ภาพที่ 4.7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในแต่ละสูตรในสภาวะอุณหภูมิต่างกัน โดยเทียบกับสภาวะวันเริ่มต้น (day 0) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)

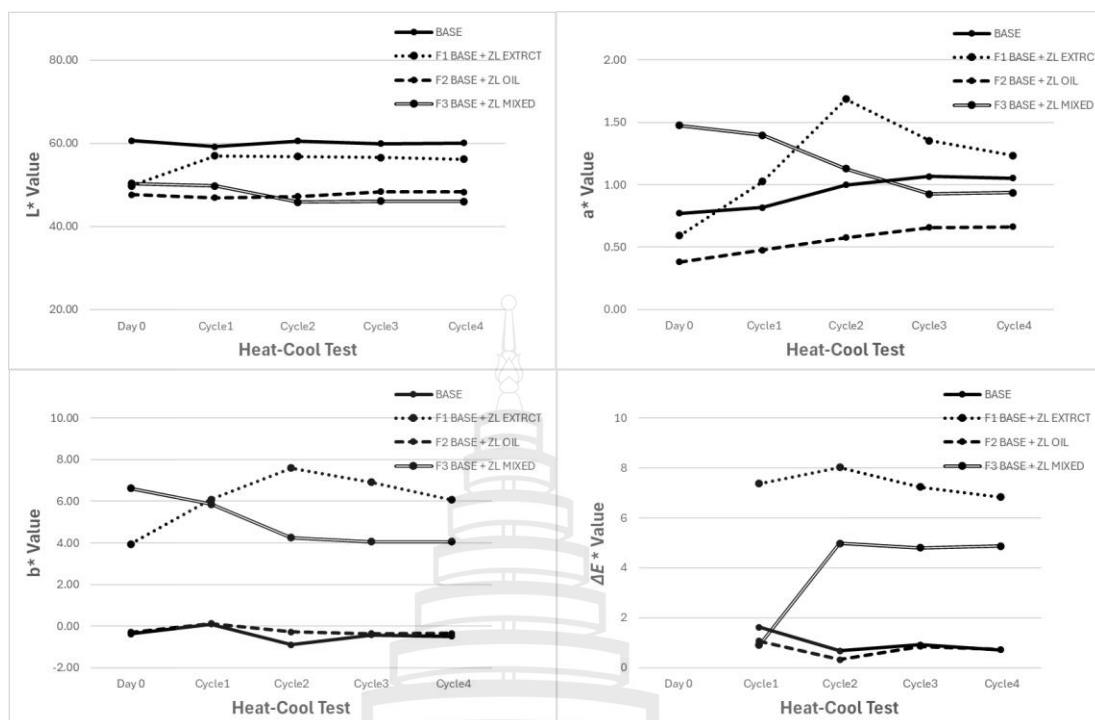
2. ผลทดสอบความหนืดของเจล (viscosity, cP) ได้ทำการทดสอบค่าความหนืดโดยใช้หน่วยวัดเป็น cP (เซ็นติพอยท์) โดยค่าที่มากขึ้นแสดงถึงความหนืดมากขึ้น จากภาพที่ 4.8 ได้ทำการวัดเปรียบเทียบค่าความหนืดของแต่ละสูตรโดยเทียบกับสภาวะวันเริ่มต้น (Day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30) พบว่า ค่าความหนืดของสูตรพื้นสูตร 1 และสูตร 3 นั้น มีความแตกต่างกันกับ day 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนสูตร 2 ให้ความคงทนของความหนืดที่สุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



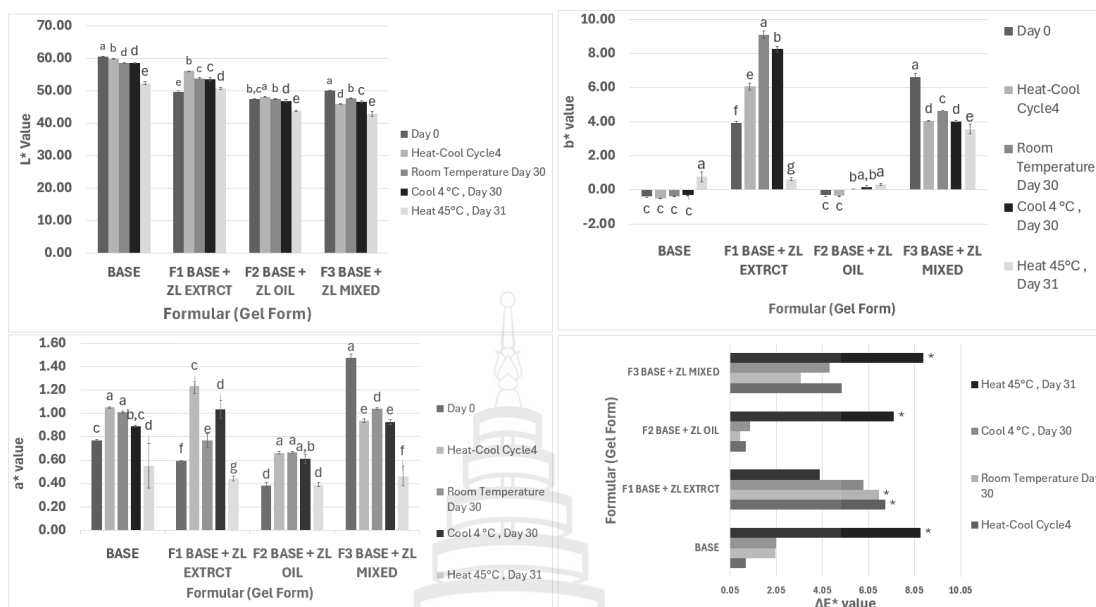
หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนแท่งกราฟภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า $p \text{ value} < 0.05$

ภาพที่ 4.8 ค่าความหนืด (viscosity,cP) ของแต่ละสูตร โดยเทียบกับสภาวะวันเริ่มต้น (day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)

3. ทดสอบการวัดค่าสี L^* a^* b^* ของเจล ด้วยเครื่องวัดค่าสี จากภาพที่ 4.9 และ 4.10 แสดงค่า L^* (ความสว่าง), a^* (เฉดสีแดง-เขียว), b^* (เฉดสีเหลือง-น้ำเงิน) และ ΔE^* (ความแตกต่างของสี) โดยภาพที่ 4.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (L^* , a^* , b^* , ΔE^*) ในสูตรพื้น (base) และสูตรที่ใส่สารสกัด (สูตร 1 สูตร 2 และสูตร 3) ภายใต้การทดสอบในสภาวะเร่งร้อนสลับเย็น 4 รอบ (heating-cooling cycle 1 ถึง cycle4) พบว่า สูตร 2 (base + ZL oil) เป็นสูตรที่มีความคงสภาพของสีสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ สูตร 2 มีค่า L^* (ความสว่าง) ที่คงที่และเปลี่ยนแปลงน้อยมากตลอดการทดสอบ นอกจากนี้ ค่า a^* (สีแดง-เขียว) และค่า b^* (สีเหลือง-น้ำเงิน) ของสูตร 2 ก็มีความคงที่และมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งแสดงถึงความเสถียรของสีในทุกรอบการทดสอบ อีกทั้งค่า ΔE^* (การเปลี่ยนแปลงสีรวม) ของสูตร F2 ยังต่ำมีความใกล้เคียงกับสูตรพื้น และคงที่ตลอดการทดสอบ Heat-Cool Cycle แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงสีที่น้อยที่สุด ด้วยเหตุผลเหล่านี้ สูตร F2 (base + ZL oil) จึงเป็นสูตรที่มีความคงสภาพดีที่สุดจากการทดสอบค่าสีในสภาวะร้อนสลับเย็น และเมื่อทดสอบกับสภาวะทดสอบอุณหภูมิอื่น ดังภาพที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงในสูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะการทดสอบ ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30) โดยทั่วไป สูตรพื้นมีความสว่างสูงสุด และสูตร 1 มีความสว่างที่ลดลงน้อยที่สุดภายใต้สภาวะที่ต่างกัน ค่า a^* แสดงการเปลี่ยนแปลงเฉดสีแดง-เขียว โดยสูตรพื้นและสูตร 1 มีค่า a^* สูงสุด ซึ่งแสดงถึงเฉดสีแดงมากที่สุด ค่า b^* แสดงการเปลี่ยนแปลงเฉดสีเหลือง-น้ำเงิน โดยสูตร 1 มีค่า b^* สูงสุด แสดงถึงเฉดสีเหลืองมากที่สุด ค่า ΔE^* แสดงความแตกต่างของสี โดยสูตรพื้นและสูตร 1 มีค่า ΔE^* ต่ำที่สุดภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อน เย็น และอุณหภูมิห้อง ซึ่งแสดงถึงความคงทนของสีที่ดีที่สุด



ภาพที่ 4.9 ค่า L^* , a^* , b^* จากการวัดค่าที่ทำการทดสอบความคงตัวของเจลในสภาวะ heating-cooling ทั้ง 4 cycles เปรียบเทียบกับ day 0 ของแต่ละสูตร



หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนแท่งกราฟภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05 และเครื่องหมาย * แสดงถึงค่า ΔE^* ที่มากกว่า 6 โดย (ค่า ΔE^* อยู่ระหว่าง 6 – 12 แสดงถึงความแตกต่างของสีที่มองเห็นได้ชัดเจนและชัดเจนมาก)

ภาพที่ 4.10 ผลวัดค่าสี L* a* b* ของตำรับสภาวะเจลด้วยเครื่องวัดสี ภายใต้สภาวะการทดสอบที่ต่างอุณหภูมิ ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) ที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็นรอบที่ 4 (c4) และวันที่ 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (room temperature day 30) วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4 °c (cool 4 °c day 30) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45 °c (heat 45 °c day 30)

4. การวัดค่าสี (L* a* b*) ของแผ่นฟิล์ม ดูผลได้จากตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.11 แสดงค่าแสงสี (L*, a*, b*, และ ΔE^*) ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ ภายใต้เงื่อนไขการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4 °c (cool 4 °c day 30) และวันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45 °c (heat 45 °c day 30) สูตรที่ถูกเปรียบเทียบ ได้แก่ สูตรพื้น (base) สูตร 1 (base + ZL extract 1.25%) สูตร 2 (base + ZL oil 2.5%) และสูตร 3 (base + ZL mixed 2.5%) จากภาพ แสดงค่า L* ซึ่งบ่งบอกถึงความสว่างของฟิล์ม

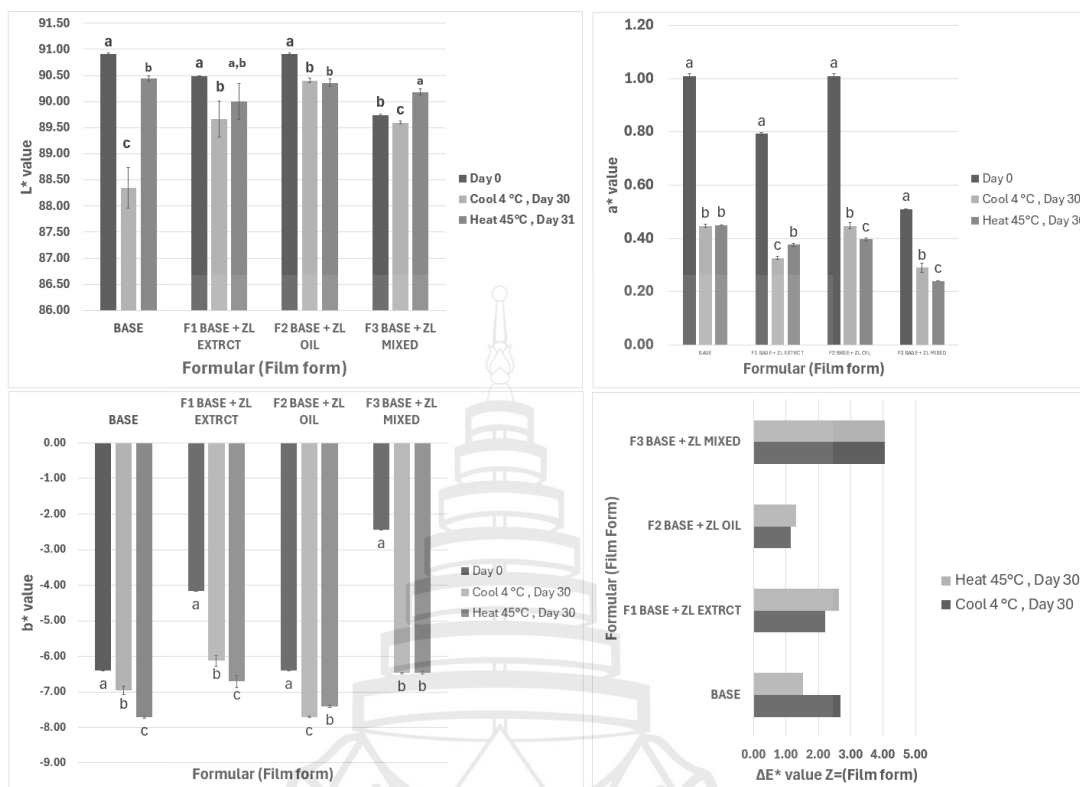
ค่า L^* ของแผ่นฟิล์ม ที่สูงขึ้นหมายถึงฟิล์มมีความสว่างมากขึ้น ฟิล์ม สูตรพื้น มีค่า L^* สูงสุดในทุกเงื่อนไข สูตร 1 และ สูตร 2 มีค่า L^* ลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บในอุณหภูมิแตกต่างกัน สำหรับ สูตร 3 มีค่า L^* ต่ำสุด โดยเฉพาะเมื่อเก็บที่ 45°C สำหรับค่า โดยค่า

ค่า a^* ของแผ่นฟิล์ม ซึ่งบ่งบอกถึงความเข้มของสีแดง-เขียว ค่า a^* ที่สูงขึ้น หมายถึงฟิล์มมีสีแดงมากขึ้น ฟิล์มสูตรพื้น มีค่าสีแดงสูงสุดในวันแรก (day 0) แต่ลดลงเมื่อเก็บที่ อุณหภูมิแตกต่างกัน ฟิล์มสูตร 1 มีค่าลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บที่ 45°C และฟิล์ม สูตร 3 มีค่าสีแดง ต่ำสุดในทุกเงื่อนไข

ค่า b^* ของแผ่นฟิล์ม ซึ่งบ่งบอกถึงความเข้มของสีเหลือง-น้ำเงิน ค่า b^* ที่สูงขึ้น หมายถึงฟิล์มมีสีเหลืองมากขึ้น ฟิล์มสูตรพื้น มีค่า b^* ต่ำสุดในทุกเงื่อนไข ฟิล์มสูตร 1 และ สูตร 2 มี ค่าลดลงเมื่อเก็บที่ 45°C ส่วนฟิล์มสูตร 3 มีค่า b^* ต่ำที่สุดเมื่อเก็บที่ 45°C

ค่า ΔE^* ของแผ่นฟิล์ม ซึ่งบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของสี ค่า ΔE^* ที่สูงขึ้น หมายถึงการเปลี่ยนแปลงของสีมากขึ้น ฟิล์มสูตรพื้นมีการเปลี่ยนแปลงของสีต่ำสุด ฟิล์ม สูตร 1 และ สูตร 2 มีการเปลี่ยนแปลงของสีเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บในอุณหภูมิแตกต่างกัน ฟิล์มสูตร 3 มีการเปลี่ยนแปลง ของสีสูงสุด โดยเฉพาะเมื่อเก็บที่ 45°C

โดยสรุป ฟิล์มสูตรพื้นมีความสว่างและคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสีที่ดี ฟิล์ม สูตร 1 และ สูตร 2 มีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสีในระดับปานกลาง ขณะที่ฟิล์ม สูตร 3 มีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสีต่ำสุดและการเปลี่ยนแปลงของสีสูงสุดในทุกเงื่อนไข โดยค่า ΔE^* ของแผ่นฟิล์มทุกสูตรนั้น น้อยกว่า 6 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อเป็นแผ่นฟิล์มนั้นไม่ ชัดเจนจนสังเกตได้



หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนแท่งกราฟภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05

ภาพที่ 4.11 ผลวัดค่าสี L^* a^* b^* ด้วยเครื่องวัดสีสภาวะแผ่นฟิล์ม ภายใต้สภาวะการทดสอบต่างอุณหภูมิ ได้แก่ วันเริ่มต้น (day 0) ที่ วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 4°C (cool 4°C day 30) และ วันที่ 30 ที่อุณหภูมิ 45°C (heat 45°C day 30)

จากผลการทดสอบนี้ สามารถสรุปได้ว่า สภาวะการทดสอบที่มีอุณหภูมิสูงและการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหลายครั้งมีผลกระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนืด และค่าสีของตัวอย่างตัวรับเจลทุกสูตร โดยเฉพาะสภาวะที่อุณหภูมิ 45 °C ที่ส่งผลทำให้ค่า pH ลดลงชัดเจนในขณะที่ความหนืดและค่าสี (L^* , a^* , b^*) มีการเปลี่ยนแปลงตามสภาวะการทดสอบ ค่า ΔE^* แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสีทั้งหมดที่ชัดเจนที่สุดในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง

สูตรที่มีความคงทนและมีคุณสมบัติที่ดีที่สุดจากงานวิจัยนี้ คือ สูตร 1 ที่มีส่วนผสมของสารสกัดผนังผลมะเขว่นในเอทานอลร้อยละ 50 ปริมาณที่ 1.25% (ZL Extract) ตามอัตราความเข้มข้นที่ให้ฤทธิ์ด้านการอักเสบและยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ได้ดี ให้ค่าความคงทนของความเป็นกรดต่าง ค่าความ

หนืด รวมถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของสีอยู่ในระดับที่ดีที่สุด ทั้งนี้ข้อเสียของสารสกัด ZL Extract คือสีของผลิตภัณฑ์ หากถ้าต้องการลงในตำรับที่ไม่ต้องการให้มีสีของสารสกัดไม่สามารถทำได้ ข้อดีในการออกฤทธิ์ยับยั้งสี คือ ใช้ได้ในปริมาณต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งยังไม่มีผลต่อกลิ่นในตำรับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่น มีความคงตัวที่ต่ำทั้งค่า pH ความหนืด ค่าสีที่แปรปรวนแม้จะไม่มีสี อาจส่งผลถึงความไม่เสถียรของประสิทธิภาพของสารสกัดได้เนื่องจากสารประกอบที่ออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยเป็นกลุ่มฟีนอลที่สามารถระเหยได้ง่าย แต่กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์สามารถนำมาเป็นกลิ่นธรรมชาติให้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ได้ ทั้งนี้ในงานวิจัยของ สิริภา ชูระคำ (2562) ได้มีการทำวิจัยกับอาสาสมัคร ชาย และหญิง อายุช่วง 21-40 ปี โดยมีการผสมสารสกัดแบบผสมระหว่างน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะแขว่นและสารสกัดผนังผลในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ที่สกัดโดยเฮกเซน แบบ 1:1 ปริมาตรร้อยละ 0.25 ในตำรับโลชั่นนวด พบว่า อาสาสมัครพอใจในกลิ่นของตำรับเมื่อเทียบกับตำรับพื้น ในระดับมากที่สุด และรู้สึกผ่อนคลายมากที่สุด รวมถึงเรื่องสีอาสาสมัครได้ให้ความพึงพอใจปานกลาง ทั้งนี้สีของตำรับได้คล้ายกับสูตร 3 ของงานวิจัยนี้ เช่นเดียวกันกับสภาวะของอุณหภูมิที่สูงขึ้น มีผลกับค่า pH และการเปลี่ยนแปลงของสีของตำรับมีผลกระทบในทางเดียวกันกับงานวิจัยนี้ ดังนั้น สูตร 3 ของงานวิจัยนี้ที่มีการผสมสารสกัดเอทานอลและน้ำมันหอมระเหยด้วยกันนั้น เป็นอีกสูตรที่น่าสนใจในการพัฒนาต่อยอดรวมถึงการนำไปผสมกับสารอื่น ๆ ที่สามารถช่วยเสริมฤทธิ์กันได้ ทั้งนี้อาจต้องมีการทดสอบความเป็นพิษในความเข้มข้นที่สูงขึ้นจากครั้งนี้หากต้องพัฒนาตำรับในการทดสอบใช้จริงกับอาสาสมัคร

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผนังผลมะเขว่นในเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) และน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่น (ZL oil) และแบบผสมกันของสารสองสภาวะแบบ 1:1 (ZL mixed) มีศักยภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) และฤทธิ์ต้านการอักเสบ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีประสิทธิภาพ โดยมีรายละเอียดการทดลองและผลการวิจัยดังนี้

5.1.1 การสกัดสาร

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการสกัดสารจากผนังผลมะเขว่นโดยใช้สองวิธี ได้แก่ การสกัดด้วยวิธีเขย่าในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (ZL extract) และการสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ (ZL oil) ผลการวิจัยพบว่า สารสกัด ZL extract ได้ผลลักษณะสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (ปัทมรา พันธ์บุญ, 2563) โดยสารมีลักษณะเป็นยางเหนียวสีน้ำตาลเข้ม และมีความหนืดปานกลาง โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 22.86 ± 0.9 ซึ่งสูงกว่าผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 และ 95 ในขณะที่ ZL oil มีลักษณะเป็นน้ำมันใสไม่มีสีและมีกลิ่นหอมชัดเจน โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 26.55 ± 0.48 ซึ่งสูงกว่าผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำระยะเวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง (สิริภา ชูระคำ, 2562; ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ, 2557)

เมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดทั้งสองวิธี พบว่า วิธีการกลั่นด้วยน้ำให้ผลผลิตร้อยละสูงกว่าการสกัดในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 แต่ให้ผลผลิตร้อยละน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ สิริภา ชูระคำ (2562) ที่สกัดด้วยวิธีซอกท์เลตในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งให้ผลผลิตร้อยละมากกว่าการสกัดด้วยวิธีซอกท์เลตในตัวทำละลายเฮกเซน สามารถสรุปได้ว่าการเลือกใช้วิธีสกัดและตัวทำละลายมีผลต่อประสิทธิภาพและปริมาณของสารสกัดที่ได้ อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ระยะเวลาในการสกัด อุณหภูมิ ความสม่ำเสมอ และความสมบูรณ์ของตัวอย่างพืช (Buchholz et al., 2019)

5.1.2 การวิเคราะห์สารประกอบสำคัญ

จากการทดสอบผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัด ZL Extract ได้ค่าเท่ากับ 104.831 ± 1.98 mgGAE/g sample ซึ่งใกล้เคียงกับค่างานวิจัยของปภัสรา พันหิรัญ (2563) ที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีการสกัดเดียวกัน โดยได้ค่า 108.66 ± 0.80 mgGAE/g sample อย่างไรก็ตามค่ายังได้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำกว่างานวิจัยของ สิริภา ธวัชคำ (2562) ที่ใช้วิธีชอกท์เลตและเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งได้ผลลัพธ์สูงถึง 149 ± 3.60 mgGAE/g sample นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด ZL Extract พบว่า มีค่า 25.49 ± 0.84 mgQE/g extract ซึ่งต่ำกว่างานวิจัยก่อนหน้านี้ของ ปภัสรา พันหิรัญ (2563) ที่มีค่า 81.71 ± 0.20 mgQE/g extract แม้ว่าจะใช้วิธีการสกัดและตัวทำละลายเดียวกัน โดยสาเหตุที่ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมต่างกันอาจมาจากความแตกต่างในวัตถุดิบ ความสด กระบวนการเตรียมวัตถุดิบ สภาพแวดล้อมในระหว่างการสกัด และความแตกต่างในการปรับแต่งวิธีการสกัด (Smith et al., 2020) และเมื่อได้วิเคราะห์สาร ZL Extract พบสารประกอบหลักกลุ่มโพลีฟีนอลมากที่สุด อันประกอบด้วย สารฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกเอซิด และอัลคาลอยด์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS-QTOF และจากการวิเคราะห์สาร ZL Oil ด้วยเทคนิค GC/MS พบสารกลุ่มโมโนเทอร์พีนมากที่สุด โดยวิธีการสกัดทั้งสองวิธีนั้นใช้เอทานอลร้อยละ 50 และน้ำ เป็นตัวทำละลายตามลำดับ การสกัดพืชสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจะสามารถดึงฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารพฤษเคมีในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ประเภท phenolic acids และ polyphenol ออกจากพืชสมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นยังมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระที่ดี รวมถึงสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านแบคทีเรียได้ (สุวดี โพธิ์วิจิตร และคณะ, 2562) โดยสามารถสรุปได้ว่าสารสำคัญในการออกฤทธิ์ของมะเขว่นนั้นจัดว่ามีขั้ว

5.1.3 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes*

จากผลทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ของสารสกัด ZL extract และ ZL oil พบว่า ZL extract มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อด้วยค่าโซนยับยั้ง 8.67 ± 0.58 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่า ZL oil ที่มีค่าโซนยับยั้ง 7.00 ± 0 มิลลิเมตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ทั้งสองยังมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน Clindamycin, Gentamicin, และ Erythromycin ที่มีค่าโซนยับยั้งมากกว่า การทดสอบ MIC และ MBC พบว่า ZL extract มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วน ZL oil และ ZL mixed มีค่าทั้ง MIC และ MBC เท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ Gentamicin และ Clindamycin มีค่า MIC และ MBC ต่ำเพียง 0.006 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสรุปสารสกัด ZL extract และ ZL oil แม้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ แต่ยังมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน Clindamycin สาร Erythromycin และสาร Gentamicin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะ ที่ผ่านกระบวนการ

สังเคราะห์ซึ่งมีความบริสุทธิ์และความเข้มข้นสูงกว่า และเมื่อผสมกันไม่แสดงถึงการเสริมฤทธิ์กันโดย ZL mixed ให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acnes* เท่ากับ ZL oil

5.1.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นทั้ง ZL Extract, ZL Oil, ZL Mixed ในช่วง ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้น 39-5,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มากกว่า 80% ซึ่งเป็นการยืนยันว่าปลอดภัยในการใช้บนผิวหนังในความเข้มข้นดังกล่าว นอกจากนี้การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี Griess test พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นสามารถลดการหลั่งไนโตรเจนออกไซด์จากเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งบ่งชี้ว่าสารสกัดนี้มีศักยภาพในการลดการอักเสบ การทดสอบความเข้มข้นของสาร ZL Extract, ZL Oil, และ ZL Mixed โดยเริ่มต้นที่ 5,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Extract อยู่ที่ 66.804 ± 3.823 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Oil ที่ 77.379 ± 3.972 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่าเฉลี่ย IC50 ของ ZL Mixed ที่ 70.246 ± 4.327 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เนื่องจากมีค่า IC50 ต่ำสุด โดยสารผสม (ZL Mixed) ไม่แสดงถึงการเสริมฤทธิ์กันในการต้านการอักเสบ

5.1.5 การพัฒนาตำรับ Anti-acne Peel-off Gel

การพัฒนาตำรับ Anti-acne peel-off gel จากสารสกัดผนังผลมะแขว่น พบว่า สูตรพื้นที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพและสามารถคงตัวได้ดีเมื่อใส่สารสกัดที่ความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* ได้ ทั้งยังสามารถสร้างฟิล์มที่แข็งแรง ไม่ขาดง่าย จากผลการทดสอบพบว่า สภาวะการทดสอบที่มีอุณหภูมิสูงและการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหลายครั้งในสภาวะเร่งร้อนสลับเย็นส่งผลกระทบต่อค่า ความเป็นกรด-ด่าง ค่าความหนืด และค่าในทุกสูตร โดยเฉพาะที่ 45 °C ซึ่งทำให้ค่า pH ลดลงชัดเจน และค่า ΔE^* แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมดเด่นชัดที่สุด สูตรที่ดีที่สุด คือ สูตร 1 ที่มีสารสกัดผนังผลมะแขว่นในเอทานอล 1.25% (ZL extract) แต่เนื่องจากสารสกัดทำให้ตำรับมีสีที่อาจไม่เหมาะสำหรับการพัฒนาบางตำรับหรือต้องการตำรับที่ไม่มีสี ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีความคงตัวต่ำ แม้ไม่มีสี แต่ให้กลิ่นที่ดีเหมาะใช้ในเครื่องสำอางค์โดยงานวิจัยของสิริภา ธวัชคำ (2562) พบว่า อาสาสมัครพอใจในกลิ่นของสูตรแบบผสมสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดซึ่งมีส่วนผสมสารสกัดเหมือนกันกับสูตร 3 ของงานวิจัยนี้ ซึ่งผสมสารสกัดในเอทานอลและน้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพในการพัฒนาต่อยอด มีงานวิจัยเกี่ยวกับความปลอดภัยในการใช้น้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ (Infante, 2022) ได้มีการทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิภาพของการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมสำหรับคุณสมบัติการกันผิวหนังกับอาสาสมัครที่ความเข้มข้น 2% พบว่า ไม่มีความเป็นพิษและไม่เกิด

การแพ้ ทั้งนี้ควรมีการทดสอบเพิ่มเติมจากการศึกษานี้โดยควรมีการทดสอบความเป็นพิษในความเข้มข้นสูงขึ้นเพิ่มเติมรวมถึงทดสอบการระคายเคืองหากใช้กับอาสาสมัคร และจากการศึกษานี้การใช้เสริมกันระหว่างน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจะช่วยให้อกกลินที่ดีและทำให้ใช้น้ำมันหอมระเหยได้น้อยลงหรือไม่ใช้ก็ได้กรณีที่ไม่ต้องการเสริมกลินด้วยน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น เพราะสารสกัดทั้งสองสถานะไม่มีผลด้านการเสริมฤทธิ์ต่อกันในการต้านการอักเสบและยับยั้งเชื้อ *C. acnes*

จากผลการวิจัยทั้งหมด สรุปได้ว่าสารสกัดจากผนังผลมะแขว่น และน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่นมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes* และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์ Anti-acne peel-off gel ดำรับทดสอบในงานวิจัยนี้ ซึ่งสามารถพัฒนาต่อยอดให้เป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ได้ และดัดแปลงนำไปพัฒนากับสารสกัดชนิดอื่น รวมถึงปรับเปลี่ยนเป็นตำรับรูปแบบอื่นได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่นในการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว คือ *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) และสารต้านการอักเสบ ข้อเสนอแนะน่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมคือ

5.2.1 การศึกษาประสิทธิภาพทางคลินิก

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะแขว่นในอาสาสมัครเพื่อยืนยันผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ และเพื่อประเมินความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการใช้งานจริงวิเคราะห์ผลลัพธ์ระยะยาวในการใช้ผลิตภัณฑ์ Anti-acne peel-off gel กับกลุ่มตัวอย่างที่มีปัญหาสิวและการอักเสบของผิวหนัง

5.2.2 การเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัด

ศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัด เช่น การใช้เทคโนโลยีนาโนเพื่อเพิ่มการดูดซึมของสารสกัดเข้าสู่ผิวหนัง และพิจารณาการใช้สารเติมแต่งหรือสารเสริมฤทธิ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและลดการอักเสบ รวมถึงการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลกระทบของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัดเช่น อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดและความสมบูรณ์ของพืช อาจช่วยให้สามารถพัฒนาวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

5.2.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่

พัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดผนังผลมะเขว่นในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ครีม เซรั่ม โลชั่น หรือโทนเนอร์ เพื่อให้เหมาะกับการใช้งานในหลายๆ สภาพผิวและความต้องการของผู้บริโภคและทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมผสานกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรอื่น ๆ เพื่อเสริมฤทธิ์ในการดูแลผิว

5.2.4 การศึกษากลไกการทำงานของสารสกัด

ทำการศึกษากลไกการทำงานของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่นในระดับเซลล์และโมเลกุล เพื่อให้เข้าใจถึงวิธีการทำงานที่ชัดเจนยิ่งขึ้นและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์หลักในสารสกัดที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการอักเสบ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด

5.2.5 การประเมินผลทางเศรษฐศาสตร์และการตลาด

วิเคราะห์ความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดผนังผลมะเขว่น และศึกษาตลาดและความต้องการของผู้บริโภคเพื่อวางแผนการตลาดที่เหมาะสมในการนำผลิตภัณฑ์เข้าสู่ตลาด

5.2.6 การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต

ปรับปรุงกระบวนการสกัดและการผลิตสารสกัดผนังผลมะเขว่นให้มีประสิทธิภาพและความคงทนสูงยิ่งขึ้นและทดลองใช้เทคโนโลยีการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

การต่อยอดจากงานวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสารสกัดผนังผลมะเขว่นและน้ำมันหอมระเหยจากผนังผลมะเขว่น รวมทั้งสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย



รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- การุณย์ มะโนใจ. (2550, ธันวาคม). มะแขว่นพันธุ์พื้นเมืองและมะแขว่นพันธุ์ใหม่ พืชพรรณดีเมืองพะเยา. รายงานพิเศษ พะเยา เมืองน่าอยู่. <https://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=hoonvi&month=12-2007&date=23&group=8&gblog=71>
- การุณย์ มะโนใจ. (2553). มะแขว่นพันธุ์พืชเมือง และมะแขว่นพันธุ์ใหม่ พืชพรรณดีเมืองพะเยา. รายงานพิเศษ พะเยาเมืองน่าอยู่. <http://www.rakbankerd.com/agriculture/wb/show.php?category=agriculture&No=99.4>
- คณิษฐา จิรฐิตกาล. (2565). การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* และฤทธิ์ด้านการอักเสบของสมุนไพรจีนชานหวง (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.
- จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร. (2559). การสกัดสารพฤษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเพกา (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.
- จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตเรจริญกุล. (2553). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นมะแขว่น *Zanthoxylum limonella* Alston (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- จूरिगरณ์ อัมพัฒน์, ณวัชพงศ์ ไชยรัตน์ และนันทกานต์ ชินอัครวัฒน์. (2559, 17 มีนาคม). ผลิตภัณฑ์หัวน้ำมันนวดที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยผลมะแขว่น. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่ 11339.
- เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา, ภัสรา ขวประดิษฐ์, และปรานี บุญปาน. (2545). คู่มือสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่ 4 เครื่องเทศ. กลุ่มส่งเสริมการผลิตพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ, กรมส่งเสริมการเกษตร.

ชูลี ยมภักดี และวรินทร์ ขวศิริ. (2554). *สารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์จากมะเขว่น (Zanthoxylum limonella Alston)*. คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ญานี พงษ์ไพบูลย์ และกรวรรณ ศรีงาม. (2558, 22 เมษายน). *สูตรผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งการอักเสบของผิวหนัง*. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่ 9839.

ญานี พงษ์ไพบูลย์. (2557, 10 กันยายน). *สูตรผสมสารสกัดจากใบชาเมี่ยงและน้ำมันหอมระเหยจากผลมะเขว่น*. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่ 9124.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนารกิจ. (2550). *น้ำมันหอมระเหยและการใช้ในสுகนธบำบัด*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ณัฐกานต์ วงศ์สีสม, จามจุรี จินะตา, บุชบา มะโนแสน, จิรัชต์ กันทะขู้, สุริพร วันควร และสุภาวดี ศรีแย้ม. (2557). การศึกษาฤทธิ์ด้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากมะเขว่น. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*, 37(1).

นภดล นพคุณ, เพ็ญวดี ทิมพัฒน์พงษ์ และวันฉวี ศรีสินธุ์. (2554). *แนวทางการดูแลรักษาโรคผิวหนัง*. Clinical practice guideline ของสมาคมโรคผิวหนังแห่งประเทศไทย. http://www.dst.or.th/files_news/001-Guideline_Acne_2011.pdf

นันทวัน บุญยะประภัศร. (2544). การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร. ใน นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ (บ.ก.), *เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1*. (หน้า 129-162). แสงเทียนการพิมพ์

นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. (2553). เจลสมุนไพรสำหรับยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว. *Journal of Science Ladkrabang*, 19(2), 47-58. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/science_kmitl/article/view/100105.

บุปผาชาติ พตด้วง, อิศรา กิตา, สิทธิพงษ์ สรเดช, บัณฑิต ผึ้งสินธุ์, อมรรัตน์ ขยันการนาวิ, เตือนตา เสมาทอง, . . . อรรคชัย ตันตราวงศ์. (2559ข, 15 กรกฎาคม). *สูตรส่วนผสมเจลสำหรับล้างทำความสะอาดผิวที่มีส่วนประกอบของสารสกัด ผลมะขามป้อมและสารสกัดผลมะเขว่นและกรรมวิธีการผลิต*. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่ 11736.

บุปผาชาติ พตด้วง, อิศรา กิตา, สิทธิพงษ์ สรเดช, บัณฑิต ผึ้งสินธุ์, อมรรัตน์ ขยันการนาวิ, เตือนตา
 เสมาทอง, . . . อรรคชัย ตันตราวงศ์. (2559ก, 15 พฤศจิกายน). *กระบวนการผลิต
 วัตถุดิบสารสกัดสมุนไพรผสมจากผลมะขามป้อมและมะแขว่น*. สืบค้นจากประเทศไทย
 เลขที่ 157587.

ปภัสรา พันหิรัญ. (2563). *การสกัดสารยับยั้งไทโรซิเนสจากมะแขว่นและการกักเก็บในไลโปโซม*
 (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง,
 เชียงราย.

ประสาทร บิริสุทธิ์เพ็ชร, พิชัย กาญจนบุตร, และสาธิต พรตระกูลพัฒน์. (2551). *การพัฒนาต้นแบบ
 การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรต่อเชื้อบิดในไก่ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง*.
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พรภรณ์ สมขาว, จินตนา จุลทัศน์, นิชาพัทธ์ ฉลอมพงษ์, ธัญลักษณ์ ประเสริฐ, และปรียาภรณ์
 มุลติกะ. (2565). ประสิทธิภาพของเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมจากสารสกัดหอมแดง.
วารสารหมอยาไทยวิจัย, 8(2), 99-110.

พรชัย ปรีชาปัญญา. (2550). *มะแขว่น ชุดโครงการวิจัยการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากพืชป่า*.
 องค์การสวนพฤกษศาสตร์ จังหวัดเชียงใหม่.

ภัสรา ขวประดิษฐ์. (2554). *มะแขว่น เครื่องเทศชาวเหนือ*.
[http://www.agiman.doae.go.th/home/news3/new31/samunpri/003_passara\(08.09.10\).pdf](http://www.agiman.doae.go.th/home/news3/new31/samunpri/003_passara(08.09.10).pdf)

มนตรี อุดมเพทายกุล. (2561). *Acne vulgaris*.
<http://www.thaipediatrics.org/pages/Doctor/Detail/44/181>

มาลีรักษ์ อัดตสินทอง, อักษรกร คำมาสุข, และพัชรวรรณ ตันอมตยรัตน์. (2561, 31 สิงหาคม).
*ผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และกรรมวิธีการผลิต
 ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว*. อนุสิทธิบัตร ประเทศไทย เลขที่ 14298.

มาลีรักษ์ อัดตสินทอง. (2561, 26 พฤศจิกายน). *สบู่มะแขว่นลดการอักเสบของสิวและทำให้ผิวขาว*.
 อนุสิทธิบัตร ประเทศไทย เลขที่ 14698.

เมย์วิสาข์. (2566). มะเขว่นเครื่องเทศล้านนาสูตรเด็ดลำขนาด.

https://www.technologychaoban.com/folkways/article_14260

เยาวนารถ งามนนท์. (2556). การพัฒนาลูกกลิ้งแต้มสีจากสมุนไพรผสมสารสกัดใบขนุนพันธุ์ฟ้าถล่ม และเหรียญบาท (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์, ปทุมธานี.

รัตน์ อัครพันธุ์. (2548). The disease of sebaceous glands: Acne. ใน ปรียา กุลละวณิชย์ (บ.ก.), ตำราโรคผิวหนังในเวชปฏิบัติปัจจุบัน (หน้า 56-59). โฮลิสติก แพทย์เชิง.

วรานันท์ บัวจิบ, วิมา จิรัชฌริยากุล, และวรางคณา ชิตช่วงชัย. (2560). โครงการพัฒนาต้นแบบสมุนไพรทาง ทันตกรรม: ยาสีฟันพริกพรานและน้ำยาบ้วนปากพริกพรานสู่การต่อยอดเชิงพาณิชย์. http://www.thai-explore.net/search_detail/result/5380

วันดี กฤษณพันธ์. (2544). พฤษเคมีเบื้องต้น. ใน นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (บ.ก.), เกษตรอินทรีย์และผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1 (หน้า 129-162). แสงเทียนการพิมพ์.

วันวิสาข์ คุณะวัฒนกุล, วนิดา ไทรชมภู, ศัทธิตา เมฆจรสกุล, อมรรัตน์ เจริญมิตร, ชิตชนก เหล็กดี และณัฐภาภานต์ ศรีจันทร์. (2560) ฤทธิ์ต้านเชื้อ (*Propionibacterium acnes*) จากสมุนไพรไทย. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/JSMU/10988809.pdf>

วุฒิวุฒิ ธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร: รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอเดียนสโตร์.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2565). ภาพลักษณะของสิวและกลไกการเกิดสิว. <https://nih.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=1911>

สิริภา ธวัชคำ. (2562). การเตรียมสารสกัดจากมะเขว่นเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

สิริลักษณ์ มลานิยม. (2545). น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืชสมุนไพร. สมอ สาร, 28(325), 3-6.

- สุวดี โพธิ์วิจิตร, ปิยานี รัตนขำทอง, อุดมลักษณ์ มาตย์สถิตย์ และวีระศักดิ์ อัครวงศ์อารยะ. (2562).ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากสมุนไพรพื้นบ้านสะค้านและมะแขว่นในเขตท้องถิ่นภาคเหนือ. *มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 18, 2651-2289.
- Amin, I., Norazaidah, Y., & Hainida, K. I. E. (2006). Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species. *Food Chemistry*, 94, 47-52.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5-16.
- Apriani, E. F., Miksusanti, M., & Fransiska, N. (2022). Formulation and optimization peel-off gel mask with polyvinyl alcohol and gelatin based using factorial design from banana peel flour (*Musa paradisiaca* L) as antioxidant. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 33(2), 261-268.
- Bakht, J., Shaheen, S., & Shafi, M. (2014). Antimicrobial potentials of *Mentha longifolia* by disc diffusion method. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(4).
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Basri, D. F., & Fan, S. H. (2005). The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian Journal of Pharmacology*, 37(1), 26-29.
- Beringhs, A. O., Rosa, J. M., Stulzer, H. K., Budal, R. M., & Sonaglio, D. (2013). Green clay and aloe vera peel-off facial masks response surface methodology applied to the formulation design. *AAPS PharmSciTech*, 14(1), 445-445.

- Bohlmann, F., Jakupovic, J., Grenz, M., & Robinson, H. (1983). Naturally occurring terpene derivatives. *Phytochemistry*, 22(7), 1655-1690.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)80182-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)80182-2)
- Bubpawan, P., Boonphong, S., Sriwattanawarunyoo, C., & Udeye, V. (2015). Characterization of the essential oil and fatty oil from makhwaen fruit (*Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) DC). *International Journal of Science*, 12(1), 1-10.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Jäger, W., Dietrich, H., & Plank, C. (1993). Aromatherapy: Evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. *Z. Naturforsch*, 48(11-12), 875-879. <https://doi.org/10.1515/znc-1993-11-1213>
- Buchholz, T., Ross, J., Melsen, D., & Cella, R. (2019). Soxhlet extraction versus alternative techniques for the extraction of fatty acids from food and feed. *Journal of Food Composition and Analysis*, 83, 103296
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chen, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 3, 178-182.
- Chang, S. T., Chen, P. F., & Chang, S. C. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 123-127. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00273-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00273-2)

- Charles, D. J., & Simon, J. E. (1990). Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil (*Ocimum spp.*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(3), 458-462. <https://doi.org/10.21273/JASHS.115.3.458>
- Chaudhary, A., & Nema, R. K. (2013). Development and evaluation of stability of herbal gel formulation. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 2(2), 1-4.
- Chemat, F., Tomao, V., & Viot, M. (2006). Essential oils and aroma compounds extraction by hydrodistillation. In F. Chemat (Ed.), *Essential oils and aroma compounds extraction by hydrodistillation* (pp. 1-10). Har Krishan Bhalla & Sons.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- do Amaral, J. F., Silva, M. I. G., de Aquino Neto, M. R. A., Neto, P. F. T., Moura, B. A., de Melo, C. T. V., . . . de Sousa, F. C. F. (2007). Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(7), 1217-1220.
- Eloff, J. N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(1), 1-8.
- Fichi, G., Flamini, G., Giovanelli, F., Otranto, D., & Perrucci, S. (2007). Efficacy of an essential oil of *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*. *Veterinary Parasitology*, 145(3-4), 319-325.
- Ganesan, P., & Choi, D. K. (2016). Current application of phytocompound-based nanocosmeceuticals for beauty and skin therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 1987-2007.

- Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J. Z., Xie, X. Q., . . . Zimmer, A. (2008). Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(26), 9099-9104.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0803601105>
- Guenther, E. (1972). *The essential oils* (Vol. 1). Krieger Publishing Company.
- Handayani, R., & Qamariah, N. (2022). Peel-off mask formulation from stem of sempeng (*nepenthes gracilis*) as anti acne against *Propionibacterium acnes* bacteria. *Pharmacognosy Journal*, 14(3), 565–570.
<https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.72>
- Hariyadi, D. M., Isnaeni, I., Sudarma, S., Suciati, S., & Rosita, N. (2020). Peel-off emulgel mask of *Cocos nucifera* L. Extract using gelling agent carbomer 940 as antiacne against *Propionibacterium acnes* ATCC 11827. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 11(4), 220-225.
- Imphat, C., Thongdeeying, P., Itharat, A., Panthong, S., Makchuchit, S., Ooraikul, B., . . . Davies, N. M. (2021). Anti-inflammatory investigations of extracts of *Zanthoxylum rhetsa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article ID 5512961. <https://doi.org/10.1155/2021/5512961>
- Infante, V. H. P., Maia Campos, P. M. B. G., Gaspar, L. R., Darvin, M. E., Schleusener, J., Rangel, K. C., . . . Lademann, J. (2022). Safety and efficacy of combined essential oils for the skin barrier properties: In vitro, ex vivo and clinical studies. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(1), 118–130.
- Itthipanichpong, C., Ruangrunsi, N., & Pattanaautsahakit, C. (2002). Chemical compositions and pharmacological effects of essential oil from the fruit of *Zanthoxylum limonella*. *Journal of the Medical Association of Thailand Chotmaiher Thangphaet*, 85, 344-354.

- Jaslina, N. F., Faujan, N. H., Mohamad, R., & Ashari, S. E. (2022). In vitro kinetic release study, in vivo hydration and moisturizing effect of peel-off oil-in-water (O/W) Nanoemulsion containing kojic monooleate for topical application. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 12(1), 75–81. <https://doi.org/10.5530/ijpi.2022.1.14>
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Shafi, M. P., & Kaniampady, M. M. (2005). Chemotaxonomical analysis of the essential oil aroma compounds of four different *Zanthoxylum* species from Southern India by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. *Journal of Essential Oil Research*, 17(2), 174-180.
- Köhler, K., Haubner, R., & Bückmann, G. (2002). *Geraniol inhibits tumour growth of PC-3 cells in vitro*. *Planta Medica*.
- Koo J. (1995). The psychosocial impact of acne: Patients' perceptions. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 32(5 Pt 3), S26–S30. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(95\)90417-4](https://doi.org/10.1016/0190-9622(95)90417-4)
- Kulkarni, S. V., Gupta, D. A. K., & Bhawsar, S. (2019). Formulation and evaluation of activated charcoal peel off mask. *International Journal of Pharmacy Research & Technology (IJPR)*, 9(2), 44-48.
- Lambert, R. J., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>
- Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., . . . Lai, K. S. (2019). Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. *Molecules*, 24(14), 2631. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>

- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(8), 619-633.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1936>
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
- Miyake, Y., Minato, K., Fukumoto, S., Yamamoto, K., Oishi, M., & Sakaida, K. (1993). Antioxidative catechol lignans converted from sesamin and sesamol by culturing with *Aspergillus* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(7), 1076-1079. <https://doi.org/10.1021/jf00031a023>
- Nast, A., Dréno, B., Bettoli, V., Bukvic Mokos, Z., Degitz, K., Dressler, C., . . . Gollnick, H. (2016). European evidence-based (S3) guideline for the treatment of acne – update 2016 – short version. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 30(8). <https://doi.org/10.1111/jdv.13776>
- Navarro-Perezl, Y. M., Cedeno-Linares, E., Norman-Montenegro, O., Ruz-Sanjuan, S., Mondeja- Rivera, Y., Hernandez-Monzon, A. M., . . . Gonzalez-Bedia, M. (2021). Prediction of the physical stability and quality of O/W cosmetic emulsions using full factorial design. *Pharmacy & Pharmacognosy*, 9(1), 98-112
- Netweera, V., Pripem, A., & Limsittichaikoon, S. (2016). In vitro and in vivo studies of a bioadhesive gel containing volatile oil extracted from fruits of *Zanthoxylum limonella* Alston. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6(1).

- Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., & Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721-726.
<https://doi.org/10.1078/094471102321621322>
- Potduang, B., Ketmanee, N., & Banchonglikitkul, C. (2013). Cytotoxic evaluation of a fruit extract from *zanthoxylum limonella* in human dermal fibroblast cell line using mtt assay. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38, 103-105.
- Rahmawanty, D., Yulianti, N., & Fitriana, M. (2015). Formulation and evaluation the peel-off face mask contains quercetin with variations concentrations of gelatin and glycerin. *Med Farm*, 12(1), 17-32.
- Rao, J. (2017). *Acne vulgaris guidelines*. Medscape.
- Rattanaumpawan, P., Sutha, P., & Thamlikitkul, V. (2010). Effectiveness of drug use evaluation and antibiotic authorization on patients' clinical outcomes, antibiotic consumption, and antibiotic expenditures. *American Journal of Infection Control*, 38(1), 38-43.
- Ross, J. I., Snelling, A. M., Carnegie, E., Coates, P., Cunliffe, W. J., Bettoli, V., . . . Cove, J. H. (2003). Antibiotic-resistant acne: Lessons from Europe. *British Journal of Dermatology*, 148(3), 467-478.
- Rubinow, D. R., Peck, G. L., Squillace, K. M., & Gant, G. G. (1987). Reduced anxiety and depression in cystic acne patients after successful treatment with oral isotretinoin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 17(1), 25-32.
- Russo, R., Cassiano, M. G. V., Ciociaro, A., Adornetto, A., Varano, G. P., Chiappini, C., . . . Corasaniti, M. T. (2014). Role of D-Limonene in autophagy induced by bergamot essential oil in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *PloS one*, 9(11), e113682.

Sharma, G., & Bala, R. (Eds.). (2017). *Digital color imaging handbook*. CRC Press.

Shutterstock. (2019). *Zanthoxylum limonella* alston.

<https://www.shutterstock.com/th/search/zanthoxylum+limonella>

Shutterstock. (2023). *Zanthoxylum limonella* alston.

https://www.shutterstock.com/th/search/zanthoxylum-limonella?c3apidt=p36984257401&gclid=CjwKCAjwzvX7BRAeEiwAsXExo1qozVz57VTBXklmTJXlbDkAw3lBcbcxoFXSG6UwQ6PZSFnnHlWv7RoCLhkQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds&kw=shutterstock

Shutterstock. (2024). peel-off-mask. <https://www.shutterstock.com/search/peel-off-mask>

Sibbald, D. (2017). Acne Vulgaris. In J. T. DiPiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells & L. Posey (Eds.), *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach* (p. 10). McGraw-Hill.

Singh, H. P., Batish, D. R., Setia, N., & Kohli, R. K. (2005). Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. *Annals of Applied Biology*, 146(1), 89-94.

Sinko, P. J. (2006). *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences* (5th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Smith, J., Doe, A., & Johnson, R. (2020). Factors influencing flavonoid extraction: A review. *Journal of Plant Chemistry*, 45(3), 123-135.

Song, H. S., Bhatia, S. K., Gurav, R., Choi, T. R., Kim, H. J., Park, Y. L., . . . Yang, Y. H. (2020). *Naringenin as an antibacterial reagent controlling of biofilm formation and fatty acid metabolism in MRSA*. bioRxiv, <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.08.983049v1.full>

- Sun, Y., Liao, M., Zou, W., Wang, J., & Li, C. (2017). Genetic diversity and population structure of *Rheum tanguticum*, a traditional Chinese medicinal herb. *Journal of Plant Research*, 130(5), 805-813.
- Surh, Y. J. (2002). Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: A short review. *Food and Chemical Toxicology*, 40(8), 1091-1097.
- Tobiasz, A., Nowicka, D., & Szepietowski, J. C. (2022). Acne vulgaris—Novel treatment options and factors affecting therapy adherence: A narrative review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(24), 7535.
- Velasco, M. V. R., Vieira, R. P., Fernandes, A. R., Dario, M. F., Pinto, C. A. S. O., Pedriali, C. A., . . . Baby, A. R. (2014). Short-term clinical of peel-off facial mask moisturizers. *International Journal of Cosmetic Science*, 36(4), 355–360. <https://doi.org/10.1111/ics.12133>
- Vieira, R., Fernandes, A., Kaneko, T., Consiglieri, V., Pereira, C., Baby, A. & Velasco M. (2009). Physical and physicochemical stability evaluation of cosmetic formulations containing soybean extract fermented by *Bifidobacterium Animalis*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 515-525. <https://doi.org/10.1590/S198482502009000300018>
- Wasternack, C., & Hause, B. (2013). Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *An update to the 2007 review in Annals of Botany*, 111(6), 1021-1058.
- Wijaya, C. H., Napitupulu, F. I., Karnady, V., & Indarini, S. (2019). A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice “andaliman” (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Food Reviews International*, 35(1), 1-19.

- Wipoosanapan, P. (2018). *Antioxidant and antimutagenic activity of extracts from pericarp and seed of zanthoxylum limonella alston*. Chulalongkorn University Theses and Dissertations (Chula ETD).
https://digital.car.chula.ac.th/chulaetd/2383_
- Xainhiang, S., Leksawasdi, N., & Wirjantoro, T. I. (2018). Antimicrobial activities of some herb and spices extracted by Hydrodistillation and supercritical fluid extraction on the growth of *Escherichia coli*, *salmonella typhimurium* and *staphylococcus aureus* in microbiological media. *Food and Applied Bioscience*, 6, 218-239.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- Yang, M., Li, J., Zhao, C., Xiao, H., Fang, X., & Zheng, J. (2021). LC-Q-TOF-MS/MS detection of food flavonoids: Principle, methodology, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-21.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1993128>
- Zaenglein, A. L., Pathy, A. L., Schlosser, B. J., Alikhan, A., Baldwin, H. E., Berson, D. S., . . . Bhushan, R. (2016). Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(5), 945-973.
- Zaidan, M. R., Noor Rain, A., Badrul, A. R., Adlin, A., Norazah, A., & Zakiah, I. (2005). In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. *Trop Biomed*, 22(2), 165-170.
- Zhang, L., Gupta, N., & Kazemi, S. (2009). Evaluation of capsaicin and its effects on inflammatory responses and antioxidant properties. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1226-1233.

Zhu, X., Mao, Y., Guo, M., Yu, H., Hao, L., Hua, Q., . . . An, F. (2020). Enhancement of anti-acne effect of *Scutellaria baicalensis* extract by fermentation with symbiotic fungus *Penicillium decumbens*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 130(5), 457-463





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพประกอบการเตรียมสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย



ภาพที่ ก1 การระเหยตัวทำละลายสารสกัดมะแขว่นด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน



ภาพที่ ก2 สารสกัดหลังจากระเหยแห้ง

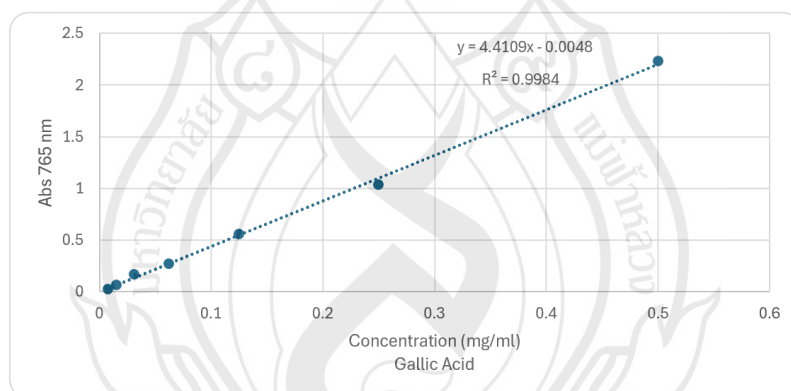


ภาพที่ ก3 การกลั่นด้วยน้ำ

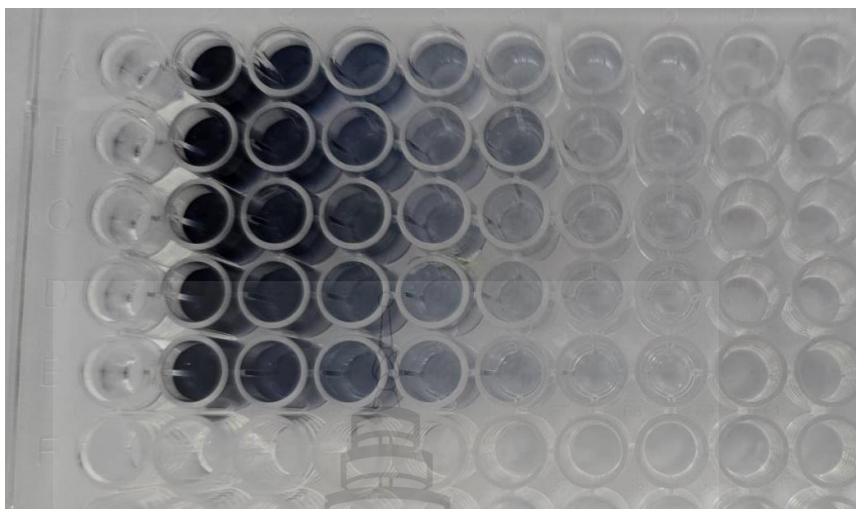
ภาคผนวก ข

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบ
ฟลาโวนอยด์รวม

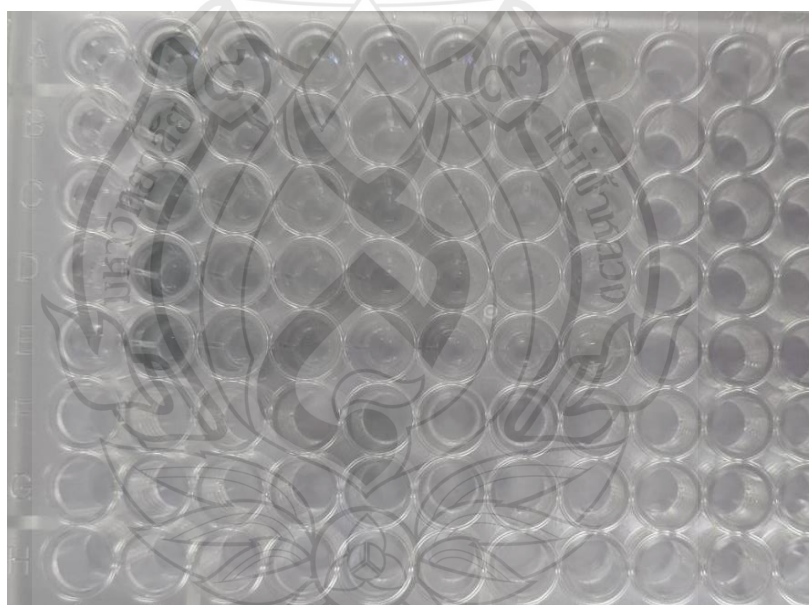
Concentration	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	Average	SD
0.5	2.187	2.383	2.213	2.152	2.205	2.228	2.228	0.080
0.25	1.042	1.057	1.025	0.982	1.067	1.0346	1.035	0.030
0.125	0.565	0.567	0.528	0.551	0.575	0.5572	0.557	0.017
0.0625	0.264	0.271	0.243	0.302	0.266	0.2692	0.269	0.019
0.03125	0.134	0.31	0.131	0.113	0.131	0.1638	0.164	0.073
0.015625	0.055	0.098	0.056	0.065	0.054	0.0656	0.066	0.017
0.0078125	0.026	0.021	0.022	0.031	0.023	0.0246	0.025	0.004



ภาพที่ ข1 ทำกราฟมาตรฐานกรด Gallic Acid

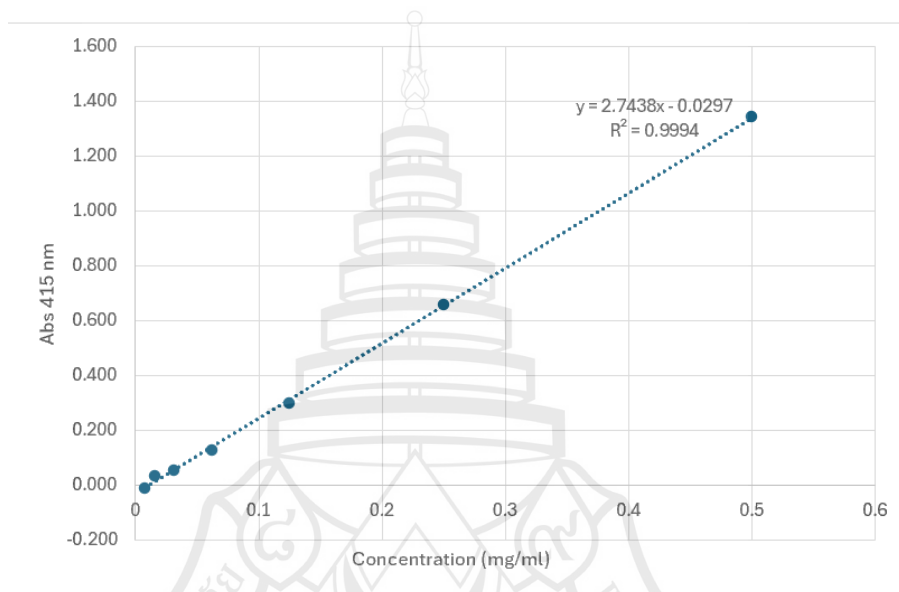


ภาพที่ ข2 เตรียมทดสอบสารมาตรฐาน gallic acid ใน 96 well-plate และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที 5 ซ้ำก่อนนำไปวัดด้วย เครื่อง microplate reader

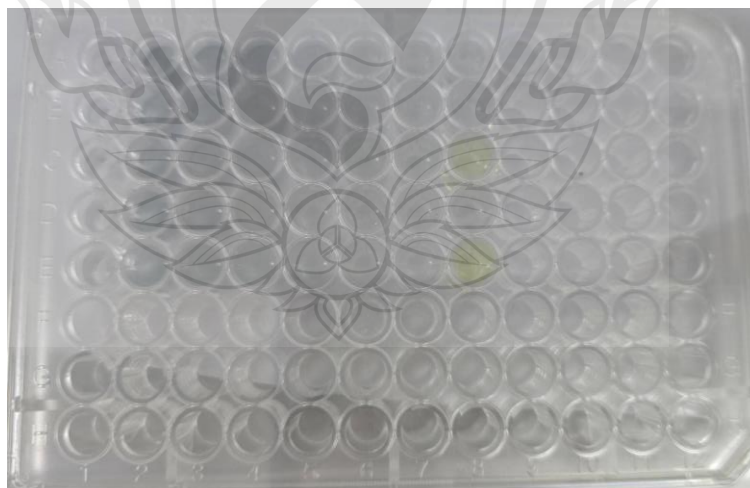


ภาพที่ ข3 เตรียมทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผนังผลมะเขว่น ใน 96 well-plate และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที 5 ซ้ำก่อนนำไปวัดด้วย เครื่อง microplate reader

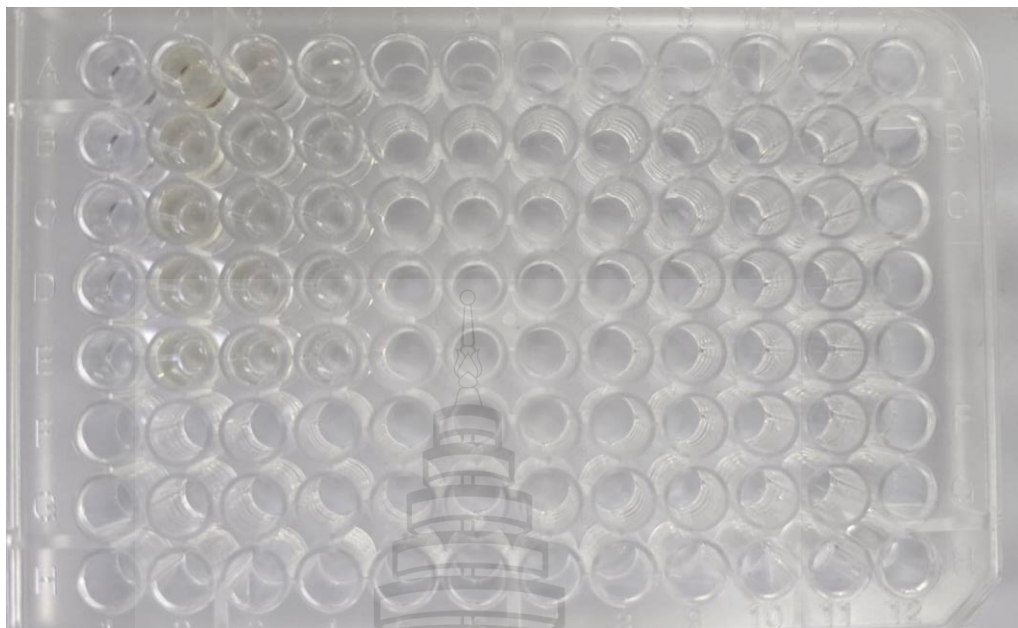
Concentration	Abs1	Abs2	Abs3	Abs4	Abs5	Average	SD
0.5	1.346	1.342	1.266	1.412	1.357	1.345	0.05
0.25	0.606	0.699	0.697	0.664	0.636	0.660	0.04
0.125	0.306	0.251	0.343	0.298	0.298	0.299	0.03
0.0625	0.141	0.102	0.159	0.118	0.126	0.129	0.02
0.03125	0.079	0.031	0.058	0.053	0.054	0.055	0.02
0.015625	0.019	0.108	0.017	0.015	0.019	0.036	0.04
0.0078125	-0.003	-0.008	-0.023	-0.006	-0.008	-0.010	0.01



ภาพที่ ข4 ทำกราฟมาตรฐานสาร Quercetin



ภาพที่ ข5 เตรียมทดสอบสารมาตรฐาน quercetin ใน 96 well-plate และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที 5 ซ้ำก่อนนำไปวัดด้วย เครื่อง microplate reader



ภาพที่ ข6 เตรียมทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดผนังผลมะเขว่น ใน 96 well-plate และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที 5 ซ้ำก่อนนำไปวัดด้วย เครื่อง microplate reader

ภาคผนวก ค

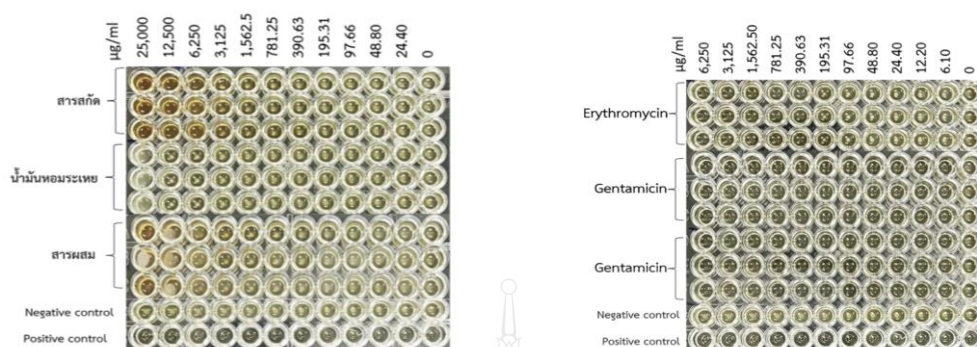
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acnes* (C. acnes)

ตารางที่ ค1 ผลจากการทำการทดสอบหาโซนยับยั้งเชื้อ cutibacterium acnes 3 ซ้ำด้วยวิธี disc diffusion

Trial	ตัวอย่างสาร				
	ZL Extract	ZL Oil	Gentamicin	Clindamycin	Erythromycin
	500 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร	500 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร	25 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร	25 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร	25 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร
	15 ไมโครกรัม	15 ไมโครกรัม	15 ไมโครกรัม	15 ไมโครกรัม	15 ไมโครกรัม
Trail 1	9	7	32	55	20
Trail 2	9	7	32	55	19
Trail 3	8	7	32	56	20
Average	8.67	7.00	32.00	55.33	19.67
SD	0.58	0.00	0.00	0.58	0.58

ตารางที่ ค2 ผลจากการทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ C. acnes

Trial	Minimal Inhibitory Concentration (MIC) (µg/mL)					
	ZL Extract	ZL Oil	ZL Mixed	Gentamicin	Clindamycin	Erythromycin
Trail 1	12,500	25,000	25,000	6.10	6.10	781.25
Trail 2	12,500	25,000	25,000	6.10	6.10	781.25
Trail 3	12,500	25,000	25,000	6.10	6.10	781.25
Average	12,500	25,000	25,000	6.10	6.10	781.25
SD	0	0	0	0	0	0



ภาพที่ ค1 ผลจากการทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. acnes*

ตารางที่ ค3 ผลจากการทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ *C. acnes*

Trial	Minimal Inhibitory Concentration (MIC) (µg/mL)					
	ZL Extract	ZL Oil	ZL Mixed	Gentamicin	Clindamycin	Erythromycin
Trail 1	12,500	25,000	25,000	6.1	6.1	781.25
Trail 2	12,500	25,000	25,000	6.1	6.1	781.25
Trail 3	12,500	25,000	25,000	6.1	6.1	781.25
Average	12,500	25,000	25,000	6.1	6.1	781.25
SD	0	0	0	0	0	0

ภาคผนวก ง

ภาพประกอบทำการวิจัย วิเคราะห์สารประกอบน้ำมันหอมระเหย
ด้วยเครื่อง GC/MS

คำขอบริการที่ ศนส. 171/67 รหัส 07-03-67

รายงานผลการทดสอบและวิเคราะห์
ให้แก่
นางสาวอัมรินทร์ วงศ์วิงไพศาล

การทดสอบ/วิเคราะห์ : ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและ LRI ของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น
วิธีทดสอบ/วิเคราะห์ : แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS)
สถานะการทดสอบ :
Instrument : Agilent Technologies รุ่น 7890 B, Triple Quadrupole mass selective detector รุ่น 7000 D
Capillary column : HP-5MS (30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μ m)
Column temperature : 50 $^{\circ}$ C - 230 $^{\circ}$ C , 4 $^{\circ}$ C/min
Injector : pulse split 50 : 1, 250 $^{\circ}$ C
Detector : MSD, EI 70 eV, Scan mode, 40-400 amu
Carrier gas : Helium 11.01 psi, flow 1.2 ml/min, Average velocity 40 cm/sec
Library : wiley 11th, NIST 2014+2017
ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ : จากการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและ LRI ของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น ได้ผลดังตารางที่ 1

ผู้ทดสอบ/วิเคราะห์ : สันติ ทัดขันธ์เมือง (นางสาวสิรินดา ทัดขันธ์เมือง) ผู้ช่วยนักวิจัย

ผู้ทดสอบ/วิเคราะห์ : [Signature] (นางสาวอุบล ฤกษ์อำ) นักวิจัยอาวุโส

ผู้รับรอง : [Signature] (นางกัญติมา ภักดีวงษ์) วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร
วันที่ 11 เมษายน 2567

ผลการวิเคราะห์/ทดสอบมีรับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการวิเคราะห์/ทดสอบเท่านั้น
ห้ามนำผลการวิเคราะห์/ทดสอบไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

หน้า 1 จาก 2 หน้า

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

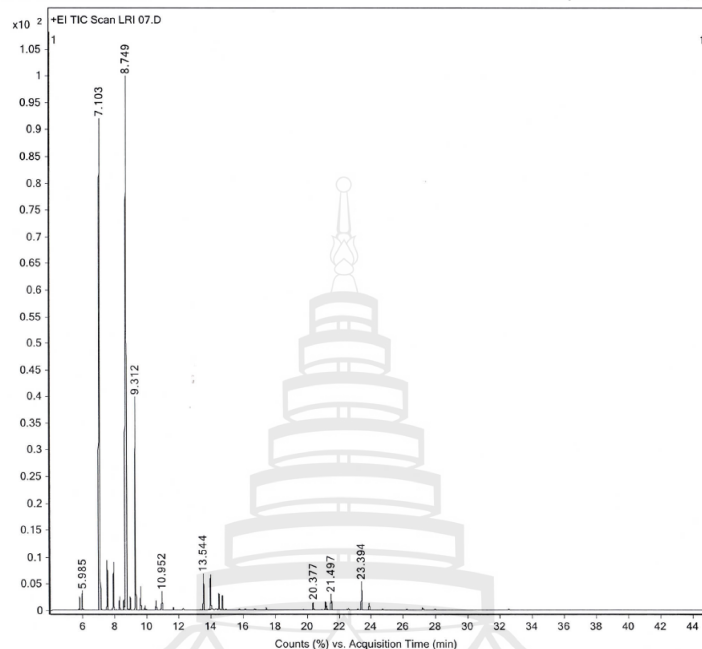
ภาพที่ ง1 ส่วนหนึ่งของรายงานผลทดสอบปริมาณสารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยผนังผล
มะแขว่น ด้วย GC/MS

Peaks: + TIC Scan (LRI 07.D)

Peak	RT	Area	Area	Area Sum	Height
1	5.81	87715449.51	1.3	0.53	32899968.94
2	5.985	134561190.5	2	0.82	47915500.09
3	7.103	5327002519.7	79.09	32.39	1203372466.7
4	7.545	301987800.56	4.48	1.84	121361142.58
5	7.937	314460832.33	4.67	1.91	117444379.49
6	8.306	89059138.9	1.32	0.54	32624265.84
7	8.562	79622471.23	1.18	0.48	24552616.85
8	8.749	6735626980.9	100	40.96	1307048093.0
9	8.971	79888797.31	1.19	0.49	32102657.87
10	9.312	1550907272.0	23.03	9.43	521907747.02
11	9.631	153776481.63	2.28	0.94	58585279.81
12	9.895	27059534.98	0.4	0.16	10368831.13
13	10.57	62580252.52	0.93	0.38	22667129.45
14	10.95	141757791.59	2.1	0.86	45194653.88
15	11.67	22935820.88	0.34	0.14	6719324.58
16	13.54	268368271.49	3.98	1.63	88973294.51
17	13.99	257893142.3	3.83	1.57	86077676.07
18	14.50	127393959.74	1.89	0.77	41911584.42
19	14.72	100581641.1	1.49	0.61	35541817.32
20	20.37	54414831.17	0.81	0.33	19290501.85
21	21.14	67514933.91	1	0.41	21918049.52
22	21.21	33386827.22	0.5	0.2	10079056.28
23	21.49	132277626.59	1.96	0.8	39358190.77
24	23.39	233552507.55	3.47	1.42	69636512.19
25	23.86	61948241.55	0.92	0.38	17070116.26

ภาพที่ ง2 ส่วนหนึ่งของรายงานผลทดสอบปริมาณสารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยผนังผลมะเขว่น ด้วย GC/MS (LRI)

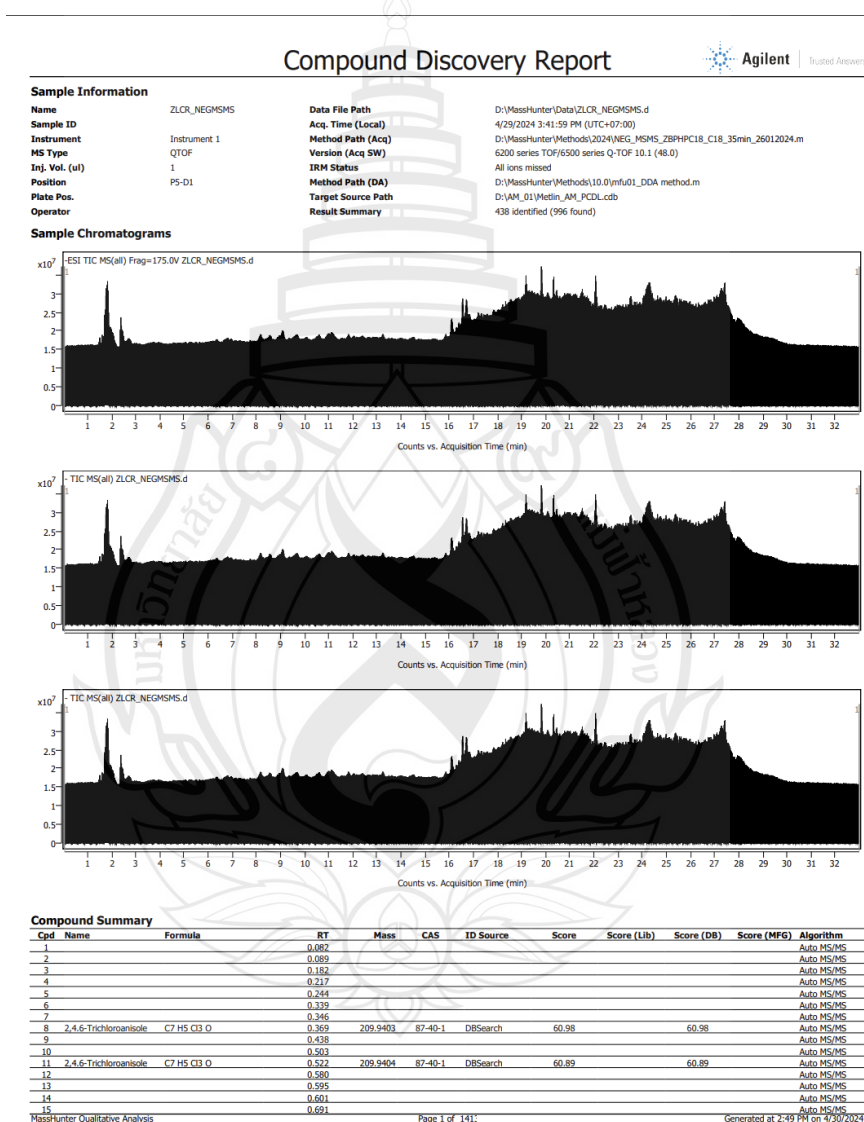
Sample Name	ZANTHOXYLUM LIMONELLA ALSTON	Position	1	Instrument Name	GM5QQQ
User Name	SIRINAT	Inj Vol	0	InjPosition	LRI 07.D
Sample Type		IRM Calibration Status	Not Applicable	Data Filename	
ACQ Method	LS-HP-MS-SERVICE-ESSENTIAL OIL.M	Comment		Acquired Time	3/27/2024 11:48:36 AM (UTC+07:00)



ภาพที่ ง3 ส่วนหนึ่งของรายงานผลทดสอบปริมาณสารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยพรางผลมะเขว่น ด้วย GC/MS

ภาคผนวก จ

ส่วนหนึ่งของผลการวิเคราะห์หาสารประกอบด้วยเครื่อง LC-MS/MS-QTOF



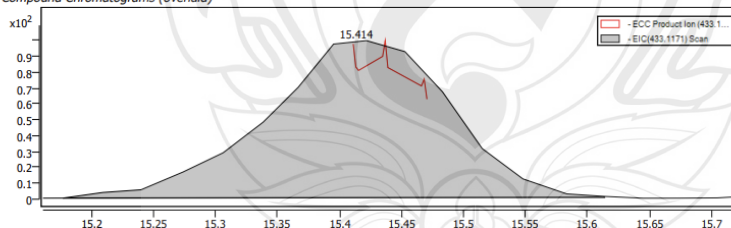
ภาพที่ จ1 compound discovery report

Compound Discovery Report

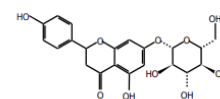


Compound ID Table										
Name	Formula	Species	ID Source	RT	RT Diff	Mass	CAS	Score	Score (DB)	Score (MFG)
Naringenin 7-O-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	529-55-5	98.37	98.37	
Helichrysin A	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	529-41-9	98.37	98.37	
3',5'-Dihydroxy-3,5,6,7,8,4'-hexamethoxyflavone	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Naringenin 4'-O-galactoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Isookaninrhamnoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5,7,2'-Trihydroxyflavanone 7-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Hemiphloin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Isohemiphloin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Floribundoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Naringenin 4'-O-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Eriodictol 5-O-rhamnoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Isonomospemside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Agehustin D	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Eriodictin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Isoarthaminidin 7-O-rhamnoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
2',4',6'-Tetrahydroxychalcone 4'-O-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
8-C-Glucosylnaringenin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Phlorizin chalcone	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	4547-85-7	98.37	98.37	
Isooreopsin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Palodulcin B	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5,7,8-Trihydroxyflavanone 7-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5,2'-Dihydroxy-3,6,7,8,4',5'-hexamethoxyflavone	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
4'-Hydroxyfennopropen glucuronide	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	35440-37-0	98.37	98.37	
(2S)-5,6,7-Trihydroxyflavanone 7-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Alpin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	61502-40-7	98.37	98.37	
Dihydrogenistin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
2',4',6'-beta-Tetrahydroxychalcone 4'-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Chalconarigenin 4'-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5,7-Dihydroxy-3,6,8,2',4',5'-hexamethoxyflavone	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5,7-Dihydroxy-3,6,8,2',4',5'-hexamethoxyflavone	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Isoalipurososide	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Monospermoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Coreospin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
Chalconarigenin 4'-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
2',4',6'-beta-Tetrahydroxychalcone 2'-glucoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
2-O-Caffeoylarbutin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	230955-36-9	98.37	98.37	
Digicitrin	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209		98.37	98.37	
5-Hydroxyvaloin A	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	138373-23-6	98.37	98.37	
7-Hydroxyvaloin B	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	82461-12-9	98.37	98.37	
(2R,3R)-3,3',4',7'-Tetrahydroxyflavanone 7-O-alpha-L-Rhamnopyranoside	C21 H22 O10	(M-H)-	DBSearch	15.441		434.1209	114728-43-7	98.37	98.37	
Emmaosunin	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
5-Hydroxy-3,7,8,2',4'-pentamethoxyflavone	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Quercetagenin 3,5,6,3',4'-pentamethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Artemetin	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154	479-90-3	98.31	98.31	
2,4,6-Phenanthrenetriol 2-O-b-D-glucoside	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Gossypetin 3,5,7,8,3'-pentamethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Gossypetin 3,5,8,3',4'-pentamethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Gossypetin 3,7,8,3',4'-pentamethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
Quercetagenin 5,6,7,3',4'-pentamethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	
8-C-Methylquercetagenin 3,6,7,4'-tetramethyl ether	C20 H20 O8	(M+HCOO)-	DBSearch	15.441		388.1154		98.31	98.31	

Compound Chromatograms (overlaid)



Structure

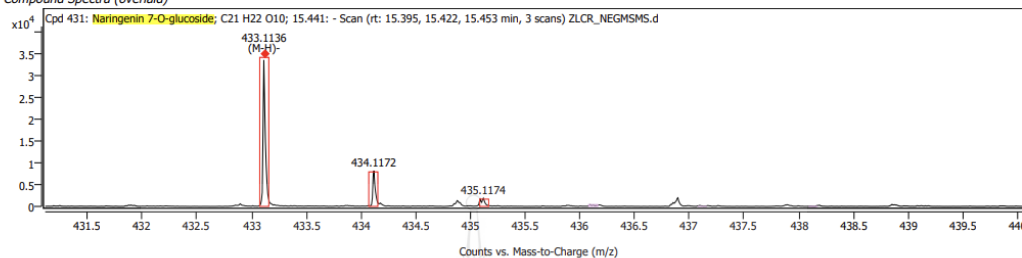


ภาพที่ จ2 compound discovery report table

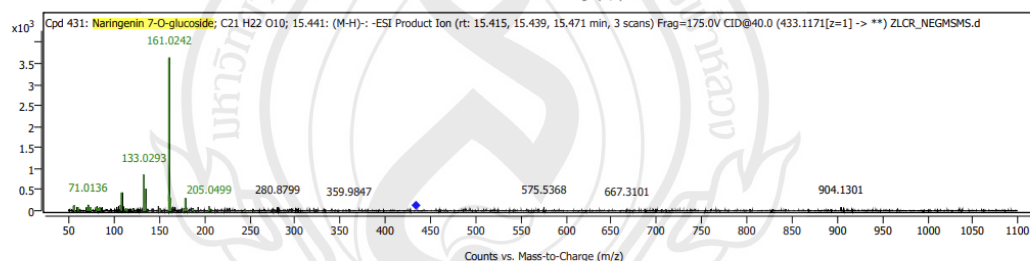
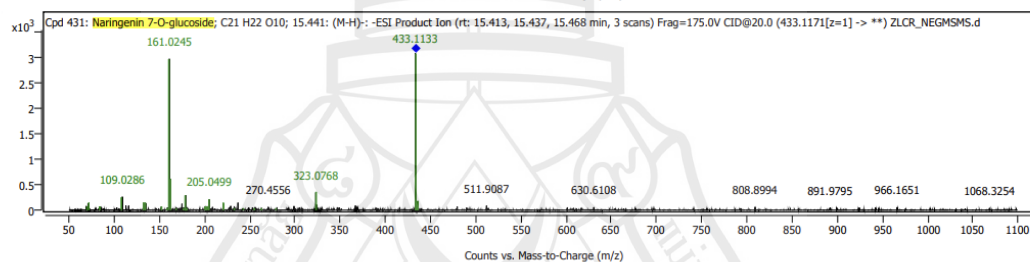
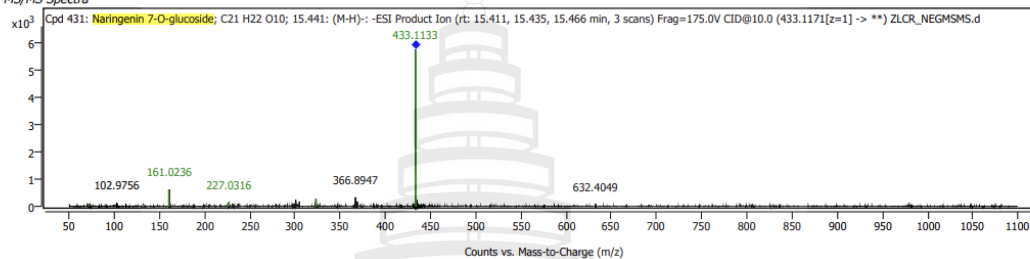
Compound Discovery Report



Compound Spectra (overlaid)



MS/MS Spectra



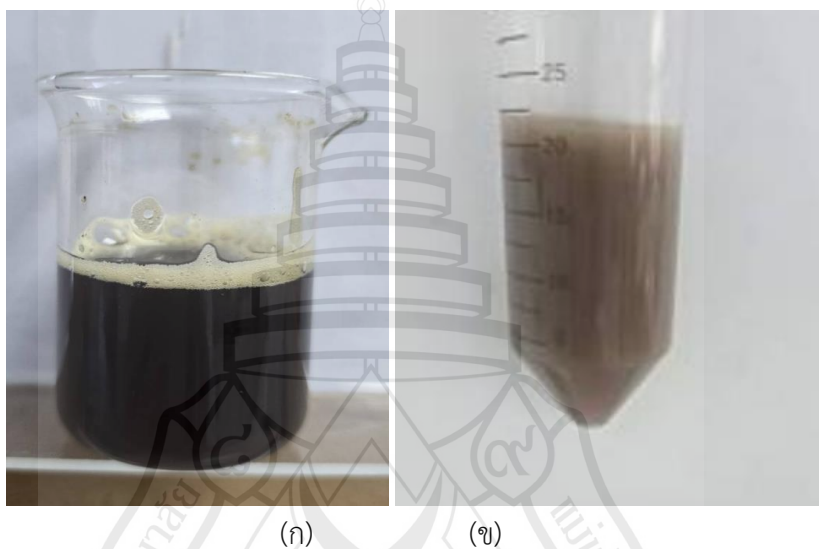
Cpd 432: 15.507

Name	Formula	RT	RI	Mass	CAS	ID Source	Score	Algorithm	Lib/DB
		15.507						Auto MS/MS	

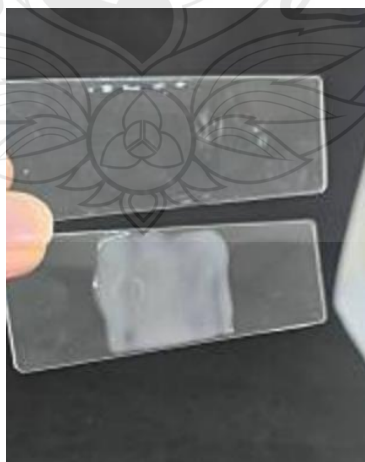
ภาพที่ จ3 compound chromatograms

ภาคผนวก ฉ

ภาพประกอบทำการวิจัยพัฒนาสูตร ANTI-ACNE PEEL-OFF GEL



ภาพที่ ฉ1 ลักษณะสารสกัดที่เตรียมสำหรับลงสูตร ตำรับ 1 และ 3 โดย (ก) สารสกัด ZL extract ผสม DI water (ข) สารสกัด ZL mixed ผสม DI water



ภาพที่ ฉ2 ส่วนหนึ่งของการทดสอบเนื้อเจลและก๊อแผ่นฟิล์มของตำรับ

ตารางที่ ๑1 ผลการทดสอบค่า pH ค่าความหนืด และค่าสีของตำรับสภาวะเจล

สูตร	สภาวะการทดสอบ	ค่า pH	ความหนืด (cP)	ค่าสี			
				L*	a*	b*	ΔE*
สูตรพื้นฐาน	Day 0	5.22 ± 0.01 ^a	5701 ± 76.37 ^b	60.68 ± 0.07 ^a	0.77 ± 0.01 ^c	-0.38 ± 0.04 ^c	N/A
	Heat-Cool Cycle 1	5.21 ± 0.01 ^a	5838 ± 29.03 ^a	59.17 ± 0.05 ^c	0.82 ± 0.01 ^c	0.09 ± 0.05 ^b	1.62 ± 0.10 ^c
	Heat-Cool Cycle 2	5.16 ± 0.01 ^c	5839 ± 9.10 ^a	60.58 ± 0.13 ^a	1.00 ± 0.00 ^{a,b}	-0.90 ± 0.02 ^d	0.67 ± 0.17 ^d
	Heat-Cool Cycle 3	5.12 ± 0.02 ^d	5856 ± 20.37 ^a	59.87 ± 0.10 ^b	1.07 ± 0.01 ^a	-0.43 ± 0.05 ^c	0.91 ± 0.16 ^d
	Heat-Cool Cycle 4	5.10 ± 0.01 ^d	5841 ± 17.75 ^a	60.04 ± 0.02 ^b	1.05 ± 0.01 ^a	-0.50 ± 0.02 ^c	0.71 ± 0.09 ^d
	Room Temp-Day30	5.17 ± 0.01 ^{b,c}	5861 ± 12.85 ^a	58.74 ± 0.03 ^d	1.01 ± 0.01 ^a	-0.39 ± 0.02 ^c	2.00 ± 0.14 ^b
	4°C-Day 30	5.19 ± 0.01 ^{a,b}	5839 ± 11.37 ^a	58.63 ± 0.06 ^d	0.89 ± 0.01 ^{b,c}	-0.30 ± 0.01 ^c	2.05 ± 0.12 ^b
	45°C-Day 30	5.01 ± 0.01 ^e	5827 ± 35.94 ^a	52.43 ± 0.47 ^e	0.55 ± 0.19 ^d	0.78 ± 0.29 ^a	*8.31 ± 0.45 ^a
สูตร 1	Day 0	5.23 ± 0.02 ^a	5855 ± 26.34 ^a	49.75 ± 0.18 ^e	0.59 ± 0.01 ^f	3.95 ± 0.08 ^f	N/A
	Heat-Cool Cycle 1	5.14 ± 0.01 ^e	5825 ± 21.98 ^b	57.00 ± 0.35 ^a	1.03 ± 0.14 ^d	6.09 ± 0.85 ^e	*7.45 ± 0.41 ^b
	Heat-Cool Cycle 2	5.16 ± 0.01 ^d	5862 ± 19.36 ^a	56.79 ± 0.12 ^a	1.69 ± 0.02 ^a	7.60 ± 0.08 ^c	*7.92 ± 0.11 ^a
	Heat-Cool Cycle 3	5.18 ± 0.01 ^c	5856 ± 13.37 ^a	56.55 ± 0.01 ^a	1.35 ± 0.05 ^b	6.92 ± 0.28 ^d	*7.37 ± 0.14 ^b
	Heat-Cool Cycle 4	5.18 ± 0.01 ^c	5839 ± 13.15 ^a	56.19 ± 0.04 ^b	1.23 ± 0.04 ^c	6.07 ± 0.21 ^e	*6.77 ± 0.07 ^c
	Room Temp-Day30	5.21 ± 0.00 ^b	5846 ± 21.28 ^a	53.91 ± 0.27 ^c	0.77 ± 0.06 ^e	9.10 ± 0.24 ^a	*6.50 ± 0.21 ^c
	4°C-Day 30	5.21 ± 0.01 ^b	5856 ± 9.04 ^a	53.62 ± 0.46 ^c	1.04 ± 0.08 ^d	8.26 ± 0.17 ^b	5.82 ± 0.25 ^d
	45°C-Day 30	4.99 ± 0.01 ^f	5843 ± 42.36 ^a	50.9 ± 0.33 ^d	0.44 ± 0.02 ^g	0.63 ± 0.09 ^g	3.94 ± 0.08 ^e
สูตร 2	Day 0	5.12 ± 0.02 ^a	4372 ± 38.93 ^f	47.59 ± 0.07 ^{b,c}	0.38 ± 0.03 ^d	-0.29 ± 0.09 ^c	N/A
	Heat-Cool Cycle 1	5.11 ± 0.01 ^a	4476 ± 49.67 ^e	46.77 ± 0.21 ^d	0.48 ± 0.08 ^c	0.12 ± 0.19 ^b	1.07 ± 0.21 ^b
	Heat-Cool Cycle 2	5.04 ± 0.02 ^d	4718 ± 38.54 ^d	47.28 ± 0.06 ^c	0.58 ± 0.04 ^b	-0.29 ± 0.08 ^c	0.33 ± 0.13 ^b
	Heat-Cool Cycle 3	5.06 ± 0.01 ^{c,d}	4738 ± 21.58 ^d	48.37 ± 0.02 ^a	0.66 ± 0.01 ^a	-0.36 ± 0.02 ^c	0.85 ± 0.09 ^b
	Heat-Cool Cycle 4	5.07 ± 0.01 ^{b,c}	4745 ± 45.01 ^d	48.27 ± 0.03 ^a	0.66 ± 0.01 ^a	-0.34 ± 0.01 ^c	0.72 ± 0.04 ^b
	Room Temp-Day30	5.09 ± 0.01 ^b	5850 ± 20.21 ^a	47.64 ± 0.09 ^b	0.67 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^b	0.47 ± 0.06 ^b
	4°C-Day 30	5.04 ± 0.01 ^d	5055 ± 47.28 ^c	46.92 ± 0.46 ^d	0.61 ± 0.04 ^{a,b}	0.18 ± 0.08 ^{a,b}	0.89 ± 0.42 ^b
	45°C-Day 30	4.92 ± 0.01 ^e	5786 ± 16.75 ^b	43.90 ± 0.14 ^e	0.39 ± 0.02 ^d	0.32 ± 0.07 ^a	*7.15 ± 3.00 ^a
สูตร 3	Day 0	5.19 ± 0.03 ^a	5834 ± 8.60 ^{a,b,c}	50.07 ± 0.24 ^a	1.48 ± 0.03 ^a	6.63 ± 0.19 ^a	N/A
	Heat-Cool Cycle 1	5.11 ± 0.01 ^{c,d}	5812 ± 31.14 ^{b,c}	49.68 ± 0.07 ^a	1.40 ± 0.01 ^b	5.87 ± 0.07 ^b	0.91 ± 0.02 ^e
	Heat-Cool Cycle 2	5.09 ± 0.01 ^{d,e}	5846 ± 22.11 ^a	45.80 ± 0.12 ^d	1.13 ± 0.03 ^c	4.25 ± 0.04 ^d	4.98 ± 0.01 ^b
	Heat-Cool Cycle 3	5.10 ± 0.01 ^{c,d}	5842 ± 19.39 ^{a,b}	46.07 ± 0.02 ^d	0.93 ± 0.02 ^e	4.05 ± 0.02 ^d	4.81 ± 0.07 ^b
	Heat-Cool Cycle 4	5.14 ± 0.02 ^b	5849 ± 8.05 ^a	45.99 ± 0.01 ^d	0.94 ± 0.02 ^e	4.06 ± 0.02 ^d	4.87 ± 0.08 ^b
	Room Temp-Day30	5.12 ± 0.01 ^{b,c}	5037 ± 25.40 ^e	47.77 ± 0.02 ^b	1.04 ± 0.01 ^d	4.63 ± 0.00 ^c	3.11 ± 0.04 ^d
	4°C-Day 30	5.07 ± 0.00 ^e	5149 ± 23.54 ^d	46.63 ± 0.29 ^c	0.93 ± 0.02 ^e	4.02 ± 0.04 ^d	4.36 ± 0.13 ^c
	45°C-Day 30	4.90 ± 0.02 ^f	5806 ± 32.59 ^c	42.96 ± 0.69 ^e	0.46 ± 0.09 ^f	3.56 ± 0.29 ^e	*8.43 ± 0.46 ^a

หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนตัวเลขภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05

ตารางที่ ๑2 ผลการทดสอบค่าสีของตำรับสภาวะแผ่นฟิล์ม

สูตร	สภาวะการทดสอบ	ค่าสี			
		L*	a*	b*	ΔE*
สูตรพื้น	Day 0	90.91 ± 0.03 ^a	1.01 ± 0.01 ^a	-6.39 ± 0.01 ^a	N/A
	Cool 4 °C, Day 30	88.35 ± 0.39 ^c	0.45 ± 0.01 ^b	-6.96 ± 0.13 ^b	2.68 ± 0.32
	Heat 45°C, Day 30	90.44 ± 0.05 ^b	0.45 ± 0.00 ^b	-7.71 ± 0.02 ^c	1.51 ± 0.01
สูตร 1	Day 0	90.49 ± 0.00 ^a	0.79 ± 0.01 ^a	-4.17 ± 0.00 ^a	N/A
	Cool 4 °C, Day 30	89.66 ± 0.34 ^b	0.33 ± 0.01 ^c	-6.13 ± 0.16 ^b	2.20 ± 0.03
	Heat 45°C, Day 30	90.01 ± 0.34 ^{a,b}	0.38 ± 0.01 ^b	-6.71 ± 0.18 ^c	2.64 ± 0.12
สูตร 2	Day 0	90.91 ± 0.03 ^a	1.01 ± 0.01 ^a	-6.39 ± 0.01 ^a	N/A
	Cool 4 °C, Day 30	90.40 ± 0.05 ^b	0.45 ± 0.01 ^b	-7.70 ± 0.03 ^c	1.15 ± 0.06
	Heat 45°C, Day 30	90.36 ± 0.08 ^b	0.40 ± 0.01 ^c	-7.41 ± 0.04 ^b	1.30 ± 0.10
สูตร 3	Day 0	89.75 ± 0.01 ^b	0.51 ± 0.00 ^a	-2.44 ± 0.01 ^a	N/A
	Cool 4 °C, Day 30	89.59 ± 0.03 ^c	0.29 ± 0.02 ^b	-6.45 ± 0.02 ^b	4.04 ± 0.02
	Heat 45°C, Day 30	90.18 ± 0.06 ^a	0.24 ± 0.00 ^c	-6.47 ± 0.03 ^b	4.06 ± 0.03

หมายเหตุ โดยตัวอักษรบนตัวเลขภาษาอังกฤษเหมือนกัน หมายถึง ความไม่แตกต่างกันทางสถิติ และถ้าตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการทดสอบด้วยการใช้ ANOVA Test ได้ค่า p value < 0.05



ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ

ธันยรัส วงศ์วังไพศาล

ประวัติการศึกษา

2548

ปริญญาตรี บริหารธุรกิจบัณฑิต

Business Information System

มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ

2566

ใบอนุญาตประกอบวิชาชีพ

แพทย์แผนไทย เวชกรรมและ เภสัชกรรม

สภาแพทย์แผนไทย

ประวัติการทำงาน

2562-ปัจจุบัน

กรรมการผู้จัดการ

บริษัท มาตามจุเช็นเตอร์ จำกัด

2550-ปัจจุบัน

เจ้าของกิจการ

ร้านเจ้จู้ ค้าส่งเครื่องสำอาง

2549-ปัจจุบัน

กรรมการผู้จัดการฝ่ายการตลาด

บริษัท เบนนี่ คอสเมติก คอร์ปอเรชั่น จำกัด