



การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์  
ของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์  
ลดการอักเสบของผิวหนัง

Evaluation of Phytochemical Properties and Bioactive Potential of  
Hydrosol Water from Indian Marsh Fleabane  
for Skin Anti-Inflammation Product

วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ  
สิริรัตน์ พานิช  
อัญชญา ชัตติยะวงศ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม  
กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2564  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย เรื่อง การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย สู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลดการอักเสบของผิวหนัง ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2564 ภายใต้การดำเนินการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคคลและหน่วยงานต่าง ๆ ที่ให้การสนับสนุนในด้านต่าง ๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณบริษัทกียรติ จำกัด อ.เมืองสมุทรสงคราม จ.สมุทรสงคราม และบริษัทผลิตภัณฑ์ไบโพลูไทย จำกัด อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร สำหรับในการร่วมดำเนินการวิจัยและร่วมพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ สนับสนุนวัตถุดิบที่เกี่ยวข้องในการทดลอง วิจัย และการประเมินประสิทธิผล

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเชษฐ สุมุเสนีโต ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิผล ขอขอบคุณนักศึกษาวิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี สุพรรณบุรี อาสาสมัครในการประเมินประสิทธิผลของผลิตภัณฑ์ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ต่อไป ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์ในการทดลองและดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

คณะผู้วิจัย

**ชื่อเรื่อง :** การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลดการอักเสบของผิวหนัง

**ผู้วิจัย :** วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ สิริรัตน์ พานิช และ อัญชญา ชัตติยะวงศ์

**พ.ศ. :** 2564

## บทคัดย่อไทย

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและสมบัติการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหย (ไฮโดรโซล) จากใบขลุ่ย เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับลดการอักเสบผิวหนัง สารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเตรียมโดยกระบวนการกลั่นด้วยระบบไอน้ำด้วยเครื่องอะลิบิก การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกด้วยเทคนิค LC-MS โดยพบสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเพียงชนิดเดียวคือ ซินรามิก โดยมีปริมาณเท่ากับ 0.113 มิลลิกรัมต่อกรัม การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเก็บที่เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ สารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay เท่ากับ  $0.06 \pm 0.003$  มิลลิกรัมแอสคอร์บิก/กรัมสารสกัด ปริมาณแร่ธาตุทำการวิเคราะห์โดยเทคนิค ICP-OES ในช่วงเวลาการเก็บที่มีปริมาณมากที่สุดในช่วง 20 นาที ดังนี้ Ca  $0.272 \pm 0.01$  mg/L, Mg  $0.456 \pm 0.01$  mg/L, K  $0.067 \pm 0.00$  mg/L และ Na  $0.492 \pm 0.00$  mg/L แต่กรณีของ P จะตรวจพบในช่วงการเก็บตั้งแต่เวลา 60 นาที เท่ากับ  $0.111 \pm 0.00$  mg/L

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดขลุ่ยต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราสโนไซต์โดยวิธี WST-1 assay ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ และตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัญญาณวิทยาของเซลล์ แต่ที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 และ 50 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ลดลงร้อยละ 60 และเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ที่ระดับ 2 และ 3 มีความเป็นพิษปานกลางและสูง ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง และมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่าร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับร้อยละ 39.05 และที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 มีปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha เท่ากับ 170.81 พิโคกรัมต่อมิลลิกรัม มีอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 43.83

การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale มีผู้ทดสอบจำนวน 30 คน โดยคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้าใช้เกณฑ์การประเมินการยอมรับและความชอบโดยรวม พบว่าความชอบโดยรวม ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย คุณลักษณะสีฟองโฟมและกลิ่นโฟมสูตรที่พัฒนาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ ) คุณลักษณะด้านปริมาณฟองโฟมต่อหนึ่งปั๊ม ประสิทธิภาพการทำความสะอาด และ ความชุ่มชื้นหลังล้าง ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบปานกลาง โดยสูตรที่พัฒนามีระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

**คำสำคัญ :** น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหย, ไฮโดรโซล, ขลุ่ย, ลดการอักเสบ

**Title :** Evaluation of Phytochemical Properties and Bioactive Potential of Hydrosol Water from Indian Marsh Fleabane for Skin Anti-Inflammation Product

**Researchers :** Woravith Chansuvarn, Sirirat Panich, Anchana Kuttiyawong

**Year :** 2021

### Abstract

This study was aimed to evaluate the phytochemical properties and bioactive potential of hydrosol water from Indian Marsh Fleabane (or Khlu) for application in the skin anti-Inflammation product. Khlu's hydrosol was produced by the steam distillation method using alimbic equipment. Phenolic compounds investigated by using LC-MS were found to only contain Cinramic at 0.113 mg/g. Hydrosol water collected at different times was estimated the antioxidant activity, according to the DPPH assay. Total phenolic compounds were not significantly different. Total phenolic content tested by Folin-Ciocalteau's reagent method using gallic acid as standard was found at  $0.06 \pm 0.003$  mg GAE/g. The mineral elements analyzed by ICP-OES provided the highest concentrations in the range of 20 min for hydrosol collection. The content of Ca, Mg, K, and Na was  $0.272 \pm 0.01$  mg/L,  $0.456 \pm 0.01$  mg/L,  $0.067 \pm 0.00$  mg/L, and  $0.492 \pm 0.00$  mg/L, respectively. The content of P was  $0.111 \pm 0.00$  mg/L for the collection time of 60 min.

The cytotoxic effect of Khlu's extract on keratinocytes (HaCaT) was investigated by the WST-1 assay. Khlu's extract of 0.78 to 12.5% during a test time of 24 h did not show significant cytotoxicity and did not show any alteration in cell morphology, whereas its concentrations of 25% and 50% decreased the cell viability by about 60% and provided the cellular morphology change of level 2 (mildly toxic) and 3 (moderately toxic), respectively. 100% of Khlu's extract provided a cellular morphology change of level 4 (severely toxic) and cell viability was less than 50%. The inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) was 39.05%. Khlu's extract concentration of 6.25% provided the TNF-alpha by about 170.81 pg/mL. TNF-alpha inhibition was found to be 43.83%.

A sensory quality evaluation was performed by 30 samples and using a 9-point hedonic scale for the acceptance and preference tests of the facing foam. The preference test showed neither like nor dislike to like slightly. The attributes in terms of foam's color and foam's flavor provided significantly different at 95% between the control formula and developed formulas. The attributes in terms of foam volume per once pump, cleaning efficiency and moisturizing were not significantly different at 95% between the control formula and developed formulas.

Keyword: Hydrosol water, Indian Marsh Fleabane, skin anti-inflammation



# สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .....	ก
บทคัดย่อไทย .....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญภาพ .....	จ
สารบัญตาราง .....	ช
สัญลักษณ์ย่อ.....	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ .....</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัยและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 ชลู่.....	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไป.....	5
2.1.2 องค์ประกอบทางเคมี .....	6
2.1.3 สรรพคุณ.....	8
2.1.4 ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของชลู่.....	10
2.2 ไฮโดรโซล .....	14
2.3 การอักเสบของผิวหนัง .....	16
2.4 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	17
<b>บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย .....</b>	<b>21</b>
3.1 เครื่องมือ (apparatus).....	21
3.2 สารเคมี (reagents) และวัตถุดิบ (raw materials) .....	21
3.3 วิธีการทดลอง (methodology) .....	21
3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ .....	21
3.3.2 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่.....	22
3.3.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด .....	23

หน้า

3.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	24
3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักและแร่ธาตุ .....	24
3.3.6 การทดสอบทางชีววิทยาและเภสัชวิทยา .....	25
3.3.7 การพัฒนาสูตรโพลีแลงหน้า .....	27
3.3.8 การทดสอบทางประสาทสัมผัส .....	29
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย.....</b>	<b>32</b>
4.1 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย.....	32
4.2 ผลการวิเคราะห์สารฟีนอลิกและสารสำคัญในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย.....	33
4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ .....	36
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างโพลี .....	38
4.3 ปริมาณแร่ธาตุและโลหะหนัก .....	38
4.4 การทดสอบทางชีววิทยาและเภสัชวิทยา .....	41
4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัส .....	47
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....</b>	<b>52</b>
5.1 อภิปรายผลการวิจัย.....	52
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	53
บรรณานุกรม .....	ผิดพลาด! ไม่ได้กำหนดบุ๊กมาร์ก
ภาคผนวก.....	57
ประวัติย่อนักวิจัย.....	76

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียนและเศรษฐกิจสีเขียว.....	1
ภาพที่ 1.2 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย .....	3
ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นขลุ่ .....	4
ภาพที่ 2.2 ลักษณะใบและดอกขลุ่.....	6
ภาพที่ 2.3 ผลขลุ่.....	6
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างเคมีของสารประกอบในใบขลุ่.....	7
ภาพที่ 2.5 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะใช้วิธีการต้มน้ำ.....	14
ภาพที่ 2.6 เครื่องอะลิบิก .....	15
ภาพที่ 2.7 ส่วนประกอบเครื่องอะลิบิก .....	15
ภาพที่ 3.1 ใบขลุ่สดล้างด้วยน้ำประปา .....	22
ภาพที่ 3.2 ใบขลุ่ผึ่งให้แห้งในห้องอุณหภูมิ .....	22
ภาพที่ 3.3 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่จากใบขลุ่ .....	23
ภาพที่ 3.4 หลักการของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี WST-1 assay .....	26
ภาพที่ 3.5 อุปกรณ์การเตรียมโคม .....	28
ภาพที่ 3.6 โคมล้างหน้าจากสารสกัดขลุ่.....	28
ภาพที่ 3.7 ชุดทดสอบโคมล้างหน้า .....	29
ภาพที่ 3.8 ข้อมูลแนะนำเพื่อการทดสอบทางประสาทสัมผัส .....	29
ภาพที่ 3.9 หน้าแรกของโปรแกรมทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส .....	30
ภาพที่ 4.1 สารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่จากใบขลุ่เก็บที่ระยะเวลาต่างกัน (ก-ฉ) และน้ำที่เหลือจากการสกัด (ช).....	32
ภาพที่ 4.2 สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง .....	33
ภาพที่ 4.3 (ต่อ) สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง .....	34
ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกรมของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่.....	35
ภาพที่ 4.5 กราฟมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับสารละลาย FCR.....	36
ภาพที่ 4.6 สีของสารละลาย (ก) สารละลายมาตรฐาน gallic acid และ (ข) น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่.....	36
ภาพที่ 4.7 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ที่เวลาที่แตกต่างกัน .....	37
ภาพที่ 4.8 กราฟมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับ %DPPH scavenging ของสารละลาย DPPH.....	37
ภาพที่ 4.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในโคมล้างหน้า.....	38
ภาพที่ 4.10 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น.....	39

หน้า

ภาพที่ 4.11	กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (ต่อ) .....	40
ภาพที่ 4.12	ร้อยละการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของสารสกัดขลุ่.....	42
ภาพที่ 4.13	ร้อยละการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมิน และความเข้มข้นของ diclofenac diethylammonium .....	42
ภาพที่ 4.14	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้อง จุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ.....	44
ภาพที่ 4.15	(ต่อ) ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้อง จุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ (A) กลุ่มควบคุมลบ (B) กลุ่มควบคุมบวก (C) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัด ขลุ่ร้อยละ 0.78 (D) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 1.56 (E) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 3.125 (F) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 6.25 (G) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 12.5 (H) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 25.0 (I) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 50 และ (J) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ร้อยละ 100.....	45
ภาพที่ 4.16	ลักษณะสีของฟองโฟม.....	47
ภาพที่ 4.17	ลักษณะโฟมจากการทดสอบประสาทสัมผัส (ตัวอย่างผู้ทดสอบ 1).....	48
ภาพที่ 4.18	ลักษณะโฟมจากการทดสอบประสาทสัมผัส (ตัวอย่างผู้ทดสอบ 2).....	49

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1	คุณค่าทางโภชนาการของใบอ่อนขลุ้สดต่อน้ำหนัก 100 กรัม.....5
ตารางที่ 2.2	ปริมาณสารออกฤทธิ์ในใบขลุ้ 100 กรัม..... 7
ตารางที่ 2.3	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้..... 11
ตารางที่ 2.4	การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดน้ำของขลุ้..... 12
ตารางที่ 2.5	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดน้ำของขลุ้..... 12
ตารางที่ 3.1	การเตรียมสารละลายกรดแกลลิก..... 24
ตารางที่ 3.2	สภาวะการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES..... 25
ตารางที่ 3.3	สูตรโพลีแลงหน้า..... 28
ตารางที่ 4.1	ช่วงระยะเวลาเก็บและปริมาณน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้..... 32
ตารางที่ 4.2	สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง..... 33
ตารางที่ 4.3	ผลการวิเคราะห์สารฟีนอลิกและสารสำคัญในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้..... 34
ตารางที่ 4.4	ปริมาณแร่ธาตุในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้..... 40
ตารางที่ 4.5	ปริมาณธาตุโลหะหนักในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้..... 41
ตารางที่ 4.6	ฤทธิ์การยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินของตัวอย่างในหลอดทดลอง..... 41
ตารางที่ 4.7	ค่าความสัมพันธ์ของการรอดชีวิตของเซลล์..... 43
ตารางที่ 4.8	ลักษณะพื้นฐานวิทยาของเซลล์..... 44
ตารางที่ 4.9	อัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT).... 46
ตารางที่ 4.10	ค่าเฉลี่ยความชอบของผู้ประเมินผลิตภัณฑ์โพลีแลงหน้า (n=30)..... 50

## สัญลักษณ์ย่อ

ICP-OES	inductively coupled plasma optical emission spectroscopy
FCR	Folin-Ciocalteu reagent
LC/MS	Liquid chromatography–mass spectrometry
UV-vis	Ultra Violet-visible spectrophotometry
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate
IC <sub>50</sub>	inhibitory concentration

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันความท้าทายใหม่และการเปลี่ยนแปลงอย่างพลิกผันได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการดำรงชีวิตการทำงานและการประกอบธุรกิจในระดับต่าง ๆ เทคโนโลยีและนวัตกรรมใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้น อันเนื่องมาจากการพัฒนาความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์ การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อการตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค โมเดลบีซีจี (BCG model) เป็นการพัฒนาเศรษฐกิจแบบองค์รวมที่จะพัฒนาเศรษฐกิจ 3 ด้านไปพร้อมกัน ได้แก่ เศรษฐกิจชีวภาพ (bioeconomy) ที่มุ่งเน้นการใช้ทรัพยากรชีวภาพเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม โดยเน้นการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง เชื่อมโยงกับเศรษฐกิจหมุนเวียน (circular economy) ที่คำนึงถึงการนำวัสดุต่าง ๆ กลับมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด และเศรษฐกิจทั้งคู่อยู่ภายใต้เศรษฐกิจสีเขียว (green economy) ซึ่งเป็นการพัฒนาเศรษฐกิจที่ไม่ได้มุ่งเน้นเพียงการพัฒนาเศรษฐกิจเท่านั้น แต่ต้องพัฒนาควบคู่ไปกับการพัฒนาสังคมและการรักษาสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมดุลให้เกิดความมั่นคงและยั่งยืนไปพร้อมกัน โดยเปลี่ยนข้อได้เปรียบที่ไทยมีจากความหลากหลายทางชีวภาพและวัฒนธรรม ให้เป็นความสามารถในการแข่งขันด้วยนวัตกรรม เพื่อให้เกิดเศรษฐกิจ BCG ที่เติบโต แข่งขันได้ในระดับโลก เกิดการกระจายรายได้ลงสู่ชุมชน ลดความเหลื่อมล้ำ ชุมชนเข้มแข็ง มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาที่ยั่งยืน ความสัมพันธ์ระหว่างเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียนและเศรษฐกิจสีเขียว ดังภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียนและเศรษฐกิจสีเขียว

ประเทศไทยมีพืชพรรณจำนวนมากที่เป็นพืชพื้นเมืองหรือพืชประจำถิ่นของแต่ละภาคที่อาจเหมือนกันหรือแตกต่างกันตาม ลักษณะภูมิประเทศ อากาศและสิ่งแวดล้อม ซึ่งพืชพรรณต่าง ๆ ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร ยา และสมุนไพรเพื่อการใช้ประโยชน์ภายในท้องถิ่น การผลิตเป็นสินค้าภายในประเทศ รวมทั้งที่พัฒนาเป็นสินค้าออกที่สามารถนำเงินตราเข้าสู่ประเทศเป็นจำนวนมาก สำหรับในพื้นที่ภาคกลางตอนล่างจะมีพืชพื้นเมืองที่ขึ้นตามแหล่งที่น้ำเค็มท่วมหรือบริเวณป่าชายเลน พบว่ามีพืชหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้าน เช่น เหงือกปลาหมอ ชลู่ กะพริ้ว แสมดำ แสมขาว และปรงทะเล เป็นต้น

ชลู่เป็นพืชไม้ทรงพุ่มชนิดหนึ่ง que พบเห็นได้ทั่วไป ในหลายพื้นที่ ไม่ว่าจะเป็นทางภาคภาคตะวันออก และบริเวณพื้นที่ จังหวัดสมุทรสงคราม ที่มีพื้นที่ติดกับชายทะเล มีบริเวณที่น้ำเค็มท่วมถึง ส่วนต่างๆของชลู่มีการนำมาใช้ประโยชน์ ได้อย่าง หลากหลาย ใบชลู่สดนำมาใช้ในการรักษาอาการอักเสบแผลสดหรือของเป็นขา สารสกัดจากใบชลู่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญคือ กลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีกรดคลอโรจีนิก กรดคาเฟอิก เคอร์ซีติน และยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีและมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ จึงมีผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิดที่พัฒนาจากใบชลู่และสารสกัดจากใบชลู่ เช่น ชาชง โลชั่น ครีม เป็นต้น พบว่าในใบชลู่มีการสะสมของโลหะหนักบางชนิด เช่น เหล็ก สังกะสี แคดเมียม และทองแดง ในระดับสูง และไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่ ทั้งด้านพิษวิทยา เภสัชวิทยา และความสามารถการออกฤทธิ์

น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหย (floral water หรือ hydrosol) คือผลผลิตชนิดหนึ่งที่เกิดจากกระบวนการกลั่น โดยใช้น้ำของการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยส่วนวัตถุดิบประสงค์หลักต้องการน้ำหอมระเหย (essential oil) จากวัตถุดิบ ส่วนน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีปริมาณมากกว่าผลผลิตหลักหลาย ๆ เท่า จะไม่ค่อยนำไปใช้ประโยชน์มากนักและส่วนใหญ่ถูกทิ้งกลายเป็นของเสีย ที่อาจเกิดผลกระทบต่อมลพิษทางสิ่งแวดล้อมได้ ซึ่งการวิจัยนี้จะเป็นแนวทางการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์และภายใน 1 ปี สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่เป็นส่วนสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ลดการอักเสบของผิวหนัง เพื่อยกระดับความสามารถในการแข่งขันของเครื่องสำอางสมุนไพรพื้นบ้านของประเทศไทย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

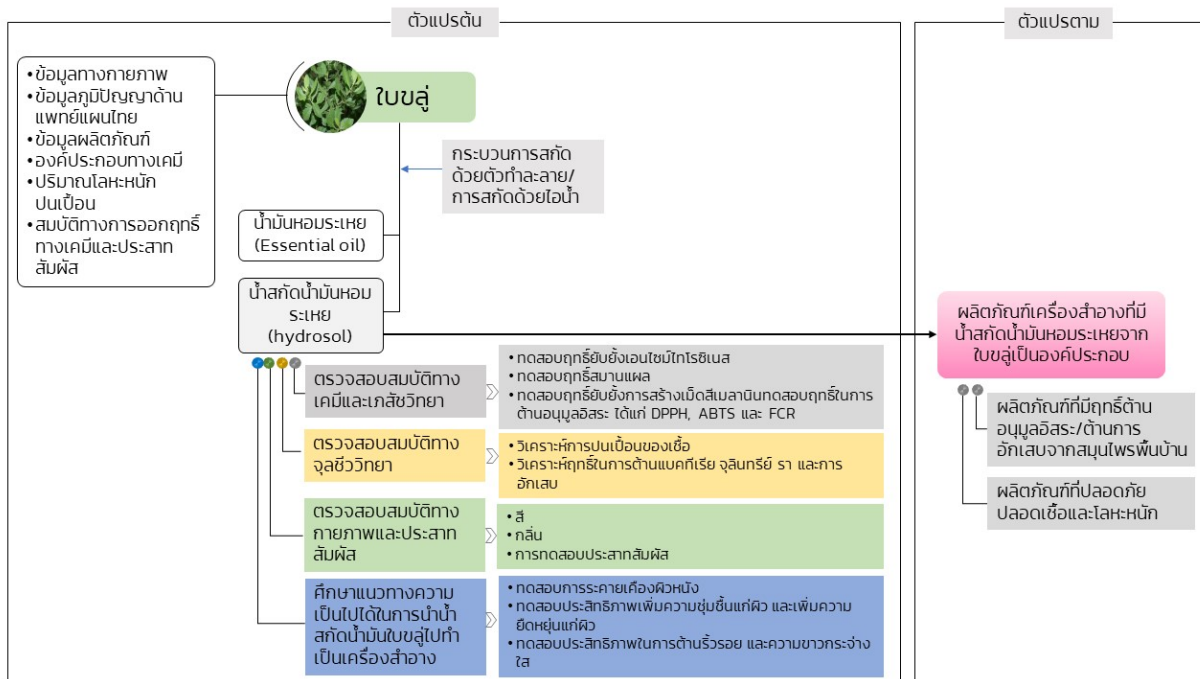
โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางพิษวิทยาของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่ สมบัติการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับลดการอักเสบผิวหนัง

- 1) เพื่อทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่
- 2) เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลดการอักเสบของผิวหนัง

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัยและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

เป้าหมายหลักของการดำเนินโครงการวิจัยนี้ คือ การตรวจสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชลู่ โดยสามารถประมวลภาพรวมของขอบเขตการศึกษาได้ดังภาพที่ 1.2





ภาพที่ 1.2 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการวิจัยนี้เมื่อดำเนินการแล้วเสร็จคาดว่าจะสามารถใช้ประโยชน์ในด้านการศึกษาเชิงวิชาการ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์

- 1) ได้รับความรู้เกี่ยวกับองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขมิ้น
- 2) ได้รับความรู้เกี่ยวกับความสามารถในการออกฤทธิ์ของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขมิ้น
- 3) ได้รับความรู้เป็นผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้าที่มีสมบัติลดการอักเสบของผิวหนัง

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ขลุ่

ขลุ่ มีชื่อสามัญคือ Indian marsh fleabane และมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Pluchea indica* (L.) Less. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Baccharis indica* L., *Conyza foliolosa* Wall. ex DC., *Conyza corymbosa* Roxb., *Conyza indica* (L.) Blume ex DC.) จัดอยู่ในวงศ์ทานตะวัน (ASTERACEAE หรือ COMPOSITAE)

ขลุ่ มีชื่อท้องถิ่นหลายชื่อ เช่น

ขี้ป่าน (แม่ฮ่องสอน)

หนาดวัว หนาดงัว หนวดงัว หนวดงิ้ว (อุตรธานี)

ขลุ่ (ภาคกลาง)

เพี้ยพาน (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

ขลุ่ คลุ่ (ภาคใต้)

หลวนซี (จีนกลาง)

หล่วงไซ (แต้จิ๋ว)

ต้นขลุ่ (Khlu) เป็นพรรณไม้พุ่มขนาดเล็ก ขึ้นเป็นกอ ๆ ขนาดต้นสูงประมาณ 0.5-2 เมตร ลำต้นกลม มีใบเขียวตลอดปี เปลือกต้นเรียบเป็นสีน้ำตาลแดงหรือเขียว ที่ลำต้นและกิ่งก้านมีขนละเอียดขึ้นปกคลุม ดังภาพที่ 2.1 ต้นขลุ่ขึ้นตามธรรมชาติในป่าชายเลนของประเทศเขตร้อน เช่น ไทย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย และอินเดีย เป็นต้น มักขึ้นตามที่ลุ่มชื้นแฉะ ตามริมห้วยหนอง หรือตามหาดทราย



ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นขลุ่

### 2.1.1 ลักษณะทั่วไป

ใบขลุ่ยมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ก้านใบสั้น ใบติดตามข้อสลับกัน ลักษณะใบเป็นรูปไข่หัวกลับ มีขอบใบหยัก และมีขนาดกว้าง 1-5 เซนติเมตร ยาว 2-9 เซนติเมตร ใบขลุ่ยสดมีรสหวานและมีความฝาด (astringent) เล็กน้อย คนท้องถิ่นนิยมลวกใบขลุ่ยกินกับน้ำพริกและใช้ปรุงอาหารพื้นบ้านเช่นยำและแกงคั่ว คุณค่าทางโภชนาการของยอดและใบอ่อนขลุ่ยสด แสดงดังตารางที่ 2.1 (ยุทธนา สุดเจริญ, 2553)

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของใบอ่อนขลุ่ยสดต่อน้ำหนัก 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณต่อ 100 กรัม
พลังงาน	42 แคลอรี
โปรตีน	1.8 กรัม
ไขมัน	0.5 กรัม
ใยอาหารแบบละลายน้ำ	0.5 กรัม
ใยอาหารแบบไม่ละลายน้ำ	0.9 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	8.7 กรัม
แคลเซียม	250 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	3,983 หน่วยสากล
วิตามินบี	10.02 มิลลิกรัม
วิตามินซี	30 มิลลิกรัม
เหล็ก	5.6 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	49 มิลลิกรัม
เบต้า-แคโรทีน*	1.2 มิลลิกรัม
น้ำ	87.5 กรัม

หมายเหตุ \*เบต้า-แคโรทีนเป็นรงควัตถุสีเหลืองที่พบในพืชและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี

ดอกขลุ่ย ออกดอกเป็นช่อฝอยสีขาวนวลหรือสีม่วง (ภาพที่ 2.2) โดยจะออกตามปลายยอดหรือตามง่ามใบ ดอกมีลักษณะกลมหลายช่อมารวมกัน ดอกมีลักษณะเป็นฝอยสีขาวนวลหรือสีขาวอมม่วง กลีบของดอกแบ่งออกเป็นวงนอกและวงใน โดยกลีบดอกวงนอกจะสั้นกว่ากลีบดอกวงใน ดอกวงนอกกลีบดอกจะยาวประมาณ 3-3.5 มิลลิเมตร ส่วนดอกวงในกลีบดอกจะมีลักษณะเป็นรูปท่อยาวประมาณ 4-6 มิลลิเมตร ปลายจักเป็นซี่ฟันประมาณ 5-6 ซี่ ภายในมีทั้งดอกเพศผู้และดอกเพศเมียสีขาวอมม่วงขนาดเล็กอยู่เป็นจำนวนมาก ปลายกลีบดอกหยักเป็นซี่ฟัน 5-6 หยัก ส่วนอับเรณูตรงโคนจะมีลักษณะเป็นรูปหัวลูกศรสั้น ๆ และท่อเกสรเพศเมียจะมีแฉก 2 แฉกสั้น ๆ ก้านช่อดอกมีความยาวประมาณ 5-6 มิลลิเมตร ส่วนดอกย่อยไม่มีก้านดอก รังประดับมีลักษณะแข็งและเป็นสีเขียว เรียงกันประมาณ 6-7 วง วงด้านนอกนั้นจะมีลักษณะเป็นรูปไข่ ส่วนวงด้านในจะมีลักษณะคล้ายรูปหอกแคบและตรงปลายจะแหลม (2017)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะใบและดอกขลุ่ (ที่มาภาพ <https://www.disthai.com/17075710>)

ผลขลุ่ เป็นผลแห้งไม่แตก มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกขนาดเล็ก ยาวประมาณ 0.7 มิลลิเมตร ผลมีสันหรือเหลี่ยม 10 สัน มีรยางค์ไม่มาก สีขาว ยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร แผ่กว้าง ส่วนเมล็ดขลุ่จะมีลักษณะเป็นฝอยเล็ก ๆ เมื่อแก่จะปลิวไปตามลม

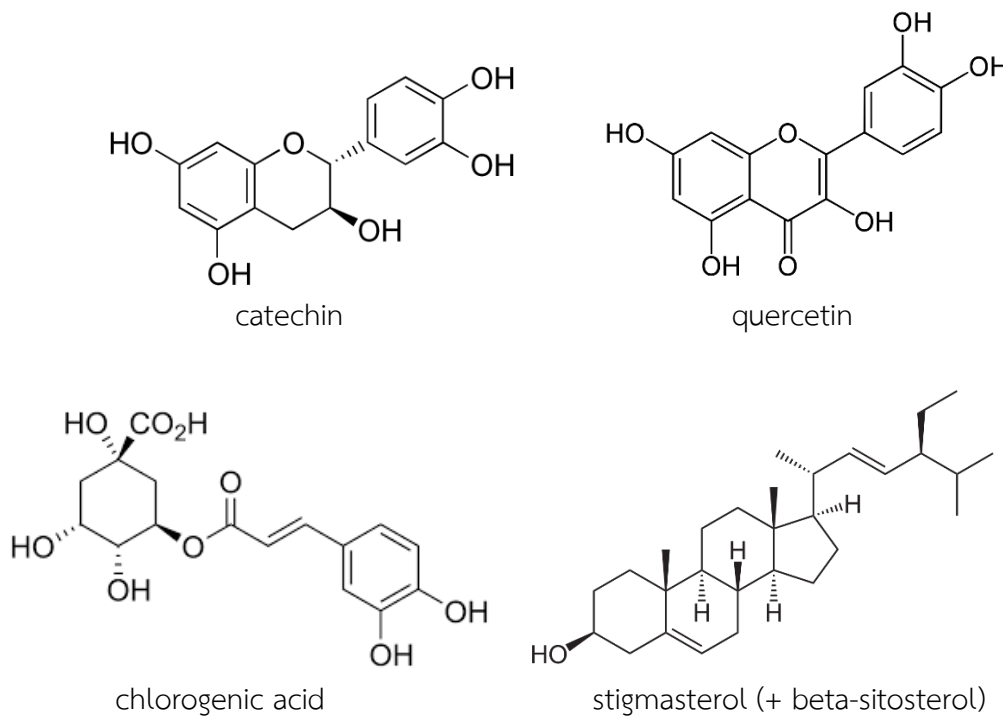


ภาพที่ 2.3 ผลขลุ่ (ที่มาภาพ <https://medthai.com/ขลุ่>)

### 2.1.2 องค์ประกอบทางเคมี

ใบขลุ่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มที่สำคัญคือ สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และเคอร์ซีติน (quercetin) สารประกอบกลุ่มเทอร์พีน (terpene) และลิกนินไกลโคไซด์ (lignin glycosides) เช่น ซิทรูซินซี (citrucin C), hedyotisol A, hedyotisol B, plucheoside C, plucheoside E, plucheosides D1, D2, D3, pluchol A, pluchol B, สารประกอบกลุ่มพอลิฟีนอล และ 3-(2', 3'-diacetoxy-2'-methyl butyryl)-cuahtemone ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ eudesmane (ลักคณา เจริญใจ, ม.ป.ป.; Uchiyama et al., 1991)

ใบชูลู่ประกอบไปด้วยสารประเภทเกลือแร่ เช่น โซเดียมคลอไรด์ สารโพแทสเซียม และยังประกอบไปด้วยเคเตชิน (catechin), stigmasterol (+ beta-sitosterol), stigmasterol glucoside (+ beta-sitosterol glucoside) ใบชูลู่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ดังตารางที่ 2.2 (Nuri, et al., 2012)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างเคมีของสารประกอบในใบชูลู่

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารออกฤทธิ์ในใบชูลู่ 100 กรัม

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	ปริมาณต่อ 100 กรัม
กรดคลอโรจีนิก	20 มิลลิกรัม
เคอร์ซีติน	5.21 มิลลิกรัม

จากรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดของใบชูลู่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 6.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัดมาแยกสารสำคัญ และพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีสเปกโทรสโกปี พบว่ามีโมเลกุลของ quercetin (5,7,3',4' tetrahydroxy -flavonol) ซึ่งสามารถวัดค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 1.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใบชูลู่ใช้ในการลดไข้ ลดการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ลดอาการปวดท้อง มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์คิดเป็น 6.39 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม โดยเป็นสาร quercetin ประมาณร้อยละ 81 ส่วนที่เหลือเป็นสาร myricetin และ kaempferol (Andarwulan et al., 2010) ในการวิจัยสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นชูลู่ของ Sen et al. (1991) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ของสารสกัดจากรากชูลู่ พบว่าสารสกัดจากรากชูลู่ สามารถต้านการอักเสบได้ โดยการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่เกิดจากการฉีด carragenin histamine serotonin

hyaluronidase และ sodium urate โดยสารสกัดจะยับยั้งกระบวนการที่โปรตีนหลุดออกจากหลอดเลือด (exudation) และการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวไปยังบริเวณอักเสบ (leucocyte migration)

### 2.1.3 สรรพคุณ

การใช้ประโยชน์จากขลุ้เพื่อเป็นพืชสมุนไพรมีกันแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย เช่น อินเดีย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย เป็นต้น โดยเฉพาะการรับประทานหน่อขลุ้อ่อนดิบ รับประทานเป็นผักสด การรับประทานใบขลุ้เพื่อลดไข้ ลดอาการท้องร่วง ใช้ใบขลุ้บดมาบดเป็นยาพอก เพื่อบรรเทาอาการปวดของแผลพุพอง ลดอาการอักเสบ เป็นต้น ส่วนของขลุ้หลาย ๆ ส่วนมีสรรพคุณช่วยรักษาอาการได้หลายอาการ ซึ่งตามภูมิปัญญาท้องถิ่นได้มีการแบ่งสรรพคุณของขลุ้ทั้ง 5 ส่วน คือ ใบ ราก ลำต้น ดอก และผล มาใช้เป็นสมุนไพรมีสรรพคุณทางยาในการขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการ และลดอาการบวม ประโยชน์และสรรพคุณของขลุ้มีจำนวนมาก โดยสามารถพิจารณาจากส่วนของพืชแต่ละส่วน ดังนี้ (สุภักดิ์ ภิรมย์, 2551)

- ใบขลุ้ นิยมนำมารับประทานกับน้ำพริก หรือนำมาเป็นส่วนผสมของวัตถุดิบในการทำอาหาร หรือใช้เป็นยารักษาโรค จากสรรพคุณที่ช่วยปรับสมดุลของร่างกาย ช่วยบำรุงไต ขับปัสสาวะ บำรุงระบบประสาท ในตำรายาไทยใช้ทั้งต้นต้มน้ำกินเป็นยาขับปัสสาวะ แก้เบาหวาน ต้มน้ำอาบแก้ผื่นคัน น้ำคั้นใบสดรักษาโรคผิวหนัง ใบแห้งจะมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นน้ำผึ้ง นำมาใช้ต้มน้ำดื่มหรือชงแทนชาจะช่วยลดน้ำหนักได้ ใบสดแก่นำมาตำผสมกับเกลือ ใช้กินรักษากลิ่นปากและช่วยระงับกลิ่นตัว

- ยอดอ่อนมีรสมัน ใช้รับประทานเป็นผักสดจิ้มกับน้ำพริก ลาบ หรือเครื่องเคียงขนมจีน ส่วนใบอ่อนนำไปลวกใช้รับประทานเป็นผักจิ้มกับน้ำพริก หรือใส่ในแกงคั่ว ส่วนดอกนำไปย่ำร่วมกับเนื้อสัตว์ต่าง ๆ

- ต้นสด หรือต้นแห้ง เตรียมเป็นยาต้มรับประทานขับปัสสาวะ แก้โรคนิ้วในไต แก้ปัสสาวะพิการ เป็นยาช่วยย่อย แก้ ริดสีดวงทวารหนัก ริดสีดวงจุก แก้เบาหวาน แก้ประดง แก้เลือดลม และผื่นคันตามผิวหนัง

- เปลือกต้น เมล็ด แก้วริดสีดวงทวาร แก้วกระษัย เป็นยาอายุวัฒนะ โดยนำมาต้มน้ำรับประทาน หรือต้มน้ำแล้วใช้ไอ รุมทวารหนัก แก้วริดสีดวงจุก โดยตากแห้งแล้วเตรียมเป็นยาสูบ

- ใบ มีกลิ่นหอม ต้มน้ำดื่ม แทนเป็นน้ำชา ผาตสมาน แก้ไข้ ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ แก้กระหายน้ำ แก้บิด แก้ประดง แก้เลือดลม แก้วริดสีดวงทวาร แก้วแผลอักเสบอาจใช้ใบสดตำพอกบริเวณที่เป็น และต้มน้ำอาบบำรุงประสาท

- ราก รับประทานเป็นยาผาตสมาน แก้บิด แก้ไข้ ขับเหงื่อ แก้วแผลอักเสบ ใช้รากสดตำพอกบริเวณที่เป็น

จากข้อมูลเว็บไซต์ Medthai (2017) ได้สรุปสรรพคุณของขลุ้ ดังนี้

1. ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ (ใบสดแก่ เปลือก ใบ เมล็ด)
2. ใบนำมาต้มน้ำอาบจะช่วยบำรุงประสาท (ใบ)
3. ทั้งต้นนำมาต้มน้ำกินเป็นยารักษาโรคเบาหวาน (ทั้งต้น) ส่วนใบก็ใช้ชงดื่มเป็นน้ำชาก็มีสรรพคุณช่วยรักษาโรคเบาหวานได้เช่นกัน (ใบ)
4. ใบใช้ชงดื่มแทนน้ำเป็นชา มีสรรพคุณช่วยลดความดันโลหิต (ใบ)



5. ไบสดแก่และรากใช้เป็นยาแก้กระษัย (ราก ไบสดแก่ ทั้งต้น เปลือก ใบ เมล็ด)
6. ช่วยรักษาโรคตานขโมย (ทั้งต้น)
7. ช่วยแก้ตานขโมยในเด็ก เข้าใจว่าใช้ใบชงดื่มแทนน้ำชา (ใบ)
8. ทั้งต้นใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังโรคที่ต่อมน้ำเหลือง (ทั้งต้น)
9. ขลุ้ใช้ปรุงเป็นยาต้มรับประทานแก้โรคเลือด (ไม่ระบุส่วนที่ใช้)
10. ช่วยรักษาเลือดลม (ใบและต้นอ่อน)
11. ช่วยรักษาไข้ (ใบและราก ไบสดแก่)
12. ช่วยขับเหงื่อ (ใบและราก ไบสดแก่) บ้างว่าช่วยล้างพิษได้ด้วย
13. ช่วยรักษาโรคผิวหนัง ด้วยการใช้ใบชงดื่มเอาแต่ผิวของต้นนำมาชูดขนออกให้สะอาด ทำเป็นเส้นตากแห้ง แล้วมวนเป็นยาสูบรักษาโรคผิวหนัง (ผิวหนังหรือเปลือกต้น เปลือกต้น ใบ เมล็ด)
14. เปลือกต้นนำมาสับเป็นชิ้น ๆ ใช้มวนบุหรือสูบช่วยแก้โพรงจมูกอักเสบหรือไซนัสได้ (เปลือกต้น)
15. ทั้งต้นสดหรือต้นแห้งใช้เป็นยาช่วยย่อย (ทั้งต้น)
16. น้ำคั้นจากใบช่วยรักษาโรคบิด (ใบ ใบและราก)
17. ดอกมีรสหอมฝาดเมาเค็ม ช่วยแก้หิว (ดอก) ทั้งต้นมีรสฝาดเมาเค็ม มีสรรพคุณแก้หิวได้เช่นกัน (ทั้งต้น) ส่วนใบและรากมีรสหอมฝาดเมาเค็ม มีสรรพคุณขับหิวได้เช่นกัน (ใบ ราก)
18. ทั้งต้นใช้ต้มกับน้ำดื่มเป็นยาก่อนอาหารครั้งละ 75 มิลลิลิตร (ประมาณ 1 ถ้วยชา) วันละ 3 ครั้ง จะช่วยขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการได้ รักษาอาการขัดเบา (ทั้งต้น) ส่วนใบก็เป็นยาขับปัสสาวะด้วยเช่นกัน (ใบ) ซึ่งจากการทดลองในสัตว์และคนปกติ พบว่ายาชงที่ได้จากต้นขลุ้จะมีฤทธิ์เป็นยาขับปัสสาวะได้ดีกว่ายาขับปัสสาวะแผนปัจจุบัน (Hydrochlorothiazide) และยังมีข้อดีก็คือ มีการสูญเสียเกลือแร่ในร่างกายน้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน
19. ทั้งต้นมีรสหอมฝาดเมาเค็ม ช่วยแก้หิวในไต (ต้น)
20. ทั้งต้นช่วยรักษาโรคผิวหนัง หรือจะใช้เปลือกต้นด้วยการชูดเอาขนออกให้สะอาดแล้วลอกเอาแต่เปลือก นำมาต้มรมริดสีดวงทวารหนัก หรือจะใช้ใบสดเอามาตำบดคั้นเอาแต่น้ำแล้วนำมาทาตรงหัวของริดสีดวงทวาร จะช่วยทำให้หัวริดสีดวงทวารหดหายไป (ทั้งต้น น้ำคั้นจากใบ เปลือก ใบ เมล็ด)
21. ช่วยแก้มูกติดระดูขาวของสตรี ด้วยการใช้น้ำคั้นมาต้มกับน้ำดื่มเป็นชา (ใบ ต้น)
22. ใบใช้ต้มกับน้ำอาบเป็นยาขับมดลูก (ใบ)
23. ใบใช้ชงดื่มเป็นชา ช่วยลดอาการบวมได้ (ใบ)
24. ใบและรากใช้เป็นยาฝาดสมาน (ใบและราก)
25. ไบสดแก่ใช้เป็นสมานทั้งภายนอกและภายใน (ไบสดแก่)
26. ใบและรากสดใช้ตำพอกแก้แผลอักเสบ (ใบ และราก ใบ)
27. ใบและรากใช้ทำเป็นขี้ผึ้งสำหรับทารักษาแผลเรื้อรัง (ใบ และราก)
28. ทั้งต้นนำมาต้มกับน้ำอาบช่วยแก้ผื่นคันและรักษาโรคผิวหนัง (ต้น) ส่วนใบก็นำมาต้มกับน้ำอาบแก้ผื่นคันได้เช่นกัน (ใบ)
29. ใบและต้นอ่อนช่วยรักษาประดง (โรคผิวหนังชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดอาการคัน)

30. ใบและต้นอ่อนนำมาต้มกับน้ำอาบจะช่วยรักษาหิด และขี้เรื้อน (ใบ และต้นอ่อน)
31. ช่วยบรรเทาอาการปวดเมื่อย ด้วยการใช้ใบนำมาต้มกับน้ำดื่มเป็นชา (ใบ)
32. ใบและต้นอ่อนใช้ตำผสมกับแอลกอฮอล์ นำมาใช้ทาหลังบริเวณเหนือไตจะช่วยบรรเทาอาการปวดเอวได้ (ใบ และต้นอ่อน)
33. ช่วยบรรเทาอาการปวดข้อ อาการปวดในโรคไขข้ออักเสบ (ใบ และต้นอ่อน)
34. ใบและรากใช้ผสมกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ นำมาต้มกับน้ำอาบจะช่วยรักษาอาการเส้นตึง (ใบ และราก)
35. ในปัจจุบันการแพทย์แผนไทยได้มีการทดลองใบขลุ้ (จำนวนตามต้องการหรือพอประมาณ) นำมาต้มให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคเอดส์ในระยะเริ่มแรกหรือเพิ่งตรวจพบกิน จะช่วยดูแลสุขภาพได้ในระดับหนึ่ง (ใบ)

#### 2.1.4 ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของขลุ้

ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกพบว่าสามารถใช้ใบขลุ้เป็นยาขับปัสสาวะ โดยมีการใช้ชาชงจากใบขลุ้ ความเข้มข้น 5% และ 10% ทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดี มีผลในการเพิ่มปริมาณปัสสาวะ โดยไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลันเมื่อรับประทาน และการศึกษาในผู้ป่วยที่เป็นนิ่ว จำนวน 5 คน ให้รับประทาน สารสกัดจากขลุ้ 12 แคปซูล (1 แคปซูล เทียบเท่าขลุ้สด 1.2 กรัม) เมื่อวัดปริมาตรปัสสาวะหลังรับประทานแคปซูล 6 ชั่วโมง พบอาสาสมัคร 3 คนมีปัสสาวะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอีก 2 รายผลไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการทดสอบความเป็นพิษเมื่อใช้ต่อเนื่องเป็นระยะเวลาสั้น (ข้อมูลจาก <https://www.disthai.com>)

การศึกษากฤทธิ์ด้านการอักเสบของใบขลุ้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจ (murine macrophage cell line RAW 264.7) และหนูแรทพบว่า เซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ที่ได้รับส่วนสกัดเอทิลเอซิเตตที่แยกจากสารสกัดเอทานอล (EFPI) ขนาด 12.5–50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างแก๊สไนโตรเจนมอนอกไซด์ (NO) และโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin E<sub>2</sub> ; PGE<sub>2</sub>) ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เพิ่มขึ้นด้วยสารไลโปพอลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide ; LPS) และลดการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ (inducible nitric oxide synthase ; iNOS) แต่ไม่มีผลในการยับยั้งกระบวนการฟอสฟอริเลชัน (phosphorylation) ของ mitogen-activated protein kinases (MAPKs) โดยประสิทธิภาพจะขึ้นกับขนาดที่ให้ นอกจากนี้ยังพบว่าการทาสารสกัดจากใบขลุ้ขนาด 3 มิลลิกรัมที่บริเวณหูหนู ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยสารเอทิลฟีนิลโพรพิโอเลต (ethyl phenylpropiolate) และการป้อนหนูซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้อุ้งเท้าเกิดการอักเสบด้วยการฉีดสารคาร์ราจีแนนด้วยสารสกัดจากใบขลุ้ในขนาด 150–600 มิลลิกรัม/กิโลกรัมมีฤทธิ์ด้านการอักเสบได้เช่นกัน โดยประสิทธิภาพจะขึ้นกับขนาดที่หนูได้รับ

การศึกษากฤทธิ์ฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพ โดยได้ทำการสกัดและประเมินสารประกอบที่พบในขลุ้และความแรงในการต้านเชื้อจุลชีพพบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดขลุ้ต่อเชื้อจุลชีพ (Biswas et al., 2007) ดังตารางที่ 2.3



ตารางที่ 2. 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้

เชื้อจุลินทรีย์	ความเข้มข้นต่ำสุด (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)
Staphylococcus aureus ML 11	1500
S. Aureus ML 358	2000
S. Aureus NCTC 6571	>2000
S. Aureus 8530	1000
Salmonella trphi 59	1500
S. typhimurium NCTC 74	15000
Shigella boydii 8 NCTC 254/66	1500
S. Dysenteriae 7 NCTC 519/66	1500
Vibrio cholerae 214	1000
Vibrio cholerae 14033	1500
Bacillus lichenniformis	>2000
Escherichia coli ATCC 25938	1500
Klebsiella pneumoniae 725	>2000
K. Pneumoniae 10031	2000
Pseudomonas aeruginosa 71	2000

สาร R/J/3 (2-(prop-1-ynyl)-5(5,6-dihydroxyhexa-1,3-dienyl)-thiophene) ที่แยกได้จากสารสกัดด้วยเมทานอลจากรากขลุ่ยที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อปรสิต Entamoeba histolytica ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร หลังจากเชื้อปรสิตสัมผัสกับสาร R/J/3 นาน 2 ชั่วโมง จะเกิดแกรนูลในเซลล์ปรสิตระยะ trophozoites ตามมาด้วยการแตกของเซลล์ และเซลล์จะแตกเกือบหมดในเวลา 4 ชั่วโมง ในขณะที่ยา metronidazole จะออกฤทธิ์ดีกว่า โดยทำให้เซลล์แตกเกือบหมดในเวลา 2 ชั่วโมง และยังมีการศึกษาพบว่า สำหรับสารสกัดจากใบขลุ่ยด้วยการแช่ในเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่ามีฤทธิ์ต้านโรคผิวหนัง (Biswas et al., 2007) สารสกัดน้ำของขลุ่ยสามารถยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (S. aureus ATCC 25923, S. epidermidis ATCC 12228, M. luteus ATCC 9341, B. subtilis ATCC 6633 และ L. plantarum ATCC 14917) และแบคทีเรียแกรมลบ (E. coli ATCC25922, S. typhimurium ATCC 14028, K. pneumonia ATCC 10031, P. vulgaris ATCC 13315, Ps. Aeruginosa ATCC 9721) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ E. coli และ K. pneumoniae. อยู่ระหว่าง 1-2 และ 4-8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Sittiwet, 2009) ดังแสดงตารางที่ 2.4 และ 2.5

ตารางที่ 2.4 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดน้ำของขลุ้ (Sittiwet, 2009)

Bacteria	Gram	Inhibition zone diameter (mm)			Gentamicin sulphate (10 µg mL <sup>-1</sup> )
		<i>P. indica</i> (100 mg mL <sup>-1</sup> )	<i>P. indica</i> (50 mg mL <sup>-1</sup> )	<i>P. indica</i> (25 mg mL <sup>-1</sup> )	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	nz	nz	nz	21.0±2.65
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	+	nz	nz	nz	21.7±1.52
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	+	nz	nz	nz	20.3±2.51
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	+	nz	nz	nz	18.3±0.57
<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	+	nz	nz	nz	23.3±0.57
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	21.9	17.3	14.6	21.6±0.57
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	18.6	11.7±0.6	nz	17.6±1.53
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	nz	nz	nz	18.0±1.0
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9721	-	nz	nz	nz	19.6±0.32
<i>P. vulgaris</i> ATCC13315	-	nz	nz	nz	20.0±0.46

Data are Mean±SD; (n = 3); nz: No inhibition zone

ตารางที่ 2.5 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดน้ำของขลุ้ (Sittiwet, 2009)

Bacteria	<i>P. indica</i>		Gentamicin sulphate	
	MIC (mg L <sup>-1</sup> )	MBC (mg L <sup>-1</sup> )	MIC (mg L <sup>-1</sup> )	MBC (mg L <sup>-1</sup> )
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1	4	<0.5	nd
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	2	8	<0.5	nd

ฤทธิ์การปกป้องตับ มีการศึกษาวิจัยโดยได้ทำการศึกษาฤทธิ์การปกป้องตับของสารสกัดจากขลุ้ ในหนูที่ตับบาดเจ็บเฉียบพลัน (acute liver damage) จากการเหนี่ยวนำของคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl<sub>4</sub>) พบว่าสามารถลดระดับเอนไซม์ aspartate amino transferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), serum alkaline phosphatase (ALP) และ bilirubin ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สารสกัดจากขลุ้สามารถลดระยะเวลาการนอนหลับของหนูที่ได้รับ pentobarbitone ได้อย่างมีนัยสำคัญ และลด plasma prothrombin time ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Sen et al., 1996)

ฤทธิ์ต่อระบบประสาท ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้ต่อระบบประสาทในหนู พบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากรากขลุ้ขนาด 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ให้โดยการกิน มีการทำงานของระบบประสาทควบคุมการเคลื่อนไหวที่ทำงานเพิ่มขึ้น และลดระยะเวลาการนอนหลับของหนูที่ได้รับ pentobarbital ให้สั้นลงอย่างมีนัยสำคัญ และขึ้นกับขนาดที่ได้รับ

นอกจากนี้พบว่า ฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้ที่ให้ในหนูที่ได้รับ pentobarbital จะลดลงเมื่อได้รับ flumazenil (1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ให้ทางหลอดเลือดดำ) อย่างมีนัยสำคัญ และสารสกัดจากรากขลุ้ (50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และไดอะซีแพม (diazepam) (0.5-5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) สามารถลดพฤติกรรมก้าวร้าวได้ตามขนาดที่ได้รับ (dose dependent) โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้เกี่ยวข้องกับระบบกาบ้าในสมอง

อย่างไรก็ตามสารสกัดจากรากขลุ้ไม่มีฤทธิ์ระงับการชักที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของเพนทิลลิเทอะโซล (pentylentetrazole)

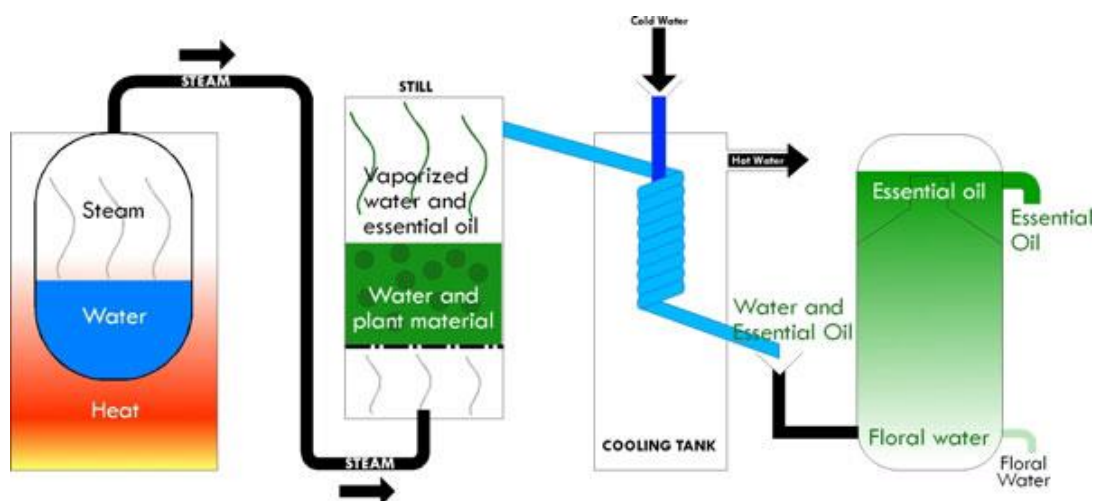
ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของสารสกัดรากขลุ้ การศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในพลาสมาของสารสกัดเมธานอลจากรากขลุ้ในหนูขาวปกติ และหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน โดยวิธี glucose tolerance test พบว่าสารสกัดขนาด 2 กรัม/กิโลกรัม สามารถลดระดับน้ำตาลในพลาสมาของหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 90 นาที หลังการป้อนน้ำตาลหรือ 120 นาทีหลังการป้อนสารสกัด ส่วนในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin สารสกัดรากขลุ้ไม่สามารถลดน้ำตาลในเลือดในพลาสมาได้ สรุปได้ว่าสารสกัดเมธานอลจากรากขลุ้มีฤทธิ์อ่อนในการลดน้ำตาลในพลาสมาในหนูปกติและไม่มีฤทธิ์ในหนูเบาหวานหลังการป้อนสารสกัดทางปาก เพียงครั้งเดียว จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งของสารสกัดที่ได้จากการต้มผงใบขลุ้ในน้ำร้อน (75-90 องศาเซลเซียส) แล้วทำให้ส่วนสกัดแห้งด้วยวิธีระเหิดเป็นไอ พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งสมอง และเซลล์มะเร็งปากมดลูกในงานเพาะเลี้ยงเซลล์เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 100-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งคาดว่ามาจากสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในใบขลุ้ เพราะรายงานศึกษาด้านเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่ากรดคลอโรจีนิกมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในลำไส้ใหญ่และตับในสัตว์ทดลองได้ดี ส่วนกรดคาเฟอิกมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกในงานเพาะเลี้ยงเซลล์ทดลอง จากข้อมูลเว็บไซต์ Medthai (2017) ได้สรุปข้อมูลทางเภสัชวิทยาของขลุ้ จากการทดลองในสัตว์ โดยใช้ต้นขลุ้แห้ง 10 กรัม ต้มให้เดือดแล้วรินเอาน้ำออก แล้วนำไปให้หนูขาวทดลองกิน พบว่ายาต้มที่ได้จากต้นขลุ้จะมีฤทธิ์ทำให้ขับปัสสาวะได้มากขึ้น เมื่อเทียบกับยาขับปัสสาวะแผนปัจจุบัน (Hydrochlorothiazide) ปรากฏว่า สามารถขับปัสสาวะได้ดีกว่าและสูญเสียเกลือแร่ในร่างกายน้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน จากการศึกษาทดลองทางพิษวิทยาพบว่า ในน้ำยาขลุ้ไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนูขาวที่นำมาทดลอง ในใบขลุ้พบมีสาร 3-(2,3-diacetoxy-2-methyl butyryl) cuauhtemone ใบขลุ้ประกอบไปด้วยสารประเภทเกลือแร่ เช่น โซเดียมคลอไรด์ สารโพแทสเซียม และยังประกอบไปด้วย catechin, stigmasterol (+ beta-sitosterol), stigmasterol glucoside (+ beta-sitosterol glucoside)

แพทย์แผนโบราณใช้ใบขลุ้สดพกรักษาแผลที่เกิดจากอาการเนื้อตาย (gangreous ulcer) หรือนำใบขลุ้มาชงชาหรือต้มเพื่อใช้รักษาอาการนิ่วในไต (ยาขับปัสสาวะ) อาการอักเสบ อาการปวดหลัง และ อาการตกขาวในประเทศอินโดนีเซียมีรายงานถึงการต้มน้ำต้มใบขลุ้เพื่อช่วยทำให้เจริญอาหารและช่วยการย่อยอาหารนอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้น้ำต้มใบขลุ้เป็นยาด้านจุลชีพ ยาแก้ท้องเสีย และยาบรรเทาอาการไอ รวมทั้งมีการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวพรรณช่วยทำให้ผิวนุ่ม นอกจากนี้หลังการต้มน้ำขลุ้ต่อเนื่อง ค่าน้ำตาลของผู้ป่วยลดลงจาก 800 mg% เป็น 162 mg%, 144 mg% และ 134 mg% ตามลำดับ และมีผลให้ความดันโลหิตลดลงจาก 186/109 mmHg, 158/80 mmHg มาเป็น 130/80 mmHg (นวเรศ เหลืองใส, 2017)

## 2.2 ไฮโดรโซล

ไฮโดรโซล (hydrosol) หรือ น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหย คือ สารสกัดในชั้นน้ำที่ได้จากการสกัดด้วยไอน้ำ โดยปกติการสกัดจะได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (น้ำมันหอมระเหย) จะลอยอยู่ชั้นบนสุด และสารสกัดชั้นน้ำ (ไฮโดรโซล) จะอยู่ชั้นล่าง โดยชั้นน้ำนี้จะเรียกว่า น้ำสกัดกลั่นดอกไม้ (floral water) เนื่องจากเป็นวิธีที่นิยมนำมาสกัดดอกไม้เพื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ ดังภาพที่ 2.5

การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำเป็นวิธีการสกัดสารออกจากของผสมโดยใช้ไอน้ำเป็นตัวทำละลาย สำหรับแยกสารที่ระเหยง่าย ไม่ละลายน้ำ และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำ ออกจากสารที่ระเหยยาก การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำนอกจากใช้สกัดสารระเหยง่ายออกจากสารระเหยยากแล้วยังสามารถใช้แยกสารที่มีจุดเดือดสูงและสลายตัวที่จุดเดือดของมันได้อีก เพราะการกลั่นโดยวิธีนี้ความดันไอเป็นความดันไอของไอน้ำบวกความดันไอของของเหลวที่ต้องการแยก จึงทำให้ความดันไอเท่ากับความดันของบรรยากาศก่อนที่อุณหภูมิจะถึงจุดเดือดของของเหลวที่ต้องการแยกของผสมจึงกลั่นออกมาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของของเหลวที่ต้องการแยก ตัวอย่างการแยกน้ำมันหอมระเหยออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น การแยกน้ำมันยูคาลิปตัสจากใบยูคาลิปตัส การแยกน้ำมันมะกรูดออกจากผิวมะกรูด การแยกน้ำมันพลูจากใบพลู เป็นต้น ในการกลั่นไอน้ำจะไปทำให้น้ำมันหอมระเหยกลายเป็นไอแยกออกมาพร้อมกับไอน้ำ เมื่อทำให้ไอของของผสมควบแน่นโดยผ่านเครื่องควบแน่นจะได้น้ำและน้ำมันหอมระเหยปนกัน แต่แยกชั้นกันอยู่ ทำให้สามารถแยกเอาน้ำมันหอมระเหยออกจากร้าน้ำได้ง่าย ส่วนชั้นน้ำที่ได้เรียกว่า ไฮโดรโซล



ภาพที่ 2.5 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

(ที่มาภาพ <https://www.botanicessence.com/essential-oil/home/knowledge.jsp>)

### อะลิบบิก

อะลิบบิก มาจากภาษาอารบิก “al-‘ambiq” ที่แปลว่า การกลั่น และภาษากรีกว่า ambix ที่แปลว่า ถ้วย ถูกคิดค้นเพื่อใช้ในการกลั่นมาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยอะลิบบิกจะประกอบไปด้วย 3 ส่วนด้วยกันคือ “cucurbit” หรือหม้อที่ใส่น้ำเพื่อให้ความร้อนจนกลายเป็นไอน้ำ ส่วนที่สองคือ “head” หรือส่วนหัว ซึ่งจะเป็นส่วนบรรจุ

วัตถุดิบ โดยไอน้ำจะลอยผ่าน และส่วนสุดท้ายคือ “tube” หรือท่อที่จะต่อกับน้ำเย็นภายนอกเพื่อให้ไอน้ำกระทบกับความเย็นแล้วเกิดการควบแน่นเป็นไฮโดรโซล



ภาพที่ 2.6 เครื่องอะลิบิก (ภาพโดย วรวิทย์ จันทรสวรรณ, 2564)



หม้อต้ม

ส่วนบรรจุพืช

ตะแกรงและตัวยัด

ภาพที่ 2.7 ส่วนประกอบเครื่องอะลิบิก (ภาพโดย วรวิทย์ จันทรสวรรณ, 2564)

## 2.3 การอักเสบของผิวหนัง

ผิวหนังอักเสบ (dermatitis) เป็นภาวะอักเสบของผิวหนังที่เกิดขึ้นได้จากหลากหลายสาเหตุและหลายรูปแบบ ส่วนมากมักมีผื่นคัน บวม หรือแดงตามผิวหนัง นอกจากนี้ บางชนิดอาจเกิดเป็นแผลพุพอง มีน้ำหนองหรือตกสะเก็ดร่วมด้วย โดยภาวะผิวหนังอักเสบที่พบบ่อย ได้แก่ โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนังโรคเซบเดิร์มและผื่นระคายสัมผัส อย่างไรก็ตาม ภาวะนี้จะไม่ติดต่อสู่ผู้อื่น แต่อาจทำให้รู้สึกคันหรือระคายเคือง และเสียความมั่นใจเพราะลักษณะผิวหนังที่ผิดปกติได้ ภาวะผิวหนังอักเสบแต่ละชนิดเกิดขึ้นตามบริเวณร่างกายที่แตกต่างกันไป อาจทำให้มีอาการและลักษณะแตกต่างกันเล็กน้อย โรคผิวหนังอักเสบบางชนิดพบได้ทั่วไป โดยสังเกตอาการ ดังนี้

1. โรคผื่นภูมิแพ้ (atopic dermatitis) มักเริ่มเป็นตั้งแต่วัยทารก ก่อให้เกิดผื่นคันและแดงตามผิวหนัง และมักจะขึ้นบริเวณข้อพับแขน ข้อพับขา และลำคอด้านหลัง เมื่อเกามาก ๆ อาจมีหนองไหลหรือเกิดเป็นสะเก็ดหนองตามมา ซึ่งผู้ที่ป่วยด้วยโรคนี้อาจมีอาการดีขึ้นเมื่อเข้าสู่วัยผู้ใหญ่ แต่ก็อาจกลับไปเป็นอีกได้เรื่อย ๆ เป็นภาวะผิวหนังอักเสบที่คาดว่าจะมีปัจจัยการเกิดหลายชนิดร่วมกัน เช่น ผิวแห้ง พันธุกรรม ความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน แบคทีเรียบนผิวหนัง และสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย

2. ผื่นระคาย (contact dermatitis) เป็นผื่นที่เกิดขึ้นตามผิวหนังบริเวณที่สัมผัสโดนสารก่อความระคายเคืองหรือสารก่อภูมิแพ้ เช่น สารเคมีในชีวิตประจำวัน ได้แก่ สบู่ ผงซักฟอก หรือน้ำยาซักล้างต่าง ๆ เป็นเวลานานและบ่อยครั้ง บางคนอาจเกิดจากการสัมผัสดอกไม้ พืชผักบางชนิด หรือสาเหตุอื่น ๆ เช่น ยางสังเคราะห์ โลหะ สีย้อมผม สารแต่งกลิ่นต่าง ๆ เป็นต้น โดยผื่นแดงที่เกิดขึ้นอาจทำให้รู้สึกแสบร้อน ปวดแสบ คัน หรือเกิดแผลพุพองได้

3. โรคเซบเดิร์ม (seborrheic dermatitis) เป็นโรคที่ทำให้ผิวหนังเป็นแผ่นตกสะเก็ดและมีอาการแดง หากเป็นที่ศีรษะจะเกิดเป็นรังแคเรื้อรัง โดยมักเป็นตามผิวหนังที่มีความมัน เช่น ใบหน้า โดยเฉพาะบริเวณเปลือกตาและจมูก หน้าอกส่วนบน และหลัง ส่วนในทารกมักพบมีสะเก็ดหรือแผ่นหนา ๆ บนหนังศีรษะ รวมทั้งอาจพบได้ที่เปลือกตา ทั้งนี้ ผู้ป่วยอาจมีอาการเรื้อรัง เป็น ๆ หาย ๆ เป็นเวลานาน

4. ผื่นผิวหนังอักเสบชนิดตุ่มใส (dyshidrotic eczema) เป็นอีกโรคผิวหนังอักเสบที่พบได้บ่อย แต่เป็นโรคที่คนทั่วไปมีความรู้ความเข้าใจทางการแพทย์อยู่น้อยมาก โดยทั่วไปมักส่งผลกระทบต่อบริเวณมือ บางครั้งเกิดขึ้นที่เท้า ทำให้มีผื่นคันร่วมกับตุ่มใสพุพองเม็ดเล็ก ๆ ตามง่ามนิ้วมือ นิ้วเท้า ฝ่ามือ หรือฝ่าเท้า

5. ผื่นผิวหนังอักเสบที่ข้อเท้า (stasis dermatitis) มักทำให้เกิดอาการบวม ผิวหนังตกสะเก็ดบริเวณขาส่วนล่าง บางครั้งมีแผลเปื่อยหรือแผลเปิดด้านในของขาส่วนล่างและรอบ ๆ ข้อเท้า พบในผู้ป่วยที่มีการไหลเวียนของเลือดในเส้นเลือดดำในขาไม่ดี

6. ผิวหนังอักเสบเรื้อรัง (lichen simplex chronicus) เป็นภาวะที่ส่งผลให้ผิวหนังหนาขึ้น มักพบบริเวณคางและคอ

7. โรคผื่นผิวหนังรูปเหรียญบาท (nummular eczema) มักพบในผู้ที่ มีผิวแห้งหรืออาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอากาศแห้ง มักปรากฏเป็นแผ่นผิวหนังที่มีความหนาและแดง ลักษณะกลม ๆ คล้ายเหรียญบาทร่วมกับอาการคัน ผิวเป็นขุยหรือมีสะเก็ดหนอง ซึ่งจะพบได้บ่อยตามขาส่วนล่าง รวมถึงตามแขน มือ ลำตัว

8. โรคผื่นผิวแห้ง (xerotic eczema) เป็นโรคที่จะส่งผลให้ผิวแตกแห้งและมีน้ำหนองไหลออกมาเมื่อผิวแห้งมากจนเกินไป

## 2.4 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาวิจัยหลาย ๆ งานที่ได้ตีพิมพ์ในวารสารพบว่าใบขลุ่ยมีสรรพคุณอันหลากหลายได้แก่ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าสารสกัดในเมทานอลของใบขลุ่ย มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงโดยมีค่า ( $IC_{50} = 24.45 \pm 0.34 \mu\text{g/mL}$ ) โดยวิธี DPPH radical scavenging และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assays ทั้งหมดเท่ากับ ( $573.52 \pm 6.2 \text{ mg GAE}/100 \text{ g crude extract}$ ) นอกจากนี้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแล้วสารสกัดของใบขลุ่ยในเอทานอลยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*), ซูโดโมนัส แอรูจินโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) และ ซัลโมเนลลา (*Salmonella typhimurium*) ที่ระดับความเข้มข้น 0.16, 0.16 และ 0.32 mg/mL MICs ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดแล้วใบขลุ่ยยังมีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Srisook et al., 2012, Srisook et al., 2021)

Sen et al. (1991) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากรากขลุ่ย พบว่าสารสกัดจากรากสามารถช่วยต้านการอักเสบได้ โดยสามารถช่วยยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่เกิดจากการฉีดสารคาร์ราจีนิน (carragenin) ฮิสตามีน (histamine) เซโรโทนิน (serotonin) ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) และ โซเดียมยูเรต (sodium urate) ซึ่งสารสกัดดังกล่าวจะไปยับยั้งกระบวนการที่โปรตีนหลุดออกจากหลอดเลือดและการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวไปยังบริเวณที่อักเสบ

Sen et al. (1993) ได้ทำการศึกษากลไกของการต้านการอักเสบและการต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของสารสกัดจากรากขลุ่ย ที่คาดว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการลิพอกซิจีเนส (5-lipoxygenase pathway) ซึ่งเป็นกระบวนการสังเคราะห์โพรสตาแกลนดิน (prostaglandin) และผลจากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากรากขลุ่ยสามารถช่วยต้านการอักเสบที่เกิดจากกรดอะราคิโดนิค (arachidonic acid) สารชักนำการอักเสบ (platelet activation factor; PAF) และสารประกอบ 48/80 ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการบวมที่อุ้งเท้าของสัตว์ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยยับยั้งสารประกอบ 48/80 เหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารฮิสตามีนจากแมสต์เซลล์ (Mast cell) ได้อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับผลต่อการเกิดแผลในกระเพาะอาหารนั้นพบว่า สารสกัดจากรากสามารถช่วยป้องกันการเกิดแผลจากเหล้าและยา indomethacin ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถช่วยลดปริมาณและความเป็นกรดของกระเพาะอาหารลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ในปีเดียวกัน Sen และคณะ (1993) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การปกป้องตับของสารสกัดจากรากขลุ่ย ในหนูทดลองที่ตับบาดเจ็บเฉียบพลัน (เกิดจากการเหนี่ยวนำคาร์บอนเตตระคลอไรด์) โดยพบว่าสามารถช่วยลดระดับของเอนไซม์ aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), serum alkaline phosphatase (ALP) และ bilirubin ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากรากขลุ่ยสามารถช่วยลดระยะเวลาการนอนหลับของหนูที่ได้รับสารเพนโทบาร์บิทอล (pentobarbitol) ได้อย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังช่วยลดระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับคาร์บอนเตตระคลอไรด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรากขลุ่ยในหลอดทดลองและในสัตว์ โดยใช้คาร์บอนเตตระคลอไรด์เหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการสลายไขมันและการเปลี่ยนแปลงกรดอะราคิโดนิคจากเอนไซม์ลิพอกซิจีเนส ซึ่งผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากรากสามารถช่วยลดการอักเสบและการสลายตัวของเม็ดเลือดแดงได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังพบด้วยว่าสารดังกล่าวสามารถช่วย

กำจัดอนุมูลอิสระได้มากกว่า B755c และฟีนีโดน (phenidone) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Sen et al., 2002)

Sen et al. (1996) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากขลุ้ในการยับยั้งปัจจัยกระตุ้นเกล็ดเลือดและยับยั้งการเกิดภาวะอาหารเสียหาย ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารสกัดจากขลุ้สามารถช่วยยับยั้งการอักเสบและลดอุบัติการณ์การเกิดกับทางเดินอาหารส่วนล่างเสียหายได้อย่างมีนัยสำคัญ

Thongpraditchote (1996) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้ต่อระบบประสาทของหนูทดลอง โดยพบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากรากขลุ้ (โดยการกิน) ในขนาด 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะมีการทำงานของระบบประสาทควบคุมการเคลื่อนไหวที่ทำงานเพิ่มขึ้น และช่วยลดระยะเวลาการนอนหลับของหนูที่ได้เพนโทบาร์บิทอลให้สั้นลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งขึ้นอยู่กับขนาดที่ได้รับ นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้ที่ให้ในหนูที่ได้รับเพนโทบาร์บิทอลจะลดลงเมื่อได้รับฟลูมาซีนิล (flumazenil) ทางหลอดเลือดดำ (1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) อย่างมีนัยสำคัญ และสารสกัดจากรากขลุ้ในขนาด 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และไดอะซีแพม (diazepam) ในขนาด 0.5-5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถลดพฤติกรรมความก้าวร้าวได้ตามขนาดที่ได้รับ โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากรากขลุ้ จะเกี่ยวข้องกับระบบกาบา (GABA system) ในสมอง อย่างไรก็ตามสารสกัดจากรากขลุ้จะไม่มีฤทธิ์ระงับการชักที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของเพนทิลเนเทรอะโซล (pentylentetrazole)

Muangman et al. (1998) ได้ทำการศึกษาการให้สารสกัดผงแห้งจากขลุ้ (สารสกัด 3.6 กรัม บรรจุในแคปซูล 12 แคปซูล) เพียงครั้งเดียว แก่อาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 15 คน และอีกกลุ่มคือผู้ป่วยที่ได้จากการสุ่มอีกจำนวน 30 คน (โดยอาจจะเป็นนิ้วที่ไตด้วยหรือไม่เป็นก็ได้) ที่ได้รับยาขับปัสสาวะ (hydrochlorothiazide 50 มิลลิกรัม) เพื่อใช้เป็นกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบ และวัดปริมาณของปัสสาวะที่ 6 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าอาสาสมัครที่สุขภาพดีจำนวน 53% และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการสุ่ม 23% มีการตอบสนองต่อฤทธิ์การขับปัสสาวะของขลุ้ ส่วนจำนวนผู้ที่มีการตอบสนองต่อยาขับปัสสาวะในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีคิดเป็น 87% และในผู้ป่วยคิดเป็น 67% ซึ่งจากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า จำนวนผู้ตอบสนองต่อสารสกัดจากขลุ้มีน้อยกว่ากลุ่มที่รับยาขับปัสสาวะ

ผลการวิจัยของ Andarwulan et al. (2553) ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบขลุ้มีฤทธิ์ที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของลิปิดได้ดีมาก ซึ่งนอกจากนี้แล้วได้มีรายงานทางเภสัชวิทยาหลายฉบับยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของใบขลุ้ สรุปสาระสำคัญโดยย่อได้ดังนี้ สารสกัดจากใบขลุ้ด้วยการแช่ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 2 วัน พบว่า มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และลดการปวดในสัตว์ทดลอง ซึ่งฤทธิ์ต้านการอักเสบจากการใช้สารสกัดใบขลุ้เฉพาะส่วนที่สามารถละลายได้ทั้งในเอทานอลและเอทิลแอลกอฮอล์สำหรับสารสกัดจากใบขลุ้ด้วยการแช่ในเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่ามีฤทธิ์ต้านโรควัณโรค

สำหรับความเป็นพิษของสารสกัดจากใบขลุ้ นั้น เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์องค์การอนามัยโลกจากค่า LD<sub>50</sub> หรือค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายลงครั้งหนึ่งของจำนวนเริ่มต้น พบว่า จัดอยู่ในระดับอันตรายน้อย เนื่องจาก มีรายงานผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากแคลลัสของใบขลุ้ที่ได้จากเลี้ยงในอาหารแข็งด้วย



เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ด้วยเมทานอล ในหนูขาวใหญ่ มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 2.825 มิลลิกรัม/1 กิโลกรัมน้ำหนักตัวหนูทดลอง

Srisook et al. (2021) รายงานฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากใบขลุ่ย พบว่าความเข้มข้นระดับ 12.5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง ความเข้มข้นที่มากกว่า 100-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การรอดของเซลล์ลดลงร้อยละ 54, 27 และ 26 เมื่อความเข้มข้นเป็น 100, 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ (apparatus)

- 1) ชุดอะลิบบิก
- 2) เครื่องอินดักทีฟพลาสมาอิมิซชันสเปกโทรโฟโตเมทรี (ICP-OES, iCAP7400 series, Thermo, USA)
- 3) เครื่องอะตอมมิคแอบซอร์บชันสเปกโทรโฟโตเมทรี (AAS, iseries, Thermo, England)
- 4) เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis, UV-1800, Shimadzu, Japan)
- 5) เครื่องย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ (PreKem, Toplex, China)
- 6) เครื่องชั่งไฟฟ้า
- 7) เครื่องหมุนเหวี่ยง
- 8) เต้าไฟฟ้า
- 9) เต้าอบไฟฟ้า

#### 3.2 สารเคมี (reagents) และวัตถุดิบ (raw materials)

- 1) Nitric acid ( $\text{HNO}_3$  70%w/w), MERCK
- 2) Hydrochloric acid (HCl, 37%w/w) MERCK
- 3) Hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30%w/w) MERCK
- 4) Gallic acid (MW.= 188.14)
- 5) Sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , MW.=105.99 g/mol) AR grade, MERCK
- 6) สารละลายมาตรฐาน เกรด ICP, Agilent
- 7) Folin & Ciocalteu's phenol reagent
- 8) 2,2-ไดฟีนิล-1-พิกริลไฮดราซิล, (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl,) (DPPH) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 9) สารละลายมาตรฐาน

#### 3.3 วิธีการทดลอง (methodology)

##### 3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ใบชู่ได้ทำการเก็บในพื้นที่ จ.สมุทรสงคราม โดยทำการคัดเลือกตามขนาดใบที่มีขนาดที่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรอบแห้ง เด็ดเฉพาะใบและยอดอ่อน ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาเพื่อกำจัดสิ่งเจือปน จากนั้นผึ่งให้แห้งในห้องอุณหภูมิปกติ ก่อนทำการสกัด ด้วยเครื่องอะลิบบิกต่อไป



ภาพที่ 3.1 ใบขลุ่ยสดล้างด้วยน้ำประปา



ภาพที่ 3.2 ใบขลุ่ยผึ่งให้แห้งในห้องอุณหภูมิ

### 3.3.2 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย

ชั่งน้ำหนักใบขลุ่ยด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ประมาณ 500 g บรรจุใส่ในส่วนที่อบบรรจุวัตถุดิบ เติมน้ำกลั่นในหม้อต้ม ประมาณ 3 ลิตร ประกอบเครื่องอะลิมบิกเข้าด้วยกันและต่อกับถังโม่ความเย็นสำหรับหล่อเย็นในส่วนที่อบควบแน่น ดังภาพที่ 3.3 จากนั้นให้ความร้อนหม้อต้มโดยระดับความร้อนระดับกลาง ถ้าให้ความร้อนมากเกินไป

จะทำให้น้ำระเหยเร็วเกินไป ทำการเก็บสารละลายที่ได้จากการควบแน่นทั้งหมด โดยทำการแบ่งเก็บทุก ๆ 10 นาที เพื่อจะเป็นแนวทางในการศึกษาปัจจัยระยะเวลาเก็บกับพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่สนใจศึกษาต่อไป



ภาพที่ 3.3 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบชา (ภาพโดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2564)

### 3.3.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent (FCR) อ้างอิงจากวิธีมาตรฐานของ ISO14502-1 (Determination of substances characteristic of green and black tea part 1: content of total polyphenols in tea-colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent)

#### 1) การเตรียมสารละลาย

- สารละลาย Folin ciocalteu reagent 10%v/v ปิดเปิด Folin ciocalteu reagent 20 mL ปรับปริมาตรเป็น 200 mL

- สารละลาย Sodium carbonate ชั่ง  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $37.5095 \pm 0.01$  g ในขวดปริมาตร 500 mL เติมน้ำอุ่นประมาณ 250 mL ละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  จนหมด ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 500 mL

- สารละลาย Stock ของกรดแกลลิก ชั่งกรดแกลลิก น้ำหนัก  $0.110 \pm 0.001$  ในขวดกำหนดปริมาตร 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ เตรียมเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.1

### ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายกรดแกลลิก

ขวดที่	ปริมาตร (mL)	ความเข้มข้น (as gallic equivalent)
A	1	11
B	2	22
C	3	33
D	4	44
E	5	55

#### 2) ขั้นตอนการทดลอง

1. เติมสารเคมี A-E และน้ำกลั่นเพื่อทำเป็นแบล็กในแต่หลอดทดลองอย่างละ 1.00 mL
2. เติมสารละลาย Folin ciocalteu reagent ปริมาตร 5.00 mL เขย่าจับเวลา 5 นาที
3. เติมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  4.00 mL ตั้งทิ้งไว้ 1 ชม. สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าถึงสีน้ำเงินตามปริมาณของฟีนอลิก แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm

#### 3.3.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

1) การเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 100 mg ascorbic acid C/L (Mw. 176.13 g/mol)

โดยชั่งกรดแอสคอร์บิก 0.0250 g ละลายน้ำในขวดกำหนดปริมาตรและปรับปริมาตรครบ 250 mL เก็บไว้ในขวดทึบแสง จากนั้นเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิก ที่มีความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 100 ppm โดยทำการปิเปตสารละลายกรดแอสคอร์บิก 100 ppm ปริมาตร 0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 และ 12.5 mL ตามลำดับปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำเป็น 10.00 mL

#### 2) ขั้นตอนการทดลอง

วัดสเปกตรัมของสารละลาย DPPH เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนสูงสุด ( $\lambda_{\text{max}}$ ) เติม 50  $\mu\text{L}$  ของสารละลายสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หรือสารตัวอย่าง ในสารละลาย DPPH 2.95 mL คนสารละลาย 15 วินาที ทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืดแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง

#### 3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักและแร่ธาตุ

##### 1) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักและธาตุต่างๆ จากสารละลายมาตรฐานแบบเดี่ยวและแบบผสม โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นตามช่วงที่กำหนดที่เหมาะสมกับการวัดด้วยเครื่องอินดักทีฟสเปกโทรสโกปีอินดักทีฟสเปกโทรโทเมทรี (ICP-OES, iCAP7400 series, Thermo, USA) โดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลาย  $\text{HNO}_3$  1% w/v

## 2) ขั้นตอนการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุในตัวอย่างน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยโดยวิธีอินดักทีฟฟลักซ์เพิล พลาสมาอิมิสชันสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยมีสภาวะการทดลอง ดังตารางที่ 3.2 โดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50.00 mL นำไปวัดค่าการเปล่งออกเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 3.2 สภาวะการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES

พารามิเตอร์	สภาวะการทดลอง
Instrument model	Thermo iCAP 7400 series
Viewing height	12 mm
Wavelengths (nm)	Radial mode: K (766.49 nm), Ca (422.673 nm), Mg (280.270 nm), Na (589.592 nm) Axial mode: P (213.618 nm)
Replicates	3
RF power	1150 W
Spray chamber	Cyclonic
Nebulizer flow	0.5 L/min
Plasma torch	Quartz, fixed, 3.0-mm injector tube
Replicate read time	50 sec per replicate
Plasma gas flow	12 L/min
Auxiliary gas flow	0.5 L/min
Sample aspiration rate	2.0 mL/min
Sample pump rate	25 rpm

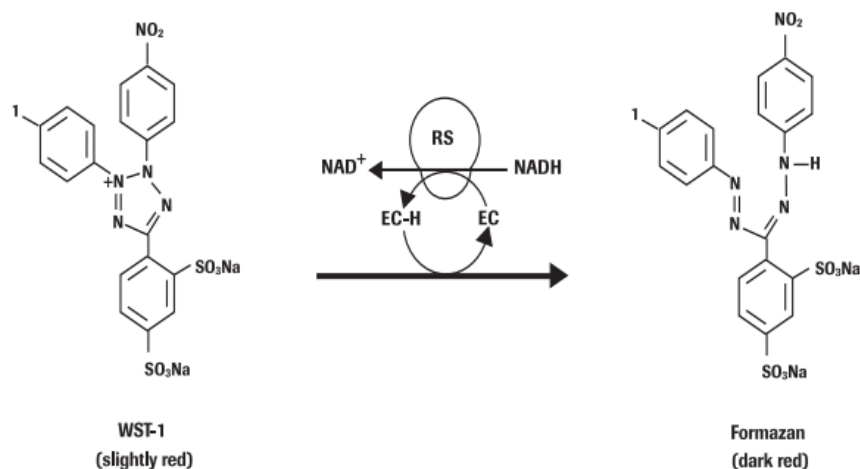
### 3.3.6 การทดสอบทางชีววิทยาและเภสัชวิทยา

#### 1) การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่ย

การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่ย โดยสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ทำการทดสอบความเป็นพิษตัวอย่างทดสอบ ต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง โดยมีวิธีการทดสอบดังนี้

##### 1.1) การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี WST-1 assay

วิธี WST-1 assay เป็นการวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณใช้ทดสอบเพื่อหาค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์ โดยตรวจจากการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase ที่อยู่ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ ที่สามารถรีดิวซ์สาร WST-1 (4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene sulfonate) ให้เกิดเป็นสารที่มีสมบัติสามารถละลายน้ำได้และเกิดสีจางขึ้นคือ WST-1 formazan โดยการวัดหาปริมาณ formazan ที่เกิดขึ้น ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430-450 นาโนเมตร



ภาพที่ 3.4 หลักการของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี WST-1 assay

## 1.2) การเตรียมตัวอย่างทดสอบและวิธีทดสอบ

1.2.1) การเตรียมตัวอย่างทดสอบ เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้มีความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0.78, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 และ 100% ด้วยวิธี 2-fold dilution

1.2.2) วิธีทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิด

นำเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่เพาะเลี้ยงในจานหลุม 96 หลุม (96-well plate) นำมาบ่มร่วมกับตัวอย่างทดสอบตามความเข้มข้นทั้ง 8 ระดับ โดยใช้วิธี WST-1 assay และมีกลุ่มควบคุมคืออาหารเลี้ยงเซลล์ และกลุ่มควบคุมบวกคือสาร sodium dodecyl sulfate (SDS) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร จากนั้นนำเซลล์กลับไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณ CO<sub>2</sub> ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาทำการดูดสารละลายตัวอย่างที่บ่มร่วมกับเซลล์ HaCaT ในจานหลุมออก จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และเติมสารละลาย WST-1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปบ่มตามสภาวะข้างต้นอีกเป็นระยะเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำเซลล์ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ซึ่งความเข้มสีที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต (cell viability) นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณอัตราร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ ดังนี้

$$\% \text{cell viability} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับการทดสอบ}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์กลุ่มควบคุมลบ}} \times 100$$

## 2) การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ

การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบในหลอดทดลอง โดยศูนย์วิจัยสุขภาพและความงามมาโนเช่ (เชียงใหม่) โดยมีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการทดสอบดังนี้

ละลายสารสกัดขลุ่ยด้วย Tween-20 20%w/w จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและดูส่วนในมาเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.625, 1.25, 2.50, 5.00 และ 10.00 mg/mL นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้บ่มกับอัลบูมินที่อุณหภูมิสูง ( $70 \pm 2$  องศาเซลเซียส) นาน 5 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อคำนวณปริมาณอัลบูมินที่สลายตัวเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน นำไปสร้างกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินกับความเข้มข้นของสาร จากนั้นหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (Chandra et al., 2012)

### 3.3.7 การพัฒนาสูตรโฟมล้างหน้า

สูตรโฟมล้างหน้าที่พัฒนาขึ้นเป็นสูตรลิขสิทธิ์เฉพาะของบริษัทกียรติ จำกัด จึงไม่สามารถเปิดเผยรายละเอียดทั้งหมดได้โดยส่วนประกอบหลักของโฟมล้างหน้าอย่างคร่าว ๆ คือ

#### 1) ส่วนประกอบของโฟม

1. สารชะล้าง ซึ่งเป็นแบบอ่อนโยน ได้แก่ cocamidapropyl betain โดยช่วงความเข้มข้นที่ใช้ อยู่ระหว่าง 2-5 %w/w
2. สารสกัดขลุ่ย (น้ำมันหอมระเหย) โดยเป็นสารสกัดจากใบขลุ่ยสดในเอทานอล 2-5 %w/w
3. น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย
4. สารเพิ่มฟอง 2-5 %w/w
5. สารสร้างโฟม 2-5 %w/w
6. EDTA 0.01 %w/w
7. สารเติมแต่ง เช่น วิตามินต่าง ๆ ในปริมาณไม่เกิน 1 %w/w

#### 2) ขั้นตอนการผลิตโฟมล้างหน้า

สูตรที่ 1 เติมสารชะล้างลงในภาชนะ เติมสารเพิ่มฟองและสารสร้างโฟม คนให้เข้ากัน เติมสาร EDTA และสารเติมแต่งตามปริมาณสูตร คนเบา ๆ เพื่อไม่ให้เกิดฟอง ไม่เติมสารกันเสีย สี หรือน้ำหอม และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (ใช้เป็นตัวทำละลาย)

สูตรที่ 2 มีองค์ประกอบเหมือนสูตรที่ 1 แต่ใช้น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเป็นตัวทำละลาย

สูตรที่ 3 มีองค์ประกอบเหมือนสูตรที่ 1 แต่มีการเติมสารสกัดจากขลุ่ยลงไป 5 %w/w และใช้ด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย

สูตรที่ 4 มีองค์ประกอบเหมือนสูตรที่ 1 แต่มีการเติมสารสกัดจากขลุ่ยลงไป 5 %w/w และใช้น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเป็นตัวทำละลาย



ตารางที่ 3.3 สูตรโฟมล้างหน้า

สูตร	ส่วนผสมหลัก	ตัวทำละลาย	สารเพิ่ม
1	✓	น้ำ	
2	✓	ไฮโดรโซลคลู่	
3	✓	น้ำ	สารสกัดจากขลุ่ 5 %w/w
4	✓	ไฮโดรโซลคลู่	สารสกัดจากขลุ่ 5 %w/w



ภาพที่ 3.5 อุปกรณ์การเตรียมโฟม (ภาพโดย สิริรัตน์ พานิช, 2564)



ภาพที่ 3.6 โฟมล้างหน้าจากสารสกัดขลุ่

### 3.3.8 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

#### 1) การเตรียมชุดทดสอบ

การเตรียมชุดทดสอบโพน้ทั้ง 4 สูตร โดยเริ่มจากการเตรียมชุดรหัสแบบทดสอบซึ่งเป็นเลขหกหลัก ตามโปรแกรมการทดสอบประสาทสัมผัส โดยหนึ่งชุดทดสอบจะมีรหัสแบบทดสอบหนึ่งรหัส และจะมีรหัสตัวอย่างทดสอบซึ่งเป็นเลขสามหลักของแต่ละสูตร โดยในโปรแกรมการทดสอบจะระบุลำดับการทดสอบแบบสุ่ม โดยผู้ทดสอบจะไม่ทราบว่าขวดโพน้แต่ละขวดเป็นสูตรใด

จากนั้นการเตรียมชุดทดสอบโพน้ทั้ง 4 สูตร ทำได้โดยการบรรจุโพน้ทั้ง 4 สูตรลงในพลาสติก (ภาพที่ 3.7) พร้อมติดฉลาก รหัสแบบทดสอบและรหัสสำหรับการทดสอบ และข้อมูลเกี่ยวกับสารสกัดขลุ้ (ภาพที่ 3.8)



ภาพที่ 3.7 ชุดทดสอบโพน้ล้างหน้า

**ขลุ้**

เป็นพืชที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ พบมากในบริเวณป่าชายเลน หรือที่มีน้ำจืดและน้ำเค็มมาบรรจบกัน เป็นพรรณไม้พุ่มขนาดเล็ก ขึ้นเป็นกอ แตกกิ่งก้านมาก ใบขลุ้มีกลิ่นหอม และสามารถนำมาบริโภคได้

จากรายงานวิจัยพบว่า **ขลุ้** มีสรรพคุณลดน้ำตาลในเลือด ขับปัสสาวะ มีฤทธิ์ในการต่อต้านการอักเสบ ลดอาการปวดหลัง ช่วยให้อาหารย่อยง่ายขึ้น แก้อาการท้องเสีย บรรเทาอาการไอ บำรุงผิวพรรณ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ: ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ: เกือบเท่าวิตามินซี 16 mg/g\*

สารต้านอนุมูลอิสระ: กลุ่มฟีนอลิก\*

แคลเซียม ราว 2\* และ วิตามินบี 2\*

ปราศจากคาเฟอีน

กลิ่นหอมสดชื่น

หมายเหตุ \*ข้อมูลได้จากการทดลองจริง

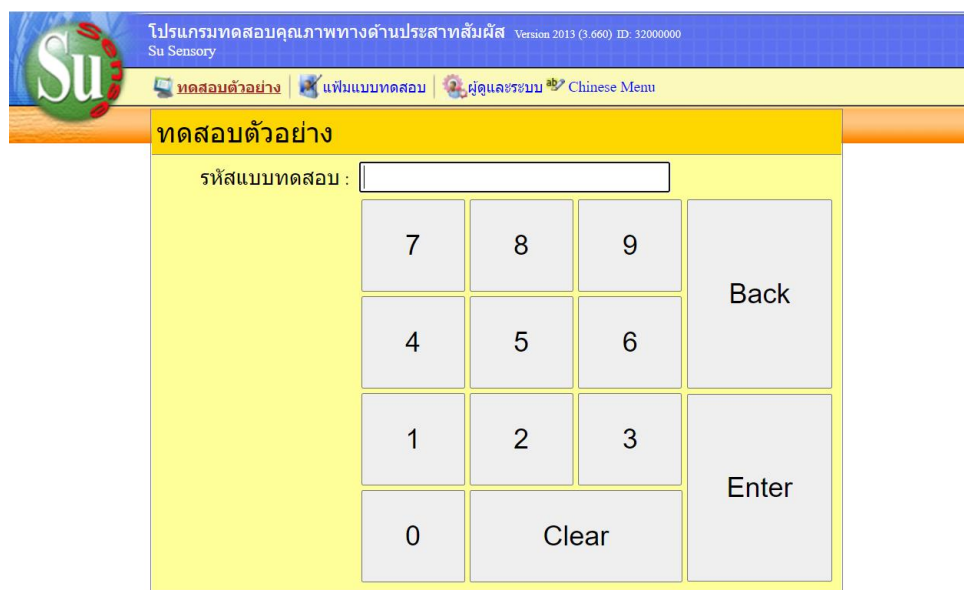
Nature-Life Balance

ภาพที่ 3.8 ข้อมูลแนะนำเพื่อการทดสอบทางประสาทสัมผัส

## 2) โปรแกรมบันทึกผลการทดสอบ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกลุ่มผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป “โปรแกรมทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส Version 2013 (3.660)” (ภาพที่ 3.5) โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

ก่อนการใช้งานโปรแกรมทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้มีการประชุมร่วมกับผู้เข้ารับการทดสอบทั้งหมดผ่านการประชุมออนไลน์ เพื่อเป็นการซักซ้อมความเข้าใจเกี่ยวกับการทดสอบและการบันทึกข้อมูลผลการทดสอบลงในโปรแกรม โดยชุดคำถามของการทดสอบ จะเป็นคำถามเกี่ยวกับความชอบและความรู้สึกต่อผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 3.9 หน้าแรกของโปรแกรมทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

## 3) ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

โดยใช้เกณฑ์การประเมินการยอมรับ ด้านสีโฟม กลิ่นโฟม ปริมาณฟองโฟมต่อ 1 ปี้ม ประสิทธิภาพในการทำความสะอาด ความชุ่มชื้นหลังล้าง และความชอบโดยรวม แบบวิธี 9-point hedonic scale โดยคะแนนเท่ากับ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด และคะแนนเท่ากับ 1 หมายถึงความไม่ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบ 30 คน

- ระดับความชอบ (การยอมรับ)
  - 1 = ไม่ชอบมากที่สุด
  - 2 = ไม่ชอบมาก
  - 3 = ไม่ชอบปานกลาง
  - 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
  - 5 = เฉยๆ
  - 6 = ชอบเล็กน้อย
  - 7 = ชอบปานกลาง

8 = ชอบมาก

9 = ชอบมากที่สุด

- ระดับความพอดี

1= อ่อนเกินไป

2= อ่อน

3= พอดี

4= เข้ม

5= เข้มเกินไป

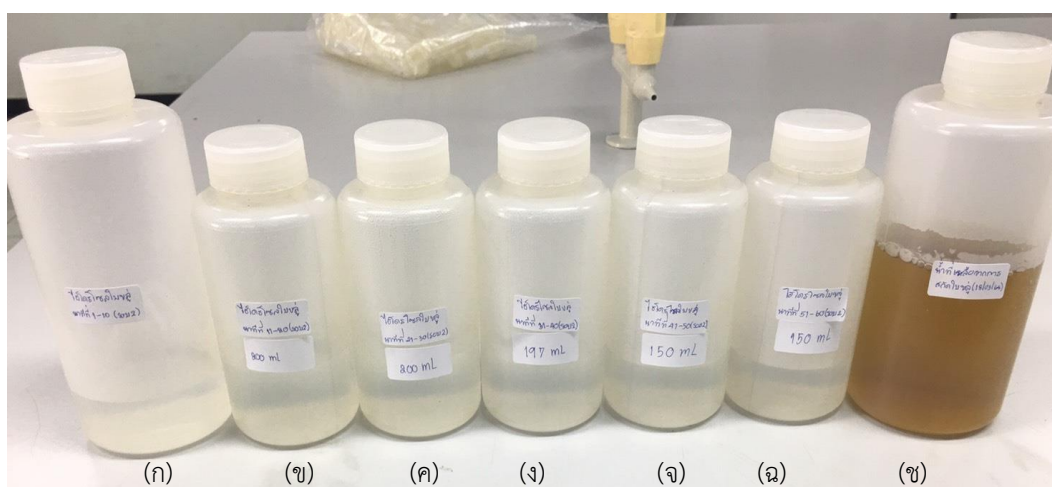
## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1 การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่

การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ (ไฮโดรโซล) ด้วยเครื่องอะลิบิก ทำการเก็บสารละลายที่ได้จากการควบแน่นทั้งหมด โดยทำการแบ่งเก็บตามช่วงเวลา (ตารางที่ 4.1) โดยเริ่มจากเวลาที่น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ลดแรกกลั่นตัวออกมา และทำการเก็บแยกทุก ๆ 10 นาที ดังภาพที่ 4.1 (ก-ฉ) จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างใบขลุ่สดที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว เมื่อผ่านกระบวนการสกัดโดยใช้เครื่องอะลิบิกแล้วพบว่าจะได้สารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ที่มีกลิ่นหอม โดยมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยเพียงเล็กน้อยจนไม่สามารถแยกออกมาได้ในปริมาณการสกัดที่น้อยกว่า 1000 mL สารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ จะมีสีเหลืองถึงน้ำตาลอ่อน แต่น้ำที่เหลือจากการสกัดจะมีสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 4.1 (ช)

ตารางที่ 4.1 ช่วงระยะเวลาเก็บและปริมาตรน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่

ระยะเวลาเก็บ (นาที)	ปริมาตรไฮโดรโซล (mL)
1-10 นาที	200
11-20 นาที	200
21-30 นาที	200
31-40 นาที	180
41-50 นาที	150
51-60 นาที	150
> 60 นาที	70 (น้ำที่เหลือจากการสกัด)



ภาพที่ 4.1 สารละลายไฮโดรโซลจากใบขลุ่เก็บที่ระยะเวลาต่างกัน (ก-ฉ) และน้ำที่เหลือจากการสกัด (ช)

#### 4.2 ผลการวิเคราะห์สารฟีนอลิกและสารสำคัญในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย

ทำการตรวจวัดสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกด้วย Liquid chromatography–mass spectrometry (LC/MS) โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (LC; Agilent technologies 1100 series, Germany) มีส่วนประกอบดังตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

ประเภท	สภาวะ
คอลัมน์ (วิญภาคอยู่กับที่)	Dionex C18, 3µm 4.6x150 mm
ตัวตรวจวัด	ไดโอดอาร์เรย์ (diode array) MS detector (Agilent technologies LC/MSD SL, USA)
วิญภาคเคลื่อนที่	แอซิโตนไทรล์ (5%) และ น้ำ กับ formic acid

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกด้วย LC-MS โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน L ascorbic, Gallic acid, Rutintrihydratate, Hesperidin, Gallo tannin, Cinramic, Quercetin, Eugenol, Estragole พบว่าสารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย ตรวจพบ สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเพียงชนิดเดียว คือ Cinramic โดยมีปริมาณเท่ากับ 0.113 มิลลิกรัมต่อกรัม ดังแสดงในตารางที่ 4.3

##### LC Parameters (acquisition starting conditions)

```
Total Runtime:      30.00 min

Acquisition Parameters:
  Runtime:           25.00 min
  Detector 1
  Slice Width:      1.0 points/s
  AutoZero:         On
  Start Delay:      0.00 min

Additional Pump Parameters:
  Pump 1: Agilent G1312A binary
  A: 95.0% Water add 0.01 Formic acid
  B: 5.0% CH3CN
  C: 0.0% CH3OH
  D: 0.0%

  Pump Runtime:     30.00 min
  Flow Rate:        0.300000 ml/min
  Min. Pressure:    0 bar
  Max. Pressure:    250 bar

Additional Oven Parameters:
  LC Column:        Dionex C18 3um 4.6 x 150 mm
  Column Port Number: 1

Additional Detector Parameters:
  Detector 1: Agilent DAD G1315B
  Offset: 0.00, InvertSignal: 0, Slicewidth: 0.00[points/sec]
  Autozero: 1, Spec Start: 190.00, Spec End: 1200.00, Start Delay: 0
  Data Channel: 1, DoReference: No, ReferenceStart: 254.00, ReferenceWidth: 10.00
  DoSaveSpectra: Yes, SaveInterval: 1, SaveType: 1
```

ภาพที่ 4.2 สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

**Signals**

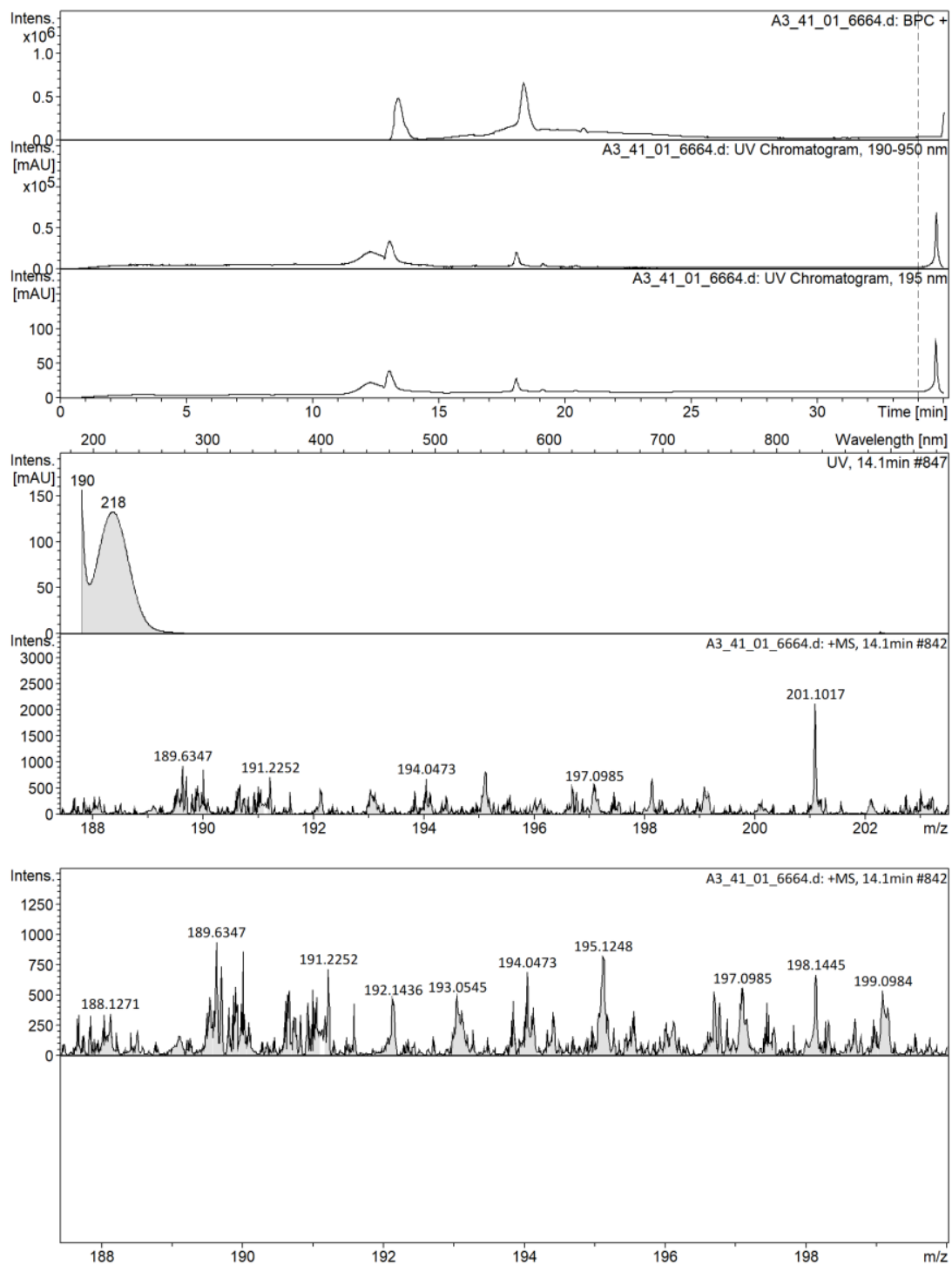
SIGNAL No.	Source	Wave. [nm]	Autodetection Parameters
1	Agilent DAD G1315B	195-600	Slope[mAU/sec]: 5.00 Peak Par. : 20.0 Threshold: 0.0 Smoothing : 2.0
2	Agilent DAD G1315B	210	Slope[mAU/sec]: 5.00 Peak Par. : 20.0 Threshold: 0.0 Smoothing : 2.0
3	Agilent DAD G1315B	254	Slope[mAU/sec]: 5.00 Peak Par. : 20.0 Threshold: 0.0 Smoothing : 2.0
4	micrOTOF series	Intervals: TIC,+All	Sensitivity : 5.0 Smoothing width: 20.0 Min Points: 20.0 Threshold: 0.0 Smoothing : 2.0
5	Agilent DAD G1315B	520	Slope[mAU/sec]: 5.00 Peak Par. : 20.0 Threshold: 0.0 Smoothing : 2.0

**LC Timetable**

Time	Function	Value
0.00	Flow Rate	0.30000
0.00	Solvent Mix	95.0 5.0 0.0 0.0
10.00	Solvent Mix	0.0 100.0 0.0 0.0
15.00	Solvent Mix	0.0 100.0 0.0 0.0
23.00	Solvent Mix	0.0 100.0 0.0 0.0
24.00	Solvent Mix	95.0 5.0 0.0 0.0
30.00	Solvent Mix	95.0 5.0 0.0 0.0

**ภาพที่ 4.3 (ต่อ) สภาวะเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง****ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์สารฟีนอลิกและสารสำคัญในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่**

ตัวอย่าง	ปริมาณ mg/g								
	L ascorbic	Gallic acid	Rutinrih ydrtate	Hesperidin	Gallo tannin	Cinramic	Quercetin	Eugenol	Estragole
ไฮโดรโซลจากใบขลุ่	-	-	-	-	-	0.113±0.001	-	-	-
น้ำที่เหลือจากการสกัด	-	-	-	1.42±0.0005	-	-	0.015±0.0005	-	--

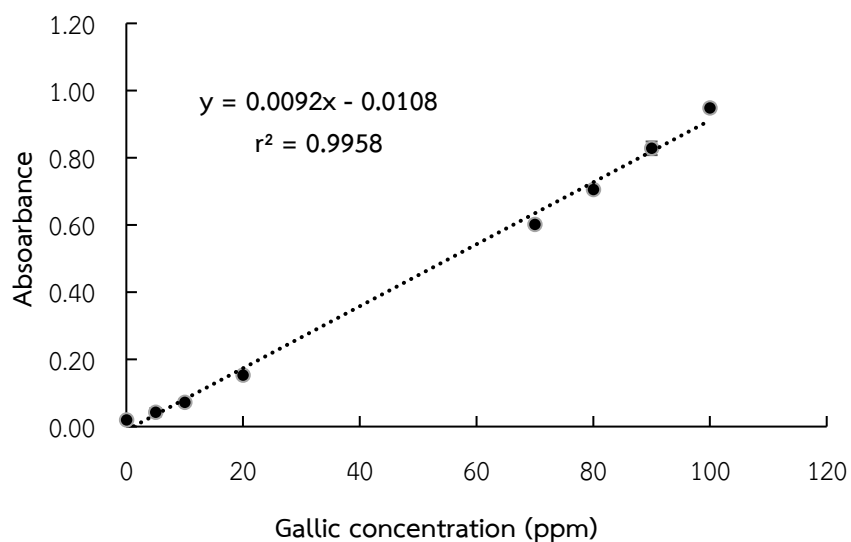


ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกรมของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย



### 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยที่สกัดมาได้ในเวลาที่แตกต่างกัน โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยห่างกันเป็นเวลา 10 นาที โดยทำการทดสอบเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid แสดงดังภาพที่ 4.4 และ 4.5



ภาพที่ 4.5 กราฟมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับสารละลาย FCR

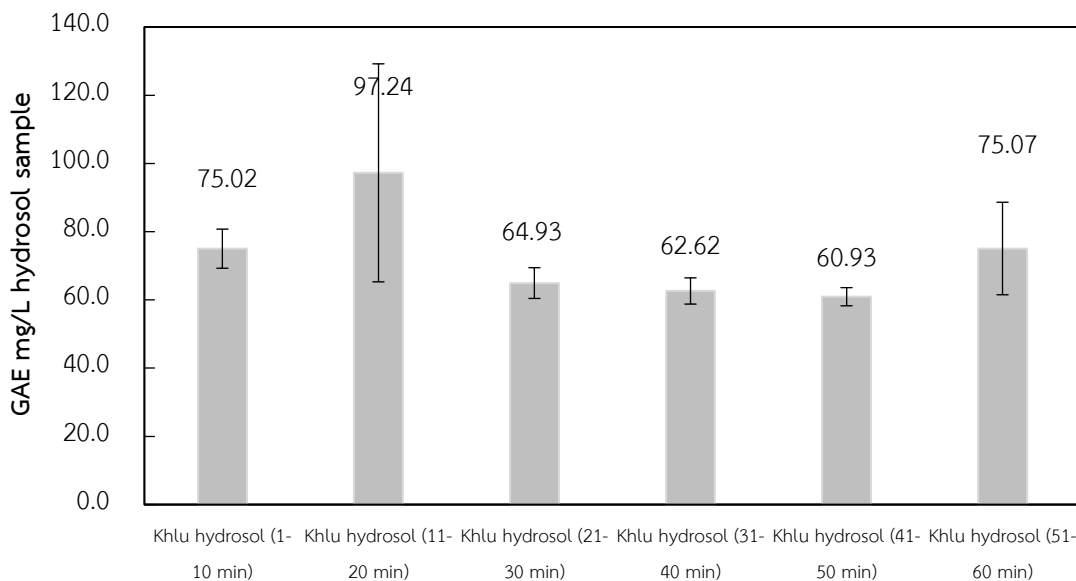


(ก)



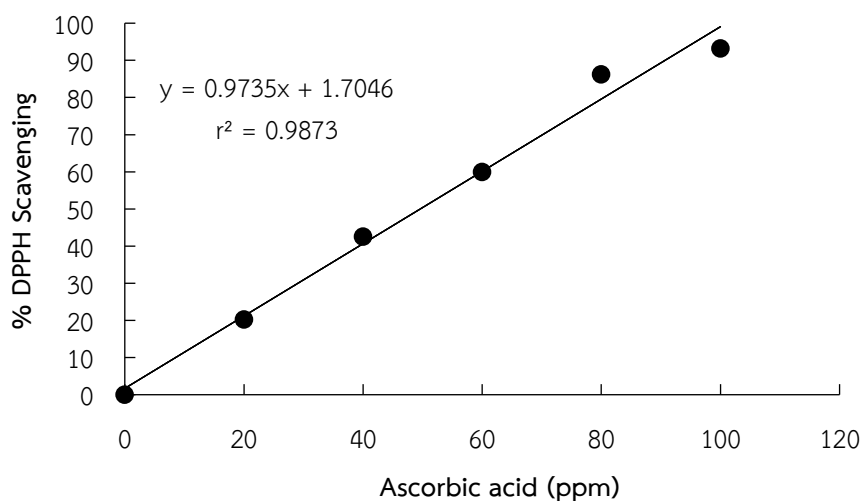
(ข)

ภาพที่ 4.6 สีของสารละลาย (ก) สารละลายมาตรฐาน gallic acid และ (ข) น้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย



ภาพที่ 4.7 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยที่เวลาที่แตกต่างกัน

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเก็บที่เวลาที่แตกต่างกัน จากการทดสอบจากสถิติพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p=0.08$  ทดสอบโดย anova: single factor

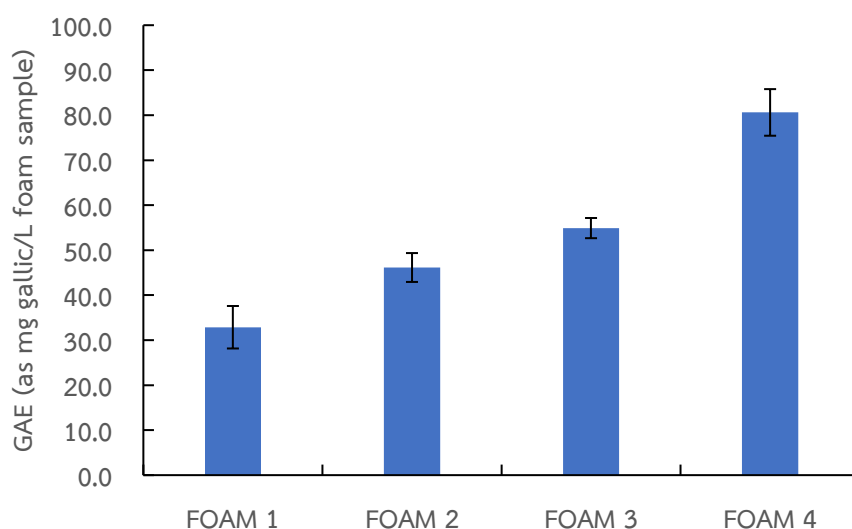


ภาพที่ 4.8 กราฟมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับ %DPPH scavenging ของสารละลาย DPPH

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสารสกัดจากขลุ้โดยวิธี DPPH จากการทดสอบพบว่าสารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ  $0.06 \pm 0.003$  Ascorbic eq/g sample

#### 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างโฟม

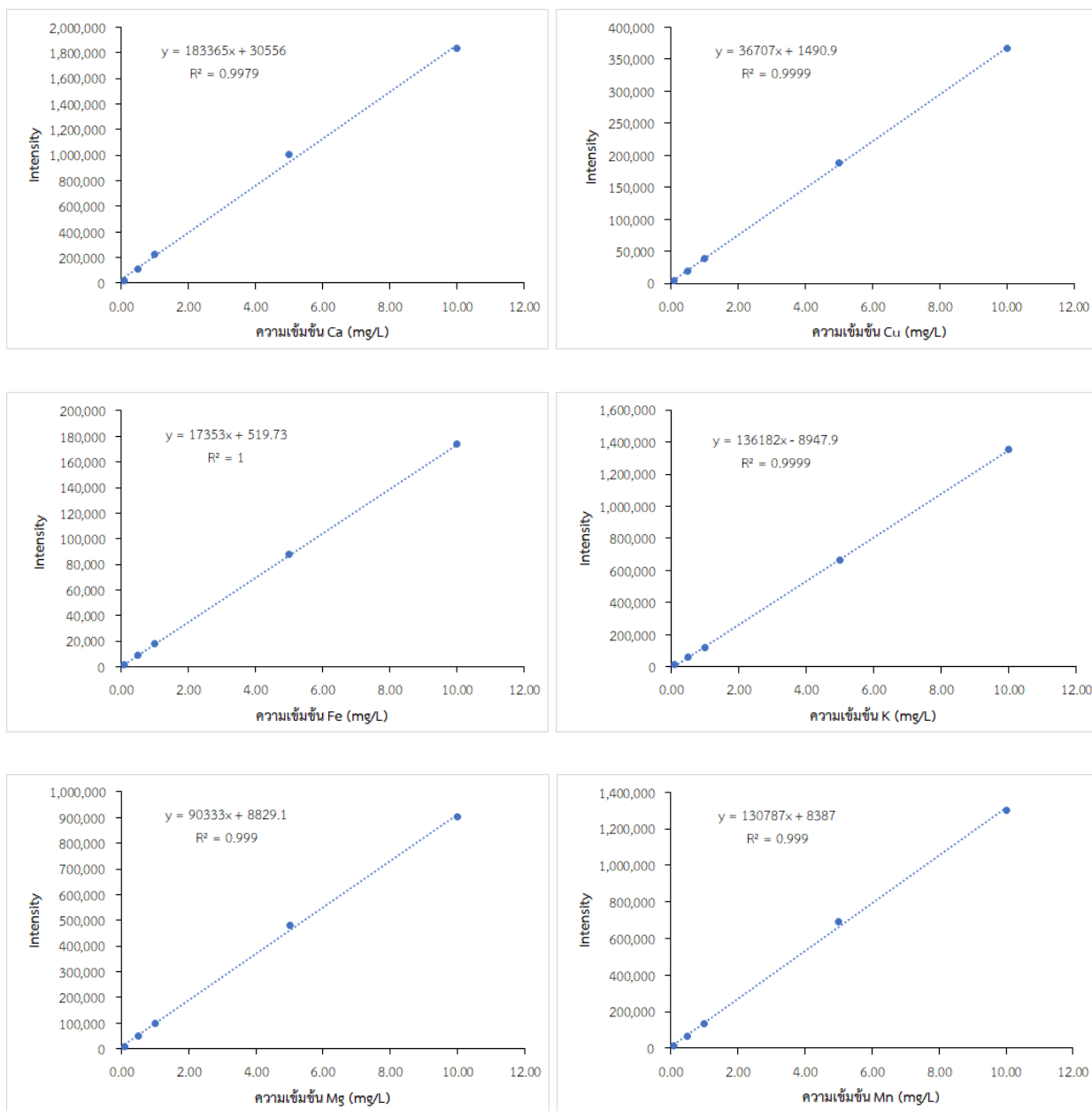
จากการพัฒนาสูตรโฟมล้างหน้าทั้ง 3 สูตรที่มีขลุ้เป็นส่วนประกอบ จากการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรควบคุม (ไม่มีน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้ และสารสกัดขลุ้) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.8) ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเพิ่มน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้และสารสกัดขลุ้ไปในองค์ประกอบของโฟม เช่น สูตรที่ 2 ซึ่งมีน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้เป็นองค์ประกอบ และสูตรที่ 3 ซึ่งมีสารสกัดขลุ้ในเอทานอลและสูตรที่ 4 เป็นสูตรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเนื่องจากมีองค์ประกอบของทั้งน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้และสารสกัดของขลุ้ในเอทานอล



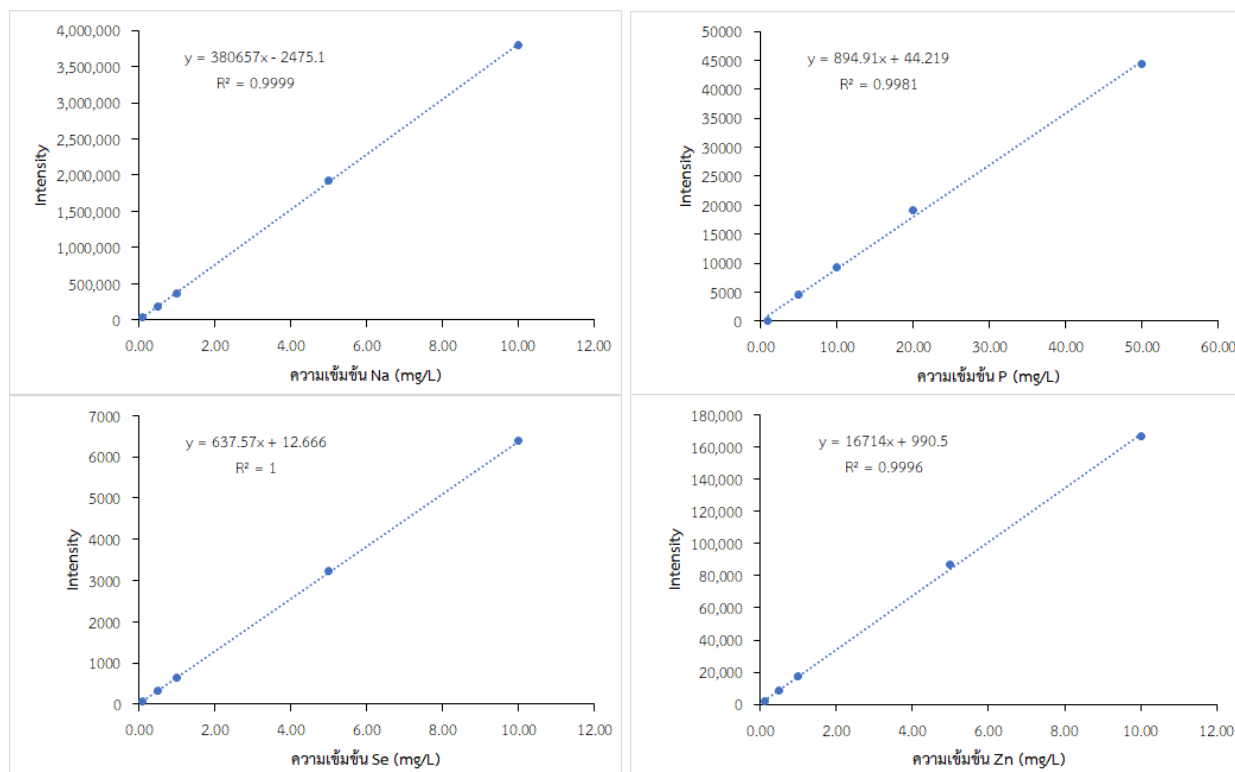
ภาพที่ 4.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในโฟมล้างหน้า

#### 4.3 ปริมาณแร่ธาตุและโลหะหนัก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างสารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้โดยวิธีอินดักทีฟสเปกโตรโฟโตเมทรี โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของธาตุที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลาย  $\text{HNO}_3$  1% w/v กราฟมาตรฐานแสดงดังภาพที่ 4.9 โดยนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50.00 mL นำไปวัดค่าการเปล่งออกเทียบกับกราฟมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุและโลหะหนักในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ้ แสดงดังตารางที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.10 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น



ภาพที่ 4.11 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (ต่อ)

#### ตารางที่ 4.4 ปริมาณแร่ธาตุในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย

เวลา (นาที)	ปริมาณ (mg/L)				
	Ca (422.6 nm)	Mg (285.21 nm)	K (766.49 nm)	Na (589.59 nm)	P (263.12 nm)
1-10	0.130±0.01	0.026±0.00	0.007±0.00	0.064±0.00	ND
11-20	0.272±0.01	0.456±0.01	0.067±0.00	0.492±0.00	ND
21-30	0.075±0.01	0.059±0.00	0.017±0.00	0.098±0.00	ND
31-40	0.044±0.01	0.045±0.00	0.006±0.00	0.091±0.00	ND
41-50	0.040±0.01	0.025±0.00	0.006±0.00	0.063±0.00	ND
51-60	0.034±0.01	0.016±0.00	0.004±0.00	0.055±0.00	0.111±0.00
61-80	0.031±0.01	0.021±0.00	0.004±0.00	0.050±0.00	0.102±0.00
120	0.025±0.01	0.047±0.00	0.003±0.00	0.046±0.00	0.105±0.00

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นผลการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย±SD), ND=non-detectable

ตารางที่ 4.5 ปริมาณธาตุโลหะหนักในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่

เวลา (นาที)	ปริมาณ (mg/L)				
	Cu	Fe	Mn	Se	Zn
1-10	4.183±0.19	ND	ND	ND	ND
11-20	1.632±0.11	ND	ND	ND	ND
21-30	1.402±0.12	ND	ND	ND	ND
31-40	1.506±0.14	ND	ND	ND	ND
41-50	1.932±0.20	ND	ND	ND	ND
51-60	3.353±0.09	ND	ND	ND	ND
60-80	3.471±0.22	ND	ND	ND	ND
120	4.048±0.46	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นผลการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย±SD), ND=non-detectable

จากผลการทดสอบปริมาณแร่ธาตุในสารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ จะพบว่าปริมาณของแร่ธาตุจะมีความแตกต่างกันของแต่ละช่วงเวลาในการเก็บ ซึ่งแนวโน้มของปริมาณแร่ธาตุจะเป็นในทิศทางเดียวกัน โดยจะพบปริมาณแร่ธาตุในช่วงเวลาการเก็บที่มีปริมาณสูงอยู่ในช่วง 30 นาทีแรก และจะน้อยลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยพบว่าปริมาณแร่ธาตุพบมากที่สุดในช่วง 20 นาที ดังนี้ Ca 0.272±0.01 mg/L, Mg 0.456±0.01 mg/L, K 0.067±0.00 mg/L และ Na 0.492±0.00 mg/L แต่กรณีของ P จะตรวจพบในช่วงการเก็บตั้งแต่วันที่ 60 นาที เท่ากับ 0.111±0.00 mg/L

#### 4.4 การทดสอบทางชีววิทยาและเภสัชวิทยา

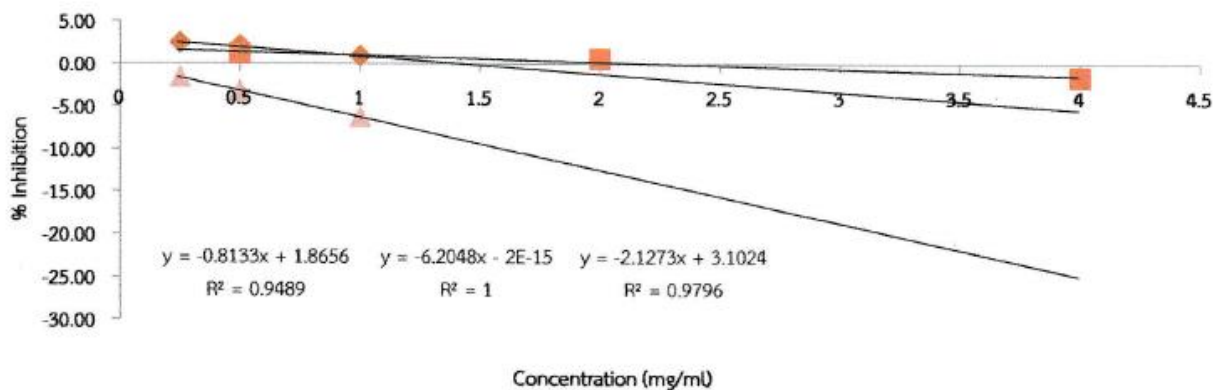
##### 4.4.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบในหลอดทดลอง

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดขลุ่ในเอทานอล จากสถาบันวิจัยสุขภาพและความงามมาโนเช่ จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า สารสกัดขลุ่ไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง ในขณะที่ diclofenac diethylammonium (ยาต้านการอักเสบ) มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยสามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (IC<sub>50</sub>) ที่ความเข้มข้น 0.61±0.02 mg/mL

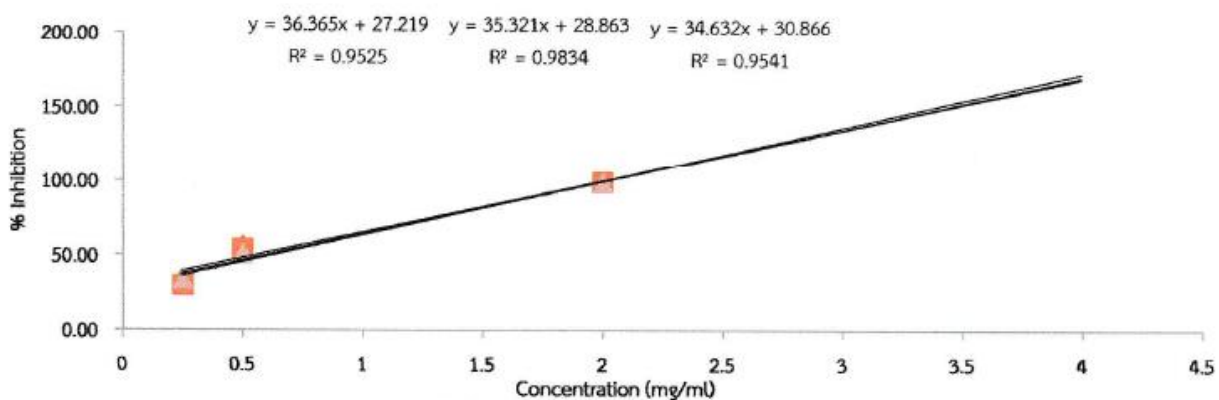
ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินของตัวอย่างในหลอดทดลอง

ตัวอย่างที่ทดสอบ	ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (IC <sub>50</sub> ; mg/mL)
สารสกัดขลุ่	NA
diclofenac diethylammonium	0.61±0.02

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นผลการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย±SD), NA=ไม่มีฤทธิ์



ภาพที่ 4.12 ร้อยละการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของสารสกัดขลุ่



ภาพที่ 4.13 ร้อยละการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมิน และความเข้มข้นของ diclofenac diethylammonium

#### 4.4.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบในเซลล์

การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่ในเอทานอล โดยสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ทำการทดสอบความเป็นพิษตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง สรุปได้ดังนี้

##### 1) ค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์

ผลการทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 15.0, 50.0 และ 100 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ผลแสดงดังตารางที่ 4.7 เซลล์ในกลุ่มควบคุมลบ คือเซลล์ที่ไม่ได้รับสารใด ๆ และถือว่ามีอัตราการรอดชีวิตเป็นร้อยละ 100 ในขณะที่เซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) เกิดความเป็นพิษและมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 37.86 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ และเซลล์กลุ่มที่ได้รับตัวอย่างทดสอบที่มีความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็นร้อยละ 25 เริ่มปรากฏความเป็นพิษ โดยมีอัตราการรอดชีวิตลดลงเป็นร้อยละ 60.13 และมีความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 100 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ

ร้อยละ 37.17 ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าร้อยละ 50 จากผลที่เกิดขึ้นสามารถคำนวณค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบที่ยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ลงครึ่งหนึ่ง (inhibitory concentration หรือ  $IC_{50}$ ) เท่ากับร้อยละ 39.05

ตารางที่ 4.7 ค่าความสัมพันธ์ของการรอดชีวิตของเซลล์

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ (%cell viability)
กลุ่มควบคุมลบ	-	100.00±0.000
กลุ่มควบคุมบวก : SDS	0.1	37.86±0.003
กลุ่มทดสอบ : สารสกัดขลุ่	0.78	98.43±0.003
	1.56	92.89±0.004
	3.12	85.97±0.016
	6.25	80.57±0.002
	12.5	76.60±0.004
	25.0	60.13±0.004
	50.0	40.88±0.006
	100	37.17±0.005
	$IC_{50}$	

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

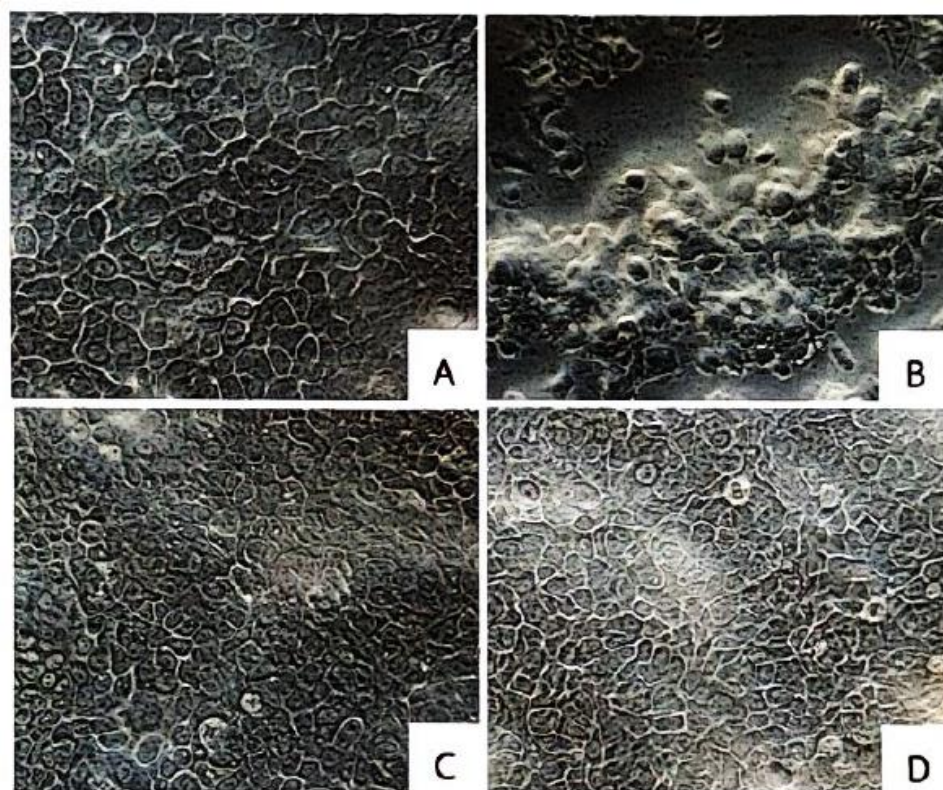
## 2) ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์

การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์กลุ่มควบคุมลบ กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดขลุ่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ (inverted microscope) กำลังขยาย 40 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 4.8 และ พบว่าเซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสาร SDS เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาอยู่ในระดับ 4 ซึ่งหมายถึงเกิดความเป็นพิษรุนแรง เซลล์กลุ่มทดสอบที่ได้รับตัวที่มีความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 และ 50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งจัดเป็นพิษปานกลางและเป็นพิษเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มข้นของสารทดสอบสารสกัดขลุ่ที่ต่ำกว่าร้อยละ 12.5 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ (score 0) ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ ดังภาพที่ 4.12

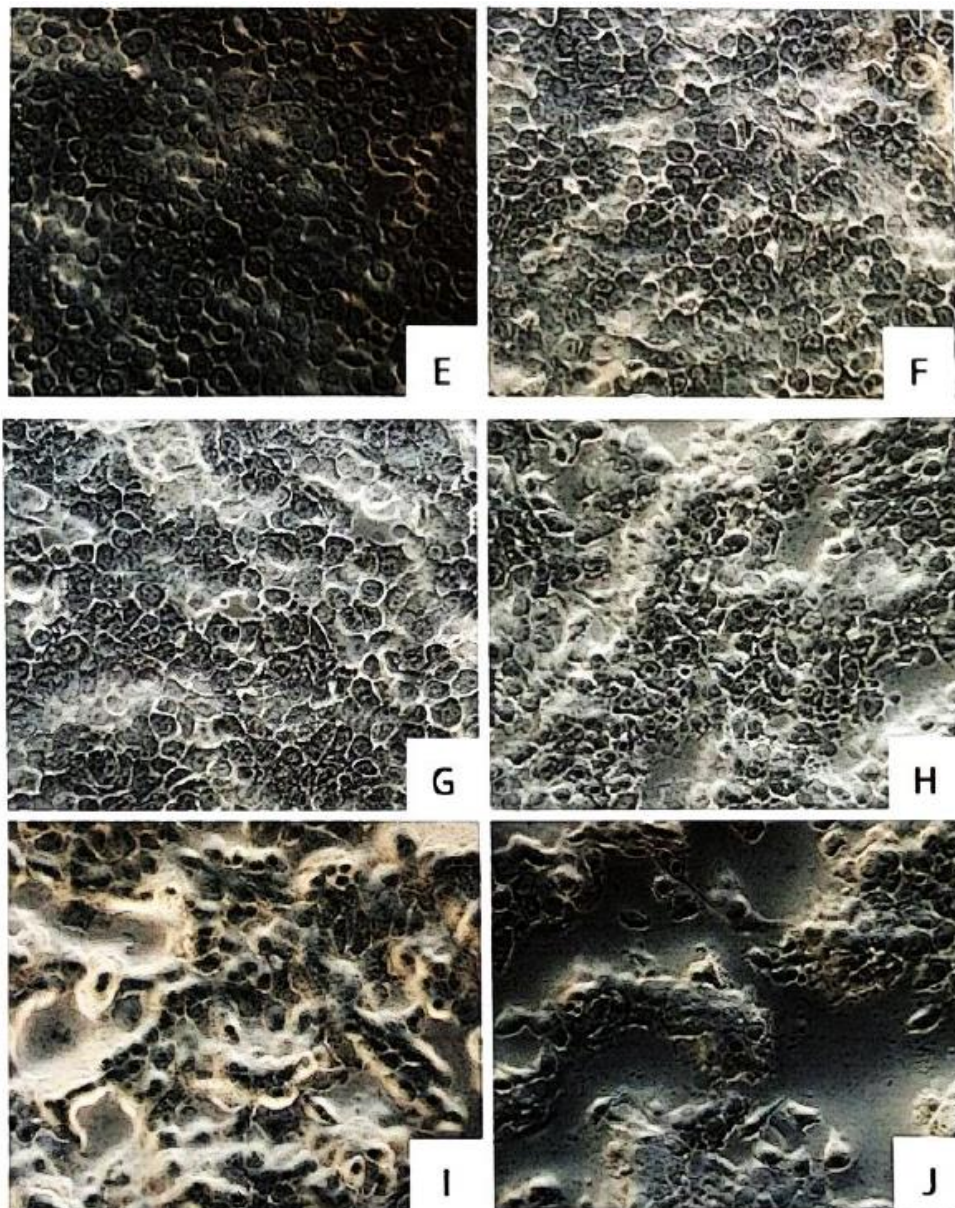


ตารางที่ 4.8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	Cell morphology scoring
กลุ่มควบคุมลบ	-	0
กลุ่มควบคุมบวก : SDS	0.1	4
กลุ่มทดสอบ : สารสกัดขลุ่	0.78	0
	1.56	0
	3.12	0
	6.25	0
	12.5	0
	25.0	2
	50.0	3
	100	4



ภาพที่ 4.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ



ภาพที่ 4.15 (ต่อ) ลักษณะพื้นฐานวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ (A) กลุ่มควบคุมลบ (B) กลุ่มควบคุมบวก (C) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 0.78 (D) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 1.56 (E) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 3.125 (F) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 6.25 (G) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 12.5 (H) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 25.0 (I) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 50 และ (J) เซลล์กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขลุ่ยร้อยละ 100

### 3) ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha และอัตราการยับยั้งเอนไซม์ TNF-alpha (%inhibition)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha (%inhibition) ของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ HaCaT หลังได้รับตัวอย่าง 24 ชั่วโมง และกระตุ้นทำให้เกิดการอักเสบด้วย Lipopolysaccharide (LPS) จากผลการทดสอบปริมาณของเอนไซม์ TNF-alpha และอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าตัวอย่างทดสอบที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6.25 ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha เท่ากับ 170.81 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 43.83

ตารางที่ 4.9 อัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha (pg/mL)	อัตราการยับยั้ง เอนไซม์ TNF- alpha (%inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	195.48±0.001	-
LPS (µg/mL)	10.00	304.08±0.038	-
D,L-1-acetoxychavicol acetate (ยาต้านอักเสบ)	1.000	113.69±0.006	62.61±0.003
กลุ่มทดสอบ :	1.56	258.88±0.009	14.86±0.010
สารสกัดขลุ่ (%)	3.12	194.65±0.025	35.99±0.020
	6.25	170.81±0.012	43.83±0.010

การทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบ คือสารสกัดขลุ่ต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ และตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ แต่ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 และ 50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่ระดับ 2 และ 3 มีความเป็นพิษปานกลางและมีความเป็นพิษสูงตามลำดับ และที่ความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง และมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่าร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>) และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับร้อยละ 39.05 ผลการวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha พบว่าตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 มีปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha เท่ากับ 170.81 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 43.83



#### 4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การศึกษาแนวทางการเป็นไปได้อันเนื่องจากการนำน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยไปทำเป็นเครื่องสำอาง และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ โดยทดลองในการปรับสูตรผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 4 สูตร และทำการทดสอบประสาทสัมผัส จากกลุ่มทดลองจำนวน 30 คน โดยผู้ทดสอบทั้งหมดเป็นนักศึกษาพยาบาล ระดับชั้นปีที่ 2 โดยแบ่งเป็นเพศชาย 8 คน และเพศหญิง 22 คน โดยที่ผู้ทดสอบไม่ทราบ ขวดทดสอบใดเป็นสูตรใด โดยที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาสูตรดังนี้

	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
วัตถุดิบหลัก	✓	✓	✓	✓
ตัวทำละลาย	น้ำ	ไฮโดรโซลขลุ่ย	น้ำ	ไฮโดรโซลขลุ่ย
สารเพิ่ม	-	-	สารสกัดขลุ่ย (5%)	สารสกัดขลุ่ย (5%)

ลักษณะสีของฟองโฟมของสูตรแต่ละสูตร แสดงดังภาพที่ 4.16 ซึ่งจะเห็นได้ว่า สูตร 1 (สูตรควบคุม) เป็นสูตรที่ไม่ได้พัฒนาให้แตกต่างจากสูตรที่จำหน่ายทั่วไป จะมีลักษณะสีโฟมเป็นฟองโฟมสีขาว เนื่องจากเป็นสูตรที่ใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ ดังนั้นจึงไม่มีสีของสารสกัดธรรมชาติ ในขณะที่สูตร 2 ใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย ซึ่งจะได้ฟองโฟมสีเหลืองอ่อน ซึ่งเป็นสีของสารละลายน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยส่วนสูตร 3 ฟองโฟมจะมีสีเหลือง เนื่องจากมีสารสกัดขลุ่ยผสมอยู่ และสูตร 4 ฟองโฟมจะออกเป็นสีเขียวอ่อน เนื่องจากมีส่วนผสมธรรมชาติของน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยและสารสกัดขลุ่ย



สูตร 1

สูตร 2

สูตร 3

สูตร 4

ภาพที่ 4.16 ลักษณะสีของฟองโฟม

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของโฟมล้างหน้า โดยผู้ทดสอบได้ทำการทดสอบบริเวณหลังมือเพื่อประเมินความพึงพอใจและความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์แต่ละสูตร แสดงดังภาพที่ 4.17



ภาพที่ 4.17 ลักษณะโฟมจากการทดสอบประสาทสัมผัส (ตัวอย่างผู้ทดสอบ 1)



ภาพที่ 4.18 ลักษณะโฟมจากการทดสอบประสาทสัมผัส (ตัวอย่างผู้ทดสอบ 2)

ผลการทดสอบการยอมรับคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้าโดยใช้เกณฑ์การประเมินการยอมรับ ด้านสี กลิ่น ปริมาณฟองโฟม ประสิทธิภาพการทำความสะอาด ความชุ่มชื้นหลังล้าง และความชอบโดยรวม แบบ วิธี 9-point hedonic scale โดยคะแนนเท่ากับ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด และคะแนนเท่ากับ 1 หมายถึงความไม่

ชอบมากที่สุด และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) แสดงในตารางที่ 4.10

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	2 = ไม่ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	5 = เฉยๆ	6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง	8 = ชอบมาก	9 = ชอบมากที่สุด

ตารางที่ 4.10 ค่าเฉลี่ยความชอบของผู้ประเมินผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้า (n=30)

สูตรโฟม ล้างหน้า	ระดับค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะ					
	ความชอบ โดยรวม	สีของโฟม	กลิ่นโฟม	ปริมาณฟอง โฟมต่อ 1 ปี้ม	ประสิทธิภาพ ในการทำ ความสะอาด	ความชุ่มชื้น หลังล้าง
1	6.53 <sup>c</sup> ±1.12	7.1 <sup>b</sup> ±1.03	6.2 <sup>c</sup> ±1.32	5.93 <sup>a</sup> ±1.02	6.3 <sup>a</sup> ±1.42	6.23 <sup>a</sup> ±1.03
2	6.3b <sup>c</sup> ±1.11	5.8 <sup>a</sup> ±1.14	5.37 <sup>ab</sup> ±1.42	5.83 <sup>a</sup> ±1.23	5.93 <sup>a</sup> ±1.16	6.0 <sup>a</sup> ±1.00
3	5.93 <sup>ab</sup> ±1.0	5.73 <sup>a</sup> ±1.12	5.27 <sup>ab</sup> ±1.33	5.87 <sup>a</sup> ±1.41	6.07 <sup>a</sup> ±1.19	6.2 <sup>a</sup> ±1.11
4	5.73 <sup>a</sup> ±1.65	5.8 <sup>a</sup> ±1.55	5.1 <sup>a</sup> ±1.22	5.83 <sup>a</sup> ±1.52	5.93 <sup>a</sup> ±1.08	6.33 <sup>a</sup> ±1.13

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ย (a,b,c,ab) ที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ )

จากประเด็นคำถามความพึงพอใจและระดับความชอบโดยรวม สรุปได้ดังนี้

1. สีของโฟม จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบปานกลาง สูตร 1 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด (7.1) มีระดับความชอบปานกลาง และสูตร 2, 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจเฉย ๆ โดยมีความพึงพอใจแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตร 1 เนื่องจากสีของฟองโฟมมีสีขาว ซึ่งเป็นสีที่กลุ่มผู้ทดสอบคุ้นเคยหรือเป็นสีที่ผลิตภัณฑ์ทั่วไปจำหน่ายในท้องตลาด ในขณะที่สูตร 2, 3 และ 4 จะมีสีเฉพาะตัวตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสูตรโฟม ข้อเสนอแนะในประเด็นสีของฟองโฟมมีจำนวนมากที่สอดคล้องกับระดับความพึงพอใจ เช่น สีดูไม่สะอาด ฟองโฟมไม่ขาว สีเหมือนผลิตภัณฑ์เสียหรือหมดอายุ สีไม่น่าใช้ เป็นต้น

2. กลิ่นโฟม จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย สูตร 1 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด (6.2) มีระดับความชอบเล็กน้อย และสูตร 2, 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจเฉย ๆ โดยมีความพึงพอใจแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตร 1 เนื่องจากสูตร 2, 3 และ 4 ใช้ส่วนผสมธรรมชาติของสารสกัดขมิ้น จึงทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสูตรโฟม และสูตร 4 มีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด (5.1) มีระดับความชอบเฉย ๆ ทั้งนี้สอดคล้องกับผลการประเมินสีของโฟม ข้อเสนอแนะในประเด็นกลิ่นโฟม เช่น กลิ่นไม่หอม ไม่มีกลิ่น กลิ่นเหม็น เป็นต้น

3. ปริมาณฟองโฟมต่อ 1 ปี้ม จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับเฉยๆ โดยที่ทั้ง 4 สูตร ระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ข้อเสนอแนะในประเด็นปริมาณฟองโฟม เช่น โฟมนุ่ม โฟมฟูตั้งยอด ปริมาณโฟมพอเหมาะกับการใช้ เป็นต้น

4. ประสิทธิภาพในการทำความสะอาด จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย โดยที่ทั้ง 4 สูตร ระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ข้อเสนอแนะในประเด็นประสิทธิภาพในการทำความสะอาด เช่น ล้างสะอาด ไม่เหลือคราบสกปรก ล้างออกง่าย สบายผิว เป็นต้น

5. ความชุ่มชื้นของผิวหลังล้าง จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับชอบเล็กน้อย โดยที่ทั้ง 4 สูตร ระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ข้อเสนอแนะในประเด็นความชุ่มชื้นของผิวหลังล้าง เช่น ผิวไม่แห้ง ผิวนุ่ม เป็นต้น

6. ความชอบโดยรวม จากผู้ประเมินพบว่า ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบปานกลาง สูตร 1 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด (6.5) มีระดับความชอบเล็กน้อย และสูตร 2 มีระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับสูตร 1 โดยที่สูตร 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจเฉยๆ โดยสูตร 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ ) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตร 1 ทั้งนี้เนื่องจากสีของฟองโฟมเป็นสำคัญ



## บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

### 5.1 อภิปรายผลการวิจัย

การเตรียมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย (ไฮโดรโซล) ด้วยเครื่องอะลิบิก ทำการเก็บสารละลายที่ได้จากการควบแน่นทั้งหมด โดยทำการแบ่งเก็บทุก ๆ 10 นาที ตัวอย่างใบขลุ่ยสดที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยมีกลิ่นหอม มีสีเหลืองถึงน้ำตาลอ่อน แต่น้ำที่เหลือจากการสกัดจะมีสีน้ำตาลเข้ม ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกด้วยเทคนิค LC-MS ในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย พบว่าตรวจพบสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเพียงชนิดเดียวคือ Cinramic โดยมีปริมาณเท่ากับ 0.113 มิลลิกรัมต่อกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยเก็บที่เวลาที่แตกต่างกัน จากการทดสอบจากสถิติพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยโดยวิธี DPPH จากการทดสอบพบว่าน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ  $0.06 \pm 0.003$  Ascorbic eq/g sample

การพัฒนาสูตรโพลีแลงหน้าทั้ง 4 สูตรที่มีน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยและสารสกัดจากใบขลุ่ยเป็นส่วนประกอบ จากการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสูตรควบคุม โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (ไม่มีน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยและสารสกัดจากใบขลุ่ย) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุดในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเพิ่มสารน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ยและสารสกัดจากใบขลุ่ยไปในองค์ประกอบของโพลี เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารสกัดธรรมชาติของขลุ่ย

ปริมาณแร่ธาตุในสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่ย จะพบว่าปริมาณของแร่ธาตุจะมีความแตกต่างกันของแต่ละช่วงเวลาในการเก็บ ซึ่งแนวโน้มของปริมาณแร่ธาตุจะเป็นในทิศทางเดียวกัน โดยจะพบปริมาณแร่ธาตุในช่วงเวลาการเก็บที่มีปริมาณสูงอยู่ในช่วง 30 นาทีแรก และจะน้อยลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยพบว่าปริมาณแร่ธาตุพบมากที่สุดในช่วง 20 นาที ดังนี้ Ca  $0.272 \pm 0.01$  mg/L, Mg  $0.456 \pm 0.01$  mg/L, K  $0.067 \pm 0.00$  mg/L และ Na  $0.492 \pm 0.00$  mg/L แต่กรณีของ P จะตรวจพบที่ช่วงการเก็บตั้งแต่เวลา 60 นาที เท่ากับ  $0.111 \pm 0.00$  mg/L

การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดขลุ่ย พบว่าสารสกัดขลุ่ยไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง ในขณะที่ diclofenac diethylammonium (ยาต้านการอักเสบ) มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยสามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (IC<sub>50</sub>) ที่ความเข้มข้น  $0.61 \pm 0.02$  mg/mL การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่ย ทดสอบความเป็นพิษตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 15.0, 50.0 และ 100 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เซลล์ในกลุ่มควบคุมลบ คือเซลล์ที่ไม่ได้รับสารใด ๆ และถือว่าไม่มีอัตราการรอดชีวิตเป็นร้อยละ 100 ในขณะที่เซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) เกิดความเป็นพิษและมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 37.86 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ และเซลล์กลุ่มที่ได้รับตัวอย่างทดสอบที่มีความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น

ร้อยละ 25 เริ่มปรากฏความเป็นพิษ โดยมีอัตราการรอดชีวิตลดลงเป็นร้อยละ 60.13 และมีความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 100 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับร้อยละ 37.17 ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าร้อยละ 50 จากผลที่เกิดขึ้นสามารถคำนวณค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบที่ยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ลงครึ่งหนึ่ง (inhibitory concentration หรือ  $IC_{50}$ ) เท่ากับร้อยละ 39.05 ผลการวิจัยสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Klaokwan, Suthasinee, & Ekaruth (2021) การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์กลุ่มควบคุมลบ กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดขลุ่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ กำลังขยาย 40 เท่า พบว่าเซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสาร SDS เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาอยู่ในระดับ 4 ซึ่งหมายถึงเกิดความเป็นพิษรุนแรง เซลล์กลุ่มทดสอบที่ได้รับตัวที่มีความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 และ 50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ในระดับ 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งจัดเป็นพิษปานกลาง และเป็นพิษเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มข้นของสารทดสอบสารสกัดขลุ่ที่ต่ำกว่าร้อยละ 12.5 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ (score 0) ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ การวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha (%inhibition) ของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ HaCaT หลังได้รับตัวอย่าง 24 ชั่วโมง และกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย Lipopolysaccharide (LPS) จากผลการทดสอบปริมาณของเอนไซม์ TNF-alpha และอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าตัวอย่างทดสอบที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6.25 ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha เท่ากับ 170.81 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 43.83

การประเมินการยอมรับและความพอดีคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้าโดยใช้เกณฑ์การประเมินการยอมรับ ด้านสี กลิ่น ปริมาณฟองโฟม ประสิทธิภาพการทำความสะอาด ความชุ่มชื้นหลังล้าง และความชอบโดยรวม แบบวิธี 9-point hedonic scale พบว่าความชอบโดยรวม ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย สูตรควบคุม (สูตร 1) มีค่าเฉลี่ยสูงสุด มีระดับความชอบเล็กน้อย และสูตร 2 มีระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับสูตรควบคุม โดยที่สูตร 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจเฉยๆ โดยสูตร 3 และ 4 ระดับความพึงพอใจแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p < 0.05$ ) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากคุณลักษณะสีฟองโฟมและกลิ่นโฟมเป็นสำคัญ ในขณะที่คุณลักษณะด้านปริมาณฟองโฟม ประสิทธิภาพการทำความสะอาด และ ความชุ่มชื้นหลังล้าง ความพึงพอใจระดับเฉยๆ ถึงชอบปานกลาง โดยที่ทั้ง 4 สูตร ระดับความพึงพอใจทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์โฟมล้างหน้าที่มีส่วนผสมน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบขลุ่หรือสารสกัดจากใบขลุ่ ต้องพิจารณาการปรับปรุงสีโฟมและกลิ่น ในการพัฒนาสูตรต้องเติมสารธรรมชาติชนิดอื่น ๆ เพื่อแต่งสีและกลิ่นของโฟมให้ตรงความต้องการของผู้บริโภค

## บรรณานุกรม

- กลุ่มวิเคราะห์อาหารและโภชนาการ กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2544). ตารางแสดง  
คุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย. โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก.
- ขลุ่ สรรพคุณและประโยชน์ของขลุ่ ต้นขลุ่ ใบขลุ่ 38 ข้อ. (2017). Medthai. <https://medthai.com/ขลุ่>  
ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ขลุ่ (ม.ป.ป.)  
<http://www.phargarden.com/main.php?Action=viewpage&pid=24>
- นวเรศ เหลืองใส. (2017, May 7). ขาใบขลุ่ จากดอกไม้ริมทาง สู้สมุนไพรลดน้ำตาล.  
<https://www.hfocus.org/content/2017/06/14063>.
- ยุทธนา สุดเจริญ. (2553). รายงานการวิจัยเรื่องการประเมินคุณประโยชน์ผักและสมุนไพรพื้นบ้านจังหวัด  
สมุทรสงคราม. [www.ssuir.ssru.ac.th/bitstream/ssuir/320/1/049-53.pdf](http://www.ssuir.ssru.ac.th/bitstream/ssuir/320/1/049-53.pdf)
- ลักคณา เจริญใจ. (ม.ป.ป.) ขลุ่. <http://www.phargarden.com/attachments/article-20110302101013.pdf>
- สุภัค ภิรมย์. (2551). 97 สมุนไพรใกล้ตัว เสริมสุขภาพและความงาม. พิมพ์ครั้งที่ 3. ไทยควอลิตี้บุ๊กส์.
- สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน). (ม.ป.ป.) *โครงสร้างห่วงโซ่อุปทานของธุรกิจชาขลุ่*.  
ใน: *โครงการพัฒนาระบบและเครือข่ายฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพระดับประเทศ ปี 2555*.  
<http://www.thaibiodiversity.org/UploadFile/KMFile/TeaSCM>
- สำนักงานอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและ  
สิ่งแวดล้อม. (2552). *พืชในป่าชายเลนของประเทศไทย*. โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก
- อรทัย เนียมสุวรรณ, นฤมล เสงี่ยม, กรกนก ยิ่งเจริญ, และพัชรินทร์ สิงห์ดำ. 2555. พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของ  
พืชกินได้จากป่าชายเลนและป่าชายหาด บริเวณคาบสมุทรสทิงพระ จังหวัดสงขลา. *วารสารวิทยาศาสตร์*  
*มข*, 40(3), 981-991
- Ahem, S.A., & Kamel, E.M. (2013). Phenolic constituents and biological activity of the genus  
*pluchea*. *Der Pharma Chemica*, 5(5), 109-114.
- Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R.A., Rahmat, H., Roto, A.V., Bolling, & B.W. (2012).  
Polyphenols, carotenoids and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal*  
*of Functional Foods*, 4,339-347. doi:10.1016/j.jff.2012.01.003.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B., & Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and  
antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121, 1231–1235.
- Biswas, R., Dutta, P.K., Achari, B., Bandyopadhyay, D., Mishra, M., Pramanik, K.C., & Chatterjee, T.K.  
(2007). Isolation of pure compound R/J/3 from *Pluchea indica* (L.) Less. and its anti-  
amoebic activities against *entamoeba histolytica*. *Phytomedicine*, 14, 534-537.
- Buapool, D., Mongkol, N., Chantimal, J., Roytrakul, S., Srisook, E., & Srisook, K. (2012). Molecular  
mechanism of anti-inflammatory of *Pluchea indica* leaves in macrophages RAW264.7 and

- its action in animal models of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 495-504. doi.org/10.1016/j.jep.2013.01.0140
- Chaiyasit, S. (2009). *In vitro* antimicrobial activity of *Pluchea indica* aqueous extract: The potential for urinary tract infection treatment. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4, 87-90.
- Cho, J.J., Cho, C.L., Kao, C.L., Chen, C.M., Tseng, C.N., & Lee, Y-Z. (2012). Crude aqueous extracts of *Pluchea indica* (L.) less. inhibit proliferation and migration of cancer cells through induction of p53-dependent cell death. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 265-276.
- Mohamad, S., Zin, N.M., Wahab, H.A., Ibrahim, P., Sulaiman, S.F., & Zuhariluddin, A.S.M. (2011). Antituberculosis potential of some ethanobotanically selected Malaysian plants. *Journal of Entomology Pharmacology*, 133,1021-1026. doi:10.1016/j.jep.2010.11.037.
- Mori, H., Tanaka, T., Shima, H., Kuniyasu, T., & Takahashi. (1986). Inhibitory effect of chlorogenic acid on methylazoxymethanol acetate-induced carcinogenesis in large intestine and liver of hamsters. *Cancer Letter*, 30, 49-54
- Pramanik, C.H., Biswas, R., Mitra, A., Bandyopadhyay, D., Mishra, M., & Chatterjee, T.K. (2007). Tissue culture of the plant *Pluchea indica* (L.) Less. and evaluation of diuretic potential of its leaves. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 7(2), 197-204.
- Rosilda, A.H., Erazuliana, A.K., & Zuraini, N. (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the ethanolic extract of *Pluchea indica* (L) Less. leaf. *Pharmacogyonline*, 2, 349-360.
- Sen, T., Basu, A., Ray, R.N. & Chaudhuri, A.K.N. (1993). Hepatoprotective effect of *Pluchea indica* (Less.) extract in experimental acute liver damage in rodents. *Phytotherapy Research*, 7, 352-355.
- Sen, T. & Chaudhuri, A.K.N. (1991). Anti-inflammatory evaluation of a *Pluchea indica* root extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 19, 379-383.
- Sen, T., Dhara, A.K., Bhattacharjee, S., Pal, S. & Chaudhuri, A.K.N. (2002). Antioxidant activity of the methanol fraction of *Pluchea indica* root extract. *Phytotherapy Research*, 16, 331-335.
- Shannon, M.C., & Grieve, C.M., (1999). Tolerance of vegetable crop to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 5-38. doi: 10.1016/S0304-4238(98)00189-7.
- Srisook, K., Buapool, D., Boonbai, R., Simmasut, P., Charoensuk, Y., & Srisook, K. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Pluchea indica* Less herbal tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 4077-4081. doi:10.5897/JMPR12.773.

- Srisook, K., Jinda, S., & Srisook, E. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Pluchea Indica* leaf extract in TNF- $\alpha$  -induced human endothelial cells. *Walailak Journal of Science and Technology*, 18(10), 10271
- Uchiyama, T., Miyase, T., Ueno, A., & Usmanhany, K. (1991). Terpene and lignan glycosides from *Pluchea indica*. *Phytochemistry*, 30(2), 655-657.
- U.S. Department of Agriculture: Handbooks 8-1 to 8-21: Composition of food raw, processed, prepared. Washington, DC. 1972-1991. U.S. Government Printing Office.
- Ye, J.C., Hsiao, M.W., Hsieh, C.H., Wu, W.C., Hung Y.C., & Chang, W.C. (2010). Analysis of caffeic acid extraction from *Ocimum gratissimum* Linn. by high performance liquid chromatography and its effects on a cervical cancer cell line. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 49(3), 266-271.

ภาคผนวก



## รายงาน

คนส. 136/64, รหัส 02-07-64

การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่

เสนอ

มทร.พระนคร 64110506 วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ

โดย

ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร  
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย  
(วว.) **ทว. TISTR**

สิงหาคม 2564

ผลการวิเคราะห์ทดสอบนี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการวิเคราะห์ทดสอบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการวิเคราะห์ทดสอบไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

๓๕ หมู่ ๓ เทคโนโลยีธานี คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐

โทร.(๖๖) ๐ ๒๕๖๗ ๕๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๖๗ ๕๐๐๕

E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th



## รายงาน

เรื่อง	การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดขลุ่
ชนิดตัวอย่างทดสอบ	สารสกัดจากพืช
ลักษณะตัวอย่างทดสอบ	ของเหลว สีเขียวน้ำตาล
เลขที่คำขอบริการ	คนส. 136/64, รหัส 02-07-64
ผู้ขอบริการ	มทร.พระนคร 64110506 วรวิทย์ จันทรสุวรรณ
วันที่ได้รับตัวอย่างทดสอบ	6 กรกฎาคม 2564
วันที่ทำการทดสอบ	12 กรกฎาคม 2564
การทดสอบเลขที่	C018/64
วิธีการทดสอบ	WST-1 Assay, ELIZA assay

### สรุปผลการทดสอบ

การทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดขลุ่ต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราตินไนไซด์ (HaCaT) ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ และตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ แต่ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 และ 50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ score 2 และ 3 มีความเป็นพิษปานกลางและมีความเป็นพิษ ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง และมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบ ที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ (inhibitory concentration; IC<sub>50</sub>) เท่ากับ ร้อยละ 39.05 ± 0.01 ผลการวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha (%Inhibition) พบว่า ตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 มีปริมาณ TNF- alpha เท่ากับ 170.81 ± 0.012 พิโกกรัมต่อ มิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha สูงที่สุด เท่ากับ 43.83 ± 0.010 เปอร์เซ็นต์



ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว-TISTR

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

๓๕ หมู่ ๓ เทคโนโลยีธานี คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐

โทร (๖๖) ๐ ๒๕๗๗ ๕๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๗๗ ๕๐๐๕

E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th





ก. ก.

ดร.กัญญาณัฐ แก้วเอียด  
(Ph.D. Pharmaceutical Sciences)  
ผู้ปฏิบัติการทดสอบ

82/2

ดร.ธัญชนก เมืองมัน  
(Ph.D. Biopharmaceutical Sciences)  
ผู้ประเมินผลการทดสอบ



นางศรัณย์ทิพย์ ทิพย์ทิพย์เทศ  
ผู้อำนวยการ  
ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร  
ผู้รับรอง

วันที่ 17 / ๙.๓. / ๒๕๖4

ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

## การทดสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดขลุ้

### 1. วัสดุและอุปกรณ์

#### 1.1 สารเคมี-สารละลาย

- 1) ตัวอย่างทดสอบ คือ สารสกัดขลุ้
- 2) WST-1 Reagent, บริษัท Roche Applied Science ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี
- 3) Modified Dulbecco's PBS (DPBS)บริษัท Biowest ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส
- 4) ATCC-formuated MEM และ DMEM บริษัท Biowest ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส
- 5) Fetal bovine serum (FBS), บริษัท Gibco ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 6) Antibiotic/Antimycotic, บริษัท Gibco ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 7) Trypsin-versene (Trypsin / EDTA, เข้มข้น 0.25%), บริษัท Gibco ประเทศแคนาดา
- 8) ชุดทดสอบ Human TNF alpha ELISA Kit บริษัท Abcam ประเทศสหรัฐอเมริกา

#### 1.2 เซลล์ทดสอบ

- 1) เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราตินไซโต (HaCaT) จาก American Type Culture Collection , ประเทศเยอรมนี

#### 1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) อุปกรณ์เลี้ยงเซลล์ชนิด 96-well Microtiter plate, บริษัท Corning, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 2) อุปกรณ์ดูด-ปล่อยสารแบบอัตโนมัติ (auto-pipette),บริษัท GILSON, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3) ตู้บ่มเลี้ยงเซลล์ชนิด CO<sub>2</sub> incubator, บริษัท SHEL LAB, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 4) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge) บริษัท Kubota, ประเทศญี่ปุ่น
- 5) กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ บริษัท Carl Zeiss Microscopy รุ่น ZEISS Axio Vert.A1 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 6) เครื่องวัดการดูดกลืนแสงสำหรับ 96-well plate (Micro-plate reader), บริษัท TECAN รุ่น infinite M nano, ประเทศออสเตรีย
- 7) แผ่นกรองเชื้อสำหรับใช้กับหลอดฉีดยา (Sterile syringe filter), บริษัท Corning, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8) หลอดบรรจุสารสำหรับปั่นเหวี่ยง (Micro-centrifuge tubes), บริษัท Axygen, ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 9) ตู้ปฏิบัติงานด้านชีววิทยาระบบปลอดภัย (Biological Safety Cabinet, Class II), บริษัท SANYO, ประเทศญี่ปุ่น

ผลการทดสอบวิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.



วว·TISTR

## 2. วิธีการทดสอบ

### 2.1 หลักการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี WST-1 assay

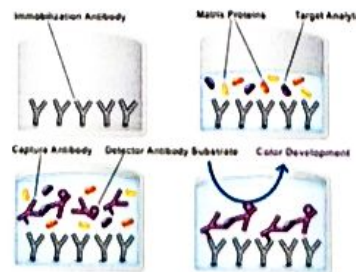
WST-1 assay เป็นการวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ ใช้ทดสอบเพื่อหาค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) โดยตรวจจากการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase ที่อยู่ใน mitochondria ของเซลล์ ที่สามารถรีดิวส์สาร WST-1 (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) ให้เกิดเป็นสารที่เกิดสีที่เรียกว่า tetrazolium dye ที่มีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ (water soluble tetrazolium salts; WST-1 formazan ดังแสดงในรูปที่ 1) โดยการวัดหาปริมาณ formazan ที่เกิดขึ้น ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือ optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 430-450 นาโนเมตร



รูปที่ 1. แสดงหลักการของ WST assay

### 2.2 หลักการวิเคราะห์สารสื่ออักเสบ TNF-alpha

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) เป็น cytokine ชนิดหนึ่งซึ่งปัจจุบันนี้พบว่า TNF- $\alpha$  มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับหลายขบวนการ เช่น มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ ระบบภูมิคุ้มกัน (immunity), และ กระบวนการอักเสบ (inflammation), ความคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า TNF- $\alpha$  เกี่ยวข้องกับการเกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ด้วย TNF-alpha Human SimpleStep<sup>®</sup> ELISA Kit อาศัยหลักการตรวจสอบโดยเทคนิค ELISA โดยการจับกันของ antibody และตัวอย่างทดสอบที่เป็นสารละลายภายในหลุมทดสอบ จากนั้นทำการใส่ substrate ลงในหลุมทดสอบ เมื่อ substrate ถูกย่อยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีภายในหลุมทดสอบ วัดค่าการเปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร



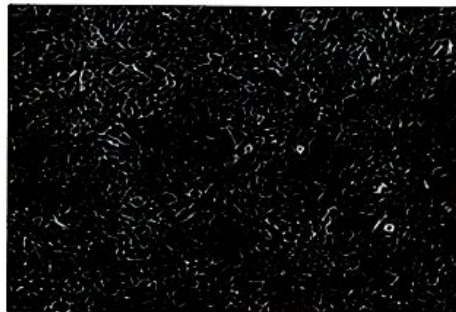
รูปที่ 2. หลักการของ TNF-alpha ELISA

ผลการทดสอบวิเคราะห์นี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว



### 2.3 การเพาะเลี้ยงเซลล์

เพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่เติม fetal bovine serum (FBS) เข้มข้นร้อยละ 10 และเติมยาต้านจุลชีพ ได้แก่ penicillin-streptomycin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในภาชนะภาดหลุมชนิด 96-well plate โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์เท่ากับ  $2 \times 10^5$  เซลล์/หลุม นำเซลล์บ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเติบโตของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ ปรากฏลักษณะของเซลล์ดังแสดงในรูปที่ 3.



รูปที่ 3. แสดงลักษณะเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT)

### 2.4 การเตรียมตัวอย่างทดสอบและวิธีการทดสอบ

#### 2.4.1 การเตรียมตัวอย่างทดสอบ

เจือจางสารละลายที่เตรียมได้นี้ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้ได้ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ คือ 0.78, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี 2-fold dilution



รูปที่ 4. แสดงตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดขลุ้

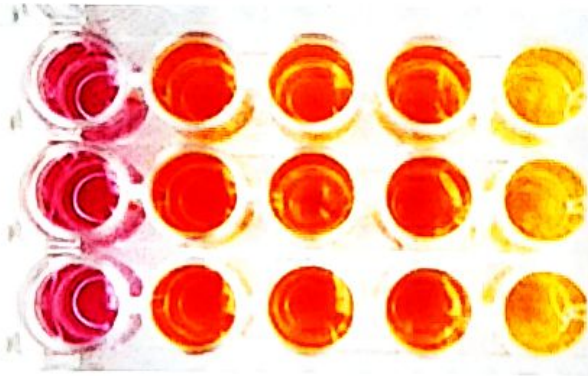
ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.



#### 2.4.2 วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราตินโนไซด์ (HaCaT)

นำเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราตินโนไซด์ (HaCaT) ที่เพาะเลี้ยงใน 96-well plate นำมาบ่มร่วมกับตัวอย่างทดสอบตามความเข้มข้นทั้ง 8 ระดับ โดยใช้วิธี WST-1 assay และมีกลุ่มควบคุมลบ (negative control) คือ อาหารเลี้ยงเซลล์ (DMEM) และกลุ่มควบคุมบวก (positive control) คือ สาร sodium dodecyl sulfate (SDS) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเซลล์กลับไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ 24 ชั่วโมง ดูดสารละลายตัวอย่าง ที่บ่มร่วมกับเซลล์ HaCaT ใน 96-well culture plate ออก จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) และเติมสารละลาย WST-1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ (DMEM) 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปบ่มตามสภาวะข้างต้นต่ออีกเป็นระยะเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำเซลล์ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต (cell viability) ดังแสดง ในรูปที่ 5 นำค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่วัดได้มาคำนวณอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ (% cell viability) ตามสมการ ต่อไปนี้

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสง (OD) ของเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบ} \times 100}{\text{ค่าดูดกลืนแสง (OD) ของเซลล์กลุ่มควบคุมลบ}}$$



**รูปที่ 5.** แสดงความเข้มของสีที่เกิดจากการเปลี่ยนของสาร WST-1 เป็น WST-1 formazan โดยการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase ที่อยู่ใน mitochondria ของเซลล์ที่มีชีวิต (viable cells)

ผลการทดสอบวิเคราะห์ปริมาณของผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว



2.4.3 การตรวจสอบความเป็นพิษโดยลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์

ตรวจสอบดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์โดยพิจารณาตามเกณฑ์ ISO 10993 ที่กำหนด (ตารางที่ 1) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โดยเทียบกับเซลล์ในกลุ่มควบคุมบวกและตัวกลุ่มควบคุมลบ หลังจากบ่มตัวอย่างทดสอบร่วมกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Inverted Microscope โดยคะแนนจะใช้เป็นเกณฑ์ในการบ่งบอกถึงระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ของตัวอย่างทดสอบ

ตารางที่ 1. เกณฑ์การให้คะแนนการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์หลังจากบ่มตัวอย่างทดสอบร่วมกับเซลล์นาน 24 ชั่วโมง

Score	Reactivity	Change of cellular morphology
0	None	No changes
1	Slightly toxic	Slightly changes, few cells affected
2	Mildly toxic	Mild changes, some cells round/spindle shaped
3	Moderately toxic	Moderate changes, many cells round/spindle shaped
4	Severely toxic	Severe changes, about all cells show morphological change

อ้างอิง: International standard ISO 10993-5

2.4.4 การหาปริมาณแอมไซม์ TNF alpha

นำเซลล์ HaCaT ที่เพาะเลี้ยงใน 96-well plate มาบ่มร่วมกับตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5625, 3.125 และ 6.25 จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาทดสอบ นำสารละลายส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณแอมไซม์ TNF alpha ด้วยวิธี ELIZA assay ดังนี้ เติมนสารละลาย biotinylated Antibody reagent ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงแต่ละหลุม จากนั้นเติมนสารละลายมาตรฐานของไซโตไคน์ หรือสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงไปแต่ละหลุม แล้วปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาดังด้วย wash buffer จำนวน 3 ครั้ง เติมนสารละลาย streptavidin-HRP (เจือจาง streptavidin-HRP ปริมาตร 30 มิลลิลิตร : streptavidin-HRP dilution buffer ปริมาตร 120 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ครบเวลาดังด้วย wash buffer จำนวน 3 ครั้ง เติมนสารละลาย TMB substrate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที แล้วเติมนสารละลาย stop solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader เทียบความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของไซโตไคน์

ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ปริมาณผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.



### 3. ผลการทดสอบ

#### 3.1 ค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์

ผลการทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ที่ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ร้อยละ 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ผลดังแสดงในตารางที่ 2 เซลล์ในกลุ่มควบคุม คือ เซลล์ที่ไม่ได้รับสารใดๆ และถือว่ามีอัตราการรอดชีวิตเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสาร sodium dodecyl sulfate (SDS) เกิดความเป็นพิษและมีอัตราการรอดชีวิต  $37.86 \pm 0.003$  เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับเซลล์กลุ่มควบคุมลบ และเซลล์กลุ่มที่ได้รับตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 0.78 ถึง 12.5 ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็นร้อยละ 25 เริ่มปรากฏความเป็นพิษ โดยมีอัตราการรอดชีวิตลดลงเป็น  $60.13 \pm 0.004$  เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 100 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ  $37.17 \pm 0.005$  ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากผลที่เกิดขึ้นสามารถคำนวณค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบที่ยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ลงครึ่งหนึ่ง (inhibitory concentration หรือ  $IC_{50}$ ) เท่ากับ  $39.05 \pm 0.01$  เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2. แสดงค่าความสัมพันธ์ของการมีชีวิตรอดของเซลล์

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ (% cell viability)
กลุ่มควบคุมลบ	-	$100.00 \pm 0.000$
กลุ่มควบคุมบวก : sodium dodecyl sulfate	0.1	$37.86 \pm 0.003$
กลุ่มทดสอบ : สารสกัดขมิ้น	0.78	$98.43 \pm 0.003$
	1.56	$92.89 \pm 0.004$
	3.12	$85.97 \pm 0.016$
	6.25	$80.57 \pm 0.002$
	12.5	$76.60 \pm 0.004$
	25	$60.13 \pm 0.004$
	50	$40.88 \pm 0.006$
	100	$37.17 \pm 0.005$
$IC_{50}$		<b><math>39.05 \pm 0.010</math></b>

หมายเหตุ : ผลที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

ผลการทดสอบวิเคราะห์รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว



### 3.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์

การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์กลุ่มควบคุมลบ, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มตัวอย่างทดสอบคือ สารสกัดขลุ่ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดภาพหัวกลับ (Inverted microscope) ดังแสดง ในรูปที่ 6(A-J) และตารางที่ 3 พบว่าเซลล์กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับสาร sodium dodecyl sulfate (SDS) เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาอยู่ในระดับ score 4 ซึ่งหมายถึงเกิดความเป็นพิษรุนแรง เซลล์กลุ่มทดสอบที่ได้รับตัว ที่ความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 และ50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ score 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งจัดเป็นพิษปานกลาง และ เป็นพิษเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มข้นของสารทดสอบสารสกัดขลุ่ ที่ต่ำกว่าร้อยละ 12.5 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ (score 0)

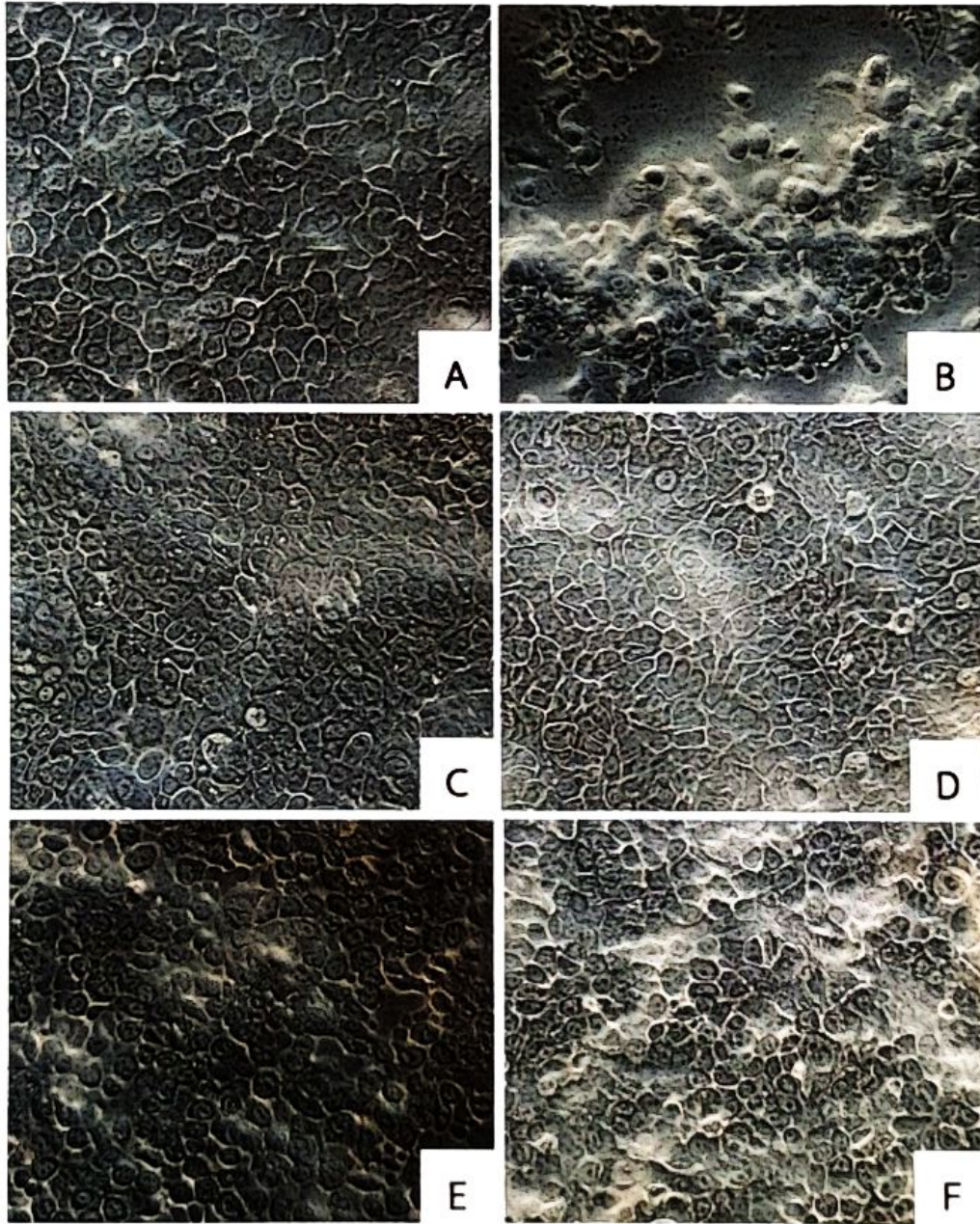
ตารางที่ 3. แสดงผลลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	Cell morphology scoring
กลุ่มควบคุมลบ	-	0
กลุ่มควบคุมบวก : sodium dodecyl sulfate	0.1	4
กลุ่มทดสอบ : สารสกัดขลุ่	0.78	0
	1.56	0
	3.125	0
	6.25	0
	12.5	0
	25	2
	50	3
	100	4

ผลการทดสอบวิเคราะห์รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว





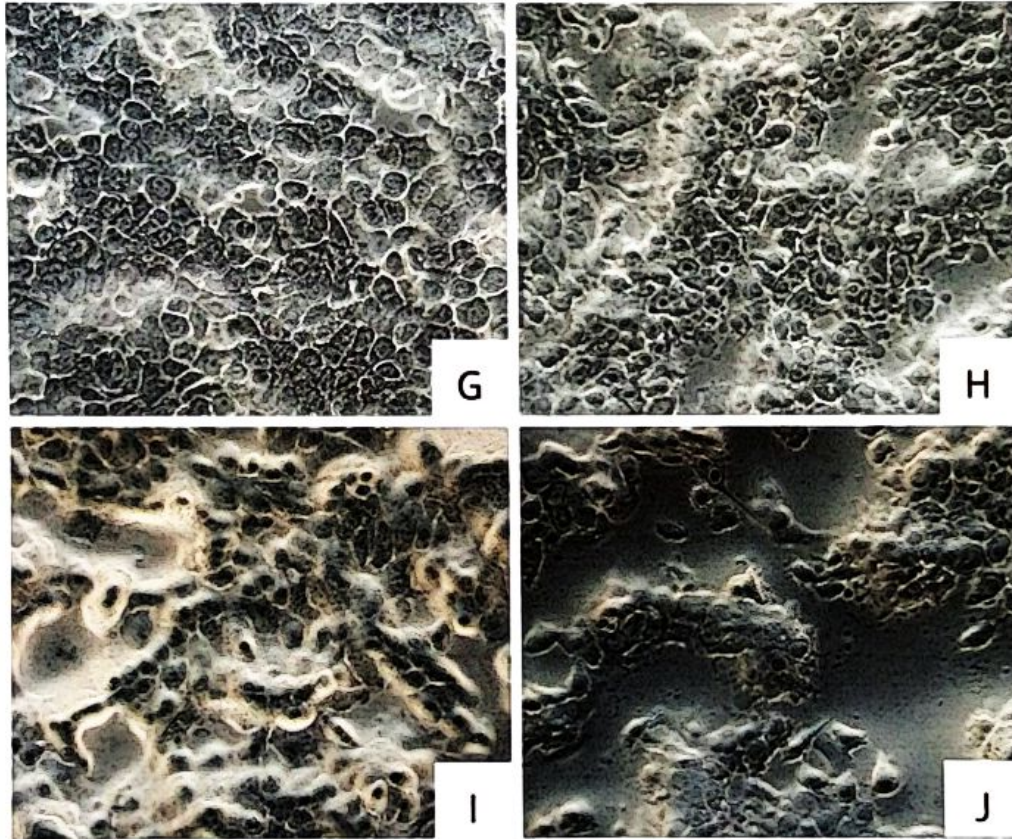


รูปที่ 6. แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ผิวหนังชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Inverted Microscope (กำลังขยาย 40X): (A) เซลล์กลุ่มควบคุมลบ, (B) เซลล์กลุ่มควบคุมบวก (SDS) ร้อยละ 0.1), (C) เซลล์กลุ่มได้รับสารสกัดขลุ่ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.78125, (D) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5625, (E) ที่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.125, (F) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25

ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.







รูปที่ 6. (ต่อ) แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ผิวหนังชนิดเคราตินโนไซต์ (HaCaT) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Inverted Microscope (กำลังขยาย 40X): (G) เซลล์กลุ่มได้รับสารสกัดขลุ่ ที่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 12.5, (H) ที่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25, (I) ที่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 และ (J) ที่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 100



ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
 ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว-TISTR



### 3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha และอัตราการยับยั้งเอนไซม์ TNF-alpha (%Inhibition)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha (%Inhibition) ของตัวอย่างทดสอบต่อเซลล์ HaCaT หลังได้รับตัวอย่าง นาน 24 ชั่วโมง และกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย Lipopolysaccharide (LPS) จากผลการทดสอบ ปริมาณของเอนไซม์ TNF-alpha และอัตราการยับยั้ง การหลั่งเอนไซม์ TNF-alpha (%Inhibition) แสดงดังตารางที่ 4 พบว่าตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 มีปริมาณ TNF- alpha เท่ากับ  $170.81 \pm 0.012$  พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha สูงที่สุด เท่ากับ  $43.83 \pm 0.010$  เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4. อัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	ปริมาณเอนไซม์ TNF-alpha (พิโกกรัม/มิลลิลิตร)	อัตราการยับยั้งเอนไซม์ TNF-alpha (%Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	$195.48 \pm 0.001$	-
LPS (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	10.00	$304.08 \pm 0.038$	-
D,L-1'-Acetoxychavicol Acetate (ยาด้านอักเสบ)	1.000	$113.69 \pm 0.006$	$62.61 \pm 0.003$
กลุ่มตัวอย่างทดสอบ : สารสกัดขลุ่ย (ร้อยละ)	1.56	$258.88 \pm 0.009$	$14.86 \pm 0.010$
	3.12	$194.65 \pm 0.025$	$35.99 \pm 0.020$
	6.25	$170.81 \pm 0.012$	$43.83 \pm 0.010$

### 4. สรุปผลการทดสอบ

การทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบคือสารสกัดขลุ่ยต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดเคราติโนไซต์ (HaCaT) ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.78125 ถึง 12.5 ทดสอบนาน 24 ชั่วโมง ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ และตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ แต่ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 และ 50 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ score 2 และ 3 มีความเป็นพิษปานกลาง และมีความเป็นพิษตามลำดับ และที่ความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 100 เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ในระดับ 4 ซึ่งจัดว่าเป็นพิษรุนแรง และมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทดสอบ ที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ 50 เปอร์เซ็นต์ (inhibitory concentration; IC<sub>50</sub>) เท่ากับร้อยละ  $39.05 \pm 0.01$  ผลการวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha (%Inhibition) พบว่า ตัวอย่างทดสอบที่ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 มีปริมาณ TNF- alpha เท่ากับ  $170.81 \pm 0.012$  พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha สูงที่สุด เท่ากับ  $43.83 \pm 0.010$  เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบวิเคราะห์ปริมาณและอัตราการยับยั้งการหลั่ง TNF-alpha ของตัวอย่างทดสอบที่ได้นำมาทดสอบเทียบเท่ากับห้ามนำผลการทดสอบวิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.



## 5. เอกสารอ้างอิง

- 1) Berridge, M. V et al. (1996): The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assay That Use Tetrazolium Salts. *Biochemica* 4, 15-19.
- 2) Ishiyama, M et al. (1996): A Combine Assay of Cell Viability and *in vitro* Cytotoxicity with Highly Water-Soluble Tetrazolium Salt, Neutral Red and Crystal Violet. *In Vitro Toxicology* 8, 187-189.
- 3) ISO (2009)-10993-5, 3<sup>rd</sup> Edition, Tests for cytotoxicity, *in vitro* methods.



ผลการทดสอบ/วิเคราะห์ที่รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบเทียบเท่านั้น  
ห้ามนำผลการทดสอบ/วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

**รายงานผลการทดสอบและวิเคราะห์****คำขอรับบริการ เลขที่ 78/64****การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดขลุ้****ให้แก่ผู้ขอรับบริการ****มทร.พระนคร 64110506 วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ****โดย****ศูนย์วิจัยสุขภาพและความงาม มาโนเซ่****Manosē**  
**MANOSE HEALTH AND BEAUTY**  
**RESEARCH CENTER CO.,LTD****วันที่ 7 กรกฎาคม 2564**



### ใบรายงานผลการทดสอบและวิเคราะห์

เรื่อง	การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลอง
เลขที่คำขอรับบริการ	78/64
ตัวอย่างที่ทดสอบ	สารสกัดขลุ้
ลักษณะของตัวอย่างที่ทดสอบ	สารสกัดขลุ้ เป็นของเหลวใสสีเขียวเข้มและมีกลิ่นเฉพาะตัว บรรจุในขวดพลาสติกทึบแสงสีเขียวเข้ม ปิดสนิทด้วยฝาเกลียว
วันที่รับตัวอย่าง	30 มิถุนายน 2564
ผู้ขอรับบริการ	มทร.พระนคร 64110506 วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ 399 ถนนสามเสน แขวงวชิรพยาบาล เขตดุสิต กทม 10300
ผลการทดสอบ	สารสกัดขลุ้ ไม่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลอง ในขณะที่ diclofenac diethylammonium (ยาด้านการอักเสบ) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ โดยสามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (IC <sub>50</sub> ) ที่ความเข้มข้น 0.61±0.02 mg/ml
สรุปผลการทดสอบ	สารสกัดขลุ้ไม่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลอง

# Manosē

MANOSE HEALTH AND BEAUTY  
RESEARCH CENTER CO. LTD

ผู้ปฏิบัติการทดสอบ

ผู้รับรอง

*ปิยะนุช ยินดี*

*จ. ปณ*

(น.ส. ปิยะนุช ยินดี)

(ดร. จริญญา จันทร์คำปิ่น)

ผู้ช่วยวิจัยฝ่ายวิจัยและพัฒนาเภสัชเคมี

หัวหน้าฝ่ายวิจัยและพัฒนา

เทคโนโลยีชีวภาพเภสัชกรรม

ศูนย์วิจัยสุขภาพและความงาม มาโนเซ่

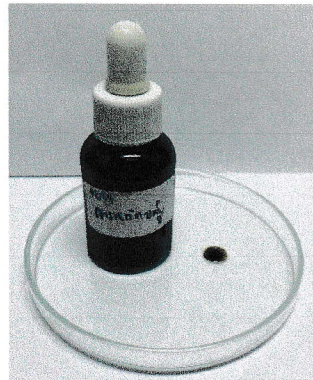
7 กรกฎาคม 2564

**ภาคผนวก**

**การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบในหลอดทดลอง**

**วัสดุอุปกรณ์**

1. ตัวอย่างทดสอบ คือ สารสกัดขลุ้ (รูปที่ 1)
2. สารมาตรฐาน คือ ยาต้านการอักเสบ diclofenac diethylammonium
3. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิและเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เป็นต้น



**รูปที่ 1** ลักษณะตัวอย่างสารสกัดขลุ้

**การเตรียมตัวอย่างและวิธีการทดสอบ**

ละลายสารสกัดขลุ้ด้วย 20% Tween 20 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและดูดส่วนใสมาเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 mg/ml นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ป่มกับอัลบูมินที่อุณหภูมิสูง (70±2 องศาเซลเซียส) นาน 5 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อคำนวณปริมาณอัลบูมินที่สลายตัวเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน นำไปสร้างกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของสาร จากนั้นหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (Chandra *et al.*, 2012)

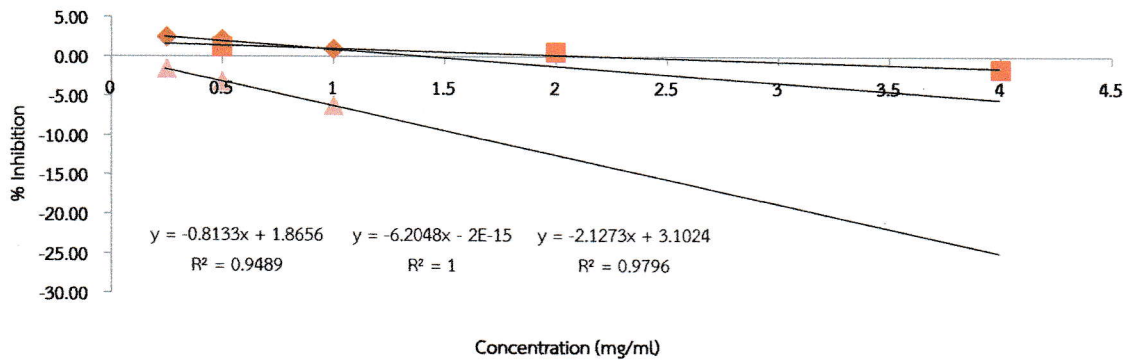
**ผลการทดสอบ**

**ตารางที่ 1** ฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินของตัวอย่างทดสอบ

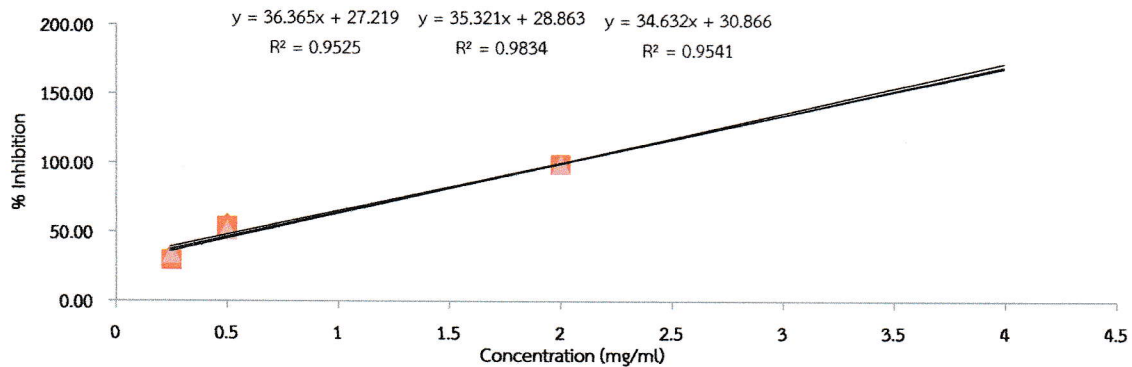
ตัวอย่างที่ทดสอบ	ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ 50% (IC <sub>50</sub> ; mg/ml)
สารสกัดขลุ้	NA
Diclofenac diethylammonium	0.61±0.02

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงเป็นผลจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย ± S.D.), NA = ไม่มีฤทธิ์





รูปที่ 2 เปรียบเทียบการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของสารสกัดขลุ้



รูปที่ 3 เปรียบเทียบการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของ diclofenac diethylammonium

### เอกสารอ้างอิง

Chandra S., Chatterjee P., Dey P. and Bhattacharya S. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (2012); S178-S180.

**Manose'**  
 MANOSE HEALTH AND BEAUTY  
 RESEARCH CENTER CO. LTD



## ประวัติย่อ่นักวิจัย

### 1. หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) ดร.วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ  
(ภาษาอังกฤษ) Dr.Woravith Chansuvarn

### ตำแหน่งปัจจุบัน

ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

### หน่วยงาน

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร  
เลขที่ 1381 ถนนประชาราษฎร์ 1 แขวงวงศ์สว่าง เขตบางซื่อ กรุงเทพฯ 10800  
โทร 0-2836-3000 ต่อ 7509 โทรสาร - มือถือ 08-4667-3969  
E-mail : woravith.c@rmutp.ac.th

### ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	คุณวุฒิ/สาขาวิชา	สถาบันอุดมศึกษา	ปีที่สำเร็จ
ปริญญาเอก	วทต.เคมี (เคมีวิเคราะห์)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2555
ปริญญาโท	วทม.เคมี (เคมีวิเคราะห์)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2546
ปริญญาตรี	วทบ.เคมี	สถาบันราชภัฏกาญจนบุรี	2543

### สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- เคมีสิ่งแวดล้อม
- เคมีอาหาร
- วัสดุนาโน/Composited nanoparticle
- Biosorption

### ผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

1. Chansuvarn W., and Imyim A. Visual and colorimetric detection of Hg(II) ion using gold nanoparticles stabilized with dithia-diaza ligand, Microchim. Acta 176(2012) 56-67.

2. Chansuvarn W. , Panich S. , and Imyim A. Simple spectrophotometric method for determination of melamine in liquid milks based on green Mannich reaction, *Spectrochimica Acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy* 113(2013) 154-158.

3. Chansuvarn W., Tuntulani T., and Imyim A. Colorimetric detection of mercury(II) based on gold nanoparticles, fluorescent gold nanoclusters and other gold-based nanomaterials. *Trends in Analytical Chemistry* 65(2015) 83-96.

### **ผลงานตีพิมพ์ระดับชาติ**

1. วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2557. การออกแบบเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดไอออนปรอทด้วยตาเปล่า, *วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ฉบับที่ 42 ฉบับที่ 4* เลขหน้า 748-760.

### **การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ**

1. Woravith Chansuvarn and Pratuangtip Rojanavipat, Value addition of waste building material for removal of lead(II) ion from aqueous solution. The 5<sup>th</sup> RMUTP international conference on science, technology, and innovation for sustainable development: the road towards a green future. Bangkok. Thailand. 17-18 July 2014. (Poster presentation).

2. Woravith Chansuvarn. Adsorption of Pb(II) from aqueous solution using an autoclaved aerated concrete. 5<sup>th</sup> RMUTIC: Technology and innovation towards ASEAN. PhraNakhon Si Ayutthaya. Thailand, 23-25 July 2014. (Poster presentation).

3. Woravith Chansuvarn. Kunawoot Jainae and Supattra Chansuvarn. Quality of groundwater for producing village tap water in Samchuk district, Suphanburi province. The 6<sup>th</sup> RMUTIC: Green Innovation for a Better Life. Nakhon Ratchasima. Thailand. 1-3 September 2015. (Poster presentation).

## 2. ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) ดร.สิริรัตน์ พานิช  
(ภาษาอังกฤษ) Dr.Sirirat Panich

### ตำแหน่งปัจจุบัน

ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

### หน่วยงาน

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

เลขที่ 1381 ถนนประชาราษฎร์ 1 แขวงวงศ์สว่าง เขตบางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

โทร 0-2836-3000 ต่อ 7509 โทรสาร - มือถือ -

E-mail : sirirat.pan@rmutp.ac.th

### ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ.	วุฒิการศึกษา	สถานศึกษา	จังหวัด
2560	Ph.D (Chemistry)	Imperial College London	UK
2551	วทม.เคมี (เคมีวิเคราะห์และเคมีอินทรีย์ประยุกต์)	มหาวิทยาลัยมหิดล	กรุงเทพมหานคร
2547	วทบ.เคมี	ม.บูรพา	ชลบุรี
	ประกาศนียบัตร (ทางการสอน)	ม.บูรพา	ชลบุรี
	มัธยมศึกษาตอนปลาย (โครงการสควค.)	รร.พิบูลวิทยาลัย	ลพบุรี

### สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- การใช้เทคโนโลยีทางการศึกษา
- งานวิจัยทางเคมีในระดับนาโน และสารต้านอนุมูลอิสระ
- Whispering gallery mode

### ผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

1. Sirirat Panich, Maliwan Amatatongchai, Nuanlaor Ratanawimanwong, Tanorm Lomas, Thitima Maturros, Adisorn Tuantranont and Duangjai Nacapricha. “A new approach for assessing total antioxidant capacity of fruit juices by lab-on-a-chip” (accepted for proceeding of the 10th National Graduate Research Conference at Sukhothai Thammathirat University, Nonthaburi, Thailand.

2. Woravith Chansuvarn, Sirirat Panich, Apichat Imyim. "Simple spectrophotometric method for determination of melamine in liquid milks based on green Mannich reaction". *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.*, 2013, 9(113), pp 154-158.
3. Sirirat Panich, Kerry A. Wilson, Philippa Nuttall, Christopher K. Wood, Tim Albrecht, and Joshua B. Edel. Label-Free Pb(II) Whispering Gallery Mode Sensing Using Self-Assembled Glutathione-Modified Gold Nanoparticles on an Optical Microcavity. *Anal. Chem.*, 2014, 86 (13), pp 6299–6306.
4. Sirirat Panich, Mazen Haj Sleiman, Isobel Steer, Sylvain Ladame and Joshua B. Edel. "Real-Time Monitoring of Ligand Binding to G-Quadruplex and Duplex DNA by Whispering Gallery Mode Sensing. *ACS Sens.*, 2016, 1 (9), pp 1097–1102.
5. Sirirat Panich. All-in-One Flow Injection Spectrophotometric System for Field Testing. *Applied Mechanics and Materials.*, 2018, (879), pp 206-211
6. Sirirat Panich. A novel assay for evaluation of the total antioxidant capacity using a nontoxic probe. *TJPS* 2018, 42 (1) pp 21-26

### 3. ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวอัญชญา ชัตติยะวงศ์  
(ภาษาอังกฤษ) Miss Anchana Kuttiyawong

#### ตำแหน่งปัจจุบัน

ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

#### หน่วยงาน

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

เลขที่ 1381 ถนนประชาราษฎร์ 1 แขวงวงศ์สว่าง เขตบางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

โทร 0-2836-3018 โทรสาร 0-2913-3000 มือถือ -

E-mail : anchana.k@rmutp.ac.th

#### ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	คุณวุฒิ/สาขาวิชา	สถาบันอุดมศึกษา	ปีที่สำเร็จ
2549	กศม.วิทยาศาสตร์ศึกษา (เคมี)	มหาวิทยาลัยนเรศวร	พิษณุโลก
2540	วทบ.เคมี	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม	มหาสารคาม

#### สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- เคมีเครื่องสำอาง
- เคมีอินทรีย์

#### ผลงานตีพิมพ์ระดับนานาชาติ

1. S. Sawekwiharee, T. Boonchoo, **A. Kuttiyawong**, N. Chathirat. Heating Energy Briquettes from Cashew Nut Shell. *Applied Mechanics and Materials*. 804(2015)283-286.
2. Naphat Albutt, Suejit Pechprasarn, Sangwoei Sawekwiharee, **Anchana Kuttiyawong**, Panakamom Thonglor and Thanapong Sareein. 2018. Complete Phase Change of  $Y_2NiMnO_6$  Ceramics Doped with  $TiO_2$  at High Temperature. *Applied Mechanics and Materials*. 879(2018) 47-50.