

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของ สารสกัดพิกัดตรีภาพพิช

Development of Facial Cleansing Gel Containing Tri-kanpis Remedy Extract

รอฟีดา ปูเตะ, โรมือละ ลาเตะ, วิทวัส หมาดอี, กุสุมาลย์ น้อยผา*

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง พัทลุง 93210

Rofeeda Puteh, Romuelah Lateh, Wittawat Marde, Kusumarn Noipha*

Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Health and Sports Science, Thaksin University,
Phatthalung 93210

Received 26 July 2023; Received in revised 12 September 2023; Accepted 21 September 2023

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤษเคมีเบื้องต้น และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิช ประกอบด้วย รากกะเพรา เหง้ากระชาย และเหง้าข่า นอกจากนี้ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิช จากการศึกษาสารพฤษเคมีเบื้องต้นในพิกัดตรีภาพพิช ด้วยวิธีการอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบสารพฤษเคมี ได้แก่ กลุ่มแอนทราควิโนน คาติแอคโกลโคไซด์ สเตอรอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging มีค่า IC_{50} เท่ากับ 555.94 $\mu\text{g/mL}$ และวิธี ABTS radical cation decolorization มีค่า IC_{50} เท่ากับ 15.14 $\mu\text{g/mL}$ ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และแกรมลบ: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome method พบว่ามีค่า IC_{50} มากกว่า 1000 $\mu\text{g/mL}$ จากผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น จึงนำสารสกัดพิกัดตรีภาพพิชมาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยเจลล้างหน้ามีสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะใส มีค่า pH 5.91 ซึ่งมีคุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานสำหรับผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้า ดังนั้นผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

คำสำคัญ: เจลล้างหน้า พิกัดตรีภาพพิช ฤทธิ์ทางชีวภาพ

*ผู้รับผิดชอบบทความ: kusumarn.n@hotmail.com

Abstract

The objective of this research is to study the phytochemical, and biological properties including antioxidant activity, antibacterial activity, and inhibition of tyrosinase enzyme in tri-kanpis remedy namely *Ocimum tenuiflorum* L., *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., *Alpinia galanga* (L.) Willd. Additionally, it aims to develop facial cleansing gel products from the tri-kanpis remedies. Through the use of color formation reaction methods, various chemical substances were discovered, such as anthraquinones, cardiac glycosides, steroids, and terpenoids. The antioxidant activity was also studied, including the DPPH radical scavenging method, which showed an IC_{50} value of 555.94 $\mu\text{g/mL}$, and the ABTS radical cation decolorization method, which showed an IC_{50} value of 15.14 $\mu\text{g/mL}$. The antibacterial properties were studied using the agar well diffusion method, which found inhibitory effects against gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, and gram-negative bacteria: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The inhibition of the tyrosinase enzyme was studied using the dopachrome method, which revealed an IC_{50} value greater than 1000 $\mu\text{g/mL}$. According to initial studies on biological effectiveness, tri-kanpis remedy extracts have been included as components in a facial cleansing gel with a 1% concentration. This cleansing gel is characterized by its light brown color, transparency, and a pH level of 5.91, adhering to the established physical and chemical standards for facial cleansing products. As a result, there is potential for further development of this facial cleansing product within the industry in the future.

Keywords: Cleansing gel; Tri-kanpis remedy; Bioactivity

1. บทนำ

โรคผิวหนังเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญและพบบ่อย โดยมีสาเหตุและปัจจัยที่ต่างกัน ซึ่งมีความสำคัญเกี่ยวกับรูปลักษณ์และความวิตกกังวลที่ส่งผลต่อสุขภาพทางจิต เป็นกลุ่มโรคทั้งติดต่อและไม่ติดต่อ บางชนิดเป็นโรคที่รุนแรง และบางชนิดสามารถรักษาให้หายขาดได้ นอกจากนี้ยังเป็นโรคที่พบได้บ่อยสามารถเกิดในผู้คนทุกเพศทุกวัย ทั่วโลกมีผู้ที่ได้รับผลกระทบจากโรคผิวหนังประมาณ 900 ล้านคน หรือประมาณร้อยละ 30-70 ในประชากรทั่วไป [1] ในประเทศไทยมีผู้ป่วยตั้งแต่ พ.ศ. 2558-2562 เป็นโรคผิวหนังมากถึงปีละ 6 แสนคน [2] นอกจากนี้ยังเป็นโรคที่ต้องรักษาเป็นเวลานาน การใช้จ่ายทั่วไปอย่างต่อเนื่อง มีความเสี่ยงที่จะสะสมความเป็นพิษ และเกิดผลข้างเคียงต่อร่างกายได้ การใช้ยาสมุนไพรเป็น

ทางเลือกหนึ่งเพราะมีความเป็นพิษ และผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้สารเคมี [3] ตำราแพทย์แผนไทยโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรมไทย เป็นหนึ่งในตำราทางการแพทย์แผนไทยที่มีการใช้สมุนไพรเดี่ยว และสมุนไพรสำหรับใช้ในการรักษาโรคผิวหนัง โดยสมุนไพรที่เรียกอีกอย่างว่า “พิศดยา” ซึ่งพิศดยา คือ การจำกัดจำนวนตัวยาดั้งแต่สองสิ่งขึ้นไป รวมเรียกเป็นชื่อเดียวกันจะเป็นคำตรงหรือคำศัพท์ โดยที่ตัวยานำมารวมกันต้องใช้น้ำหนักเสมอภาค คือ ขนาดน้ำหนักเท่ากัน เช่น พิศดยาสองสิ่ง พิศดยาสามสิ่ง พิศดยาสี่สิ่ง พิศดยาห้าสิ่ง พิศดยาเจ็ดสิ่ง พิศดยาเก้าสิ่ง พิศดยาสิบสิ่ง และพิศดยาพิเศษ [4]

เจลล้างหน้าเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าที่มีลักษณะเป็นเจลเหลวใส ใสเนื้อไม่หนก ซึ่งเจลล้างหน้าเป็นประเภทหนึ่งของคลีนเซอร์ ช่วยกำจัด

สิ่งสกปรก และเติมเต็มความชุ่มชื้นให้กับผิว เจลล้างหน้า มีหลายสูตรให้เลือกใช้เช่นกัน แต่ส่วนมากจะเป็นการดูแลรักษาผิว และควบคุมความมันส่วนเกินเป็นหลักทำให้เหมาะกับผิวมัน ผิวผสม และผิวเป็นสิวง่าย เจลล้างหน้า ถือเป็นคลีนเซอร์อีกตัวหนึ่งที่มีความอ่อนโยนต่อผิวที่เป็นสิวมักเป็นพิเศษ และได้รับความนิยมในผู้ที่มีผิวมัน และเป็นสิวมักเช่นกันด้วย [5] เจลล้างหน้าประกอบด้วยสารชำระล้างสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบสำคัญคือ สารลดแรงตึงผิว น้ำหอม และสารให้ความชุ่มชื้น ซึ่งจะเคลือบผิว และดึงดูดความชื้นจากบรรยากาศ ช่วยให้ผิวชุ่มชื้นหลังการชำระล้าง เพิ่มความชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังมีการเติมสารอื่นๆ เช่น สารเพิ่มพอง สารกันเสีย สารป้องกันการตกตะกอน สารเพิ่มความหนืด แต่งสี แต่งกลิ่น [6] ซึ่งในปัจจุบันพบว่าผลิตภัณฑ์ล้างหน้ามักมีการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาเป็นส่วนผสมเพื่อผลทางชีวภาพบางอย่าง เช่น ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว ยับยั้งอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase inhibition) เป็นต้น ส่วนใหญ่ผิวหน้าจะมีค่าพีเอช (pH, ค่าความเป็นกรดด่าง) อยู่ที่ 5.0 - 10.5 [7] จึงต้องมีการปรับพีเอชของผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสม

รากกะเพรา (*Ocimum tenuiflorum* L., LAMIATAE) เหง้ากระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., ZINGIBERACEAE) และเหง้าข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd., ZINGIBERACEAE) เป็นพืชสมุนไพรในตำรับยาแผนไทย ที่เรียกว่า พิกัดตรีภาพพิช (tri-kanpis) ประกอบด้วยสมุนไพรสามสิ่ง (หรือสามชนิด) มีสรรพคุณตามตำรา คือ บำรุงธาตุ บำรุงกำลัง ขับลม แก้ไข้สันนิบาต และแก้เลือดเสีย [4] และจากรายงานวิจัยด้านฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า รากกระเพรา แดง เหง้ากระชาย และเหง้าข่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [8-10] มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย [11-13] และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วย [14-16] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพิกัดตรีภาพพิชมีองค์ประกอบของสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังได้ด้วย แม้ว่าตามตำราพิกัดตรีภาพพิชจะไม่ได้ระบุว่า มีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนัง

ก็ตาม นอกจากนี้ยังไม่พบรายงานความเป็นพิษของพิกัดตรีภาพพิช และพืชสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบ

ดังนั้นผู้วิจัยจึงพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพรพิกัดตรีภาพพิช โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาสารพิษเคมีเบื้องต้นในพิกัดตรีภาพพิช 2) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในพิกัดตรีภาพพิช และ 3) พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิช

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาดเอทานอลจากพิกัดตรีภาพพิช

พิกัดยาตรีภาพพิช ประกอบด้วยสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ รากกะเพรา (*O. tenuiflorum* L.) เหง้ากระชาย (*B. rotunda* (L.) Mansf.) และเหง้าข่า (*A. galanga* (L.) Willd.) ได้จากการปลูกในพื้นที่ อำเภอบางบาล จังหวัดพิจิตร นำมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำสมุนไพรเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 80 สำหรับการเตรียมสารสกัดจากพิกัดยาตรีภาพพิช เตรียมได้จากผงยาสมุนไพรที่ประกอบด้วยสมุนไพร 3 ชนิด โดยใช้สัดส่วนของสมุนไพรแต่ละชนิดเท่ากันตามหลักการใช้ยาตามตำราแพทย์แผนไทยโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรมไทย [4] ที่กล่าวไว้ว่า การเตรียมด้วยยาตามพิกัดยานั้น ต้องใช้สัดส่วนของตัวยาแต่ละชนิดแบบเสมอภาค หรือใช้สัดส่วนที่เท่ากัน [4] จากนั้นนำผงยามาสกัด 3 ครั้ง ด้วยเอทานอล 95% ด้วยวิธีการหมัก (Maceration) นำสารสกัดไประเหยแห้ง โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) และคำนวณหาร้อยละปริมาณสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง (% yield) โดยคำนวณได้จากสูตร

ร้อยละของสารสกัดหยาบ (% yield) = (น้ำหนักของสารสกัดหยาบ/น้ำหนักของสมุนไพรแห้ง) × 100

2.2 การศึกษาสารพิษเคมีเบื้องต้นของพิกัดตรีภาพพิช และพืชสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบ

การศึกษาสารพิษเคมีเบื้องต้นของพิกัดตรีภาพพิช โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ออกเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน [17-18] ดังนี้

2.2.1 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน ซึ่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำละลายกรดซัลฟิวริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 1.0 mL เขย่านำไปอุ่น 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเติมน้ำละลายแอมโมเนีย (10% NH_3) ปริมาตร 0.5 mL เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบ แอนทราควิโนน

2.2.2 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ ซึ่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำละลายกรดซัลฟิวริก (10% H_2SO_4) ปริมาตร 1 mL เขย่านำไปอุ่น 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออกแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่า พบแอลคาลอยด์

2.2.3 การตรวจสอบสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ซึ่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำละลายคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 1 mL เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) เติมน้ำละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% $FeCl_3$) จำนวน 5 หยด เขย่าเติมน้ำกรดแกลซีลลิก (Glacial acetic acid) จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อยๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 mL ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่า พบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

2.2.4 การตรวจสอบแทนนิน ซึ่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1 mL นำไปอุ่น 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออกน้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (1% $FeCl_3$) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำ หรือน้ำเงินดำแสดงว่า พบแทนนิน

2.2.5 การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1 mL เขย่ากรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็กๆ ลง ไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl) จำนวน 5 หยด เขย่าแล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่า พบฟลาโวนอยด์

2.2.6 การทดสอบสารเทอร์พีนอยด์ ซึ่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 1 mL เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก น้ำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อยๆ เติมน้ำกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 mL ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่า พบเทอร์พีนอยด์

2.2.7 การทดสอบสารสเตียรอยด์ ซึ่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 1 mL เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก เติมน้ำกรดแกลซีลลิก (Glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 mL เขย่าแล้วเติมน้ำกรดซัลฟิวริก (conc. H_2SO_4) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่า พบสเตียรอยด์

2.2.8 การทดสอบสารซาโปนิน ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟองโดยซึ่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5 mL นำไปอุ่น 5 นาที เขย่าอย่างแรงถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้น ในหลอดทดลองแสดงว่า พบซาโปนิน

2.2.9 การทดสอบสารคูมาริน ซึ่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1 mL เขย่ากรอง

ส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6M NaOH) ปริมาตร 1 mL เขย่าถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่า พบคูมาริน

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีดัดแปลงจาก Majhenic, Skerget, and Knez., 2007. [19] และ Thongmak, K., et al., 2021. [20] ซึ่งใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน โดยการผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.0001-0.1 mg/mL) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับ Folin-Ciocalteu colorimetric ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.4 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในพิกัดตรีภาพพืช

2.4.1 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในพิกัดตรีภาพพืชโดยวิธี DPPH radical scavenging ที่ดัดแปลงจาก Braca et al., 2002. [21] เตรียมสารละลาย DPPH radical ในเอทานอล 0.2 มิลลิโมลาร์ และเตรียมสาร ตัวอย่างในเอทานอล และเติม DPPH ปริมาตร 1 mL ลงไปในสารละลาย แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากัน และบ่มไว้ในที่มีดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และคำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical scavenging) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}} / A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง และ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

2.4.2 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในพิกัดตรีภาพพืชด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay ดัดแปลงจากวิธีของ Arnao et al., 2001. [22] เป็นการทดสอบด้วย ABTS^{•+}, 2, 2'-azino-bis (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical สารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm การเตรียมสารละลายเอบีทีเอส (ABTS reagent) โดยการชั่งสาร ABTS 0.0036 g ละลายในน้ำกลั่น 1 mL

ผสมสารโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.00067 g แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มีดให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง ทำการทดสอบสารตัวอย่างโดยผสมสารละลายตัวอย่าง 50 μ L กับ สารละลายเอบีทีเอสปริมาตร 100 μ L ใน 96 well plate ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยใช้ Ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = 100 \times (A_0 - A_s) / A_0$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และ A_s คือ ค่าดูดกลืนของแสงตัวอย่าง

2.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสกัดตรีภาพพิษ

2.5.1 การตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดตรีภาพพิษด้วยวิธี Agar well diffusion แบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ (แกรมบวก: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 และแกรมลบ: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ได้จากการเพาะเชื้อจากห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ สงขลานครินทร์ มหาวิทยาลัย โดยนำมาทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton (MH) และนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบมาปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ 10^8 CFU/mL จากนั้นนำเชื้อมาตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดโดยนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบมาทำการเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Cotton swab) จากนั้นเจาะหลุมด้วยชุดทาบปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมน้ำสารสกัดตรีภาพพิษที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง [23]

2.5.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดตรีภาพพิษที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) และการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดตรีภาพพิษที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration; MBC) หาค่า MIC ด้วยวิธี Agar well diffusion method โดยนำสารสกัดที่มีบริเวณโซนยับยั้ง จากข้อ 2.5.1 มาเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางลงทีละ 2 เท่า (Two fold serial

dilution) ด้วย DMSO จะมีค่าความเข้มข้นสารสกัดระหว่าง 62.5-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบความเข้มข้น 10^8 CFU/mL มาทำการ swab บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB จากนั้นทำการเจาะหลุมด้วยทาบปราศจากเชื้อ เติมน้ำสารสกัดตรีภาพพิษที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในแต่ละหลุม ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง การอ่านผลหาค่า MIC สังเกตบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ทดสอบ และวัดขนาดบริเวณยับยั้งด้วย Vernier caliper เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยทำการ ทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

หาค่า MBC โดยใช้วิธี streak plate โดยเขี่ยเชื้อจากบริเวณยับยั้งของค่า MIC ที่ความเข้มข้นต่ำสุด อย่างน้อย 2 ความเข้มข้น นำมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB ใหม่ นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง อ่านผลหาค่า MBC หากสารสกัดตรีภาพพิษสามารถฆ่าเชื้อได้จะแสดงผลลบ คือ ไม่มีโคโลนีของเชื้อปรากฏ ดังนั้นความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดตรีภาพพิษที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้คือค่า MBC โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง [23]

2.6 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีการ Dopachrome method

เตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารมาตรฐาน Kojic acid ความเข้มข้น 0.5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย ปิเปตสารสกัดสมุนไพร หรือ สารมาตรฐานปริมาณ 50 ไมโครลิตร ผสมกับ 0.1 M phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เอนไซม์ไทโรซิเนส (31 Unit/mL ใน 0.1 M phosphate buffer pH 6.8) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใน 96 Well plate ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมน้ำสารละลาย 2.5 mM L-DOPA ใน 0.1 M phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV- Vismicroplate reader ดัดแปลงมาจาก Uthairung, A., et al., 2000. [24] โดยทดสอบ 3 ซ้ำ

คำนวณหา % Tyrosinase inhibition และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า IC₅₀

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = \{[(A - B) - (C - D)] \div (A - B)\} \times 100$$

โดย A, B, C และ D คือ ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรระหว่างค่าที่วัดได้ก่อนการบ่ม และหลังบ่ม 10 นาที

2.7 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดพิกัดตรีภาพิษ

ทำการเตรียมเจลล้างหน้าสูตรตำรับสมุนไพร โดยการผสมสารต่างๆ ในเฟส A B C และ D (Table 1)

2.8 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเจลล้างหน้า

นำเจลล้างหน้าสูตรตำรับสมุนไพรมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีตามเกณฑ์มาตรฐานทั่วไป ดังนี้

2.8.1 คุณสมบัติทั่วไป โดยใช้วิธีการสังเกตด้วยตาเปล่า ต้องเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้นหรือตกตะกอน อาจใสหรือขุ่น มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอม [6]

2.8.2 การทดสอบความเป็นกรด-เบส ซึ่งตัวอย่างเจล 1 กรัม และเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ใช้เครื่อง pH meter วัดค่าความเป็นกรด-เบส [26]

2.8.3 การทดสอบปริมาตรและความคงทนของฟอง ซึ่งตัวอย่างเจล 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วเทใส่กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้จุกยางหรือพาราฟิล์มปิดปากกระบอกตวงให้สนิท เขย่า 40 ครั้ง ทิ้งไว้ 1 นาที ดูปริมาณของฟองว่าเป็นกี่มิลลิลิตร และลบด้วยค่าน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร จะเป็นค่าของฟองที่ได้ [26]

2.8.4 การทดสอบความคงตัวแบบเร่งด้วยอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (Heating cooling cycle) โดยการเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าสู่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

Table 1 Compositions of facial cleansing gel [25]

Phases	Chemicals/Herbs	Properties	Percentages
A	Hydroxy ethyl cellulose	Gelatin-producing substance	0.70
	tri-kanpis remedy extract	Biologically active compound	1.00
	Honey	Moisturize the skin	1.00
	Water	-	54.19
B	Cocamido propyl Beain	Substance to create soft and fine foam	1.50
	Propylene glycon	Moisturizing agent	2.00
	Ammonium lauryl sulphate	Cleansing agent	39.00
	Glydant	Preservative	0.10
C	Perfume	Perfume	0.50
D	Triethanolamine	Substance for thickening the gel	0.01

นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 8 รอบ [27]

2.8.5 การทดสอบความเหนียว โดยใช้เครื่องวัดความเหนียวชนิดแกนหมุน (Rotational viscometer) ซึ่งเครื่องวัดความเหนียวชนิดแกนหมุนมีเข็มวัดเป็นรูปทรงกระบอก โดยเข็มวัดค่าความเหนียวมีหลายเบอร์ ซึ่งแต่ละเบอร์ใช้แตกต่างกันไปตามความเหนียวของสารที่ต้องการใช้วัด โดยในการวัดความเหนียว ได้เพิ่มความเร็วรอบของเข็มวัดขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อดูค่าแรงบิด (torque) ที่เปลี่ยนแปลง และนำความเร็วรอบรวมทั้งค่าแรงบิดมาผ่านกระบวนการการคำนวณเพื่อให้ได้ค่าความเหนียว [28]

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การสกัดสารสำคัญของพิกัดตรีภาพพิช

จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากพิกัดตรีภาพพิช โดยการแช่หมัก (Maceration) ด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และเมื่อนำไประเหยแห้ง จะได้เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของพิกัดตรีภาพพิช รากกะเพรา เหง้ากระชาย และเหง้าข่า พบว่าสารสกัดหยาบจากพิกัดตรีภาพพิชหนัก 25.75 กรัม คิดเป็นร้อยละ 4.29 สารสกัดหยาบจากรากกะเพราหนัก 1.60 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.80 สารสกัดหยาบจากเหง้ากระชายหนัก 8.09 กรัม คิดเป็นร้อยละ 4.05 และสารสกัดหยาบจากเหง้าข่าหนัก 11.00 กรัม คิดเป็นร้อยละ 5.50 ตามลำดับ (Table 2)

ในการศึกษาครั้งนี้พบร้อยละของสารสกัดหยาบกะเพรามีค่า เท่ากับ 0.80 ซึ่งสกัดได้น้อยกว่างานวิจัยของ Srichok, J., et al., 2022. (% Yield เท่ากับ 7.65) [29] สารสกัดหยาบของเหง้ากระชายมีปริมาณร้อยละ 4.05 ซึ่งสกัดได้มากกว่างานวิจัยของ Boonnuam et al., 2021. (% Yield เท่ากับ 2.31) [9] และ % Yield ของสารสกัดเหง้าข่ามีค่าร้อยละ 5.50 ซึ่งสกัดได้มากกว่างานวิจัยของ Saeio, K., et al., 2011. (% Yield เท่ากับ 0.14) [30] สำหรับพิกัดตรีภาพพิชที่มีสมุนไพรรวมทั้ง 3 ชนิด เป็นองค์ประกอบ ไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาวิจัยของสารสกัดหยาบมาก่อนหน้านี้ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบ % Yield ของสารสกัดหยาบพิกัดตรีภาพพิชมีค่าเท่ากับ 4.29 เนื่องจากสมุนไพรมานอกจากแหล่งเพาะปลูกที่แตกต่างกัน หรือการเก็บเกี่ยวในฤดูกาลที่แตกต่างกัน อาจทำให้ได้ % Yield ของสารสกัดที่แตกต่างกันได้ [31]

3.2 การศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นของพิกัดตรีภาพพิช

จากการทดสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดของพิกัดตรีภาพพิช รากกะเพราแดง เหง้ากระชาย และเหง้าข่า ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากพิกัดตรีภาพพิช พบสาร 4 ชนิด คือ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พีนอยด์ และสเตียรอยด์ สารสกัดจากรากกะเพรา พบสาร 6 ชนิด คือ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน สารสกัดจากเหง้ากระชาย พบสาร 5 ชนิด คือ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พีนอยด์

Table 2 Percentage yield of ethanolic crude extracts (% yield)

Samples	Dry weight (g)	Extract weight (g)	% Yield
tri-Kanpis remedy	600	25.75	4.29
<i>O. tenuiflorum</i> L.	200	1.60	0.80
<i>B. rotunda</i> (L.) Mansf.	200	8.09	4.05
<i>A. galanga</i> (L.) Willd.	200	11.00	5.50

สเตียรอยด์ และคูมาริน สารสกัดจากเหง้าข่า พบสาร 6 ชนิด คือ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน (Table 3)

การศึกษาการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดของพิกัดตรีภาพพิช รากกะเพรา เหง้ากระชาย และเหง้าข่า โดยแบ่งการทดสอบออกเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ซึ่งในสารสกัดจากพิกัดตรีภาพพิชที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พินอยด์ และสเตียรอยด์ รากกะเพราที่สกัดด้วยเอทานอล พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Keawsaard, S., et al., 2016. [8] พบว่าการทดสอบสารพฤกษเคมีจากสารสกัด

กะเพรา พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แต่ไม่พบสารกลุ่มแอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน เหง้ากระชายที่สกัดด้วยเอทานอลพบสารพฤกษเคมี ได้แก่ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Boonnaum, P., et al., 2021. [9] พบว่าการทดสอบสารพฤกษเคมีจากสารสกัดเหง้ากระชาย พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ คูมาริน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พินอยด์ สารสกัดจากเหง้าข่าที่สกัดด้วยเอทานอลพบสารพฤกษเคมี ได้แก่ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พินอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Supaphon, P., et al., 2022. [32] พบว่าการทดสอบสารพฤกษเคมีจากสารสกัดเหง้าข่า พบสารพฤกษเคมี ได้แก่ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ จะเห็นได้ว่าการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดของพิกัดตรีภาพพิชนี้ อาจจะไม่สามารถระบุถึงสารสำคัญที่จำเพาะได้ เนื่องจากเป็นวิธีการตรวจสอบทางเคมี

Table 3 Phytochemical constituents of ethanolic crude extracts

Phytochemicals	tri-Kanpis remedy	<i>O. tenuiflorum</i> L.	<i>B. rotunda</i> (L.) Mansf.	<i>A. galanga</i> (L.) Willd.
Anthraquinone	+	+	+	+
Alkaloids	-	-	-	-
Cardiac glycosides	+	+	+	+
Tannins	-	+	-	-
Flavonoids	-	-	-	+
Terpenoids	+	+	+	+
Steroids	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-
Coumarin	-	+	+	+

Notes: - mean: not found + mean: found

เบื้องต้นในสารสกัดพืช ที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว โดยดูผลจากปฏิกิริยาทางเคมี การเกิดสี หรือการเกิดตะกอน ดังนั้น จึงระบุในเบื้องต้นได้เพียงกลุ่มสารเคมีที่สำคัญ ไม่สามารถระบุสารสำคัญที่จำเพาะได้ อาจต้องใช้วิธีการทดสอบอื่นๆ ในการศึกษาเพิ่มเติม เช่น Thin Layer Chromatograph (TLC), High Performance Liquid Chromatograph (HPLC), และ Gas Chromatograph (GC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ตรวจสอบได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากการหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ซึ่งใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (Figure 1) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรกับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0253x + 0.0419$, $R^2 = 0.9958$) จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดสมุนไพร พบว่าสารสกัดจากพิกัตตรีภาพพิช รากกระเพราแดง เหง้ากระชาย และเหง้าข่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 114.84 ± 1.54 , 30.78 ± 2.50 , 100.02 ± 5.32 , 156.34 ± 3.89 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดหยาบ 1 กรัม ตามลำดับ (Table 4)

สารสกัดหยาบของพิกัตตรีภาพพิชมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ (114.84 ± 1.54 mgGAE.g⁻¹) ในขณะที่สมุนไพรแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบมีค่าฟีนอลิกรวมเรียงลำดับจากมากที่สุด คือ เหง้าข่า (156.34 ± 3.89 mgGAE.g⁻¹) รองลงมา คือ เหง้ากระชาย และรากกระเพรา (100.02 ± 5.32 , 30.78 ± 2.50 mgGAE.g⁻¹ ตามลำดับ) โดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Chiyana, W., et al., 2019. [33] พบว่ากระเพรามีปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 50.20 ± 0.60 mgGAE.g⁻¹ ซึ่งมีปริมาณมากกว่าการศึกษาครั้งนี้ จากการศึกษาที่ผ่านมาของ Boonnaum, P., et al., 2021. [9] และการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดกระชายมีปริมาณฟีนอลิกที่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากกระชายได้มาจากแหล่งปลูกในพื้นที่เดียวกัน (จังหวัดพัทลุง) จากงานวิจัยของ Mahae, N., et al., 2009. [10]

พบว่าสารสกัดเหง้าข่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 31.49 ± 4.09 mgGAE.g⁻¹ ในขณะที่งานวิจัยของ Devi K, R., et al., 2018. [34] พบปริมาณ 1.52 ± 0.006 mgGAE.g⁻¹ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าการศึกษาครั้งนี้ (100.02 ± 5.32 mgGAE.g⁻¹) สำหรับสารสกัดพิกัตตรีภาพพิช ไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมมาก่อนหน้านี้ การศึกษาครั้งนี้พบว่าพิกัตตรีภาพพิชมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 114.84 ± 1.54 mgGAE.g⁻¹ ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติในพืชแต่ละชนิด จะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และพื้นที่การเพาะปลูกรวมถึงสภาพภูมิประเทศ

3.4 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในพิกัตตรีภาพพิช

จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยวิธี DPPH ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm พบว่าสารสกัดจากพิกัตตรีภาพพิชมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 555.94 µg/mL สารสกัดจากรากกระเพรามีค่า IC₅₀ มากกว่า 1000 µg/mL สารสกัดจากเหง้ากระชายมีค่า IC₅₀ มากกว่า 1000 µg/mL และสารสกัดจากเหง้าข่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 744.14 µg/mL และศึกษาด้วยวิธี ABTS ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm พบว่าสารสกัดจากพิกัตตรีภาพพิชมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 15.14 µg/mL สารสกัดจากรากกระเพรามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 66.25 µg/mL สารสกัดจากเหง้ากระชายมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 10.56 µg/mL และสารสกัดจากเหง้าข่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 8.93 µg/mL (Table 5)

การศึกษาศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้แก่ วิธี DPPH free radical scavenging activity เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง [35] และวิธี ABTS scavenging activity เป็นการทดสอบโดย

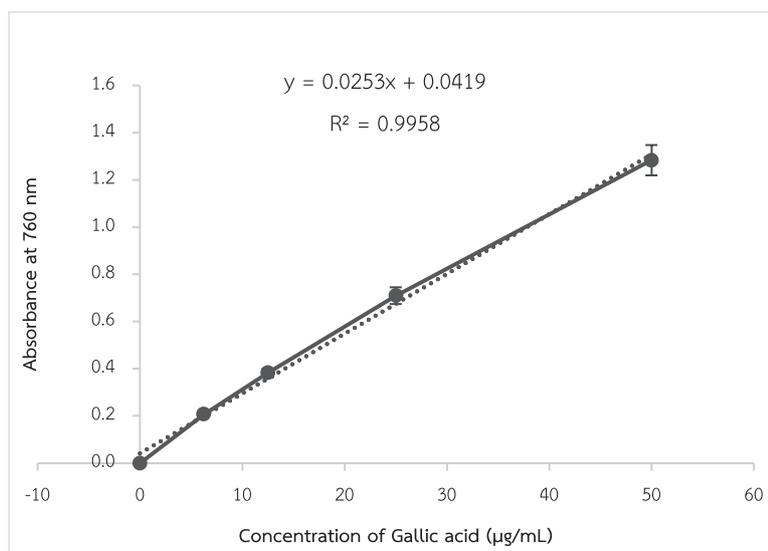


Figure 1 Gallic acid standard curve for the total phenolic content determination of the ethanolic crude extracts

Table 4 Total phenolic content of ethanolic crude extracts using the Folin-Ciocalteu colorimetric method

Samples	Concentration (mg/mL)	OD absorbance 760 nm			Total phenolic content mgGAE.g ⁻¹
		Sample 1	Sample 2	Sample 3	
tri-Kanpis remedy	0.2	0.63	0.61	0.63	114.84 ± 1.54
<i>O. tenuiflorum</i> L.	0.2	0.19	0.21	0.19	30.78 ± 2.50
<i>B. rotunda</i> (L.) Mansf.	0.2	0.52	0.56	0.57	100.02 ± 5.32
<i>A. galanga</i> (L.) Willd.	0.2	0.81	0.85	0.84	156.34 ± 3.89

ABTS (2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt) จะเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี [36] ตามเกณฑ์ของ Joabe, GM., et al., 2010. [37] กล่าวว่าการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ถ้าค่า IC₅₀ ต่ำกว่า 65

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ดี (Good activity) ค่า IC₅₀ ระหว่าง 65-152 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ปานกลาง (Average activity) ส่วนค่า IC₅₀ มากกว่า 152 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ต่ำ (Low activity) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดของรากกะเพรา มีค่า IC₅₀ มากกว่า 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำตามเกณฑ์ของ Joabe, GM., et al., 2010. [37] และมีค่า IC₅₀ มากกว่า เมื่อ

เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Piumngam, K., 2020. [38] ที่พบว่าสารสกัดหยาบจากเอทานอลโใบกะเพรา มีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.39 ± 1.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบของเหง้ากระชาย มีค่า IC_{50} มากกว่า 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำกว่าเกณฑ์เช่นเดียวกัน ซึ่งมีค่า IC_{50} มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Boonnaum, P., et al., 2021. [9] พบว่าสารสกัดหยาบจากกระชายขาว มีค่า IC_{50} เท่ากับ 232.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบของเหง้าข่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 744.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำกว่าเกณฑ์เช่นเดียวกัน ซึ่งมีค่า IC_{50} น้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Devi K, R., et al., 2018. [34] พบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าข่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 8540 ± 380 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับพิกัดตรีภาพพิษที่มีสมุนไพรรวมทั้ง 3 ชนิดเป็นองค์ประกอบ ไม่พบว่ามีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก่อนหน้านี้ การศึกษาครั้งนี้พบว่า พิกัดตรีภาพพิษ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 555.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำกว่าเกณฑ์ของ Joabe, GM., et al., 2010. [37]

3.5 ฤทธิ์ของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิษต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิษที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Agar well diffusion ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. Epidermidis*, *S. epidermidis* และแกรมลบ *E. coli*, *P. aeruginosa* โดยทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดตรีภาพพิษ โดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานการตรวจติดตามการเกิดวงรอบหยดสารต้านจุลชีพ (clear zone) จาก CLSI (2009) [39] ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดตรีภาพพิษสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) 17.70 ± 0.58 มิลลิเมตร และ *S. epidermidis* เท่ากับ 15.70 ± 1.15 มิลลิเมตร และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) *E.coli* เท่ากับ 15.00 ± 0.00 มิลลิเมตร *P. aeruginosa* เท่ากับ 14.70 ± 0.58 มิลลิเมตร (Table 6) สำหรับค่า MIC ของสารสกัดตรีภาพพิษต่อเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากัน คือ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่า MBC ของสารสกัดตรีภาพพิษต่อเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากันเช่นกัน (มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพิกัดตรีภาพพิษสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้แต่มีฤทธิ์น้อยกว่า vancomycin (MIC = 1 µg/mL)

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดตรีภาพพิษมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. Epidermidis*, *S. epidermidis* และแกรมลบ *E. coli*, *P. aeruginosa* ซึ่งไม่พบรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ แต่อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* โดยงานวิจัยของ Sama-ae, S., et al., 2017. [40] พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากพิกัดตรีภาพพิษมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับ 19.67 ± 0.58 มิลลิเมตร ค่า MIC เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Fungicidal concentration, MFC) เท่ากับ 256 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากงานวิจัยของ Srichok, J., et al., 2022. [29] รายงานว่าสารสกัดหยาบโใบกะเพรา มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (MIC เท่ากับ 15.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, และ MBC เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และยับยั้งเชื้อ *E. coli* (MIC เท่ากับ 15.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) งานวิจัยของ Jitvaropasa, R., 2012. [12] รายงานว่าสารสกัดหยาบเหง้ากระชาย มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ และเชื้อราได้ โดยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* (MIC เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, และค่าความเข้มข้นของสารที่จำเป็นสำหรับฆ่าจุลินทรีย์ (Minimum Microbicidal Concentration, MMC) เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *S. epidermidis*

Table 5 Antioxidant activity of ethanolic crude extracts by DPPH and ABTS methods

Samples	DPPH method			ABTS method		
	Concentration (µg/mL)	% Inhibition ± S.D	IC ₅₀ (µg/mL)	Concentration (µg/mL)	% Inhibition ± S.D	IC ₅₀ (µg/mL)
tri-kanpis remedy	62.50	10.83 ± 0.57	555.94	3.10	1.93 ± 0.58	15.14
	125	17.04 ± 0.59		7.81	43.31 ± 1.56	
	250	27.41 ± 0.13		15.63	51.15 ± 1.32	
	500	44.07 ± 0.89		31.25	63.99 ± 1.85	
	1000	68.29 ± 1.27		62.50	81.69 ± 0.19	
<i>O. tenuiflorum</i> L.	62.50	1.03 ± 0.59	>1000	15.63	38.57 ± 1.74	66.25
	125	6.48 ± 1.49		31.25	42.61 ± 0.50	
	250	10.50 ± 0.39		62.50	50.55 ± 3.59	
	500	22.12 ± 1.55		125	66.03 ± 5.78	
	1000	40.01 ± 4.25		250	83.04 ± 1.36	
<i>B. rotunda</i> (L.) Mansf.	3.10	4.96 ± 0.82	>1000	3.10	39.50 ± 1.17	10.56
	15.63	14.33 ± 0.80		7.81	46.27 ± 1.75	
	125	17.17 ± 4.59		15.63	60.90 ± 0.60	
	500	22.74 ± 4.71		31.25	81.41 ± 0.32	
	1000	36.61 ± 0.60		62.50	96.53 ± 0.14	
<i>A. galanga</i> (L.) Willd.	62.50	7.13 ± 1.76	744.14	3.10	42.36 ± 0.50	8.93
	125	11.65 ± 3.30		7.81	47.58 ± 0.47	
	250	19.57 ± 6.48		15.63	60.89 ± 0.31	
	500	40.75 ± 1.04		31.25	81.92 ± 0.63	
	1000	62.83 ± 2.27		62.50	97.12 ± 0.26	
Ascorbic acid	3.10	5.27 ± 0.36	36.50	7.81	7.04 ± 0.26	59.81
	7.81	10.44 ± 0.57		15.63	16.33 ± 1.14	
	15.63	23.15 ± 0.99		31.25	34.39 ± 0.43	
	31.25	47.25 ± 0.98		62.50	71.52 ± 0.93	
	62.50	82.45 ± 0.26		125	97.18 ± 3.84	

(MIC เท่ากับ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, และค่า MMC เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (MIC มากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, และค่า MMC มากกว่า มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *P. aeruginosa* โดยมีค่า MIC มากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MMC มากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากงานวิจัยของ Oonmetta-aree, J., et al., 2005. [41] รายงานว่าสารสกัดหยาบเหง้าข่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพโดยยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (Inhibition zone เท่ากับ 22.34 ± 0.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร) และยับยั้งเชื้อ *E. coli* (Inhibition zone เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร)

ดังนั้นสรุปได้ว่า พิกัดตรีภาพพิชมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ อาจเนื่องมาจากฤทธิ์ของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งการออกฤทธิ์ยับยั้งได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ อาจอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ทั้ง 3 กลไกหลัก ดังนี้ 1) ทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของ แบคทีเรีย 2) ยับยั้งหรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ กรดนิวคลีอิก ได้แก่ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ 3) ยับยั้งหรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ โปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรีย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป (Khoka, A., 2020) [42]

3.6 การศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีการ Dopachrome method

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพิกัดตรีภาพพิช ด้วยวิธี Dopachrome method เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิกพบว่า สารสกัดทุกตัวที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำกว่าร้อยละ 50 ในขณะที่สารละลายมาตรฐานกรดโคจิกที่ความเข้มข้นเพียง 500 $\mu\text{g/mL}$ มีความสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ถึงร้อยละ 93.26 ± 10.39 (table 7)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของรากกะเพรา มีค่า IC_{50} มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Sarkar, S., et al., 2023. [43] พบว่าสารสกัดจากใบกะเพรา มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.06 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เหง้ากระชายมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Sudjaroen, Y., et al., 2022. [15] พบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้ากระชาย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.11 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเหง้าข่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Saeio, K., et al., 2011. [30] พบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าข่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.6

Table 6 Antibacterial activity of ethanolic crude extracts of tri-kanpis remedy

Samples	Inhibition zone (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
200 mg/mL tri-kanpis remedy	17.70 ± 0.58	15.70 ± 1.15	15.00 ± 0.00	14.70 ± 0.58
30 $\mu\text{g/mL}$ Vancomycin	31.88 ± 0.9	32.05 ± 0.8	ND	ND
30 $\mu\text{g/mL}$ Gentamicin	ND	ND	23.22 ± 0.07	26.00 ± 0.12

ND: Not determined

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับพิกัดตรีภาพพิษไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมาก่อนหน้านี้ การศึกษาครั้งนี้พบว่า พิกัดตรีภาพพิษ มีค่า IC₅₀ มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

กระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และการดักจับอนุมูลอิสระ (Free radical trapping agents) เป็นกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเมลานินจึงทำให้ผิวขาว ซึ่งสารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ เทอร์ปีน สเตอรอยด์ กรดคาร์บอกซิลิก กรดไขมัน คูมาริน สติลปีน ไบโอฟิโอริน และไอโซคูมาริน (Insain, P., 2018.) [44] การศึกษาครั้งนี้ พบว่าสารสกัดพิกัดตรีภาพพิษมีสารฟฤษเคมีจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน คาร์ดิแอกไกล

โคไซด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคูมาริน ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญที่มีรายงานว่าออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

3.7 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเจลล้างหน้า

จากผลการศึกษาข้างต้นซึ่งพบว่าเจลล้างหน้าสูตรตำรับสมุนไพร มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นจึงได้นำเจลล้างหน้าดังกล่าวมาวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพของเจลเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน (Table 8) ผลการทดสอบพบว่า เจลล้างหน้ามีสีน้ำตาลอ่อน และจากการสังเกตลักษณะโดยทั่วไปของเจลพบว่า มีลักษณะเหลวใส พบฟองอากาศภายในเจลเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-เบส มีค่า pH 5.91 ในส่วนของปริมาตรของฟองพบว่าเจลล้างหน้ามีปริมาตรของ

Table 7 Inhibition tyrosinase enzyme of ethanolic crude extracts using the Dopachrome method

Samples	Concentration (µg/mL)	% Inhibition ± S.D	IC ₅₀ (µg/mL)
tri-Kanpis remedy	250	19.58 ± 8.20	>1000
	500	43.62 ± 4.64	
	1000	36.35 ± 5.14	
<i>O. tenuiflorum</i> L.	250	30.66 ± 6.53	>1000
	500	46.93 ± 6.13	
	1000	39.63 ± 16.34	
<i>B. rotunda</i> (L.) Mansf.	250	6.13 ± 3.87	>1000
	500	2.96 ± 25.02	
	1000	50.57 ± 7.43	
<i>A. galanga</i> (L.) Willd.	250	28.85 ± 5.24	>1000
	500	39.46 ± 20.50	
	1000	43.33 ± 1.07	
Kojic acid	62.5	23.61 ± 0.91	118.71
	125	64.01 ± 12.37	
	250	85.25 ± 3.80	
	500	93.26 ± 10.39	

ฟอง เท่ากับ 95 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาตรของฟองที่ได้จาก เจลล้างหน้าถือว่ามามีปริมาตรมากพอสมควรสำหรับความ คงตัวของฟองสูง เท่ากับ 1 นาที มีความคงตัวของฟอง มากพอสำหรับการใช้ในแต่ละครั้ง มีความหนืดของเจล ล้างหน้า เท่ากับ 1776.0 mPa.s ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าผล การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพทั้งหมดผ่านเกณฑ์ กำหนดข้อพื้นฐานของเจลทั่วไปทุกข้อ [6] และการ ทดสอบความคงตัวของพิกัดตริกาฟิซที่สภาวะอุณหภูมิ ร้อนสลับเย็น และอุณหภูมิปกติพบว่า เจลที่ได้จากสาร สกัดพิกัดตริกาฟิซไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเจล ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าที่มีส่วน ประกอบของสารสกัดพิกัดตริกาฟิซ ประกอบด้วยราก กะเพรา เหง้ากระชาย และเหง้าข่า ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้ สมุนไพรเป็นส่วนผสมผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้ามากขึ้น เพื่อ เพิ่มสรรพคุณของผลิตภัณฑ์ จากผลการทดลองข้างต้น สารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ในพิกัดตริกาฟิซ และ สารสกัดพิกัดตริกาฟิซ มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้าน อนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ยับยั้ง เอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้นผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าเป็นสูตร ที่เหมาะสม โดยใช้สารสกัดสมุนไพรเป็นส่วนผสม ร้อยละ

1 ซึ่งเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Tongtan, J., et al., 2017. [45] มีการใช้สารสกัดขมิ้นสด 0.01 กรัม และสาร สกัดใบบัวบก 0.03 กรัม ต่อสูตรตำรับ 100 กรัม เติมลง ในเจลล้างหน้า เจลอาบหน้า เจลทาหน้า และเจลทาผิวกาย

4. สรุป

สารสกัดสมุนไพรรากกะเพรา เหง้ากระชาย และ เหง้าข่า รวมถึงสารสกัดพิกัดตริกาฟิซ พบสารพฤษ เคมี ได้แก่ กลุ่มแอนทราควิโนน คาติแอคโกลโคไซด์ สเตอรอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถนำ มาผสมในผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าได้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุงในการสนับสนุน วิจัย และคณะ อุตสาหกรรมเภสัชกรรมและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ที่ให้ความ อนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ สถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

Table 8 Physical and chemical properties of facial cleansing gel

Properties	Freshly prepared	After heating cooling storage
Color	Clear, no sediment, no adulterants	Clear, no sediment, no adulterants
Odor	Mild peach, no undesirable odor	Mild peach, no undesirable odor
pH	5.97	5.91
Volume of foam (mL)	80	95
Stability of the foam (min)	1	1
Viscosity (mPa.s)	2065.8	1776.0

6. References

- [1] Sharma, J., Weston, M., Alan, M., Batterham, and Iain R, Spears., 2014. Gait retraining and incidence of medial tibial stress syndrome in army recruits by the American College of Sports Medicine, Unauthorized reproduction of this article is prohibited, 0195-9131/14/4609-1684/0.
- [2] Dermatological institute, 2022. Top 10 reported outpatient diseases by disease category, Fiscal Year 2022, Source: <http://inderm.go.th>, December 28 2022. (in Thai)
- [3] Anthachai, J., 2020. Efficiency of local herbs in inhibiting the growth of bacteria and fungi, Master Thesis, Mahasarakham University, Mahasarakham, 191 p. (in Thai)
- [4] Department of medical sciences, ministry of public health, 1998. General traditional Thai medicine textbook, Nonthaburi. (in Thai)
- [5] Aqua plus series, 2022. There are many types of cleansers, but how do they differ? source: <https://aquaplus.co.th/different-type-of-cleanser>, March 10, 2022. (in Thai)
- [6] Jaiphakdee, N., Facial cleansing gel containing rubber oil: https://www.thailandtechshow.com/view_techno.php?id=659, June 11, 2015. (in Thai)
- [7] Industrial product standards, 2020. Thai SMEs standard for herbal face wash product SMEs 16-2020, Bangkok. 16p. (in Thai)
- [8] Keawsaard, S., 2016. *Ocimum sanctum* Linn. and free radical scavenging activity, Journal of Science Ladkrabang, 20(3): 55-65. (in Thai)
- [9] Boonnaum, P., Kabae, N., Hayeemasalaeh, R., Marde, W., and Noipha, K., 2021. Phytochemical study total phenolic, and antioxidant activity of *Boesenbergia pandurata* holtt extract for development of paper hand soap, Research and development health system journal, 14(3): 152-165. (in Thai)
- [10] Mahae, N., and Chaiseri, S., 2009. Antioxidant activities and antioxidative components in extracts of *Alpinia galanga* (L.), Kasetsart Journal (Natural Sciences), 43: 358-369. (in Thai)
- [11] Yamani H, A., Pang E, C., Mantri, N., and Deighton M, D., 2016. Antimicrobial activity of tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) essential oil and their major constituents against three species of bacteria, Frontiers in microbiology, (7): 1-10.
- [12] Jitvaropas, R., Saenthaweewesuka, S., Somparna, N., Thuppiia, A., Sireeratawong, S., and Phoolcharoe, W., 2012. Antioxidant, antimicrobial and wound healing activities of *Boesenbergia rotunda*, Natural Product Communications, 7(7): 910-912. (in Thai)
- [13] Rao, K., Bhuvaneshwari, C., Lakshmi, M., and Narasu, Giri A., 2010. Antibacterial activity of *Alpinia galanga* (L) wild crude extracts, Applied Biochemistry and Biotechnology, 162: 871-884.
- [14] Salaria K, H., Guleria, S., Majeed, A., Choudhary, P., and Aiman, F., 2022. Augmentation of polyphenol content and bioactive property of *O. sanctum* (Leaf) methanolic extract using *Lactobacillus*

- plantarum* (MTCC-1407), The pharma innovation journal, 11(5): 1061-1065.
- [15] Sudjaroen, Y., and Thongmuang, P., 2022. Phytochemical screening and biological activity of finger-root (*BOESENBERGIA ROTUNDA L.*) rhizome on skincare application, Journal of pharmaceutical negative results, 13(4): 1414-1418. (in Thai)
- [16] Lo C, Y., Liu P, L., Lin L, C., Chen Y, T., Hseu Y, C., WenZ, H., and Wang, H.-M., 2013. Antimelanoma and antityrosinase from *Alpinia galangal* constituents, The Scientific World Journal, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2013/186505>.
- [17] Ayoola, GA., Coker, HAB., Adesegun, SA., Adepoju, BAA., Obaweya, K., Ezennia, EC., and Atangbayila, TO., 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern nigeria, Tropical journal of pharmaceutical research, 7(3): 1019-1024.
- [18] Wanmanee, N., Siriwattanavorakul, P., Munee, S., Maneechot, A., Marde, W., and Noipha, K., 2021. Phyto chemical study, total phenolic, and antioxidant activity of herbal extracts for development of a hand treatment serum, Journal of traditional Thai medical research, (7)2: 31-44. (in Thai)
- [19] Majhenic, L., kerget, M.S., and Knez, Z., 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extract, Journal of ethnopharmacology, 104(3): 1258-1268.
- [20] Thongmak, K., Janpat, T., Chandang, R., Marde, W., and Noipha, K., 2021. Preliminary phytochemical study and antioxidant activity of five flowers remedy, Journal of traditional Thai medical, 7(2): 61-74. (in Thai)
- [21] Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morell, I., and Mendez, J., 2002. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*, Journal of ethnopharmacology, 79(3): 379-381.
- [22] Arnao, MB., Cano, A., and Acosta, M., 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 73: 239-244.
- [23] Somsap, O., Piboonpol, G., Payanglee, K., and Daengrot, C., 2021. Antibacterial and antioxidant activity of Nam-Nam fruit extract, Princess of naradhiwas university journal, 11(2): 156-167. (in Thai)
- [24] Uthairung, A., Rattarom, R., and Mekjaruskul, C., 2022. Cosmeceutical applications of essential oils of *Amomum biflorum* Jack from whole plant and rhizome, Thai Journal of Science and Technology, 9(5): 681-692. (in Thai)
- [25] Chemipan corporation, Facial cleansing gel, Source: <https://www.chemipan.com/a/th-th/277-facial-cleansing-gel.html>, July 25, 2023. (in Thai)
- [26] Thitiwongsawet, P., Wongjanla, S., and Jandawong, W., 2016. Antibacterial soaps containing the crude extracts of *Phyllanthus emblica* LINN. fruits, Srinakharinwirot university journal of science and technology, 8(15): 1-13. (in Thai)

- [27] Suwansee, S., Laosrisin, N., and Sukatta, U., 2022. Development of turmeric extract gel for treating gingivitis, *Journal of Thai traditional and alternative medicine*, 20(3): 474-475. (in Thai)
- [28] Trakanchaiwong, K., Limpongsa, E., and Jaiphakdee, N., 2023. Development of a cream formula for relieving cellulite using black tea, lemongrass oil, and lime oil, *Academic conference on natural beauty and good health through the science of beauty, Thailand*. (in Thai)
- [29] Srichok, J., Yingbun, N., Kowawisetsut T., Kornmatitsuk S., Suttisansanee U., Temviriyankul P., and Chantong, B., 2022. Synergistic antibacterial and anti-inflammatory activities of *Ocimum tenuiflorum* ethanolic extract against major bacterial mastitis pathogens, *Antibiotics*, 11, 510. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040510>. (in Thai)
- [30] Saeio, K., Chaiyana, W., and Okonogi, S., 2011. Antityrosinase and antioxidant activities of essential oils of edible Thai plants, *Drug Discoveries & Therapeutics*, 5(3): 144-149. (in Thai)
- [31] Nambuddee R., 2021. Morphological characterization and harvesting seasons on secondary metabolite contents of holy basil (*Ocimum sanctum* L.), A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science (agricultural technology) department of agricultural technology faculty of science and technology. (in Thai)
- [32] Supaphon, P., and Chuengsungnoen, P., 2022. Physicochemical properties and nutritional values of reduced-sugar galanga jelly from galanga root extract, *Life Sciences and Environment Journal*, 23(1): 143-156. (in Thai)
- [33] Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Punyoyaia, C., Neimkhumd, W., Lee K. H., Lin W. C., Lue S. C., Viernstein, H., and Mueller, M., 2019. *Ocimum sanctum* Linn. as a natural source of skin anti-ageing compounds, *Industrial Crops & Products*, 127217–224 (in Thai)
- [34] Devi K, R., Singh P, P., Devi M, M., and Sharma G, J., 2018. Evaluation of antioxidant activities of *Alpinia galanga* (L.) willd, *Biosciences biotechnology research asia*, 15(4): 899-908.
- [35] Zhang WW, Duan XJ, Huang HL, Zhang Y, and Wang BG., 2008. Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions derived from *Symphycladia latiuscula* (Rhodomelaceae), *Journal of Applied Phycology*, 19: 97 – 108.
- [36] Rahim AA, Rocca E, Steinmetz J, Kassim MJ, Ibrahim MS, and Osman, H., 2008. Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extract, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 107(1): 200-207.
- [37] Joabe, GM., Thiago, ASA., Valérium, TNAC., Daniela, LVC., Maria, DR., Silene, CN., Elba,

- LCA., and Ulysses, PA., 2010. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern brazil, *Electronic journal molecules*, 15 (12): 8534-8542.
- [38] Piumngam, K., 2020. In vitro study of antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory effects of Thai medicinal plants for diabetic patients, *Journal of the Medical Technologist Association of Thailand*, 48(3): 7504-7518. (in Thai)
- [39] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2009. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility teste for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition*. USA : Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa.
- [40] Sama-ae, S., Poonthananiwatkul, B., Hemtrakul, R., and chomchom, P., 2017. Effect of pikut tri-kalpis Extract on *Candidas albicans* causing dermatitis, The 1st national conference research and innovation knowledge transformation toward thailand 4.0, Maefaluang university. pp. 1-5. (in Thai)
- [41] Oonmetta-areea, J., Suzukib, T., Gasalucka,P., and Eumkeb G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 39: 1214–1220. (in Thai)
- [42] Khoka, A., 2020. Antibiotics and antibiotic resistance, *Journal of Medicine and Health Sciences*, 27(2): 125-139. (in Thai)
- [43] Sarkar, S., Hoda, M., and Das, S., 2023. Anti-melanogenic, antioxidant potentialities, and metabolome classification of six *Ocimum* species: Metabolomics and in-silico approaches, *Trends Phytochem, Res.* 7(1): 30-50.
- [44] Insain, P., 2018. Inhibition of melanogenesis from Thai berries, *Eau heritage journal science and technology*, 12(2): 69-82. (in Thai)
- [45] Tongtan, J., and Thumrongpirapong, S., 2017. Development of herbal cosmetics from local wisdom and traditional economic plants to cosmetic product standards, Research report, Bangkok, Suan Dusit University. (in Thai)