การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านอนุมูลอิสระ และต้านสแตฟฟีโลคอสคัส ออเรียสจากสารสกัดใบย่านางสำหรับผิว

พิชญ์พิมล กานดารักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

DEVELOPMENT OF GEL FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANTI STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM YANANG LEAVES EXTRACTS FOR SKIN

PHICHPIMOL KANDARAK

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for

Master of Science program in Thai Tradition Pharmacy

Academic Year 2018

Copyright of Bansomdejchaopraya Rajabhat University

ชื่อเรื่อง	**การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านอนุมูลอิสระและต้านสแตฟฟีโลคอสคัส ออเรียสจากสารสกัดใบย่านางสำหรับผิว**
ชื่อผู้วิจัย	**พิชญ์พิมล กานดารักษ์**
สาขาวิชา	**เภสัชกรรมไทย**
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	**ดร.อัจฉรา แก้วน้อย**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณ ชาญชัยเชาวน์วิวัฒน์**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	**อาจารย์สุชาดา มานอก**

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ดร.คณกร สว่างเจริญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการสอบ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อ้อมบุญ วัลลิสุค)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.อัจฉรา แก้วน้อย)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณ ชาญชัยเชาวน์วิวัฒน์)

.....กรรมการ

(อาจารย์สุชาดา มานอก)

.....กรรมการและเลขานุการ

(อาจารย์สุภรัตน์ ดวนใหญ่)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต้านอนุมูลอิสระและต้านสแตฟฟีโลคอสคัสออเรียสจากสารสกัดใบย่านางสำหรับผิว**

ชื่อผู้วิจัย **พิชญ์พิมล กานดารักษ์**

สาขาวิชา **เภสัชกรรมไทย**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก **ดร.อัจฉรา แก้วน้อย**

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.อรุณ ชาญชัยเชาวน์วิวัฒน์**

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **อาจารย์สุชาดา มานอก**

ปีการศึกษา **2561**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลลิคของใบย่านางที่สกัดด้วยเอทานอล และเมทานอล 2) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus* ด้วยวิธี Diffusion Test ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และที่ฆ่าเชื้อทดสอบได้ (MBC) 3) พัฒนาตำรับเจลสารสกัดใบย่านางด้วยเอทานอล จากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกของตำรับ

ผลการวิจัยพบว่า

สารสกัดใบย่านางด้วยเมทานอล และเอทานอล มีค่าร้อยละการต้านอนุมูล เท่ากับ 51.273 ± 0.024 และ 39.686 ± 0.005 และที่เข้มข้น 10 mg ต่อ 1 mg จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.440 ± 0.199 และ 1.316 ± 0.015 (mgGAE/1000ml) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 20mg/Disc ขนาดโซนเท่ากับ14.5 และ12.21mm ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) มีค่า 62.5 mg/ml เท่ากันทั้งสองชนิด และที่ฆ่าเชื้อทดสอบได้ (MBC) มีค่าเท่ากับ 500 mg/ml เท่ากันทั้งสองสารสกัด

ตำรับเจลสารสกัดใบย่านางด้วยเอทานอล F1 และ F2 หลังจากสภาวะเร่งมีค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 15.49 ± 0.004 ตำรับ F2 มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 2.72 คิดเป็นค่าร้อยละการอนุมูลอิสระเท่ากับ 31.82±0.000 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 10.87±0.35 และ11.00±0.25 ตำรับ F2 ไม่เปลี่ยนสีและกลิ่น เจล 50 µl สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ขนาดโซนเท่ากับ 19.67±0.577 mm. เจลสารสกัดใบย่านางด้วยเอทานอลจึงเหมาะสมกับสภาพผิวหนัง

คำสำคัญ : ย่านาง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลลิค เจล

Title **Development of Gel for Antioxidant Activity and Anti *Staphylococcus aureus* from Yanang Leaves Extracts for skin**

Author **Phichpimol Kandarak**

Program **Thai Pharmacy**

Major Advisor **Dr.Atchara Kaewnoi**

Co-Advisor **Assistant Professor Dr.Arrun Lertsatitthanakorn**

Co-Advisor **Suchada Manook**

Academic Year **2018**

ABSTRACT

The purposes of this research were to 1) Study the antioxidant activity and phenolic compound of Yanang leave extracted with ethanol and methanol. 2) Study the antibacterial *Staphylococcus aureus* of Yanang ethanol extract and methanol extract. 3) Formulate gel Yanang ethanol extract for maximum of antioxidants activity and total phenolic compounds of the formula.

The findings revealed as follow:

Yanang methanol extract has antioxidant activity by DPPH assay, with 51.273 ± 0.024 and 39.686 ± 0.005 mg/ml the highest.The Phenolic compound of Yanang methanol extract total content 1.440 ± 0.199 while Yanang ethanol extracted content 1.316 ± 0.015 (mgGAE / 1000ml) For Yanang methanol extract and ethanol extract at 20mg / Disc inhibition of the zone size 14.5 and 12.21 mm. The lowest inhibitory concentration (MIC) was 62.5 mg /ml and MBC at 500 mg /ml Yanang methanol extract and ethanol extract the same

Gel Yanang ethanol extract F1 and F2 both showed the total phenolic content 15.49 ± 0.004 after accelerated conditions. The formulation F2 increase in antioxidant activity 2.72, equal to 31.82 ± 0.000, total phenolic content equal to 10.87 ± 0.35 and 11.00 ± 0.25. Formulation F2 no color or smell change. Gel 50 µl can inhibit *S. aureus*, zone size 19.67 ± 0.577 mm. Gel Yanang ethanol extract suitable for skin care.

Keyword (s): Yanang Antioxidant Phenolic compound Gel

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการสอบวิทยานิพนธ์นี้ ที่ได้ให้แง่คิดที่เป็นประโยชน์ในปรับปรุงแก้ไข และตรวจสอบวิทยานิพนธ์เล่มนี้อย่างละเอียดรอบคอบ เพื่อให้เนื้อหาของงานวิจัยนี้มีความชัดเจนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร.อัจฉรา แก้วน้อย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกรและอาจารย์เพชรน้ำผึ้ง รอดโพธิ์ ที่ให้คำแนะนำ และเอาใจใส่อย่างดีเยี่ยมมาตลอด ตั้งแต่เริ่มต้นจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณ ชาญชัยเชาวน์วิวัฒน์ อาจารย์ศุภรัตน์ ดวนใหญ่ และอาจารย์สุชาดา มานอก สำหรับความรู้ที่ได้รับ อันมีความหมายต่อวิทยานิพนธ์

ผู้วิจัยขอขอบคุณเพื่อนรุ่น 1 ทุกๆ ท่าน ได้เรียนรู้ประสบการณ์ร่วมกัน โดยเฉพาะคุณธนัณนัณ อนันตศิริสถาพร คุณพวงทอง แก่นนาคำและเพื่อนๆ อีกหลายคนที่ไม่ได้เอ่ยชื่อสำหรับการสนทนาแลกเปลี่ยนความรู้ที่มีประโยชน์ ขอขอบคุณ คุณกาญจนา สุรภา กับการช่วยเหลือด้าน IT ทำกราฟฟิกต่างๆ

ขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ ณัฐธัญ มณีรัตน์ กับคำแนะนำและกำลังใจเมื่อพบอุปสรรค

ขอขอบคุณ คุณสุฐิตา ฉันททิวากร คุณทินาภา-คุณมงคลวัฒนา จักรพรรดิแก้ว ช่วยเหลือเป็นกำลังใจในทุกๆ ด้านจนสามารถทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้จบลงได้ด้วยดี

งานวิจัยเล่มนี้ ขอมอบแด่ ครูบาอาจารย์ บิดา มารดาและครอบครัวของข้าพเจ้าที่สนับสนุนด้านการเรียนและคอยให้กำลังใจเวลาที่เหนื่อยล้าจากการเรียนผ่านพ้นได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่าน ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ทั้งปวงให้แก่ผู้วิจัยเสมอมา

พิชญ์พิมล กานดารักษ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ข

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ง

สารบัญตาราง..... ฉ

สารบัญภาพ..... ช

บทที่ 1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

สมมติฐานของการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย..... 4

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 4

กรอบแนวความคิดในการวิจัย..... 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 6

สารต้านอนุมูลอิสระ..... 6

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์..... 8

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านาง..... 9

โครงสร้างระบบผิวหนัง..... 12

เจล..... 16

ศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์..... 16

ฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus*..... 17

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 18

เครื่องมือและวิธีที่ใช้ในการวิจัย..... 18

วิธีดำเนินการวิจัย..... 19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	26
ผลการเตรียมสารสกัดใบย่านาง	26
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล	26
ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล	30
ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล	31
ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ กรดเป็นเบส (pH), ความหนืด (cP),สีและกลิ่นตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลในสภาวะเร่ง	32
ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S. aureus* ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง	33
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	34
สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย	35
ข้อเสนอแนะ	35
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	40
ภาคผนวก ก การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ของสารสกัดหยาบเร่วน้อยวิธี Disc diffusion และวิธี Broth Microdiluti	41
ภาคผนวก ข ผลการตรวจสอบชนิดพันธุ์พืช	47
ภาคผนวก ค หนังสือตอบรับลงบทความ	55
ประวัติผู้วิจัย	57

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบในตำรับเจลย่านางที่สกัดด้วยเอทานอล.....	22
2	ผลการสกัดใบย่านางด้วยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล....	26
3	ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเมทานอล.....	27
4	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเมทานอล.....	28
5	ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid).....	28
6	ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดใบย่านางที่สกัดด้วยตัวทำ ละลายเอทานอลและเมทานอล.....	30
7	ผลการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอลในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S.aureus*.....	30
8	ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลจากค่า ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิก ทั้งหมดของตำรับ ก่อนและหลังการทำสภาวะเร่ง.....	31
9	ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ กรดเป็นเบส (pH), ความหนืด (cP) สีและ กลิ่นตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลในสภาวะเร่ง.....	32
10	ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ S. aureus ของสูตรตำรับรูปแบบเจล สารสกัดจากใบย่านาง.....	33

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวคิดในการวิจัย.....	5
2	กลไกการต้านออกซิเดชันของสารจำพวกฟีนอล.....	7
3	เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดย่านางจากแต่ละจังหวัด.....	7
4	ใบย่านาง.....	8
5	กราฟความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารสกัดย่านางที่ละลายและไม่ละลายในน้ำ.....	11
6	โครงสร้างระบบผิวหนัง…….....	13
7	ลักษณะเซลล์แบคทีเรีย *S.aureus*….....	17
8	กราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก……....	29

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ย่านาง *Tiliacora Triandra* (Diels) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้าน ที่ใช้เป็นอาหารและเป็นยาตั้งแต่สมัยโบราณ จนมีคำกล่าวว่า “ หมื่นปีบ่มีแก่” การใช้สมุนไพรย่านางพบว่า มีการใช้ทุกส่วนของต้น เพราะมีความเชื่อว่ามีสารที่มีคุณประโยชน์ทำให้ไม่แก่ โดยเฉพาะการใช้ใบย่านางในการทำอาหาร เช่น ทำแกงเลียง แกงขี้เหล็กหรือหั่นซอยละเอียดเพื่อรับประทานกับข้าวยำ ชาวเหนือใช้ยอดอ่อนของต้นย่านางมาลวกเป็นผักรับประทานกับน้ำพริก ใบแก่คั้นน้ำนำมาใส่แกงหน่อไม้แกงแค (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553) มีงานวิจัยที่แสดงว่าย่านางสามารถลดกรดยูริคในหน่อไม้ได้ ในปัจจุบันนิยมนำใบย่านางมาทำน้ำคลอโรฟิลล์ดื่ม เพื่อปรับสมดุลของร่างกาย (ย่านาง-อาหารที่เป็นยา, 2555) เนื่องจากใบย่านางมีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ คือ เส้นใยอาหาร แคลเซียม ธาตุเหล็ก เบต้าแคโรทีนและวิตามินเอ ซึ่งมีในปริมาณสูง

สำหรับการใช้สมุนไพรย่านางในการรักษาโรคมีมาแต่โบราณ ด้วยสรรพคุณทางยาที่รู้กันว่า ใบย่านาง มีรสจืด กินได้ ใช้ถอนพิษผิดสำแดง แก้ไข้ ตัวร้อน แก้ไข้รากสาด ไข้พิษ ไข้หัวหรือใช้ย่านางทั้งต้นปรุงเป็นยาแก้ไข้กลับ แก้ปวดท้อง (กองประกอบโรคศิลปะ, 2541) ใช้เข้ายาในบัญชียาหลักแห่งชาติ เช่น ยามหานิลแท่งทองที่ในยาผง 100 กรัม จะมีใบย่านางหนัก 10 กรัม (บัญชียาหลักแห่งชาติ, 2554) ข้อบ่งใช้ คือ แก้ไข้กาฬ ไข้หัด อีสุก อีใส แก้ร้อนในและกระหายน้ำ

ในการศึกษาวิเคราะห์สารสกัดจากย่านางซึ่งผลการศึกษา มีความสอดคล้องกับการใช้เป็นยาในอดีต คือ สรรพคุณของใบใช้ถอนพิษไข้ แก้ไข้ฝีดาษ เถาใช้ถอนพิษผิดสำแดง แก้ไข้กลับ ราก แก้พิษเมาเบื่อ กระทุ้งพิษไข้ แก้พิษภายใน บำรุงหัวใจ (วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540) และการใช้ส่วนต่างๆ ของต้นย่านางเพื่อประโยชน์อื่นๆ ในปัจจุบันมีการนำเอาส่วนต่างๆ ของต้นย่านางมาสกัดเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี เช่น รากย่านางมีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด เช่น ทิเรียโครีน (Tiliacorine) ทิเรียโคลินิน (Tiliacorinine) นอร์ทิเรีย โครินิน (Nor-Tiliacorinine) เป็นต้น (Wiriyachitra, p.1981) สารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาช่วยลดอาการไข้ได้

การศึกษาปริมาณธาตุเหล็ก กรดแอสคอบิกและเส้นใยอาหารในผักพื้นบ้านภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า ใบย่านางมีปริมาณกรดแอสคอบิกสูงที่สุด (พนารัตน์ เลาหบุตร, 2543) สำหรับการศึกษาไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids) หรือที่เรียกว่าสารประกอบประเภทกัม (Gum) จากใบย่านางสกัด เพื่อใช้ประโยชน์เป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีม (จิตรา สิงห์ทองและคณะ, 2550)

งานวิจัยที่ศึกษาสารให้สีจากใบย่านางสด เช่น การวิเคราะห์สารประกอบ Polyphenolics จากใบสดย่านางเพื่อวัดสีสารสกัดโดยใช้แถบเทียบสีผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป (RHS Color Charts) จากการใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ อะซิโตน เมทานอลและเอทานอล พบว่า ในช่วงการดูดกลืนแสง (Absorbance) อยู่ที่ช่วง Visible 200-274 นาโนเมตร และช่วง 400-655 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วงสีม่วง คราม เขียว ส้ม และแดง ซึ่งสีที่ตาสามารถมองเห็นคือ สีเหลือง สีส้ม สีแสด สีแดง สีน้ำเงินและสีเขียว (ปานทิพย์ บุญส่งและคณะ, 2552) นอกจากนี้มีการศึกษาพิษเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรัง ของสารสกัดจากน้ำย่านางในหนู โดย การทดสอบป้อนน้ำย่านางให้แก่หนูเพศผู้ 10 ตัว เพศเมีย 10 ตัว ทุกวันด้วย ในปริมาณ 300, 600 และ 1,200 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัวเป็นเวลาต่อเนื่อง 90 วัน แล้ววิเคราะห์ตรวจสอบกายภาพ อวัยวะ น้ำหนักของสัตว์ทดลองและการตรวจสอบทางโลหิตวิทยา พยาธิสภาพ พบว่า สารสกัดจากน้ำย่านาง ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันหรือกึ่งเรื้อรังในหนูทั้งสองเพศแต่อย่างใด (Seewaboon Sireerawong, 2008) ในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้เถาย่านางสกัดเพื่อเป็นส่วนประกอบในการบำรุงผิว โดยมีข้อมูลที่น่าสนใจอธิบายว่า สารสกัดจากเถาของต้นย่านาง เป็นส่วนประกอบผลิตภัณฑ์บำรุงผิวได้ดี มีประสิทธิภาพสารที่สกัดได้สามารถปกป้องริ้วรอยในชั้นหนังแท้ และลดริ้วรอยบนผิวชั้นนอก ช่วยให้เกิดการผลัดผิวได้ง่าย ช่วยลดริ้วรอยบริเวณหน้าผาก แก้มและบริเวณหางตาได้ ทำให้รอยลึกบริเวณรอบริมฝีปากลดลง (Dmitri S, 2012) จากข้อมูลงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเถาของย่านางมีประสิทธิภาพในการบำรุงผิวได้เป็นอย่างดี ในปัจจุบันจะเห็นผลิตภัณฑ์เพื่อลดริ้วรอย และให้ความชุ่มชื้นออกมาในรูปแบบต่างๆ เป็นจำนวนมาก เช่น ครีมโคเอนไซน์ คิว 10 (Coenzyme Q10 cream) คอลาเจน ครีม (Collagen Cream) รวมถึงวิธีการอื่นๆ เพื่อช่วยลดริ้วรอย

จากข้อมูลเบื้องต้น นำมาสู่ความสนใจการศึกษางานวิจัยเครื่องสำอางที่ใช้บำรุงผิว ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบย่านางเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากใบของย่านางมีสารต้านอนุมูลอิสระ จึงน่าจะใช้ประโยชน์ทำให้เครื่องสำอางมีประสิทธิภาพ ในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เพื่อเป็นการพัฒนาสมุนไพรย่านางให้เป็นประโยชน์มีการใช้เพิ่มขึ้นและเพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากสมุนไพร อีกทั้งยังเป็นการกระตุ้นเศรษฐกิจไทยตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจแห่งชาติฉบับที่ 12 อย่างยั่งยืนด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ

3. เพื่อพัฒนาตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล ที่มีส่วนผสมจากสารสกัดใบย่านาง ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และฤทธิ์ต้าน *S.aureus* ที่ดีที่สุด

4. เพื่อศึกษาความคงตัวทางเคมีและทางกายภาพ ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง

สมมติฐานของการวิจัย

ใบย่านางสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอล มีฤทธิ์ต้านหรือยับยั้งเชื้อ *S.aureus* แตกต่างกัน ค่าแปรผันไม่เท่ากัน ผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดจากใบย่านางมีประสิทธิภาพ ต้านอนุมูลอิสระได้ มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยมีขอบเขตรายละเอียด ดังนี้

1. เก็บตัวอย่างพืชที่ใช้ในการวิจัย คือ ย่านาง (*Tiliacora Triandra* Diels) ชื่อวงศ์ Menispermaceae จากตำบลจอมบึง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ใช้ส่วนใบนำมาอบแห้งแล้วบดและสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอล

2. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอล และเอทานอลของใบย่านาง โดยวิธี DPPH assay 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazy

3. หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลและเอทานอลของใบย่านางด้วยวิธี Folin - Ciocalteu method

4. ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) *S.aureus* ของสารสกัดเมทานอลและเอทานอลของใบย่านาง ด้วยวิธี Broth Dilution Technique

5. ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดเมทานอลและเอทานอลของใบย่านาง โดยวิธี Agar Disc Diffusion Method

6. พัฒนาตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลที่มีส่วนผสมจากสารสกัดใบย่านางที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus* ที่ดีที่สุด

7. ศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับในสภาวะเร่ง

8. ศึกษาความคงตัวทางกายภาพตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลในสภาวะเร่ง

9. ทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถใช้ประโยชน์สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบย่านางได้
2. สามารถพัฒนาสูตรตำรับเจลบำรุงผิวของสารสกัดจากใบย่านาง
3. เพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรย่านางในการใช้ประโยชน์เป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

นิยามศัพท์เฉพาะ

จากพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานปี พ.ศ. 2542 ให้ความหมายนิยายคำศัพท์ ดังนี้

สารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่ขจัดอันตรายอันเกิดจากอนุมูลอิสระ โดยต่อต้านหรือยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ เพื่อไม่ให้อนุมูลอิสระทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย

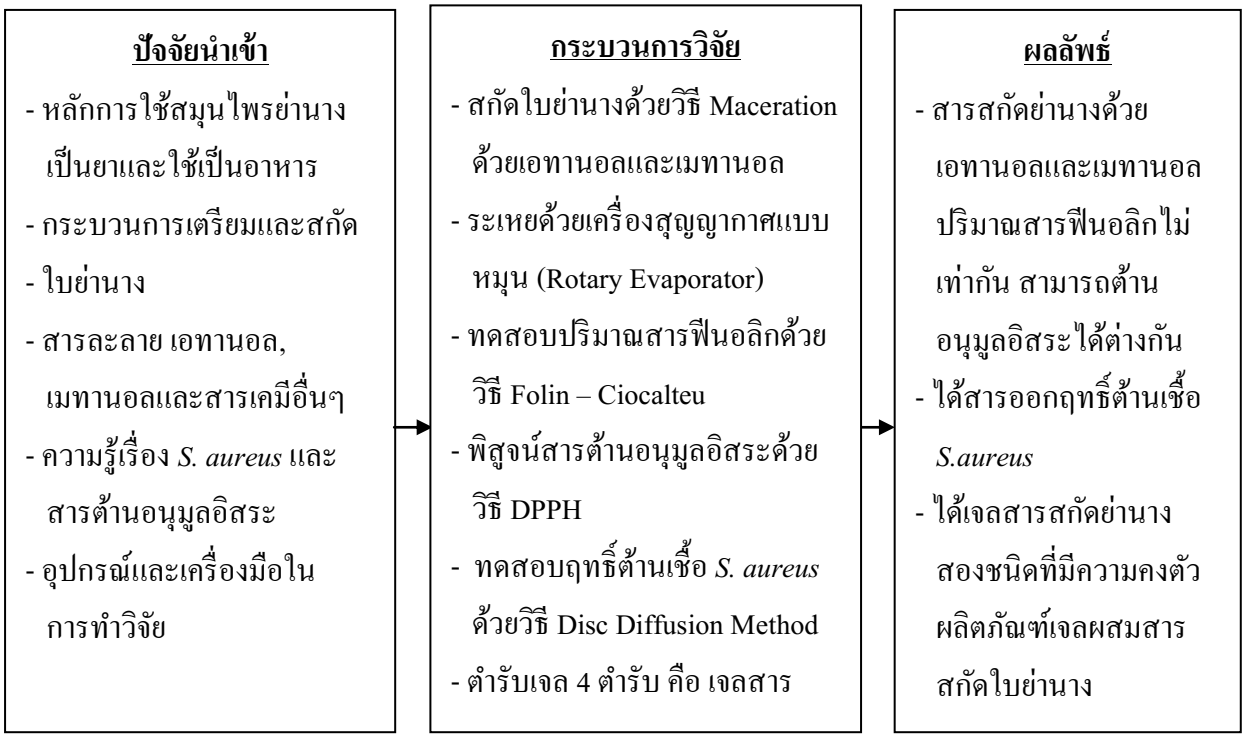
สมุนไพร หมายถึง ผลิตผลธรรมชาติ ได้แก่พืช สัตว์และแร่ธาตุหรือผสมกับสารตัวอื่นตามตำรับยา เพื่อบำบัดโรค บำรุงร่างกายหรือใช้เป็นยาพิษ เช่น กระเทียม น้ำผึ้ง ไส้เดือน ยางน่องโล่ติ้น

เครื่องสำอาง หมายถึง สิ่งเสริมแต่งหรือบำรุงใบหน้า ผิวพรรณ ผม ฯลฯ ให้ดูงาม เช่น แป้ง ลิปสติก ดินสอเขียนคิ้วหรือวัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือส่งเสริมให้เกิดความสวยงาม

การหมัก หมายถึง ขบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น โถ ขวดรูปชมพู่หรือขวดปากกว้าง เป็นต้น หมักทิ้งไว้ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วจึงค่อยๆ รินเอาสารสกัดออกรวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง

กรอบแนวคิดในการทำวิจัย

การดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ มีกรอบแนวคิดที่สัมพันธ์กันระหว่างปัจจัยนำเข้า กระบวนการวิจัยและได้ผลลัพธ์ ดังนี้ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

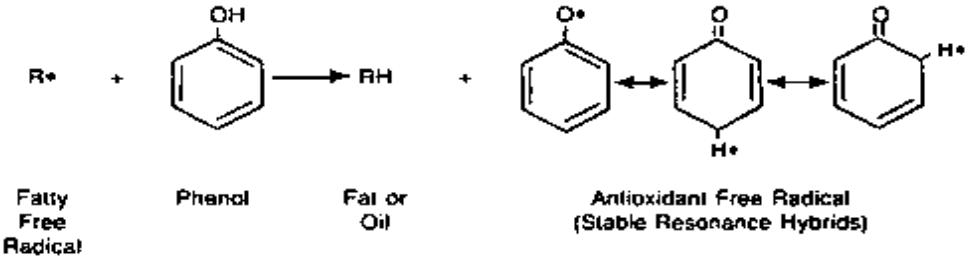
ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องประกอบด้วยและได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation)
2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
3. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านาง
4. โครงสร้างของระบบผิวหนัง
5. เจล (Gels)
6. ศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ (Stability Test)
7. ฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus*

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation)

หมายถึง สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดอนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของโมเลกุลสารอื่นๆ ไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ในร่างกาย การจับกับอนุมูลอิสระลดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่โดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้น สารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอบิก วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน พฤกษาเคมีต่างๆ (Phytochemicals) เช่น สารประกอบฟีนอลิกของต้นย่านางที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (ภาพที่ 2) (ไชยวัฒน์ ไชยสุตและคณะ, 2550)

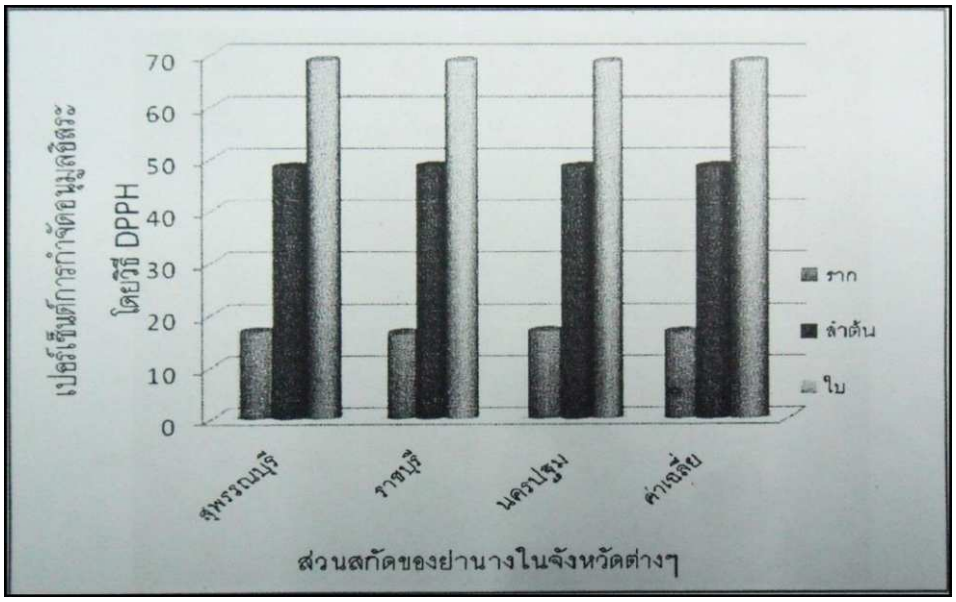
ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหาสารที่สามารถลดอนุมูลอิสระมากขึ้น จากรายงานวิจัยมีการนำผักพื้นบ้านหรือผลไม้มาสกัดเพื่อหาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการนำตัวอย่างที่สนใจมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ทั้งชนิดที่มีขั้วและชนิดไม่มีขั้ว แล้วทดสอบฤทธิ์ของสารในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural Antioxidants) พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืชผักและผลไม้ที่มีสี เช่น สีแดง ดำหรือม่วง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (Zang et al,. 2006) สารที่ค้นพบส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี



ภาพที่ 2 กลไกการต้านออกซิเดชันของสารจำพวกฟีนอล

(Richard, 1990)

จากการวิจัยสารต้านอนุมูลอิสระของย่านางที่ได้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากราก ลำต้นและใบ ด้วยวิธี Folin Ciocalteu Reagents พบว่า สารสกัดจากใบย่านางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ภาพที่ 3) (นภาพร แก้วดวงดี, 2556) เมื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดย่านางพบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกในระดับสูง ส่วนการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดย่านาง โดยวิธี MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltrazolium bromide) Colorimetrc Assay พบว่า ค่า IC_{50} มากกว่า 100 µg ของสารสกัด/มิลลิลิตร ไม่ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเซลล์เท่านั้น ย่านางจึงอยู่ในประเภทของสมุนไพรที่มีความเป็นพิษต่ำต่อ Caco-2 cell line (รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์และคณะ; 2554)



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดย่านางจากแต่ละจังหวัด

(นภาพร แก้วดวงดี, 2556)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tiliacora triandra* (Diels)

ชื่อวงศ์: Menispermaceae

มีชื่อเรียก เถาย่านาง ย่านาง เถาหญ้านาง เถาวัลย์เขียว หญ้าภคินี ภาคเหนือเรียก จ้อยนาง ผักจอยนาง ภาคใต้ เรียก ย่านนาง ยานนาง ขันยอ ยาดนาง วันยอ พืชวงศ์ย่านางนี้ประมาณ 70 ตระกูล สามารถปลูกได้ในทุกภาคของประเทศไทย (วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2542) ลักษณะเป็นไม้เลื้อยเถากลมขนาดเล็กเหนียวมีสีเขียว เถาอ่อนมีขนอ่อนปกคลุม เถาแก่ผิวเรียบมีสีเข้ม มีข้อห่างๆ รากมีขนาดใหญ่มีหัวใต้ดิน

ภาพที่ 4 ใบย่านาง

(พิชญ์พิมล กานดารักษ์, 2561)

ใบเป็นใบเดี่ยวออกติดกับลำต้นแบบสลับ รูปร่างใบคล้ายรูปไข่ ปลายใบเรียว ฐานใบมน ขนาดใบ ยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ก้านใบยาว ดอกออกตามซอกใบ ซอกโคนก้าน จากข้อเถาแก่เป็นช่อยาว 2-5 เซนติเมตร ช่อหนึ่งมีดอกขนาดเล็กสีเหลือง 3-5 ดอก ออกดอกแยกเพศอยู่คนละต้น ไม่มีกลีบดอก ต้นเพศผู้จะมีดอกสีน้ำตาลอับเรณูสีเหลืองอ่อน ดอกย่อยของเพศผู้จะมีขนาดเล็ก ก้านช่อดอกมีขนสั้นๆ ละเอียด ปกคลุมหนาแน่น ผลรูปร่างกลมเล็ก ขนาดเท่าผลมะแว้งสีเขียว เมื่อแก่กลายเป็นสีเหลืองอมแดง หรือสีแดงสดและกลายเป็นสีดำในที่สุด

องค์ประกอบทางเคมีของย่านาง คือ อัลคาลอยด์ ในกลุ่ม Isoquinoline Tiliacorine, Tiliacorinine, Nortiliacorinine A, Tiliacotinine 2-N-oxide, Tiliandrine, Tetraandrine และ D-Isochondendrine สารฟีนอลิกคือ P-Hydroxy Benzoic Acid , Minecoside, Linoleic Acid, N-Hexadecanoic Acid สารกลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ อนุพันธ์กรดชินนามิก Flavones Glycoside Cinnamic Acid Derivative และโมโนอีพอกซีบีตา แคโรทีน Monoepoxy-Betacarotene

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านาง

การศึกษาทดลองฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านางมีมาอย่างต่อเนื่อง เช่น งานวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหิดลในห้องทดลองขั้นต้น พบว่า สารสกัดใบย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของรีเซ็ปเตอร์ที่นำคอเลสเตอรอลเข้าสู่ตับ แต่จะมีผลต่อการลดคอเลสเตอรอลในเลือดหรือไม่ต้องมีการศึกษาต่อไป งานวิจัยนี้อาจเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของย่านางที่ใช้รักษาโรคหัวใจมาแต่โบราณก็ได้ การศึกษาทดลองตำรับยาสมุนไพรไทย มโนสร้อย 2 ที่มีส่วนประกอบของย่านางในการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำ ซึ่งผลการทดลองสามารถยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29 มีประสิทธิภาพใกล้เคียงยามาตรฐาน 5-FU (จีรเดช มโนสร้อยและคณะ, 2553) สำหรับคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดจากใบย่านาง ที่สกัดด้วยตัวทำละลายสามชนิด โดย เฮกเซน มีสารองค์ประกอบ 16 ชนิด มีปริมาณ Linoleic Acid เป็นองค์ประกอบเท่ากับร้อยละ 55.0 5 และ n-Hexadecanoic Acid ร้อยละ 23.53 (Naibaho,N.M, et al., 2012) ส่วนผลของตัวทำละลายอื่นๆ มีปริมาณ Linoleic Acid และ n-Hexadecanoic Acid ลดหลั่นกัน ยังมีผลการวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านางที่น่าสนใจ ดังนี้

1. ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ระงับปวด

งานวิจัย การวิจัยฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นและการอักเสบของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยบางชนิด ซึ่งเป็นการศึกษาสภาวะการอักเสบจากออกซิเดชั่น ด้วยวิธีการ Folin Colorimetric Method ฤทธิ์การขจัด Superoxide Anion Redical ของสารสกัดสมุนไพรย่านางมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.0931 mg/ml (ไชยวัฒน์ ไชยสุดและคณะ, 2550) สามารถขจัดอนุมูลอิสระเพื่อลดการอักเสบได้ ส่วนการตรวจสอบฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านการอักเสบของพืชผักพื้นบ้านอีสาน เป็นการนำสมุนไพร 10 ชนิดมาทำการทดลอง Writhing Test ด้วยน้ำขนาด 1 กรัมต่อน้ำหนักตัวของหนูเพศผู้ 1กิโลกรัม พบว่าสารสกัดจากใบย่านาง มีผลลดการเกิด Writhing ในหนูร้อยละ 35-64 ($p<0.05$)

จากนั้นตรวจหาฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยใช้ ใช้ Tail Flick Test ผลการทดสอบใช้สารสกัดย่านางไม่มีฤทธิ์ต้านอักเสบในสัตว์ทดลอง การตรวจฤทธิ์ระงับปวดใช้ Rat Hind Paw Edema Model พบว่า อาจจะออกฤทธิ์ระงับปวดต่อระบบประสาทส่วนกลาง (ปณต

ตั้งสุจริตและคณะ, 2549) แต่การสกัดย่านางด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครฟาจชนิด RAW 264.7 ได้ดี แสดงให้เห็นว่าสามารถต้านการอักเสบได้ในระดับหนึ่ง (กฤษฎารัตน์ ลีเขาสูง และคณะ, 2551) งานวิจัยเหล่านี้แสดงผลว่าสารสกัดย่านางมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและระงับปวดได้

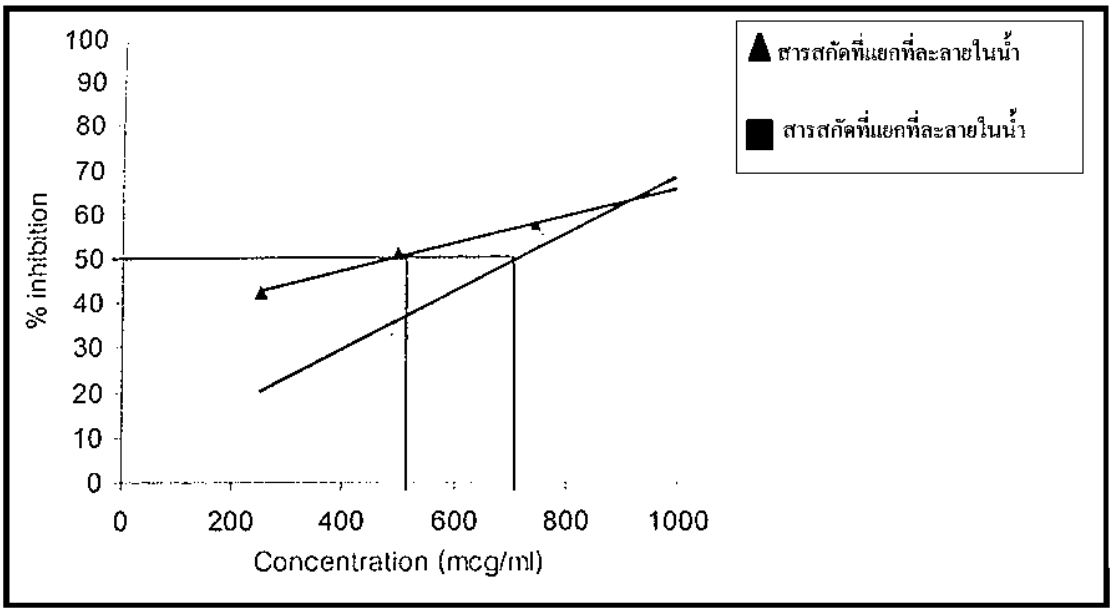
2. ฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย

การทดสอบฤทธิ์ของรากย่านาง ที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่า รากย่านางมีอัลคาลอยด์ชนิดละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำ เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งความเจริญของเชื้อมาเลเรียฟัลซิพารัมในหลอดทดลอง พบว่า อัลคาลอยด์ที่ไม่ละลายน้ำเท่านั้น ที่สามารถยับยั้งความเจริญของเชื้อได้ คือ Tiliacorine, Tiliacorinine, Nortiliacorinine A, (Thaweephol Dechatiwongse, 1987) และ Tiliacotinine 2-N-oxide , Tiliandrine , Tetraandrine , D-isochondendrine (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553)

3. ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ

สารสกัดใบย่านางมีสารฟีนอลิกเป็นสำคัญ งานวิจัยจากต่างประเทศพบว่าสารฟีนอลิกหลักในใบย่านาง คือ กรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (p-Hydroxy Benzoic Acid) มิเนโคไซด์ (Minecoside) สารกลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ อนุพันธ์กรดซินนามิก (Flavones Glycoside Cinnamic Acid Derivative) และโมโนอีพอกซีบีตาแคโรทีน (Monoepoxy-Betacarotene) จากรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านางพบว่า มีสารประกอบฟีนอลที่ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นอื่นๆ อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิด ยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลเหล่านั้น ลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า จากผลการทดลอง (รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ และคณะ, 2554)

สอดคล้องกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านไทย จำนวน 6 ชนิด โดยวิธีสกัดสารสำคัญด้วยแอลกอฮอล์จากผักแต่ละชนิด โดยทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแล้วเปรียบเทียบกับตัวควบคุมกรดแอสคลอบิกและโทรโคฟีรอลสารสกัดจากย่านางส่วนที่ละลายน้ำและส่วนที่ไม่ละลายน้ำให้ค่า IC_{50} 499.24 และ 772.63 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ (ภาพที่ 5) (บังอร วงศ์รักษ์และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์,2549) ส่วนการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดด้วยน้ำของใบย่านางมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดไกลเคชั่นของโปรตีนใน Bovine Serum Albumin (BSA)/Glucose System สรุปได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบย่านางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านปฏิกิริยาไกลเคชั่น (วชิราวดี มาลากุล, 2555)



ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารสกัดย่านางที่ละลายและไม่ละลายในน้ำ
(บังอร วงศ์รักษ์และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์, 2549)

4. ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส

การทดสอบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสของพืชสมุนไพร จากสารสกัดของใบย่านาง ด้วยเมทานอลสารสำคัญที่พบ คือ กลุ่มแอลคาลอยด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแต่ไม่พบฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดส แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านแซนทีนออกซิเดสมีความสัมพันธ์กัน การศึกษาในครั้งนี้เป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ที่ได้ไม่แรงมากพอ (อ้อมใจ แต้เจริญวิริยะกุลและคณะ, 2554) ส่วนการศึกษาลักษณะทางสรีวิทยาเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์และฤทธิ์ยับยั้งแซนทีนออกซิเดสในผักย่านาง เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่สกัดได้จากใบย่านาง ควบคุมการสังเคราะห์แสงของใบย่านางที่ให้ผลผลิต 3 ระดับ ลักษณะทางสรีวิทยา ศักยภาพสังเคราะห์แสง (สถาบันวิจัยเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, 2556)

5. ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

การศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกัน ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดผักพื้นบ้านและสมุนไพรอีสาน พบว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของย่านางสามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ได้ (ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชาและคณะ, 2552) งานวิจัยผลของสารสกัดจากย่านางขี้เหล็กและมะยมต่อการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด พบว่า ย่านางที่สกัดด้วยเอทานอล

มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B.cereus* ได้สูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดวงใส เท่ากับ 13.17 มิลลิเมตร (สุนิศา ถิ่นวงษ์แยและคณะ, 2558)

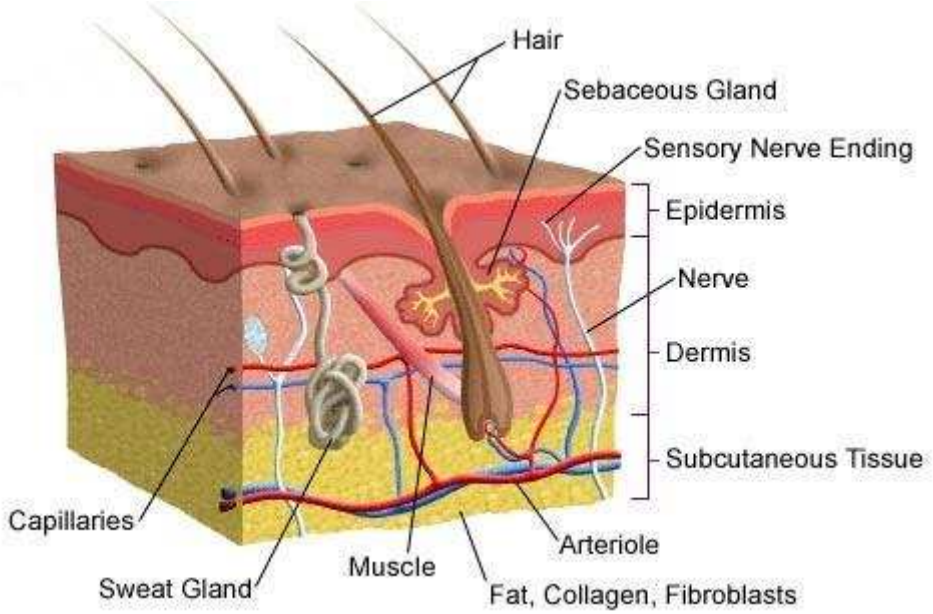
ส่วนงานวิจัย การศึกษาองค์ประกอบที่ระเหยได้และประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยในใบย่านาง ด้วยการกลั่นพร้อมสกัดใบย่านาง (Simultaneous Distillation/Extraction, SDE) พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบย่านางมี 19 ชนิด สารที่สำคัญ คือ Isophytol, n-Hexadecanoid Acid, Linoleic Acid, Beta-Ionone, Alpha-Ionone และ Linalool และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีการ Disc Diffusion แล้ววิเคราะห์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Minimum Inhibition Concentration (MIC) พบว่า น้ำมันหอมระเหยใบย่านางสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S.aureus, Bacillus Cereus, Escherichia Coli* และ *Salmonella* Spp. ระดับความเข้มข้นต่ำสุด และให้ค่าเฉลี่ย Zone of Inhibition ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดสูงที่สุด เมื่อใช้ความเข้มข้น 6.25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (µL/mL) เท่ากับ 16, 14, 13 และ 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Naibaho,N.M, et al., 2012)

6. ฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน

การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ของสารสกัดสมุนไพรย่านาง ซึ่งเป็นการทดสอบในหลอดทดลอง (In Vitro) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำกลั่นของใบย่านาง มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH Assay และ ABTS Assay ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล (Methanol) ของย่านางมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP Assay และมีปริมาณ Total Phenolic Compound มากที่สุดด้วย ผลการทดสอบฤทธิ์ป้องกันสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเซลล์เพาะเลี้ยงเมลาโนมาของหนู ($B_{16}F1_0$) สรุปได้ว่าสารสกัดย่านางมีฤทธิ์การกระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (กฤตติญารัตน์ สมวงศ์และคณะ, 2553)

โครงสร้างของระบบผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่กว้างที่สุดในร่างกาย มีลักษณะความหนาบางแตกต่างกันไป ผิวหนังประกอบด้วยชั้นต่างๆ 3 ชั้น เรียงจากภายนอกลงไป ได้แก่ ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) ชั้นหนังแท้ (Dermis) ไขมันใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Tissue) (มะลิ อาจริยะกุล, 2556)



ภาพที่ 6 โครงสร้างระบบผิวหนัง

(มะลิ อาจริยะกุล, 2556)

1. หนังกำพร้า (Epidermis)

เป็นชั้นที่อยู่ด้านบนสุดของผิวหนังมีความหนาประมาณ 0.4-1.5 มิลลิเมตร บางส่วนของร่างกายที่ต้องทนการเสียดสีมากเป็นพิเศษ จะมีความหนาเพิ่มขึ้นได้หลายเท่า เช่น ที่ฝ่ามือฝ่าเท้า เซลล์ส่วนใหญ่ของหนังกำพร้า คือ Keratinocyte หรือ Epidermal Cell ซึ่งมีการแบ่งตัวและพัฒนาทดแทนกันตลอดเวลาสามารถแบ่งตามการพัฒนาของเซลล์ 5 แบบ คือ

1.1 Basal Cell Layer (Stratum Basalis) เป็นเซลล์ชั้นล่างสุดที่ยึดติดกับ Basement Membrane มีหน้าที่แบ่งตัวเพื่อชดเชยเซลล์ชั้นบนๆ ที่จะหลุดออกไป

1.2 Spinous Layer (Stratum Spinosum) เป็นเซลล์ที่อยู่ถัดขึ้นมา เรียงซ้อนกันประมาณ 3 ชั้น มีรูปร่างหลายเหลี่ยม ยึดติดกับเซลล์ข้างเคียงด้วย Desmosome (Intercellular Bridge) มีหน้าที่สร้างเส้นใยโปรตีน ซึ่งจะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเคราติน

1.3 Granular Cell Layer (Stratum Granulosum) เป็นเซลล์ที่มีรูปรางแบนยาวภายในเซลล์จะมี Kuratohyaline Granules ซึ่งเป็นโปรตีนเรียกว่า Filaggrin เชื่อมจับกับ Keratin Filament ทำให้เห็นเป็นจุดๆ แบบ Granule จำนวนมากใน Cytoplasm ของเซลล์

1.4 Cornified Layer (Stratum Lucidum) เป็นเซลล์ที่ยังคงมีการทำงานของระบบเมตาบอลิซึมบางส่วนอยู่ไม่ใช่เป็นเพียงเซลล์ที่เป็นเพียงแผ่นปกคลุมเท่านั้น Keratinocyte ในชั้นนี้จะเสีย

Organelles และ Nucleus ไป เป็นเซลล์ที่แบนแห้งแข็งเรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นๆ ส่วนประกอบหลักของเซลล์ คือ Keratin Filament และ Keratohyline Granule เรียกเซลล์นี้ว่า Corneocyte เซลล์ยึดติดกันด้วยส่วนที่เหลือของ Desmosome (Dense Bodies) และ Cementing Substance ซึ่งสร้างโดย Organelles ที่เรียกว่า Odland Body ผิวหนังชั้นนี้เป็น โปรตีนที่แข็งและยึดติดกันแน่นเรียกว่า Keratinทำหน้าที่เป็นเสมือนเกราะป้องกันที่สำคัญที่สุดของผิวหนังต่อการระเหยของน้ำและการแทรกซึมของสารจากภายนอก เซลล์ชั้นบนจะค่อยๆลอกหลุดเป็นขี้ไคลโดยมีเซลล์ชั้นล่างเลื่อนขึ้นมาทดแทนในบริเวณของร่างกายที่ต้องรับการเสียดสีมากเช่นฝ่ามือ ฝ่าเท้า Stratum Corneum จะแข็งหนาเป็นชั้น เรียกว่า Stratum Lucidum

1.5 Horney Layer (Stratum Corneum) เป็นผิวชั้นนอกสุด ลักษณะเซลล์แบนๆ ไม่มีสี เรียงเป็นแถวขนานกับผิวแบบหลังคาบ้าน ไม่มีนิวเคลียส เซลล์ที่ตายแล้วส่วนใหญ่ คือ คีราติน (Keratin) ซึ่งไม่ละลายน้ำ ทนต่อสารเคมี จึงทำหน้าที่ในการปกป้องผิวหนังจากสารพิษ เซลล์นี้จะหลุดออกไปจากการเสียดสีและจะมีเซลล์ใหม่ขึ้นมาแทนที่ โดยเกิดจากชั้น Stratum Granulosum ข้างใต้ชั้นนี้จะมี Skin Fat ซึ่งสามารถดูดความชื้นจากเหงื่อ รวมตัวเป็นอิมัลชั่นปกคลุมผิวหนังทำให้ผิวมีความยืดหยุ่นและนุ่มนวลเป็นการรักษาความชุ่มชื้นให้ผิวนอกจาก Keratinocyte แล้วยังพบเซลล์ผิวหนังชนิดอื่นๆ ในหนังกำพร้า ได้แก่

1.5.1 Melanocyte เป็น Dendritic Cell อยู่ในชั้น Basal Layer โดย Keratinocyte ประมาณ 36 ตัว จะมี Melanocyte แทรกอยู่ 1 ตัว Melanocyte ทำหน้าที่สร้าง Melanin ซึ่งส่งต่อไปยัง Keratinocyte โดยผ่านทางปลาย Dendrite

1.5.2 Langerhans Cell เป็นเซลล์ที่พัฒนามาจากไขกระดูก มีลักษณะเป็น Dendritic Cell พบมากที่สุดบริเวณเหนือชั้น Stratum Basale แต่สามารถพบแทรกอยู่ในทุกชั้นของหนังกำพร้า ทำหน้าที่ส่งผ่านแอนติเจนไปยัง T lymphocyte เป็นส่วนสำคัญของระบบภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวกับผิวหนัง

1.5.3 Merkel Cell พบอยู่ใกล้ๆ เส้นประสาทรับสัมผัสทำหน้าที่ในการรับความรู้สึกชนิด Slow-Adapting, Type 1 Mechanoreceptors

1.5.4 Dermo-Epidermal Junction (DEJ) เป็นส่วนที่อยู่ระหว่างหนังแท้และหนังกำพร้า ทำหน้าที่ยึดผิวหนังทั้งสองชั้นนี้ให้ติดกันทำให้ผิวหนังมีความแข็งแรงไม่ฉีกขาดออกจากกันโดยง่ายจากแรงกระแทกจากภายนอก ประกอบด้วย 3 Supramolecular Network ได้แก่ Midesmosome-Anchoring Filament Ccomplex, Basement Membrane,Anchoring Fibrile เซลล์ของหนังกำพร้าในชั้น Basal Cell จะวางอยู่บน Basement Membrane ซึ่งยึดติดกับหนังแท้โดยอาศัย Hemidesmosome

2. หนังแท้ (Dermis)

ส่วนประกอบหลักของหนังแท้ คือ คลอราเจน ร้อยละ 70-80 (Elastin) HA และ Ground Substance ส่วนประกอบทั้งหมดนี้สร้างโดยเซลล์ Fibroblast หนังแท้ส่วนบนที่อยู่ติดกับหนังกำพร้า เรียกว่า Papillary Dermis หนังแท้ส่วนล่างที่อยู่ติดกับไขมันเรียกว่า Reticular Dermis ในชั้นหนังแท้จะมีหลอดเลือดหลอดน้ำเหลือง เส้นประสาทและรยางค์ของผิวหนัง (Appendages) แทรกอยู่ ในชั้นหนังแท้มีเซลล์อยู่มากมายหลายชนิด ได้แก่ Fibroblast, Macrophage, Mast Cell และเซลล์ที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ ที่ผ่านเข้ามาเป็นครั้งคราว หน้าที่สำคัญของหนังแท้ คือ ทำให้ผิวหนังมีความแข็งแรงแต่ยืดหยุ่นได้ ควบคุมอุณหภูมิและเป็นที่อยู่ของหลอดเลือด หลอดน้ำเหลืองและเส้นประสาท หนังแท้จะทำงานร่วมกับหนังกำพร้าในการสร้างรยางค์ผิวหนัง ซ่อมแซมผิวหนังให้มีลักษณะคงเดิมเมื่อเป็นแผล

3. ไขมันใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Tissue)

ประกอบด้วยเซลล์ไขมัน (Lipocyte) เป็นจำนวนมาก เซลล์ไขมันจะถูกกั้นออกเป็น Lobule ด้วยผนัง (Septum) ซึ่งเป็นใย Collagen เป็นที่ๆ หลอดเลือด เส้นประสาทและหลอดน้ำเหลืองแทรกอยู่ ไขมันใต้ผิวหนังทำให้ผิวหนังอ่อนนุ่ม รองรับแรงกระแทกได้ดี สามารถเคลื่อนโดยไม่ยึดกับโครงสร้างอื่นที่อยู่ข้างใต้เป็นที่สะสมสารอาหารเหลือใช้ในรูปของไขมัน ส่วนประกอบทำงานร่วมกัน คือหลอดเลือด หลอดน้ำเหลืองและเส้นประสาท

4. หน้าที่ของผิวหนัง (Functions of the Skin)

เพื่อป้องกันร่างกายจากอันตรายภายนอก เช่น อันตรายทางกายภาพ เชื้อโรค สารเคมี ฯลฯ ควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย ป้องกันการสูญเสียน้ำจากภายในร่างกาย ป้องกันอันตรายจากแสง โดยมี Melanin ช่วยดูดซับแสง เป็นอวัยวะรับความ รู้สึก สังเคราะห์ Vitamin D เป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยในการยึดจับ ทำให้เกิดความสวยงาม ผิวหนังเป็นที่ปกคลุมร่างกาย จึงป้องกันอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย และป้องกันไม่ให้น้ำในร่างกายสูญเสียมากเกินไป จนไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ทั้งนี้ยังคอยปกป้องเราจากสารพิษ ความร้อน แสงแดด รวมทั้งมลพิษต่างๆ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาอุณหภูมิในร่างกายให้คงที่ และขับของเสียออกจากร่างกายด้วย

การดูแลสุขภาพผิวจึงเป็นเรื่องจำเป็นในชีวิตประจำวัน เช่น ควรอาบน้ำเช้า-เย็น เพื่อรักษาความสะอาดของร่างกายหรือใช้ครีมหรือเจลบำรุงผิวที่เหมาะสมกับสภาพผิวของตน

เจล (Gels)

เจล เป็นเภสัชภัณฑ์รูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลวซึ่งประกอบด้วย Lyophilic Colloid ละลายหรือพองตัวอยู่ในความเข้มข้นที่แน่นอน โดยคุณสมบัติการละลายหรือพองตัวของ Colloid จะลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เจลมีส่วนประกอบหลัก 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นของเหลว (Liquid Compartment) และสารก่อเจล (Gelling Agent) ที่เป็นอนุภาคอนินทรีย์ขนาดเล็กหรือเป็นสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ มีการแบ่งเจลตามเภสัชตำรับของสหรัฐอเมริกา (USP) โดยใช้สารก่อเจลเป็นเกณฑ์ คือ เจลวัตภาคเดียว (Single-Phase Gels) และเจลสองวัตภาค (Two-Phase Gels) และการแบ่งเจลตามเภสัชตำรับของอังกฤษ (BP) โดยใช้ตัวทำละลายของยาเตรียมเป็นเกณฑ์ คือ เจลที่ใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลาย (Oleogels หรือ Hydrophobicgels) และเจลที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (Hydrogels หรือ Hydrophilicgels) (พนิดา วยัมหสุวรรณและคณะ, 2548)

ผลิตภัณฑ์เจลที่ละลายน้ำ (Water Soluble) ทาติดผิวได้ดีและสามารถล้างน้ำออกได้ง่าย มี pH ใกล้เคียงผิวหนังจึงไม่ก่ออันตรายต่อผิวหนัง มีลักษณะใส สวยงาม น่าใช้ จึงสามารถเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์สำหรับบำรุงผิวได้ เจลวัตภาคเดียวมักนิยมใช้ในทางเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง เพราะคุณสมบัติหลายประการ เช่น ใส ทาง่าย วิธีใช้และล้างออกง่าย ให้การปลดปล่อยยาที่รวดเร็ว โดยไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการละลายน้ำของยา เมื่อเทียบกับครีมและขี้ผึ้ง (กาญจน์พิมล ฤทธิเดช และคณะ, 2546) แต่เมื่อเก็บเจลไว้นานๆ อาจมีปัญหาความไม่คงตัวของเจล เกิดการหดตัวซึ่งปรากฏการณ์นี้จะทำให้มีการปลดปล่อย Disperse Medium ออกมา จะพบในเจลที่เตรียมจาก Starch หรือ Pectin การปลดปล่อยตัวกลางอาจเกิดจากการยึดเกาะระหว่างอนุภาคของสารก่อเจลเพิ่มขึ้น เป็นผลให้เกิดแรงเค้น ทำให้ของเหลวที่ถูกจับในโครงสร้างเจลหลุดออกมา เรียกว่าเกิด Syneresis เพราะผลของสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ เป็นต้น (อรวรรณ ติรภัทร, 2553)

ศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ (Stability Test)

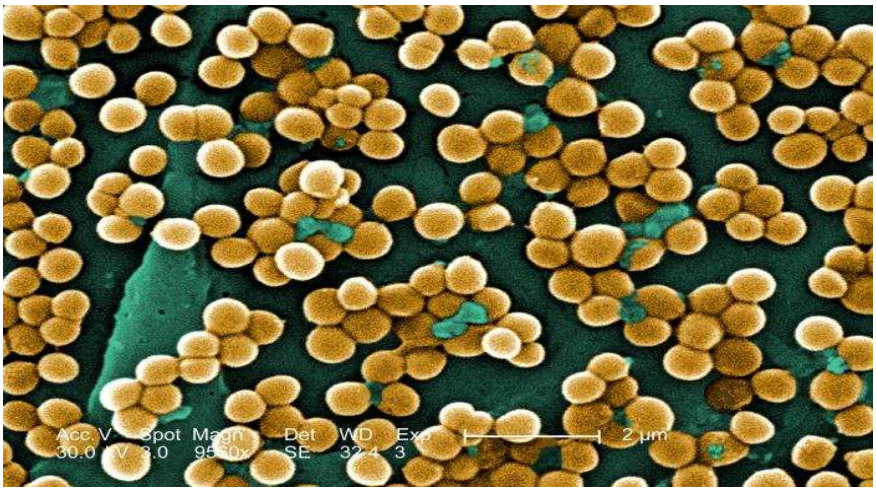
เมื่อต้องการทำเภสัชภัณฑ์หรือผลิตตำรับใหม่ๆ การทดสอบความคงสภาพมีความจำเป็นในการดำเนินการ เพราะเป็นการทดสอบผลิตภัณฑ์นั้นๆ ว่า มีคุณภาพตามตามมาตรฐานที่กำหนดหรือไม่ โดยทดสอบสองประการ คือ

ความคงสภาพทางกายภาพ (Physical Stability) ตรวจสอบลักษณะภายนอกที่สัมผัสได้ เช่น สี กลิ่น ความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง ความข้นเหนียวที่เหมาะสม ไม่มีการระเหยของน้ำหรือสารละลาย เมื่อทาผิวหนังต้องไม่เป็นเม็ดหรือรู้สึกเหนอะหนะ ตำรับที่ดีควรติดผิวหนังและแผ่กระจายได้ดี ความคงตัวทางเคมี (Chemical Stability) ลักษณะตัวยาสำคัญเข้ากันได้กับองค์ประกอบอื่นๆ ในตำรับ ไม่เกิดปฏิกิริยาเคมีต่อกัน และไม่เกิดการสลายตัว ด้วยการตรวจสอบ

โดยสกัดตัวยาสำคัญในตำรับ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาในเวลาต่างๆ กัน แล้วจึงประเมินหาอายุความคงตัว (สุภาวดี บุญทา, เกศินี จอมพะเยาว์, 2546) อิมัลชันที่คงตัวต้องมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ เหมือนตอนเริ่มผลิตด้วยแรงเขย่าปานกลางและสามารถเทออกจากขวดได้ตลอดอายุ ลักษณะที่ไม่คงตัวของอิมัลชันสังเกตได้จากการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์ (นัยนา สันติยานนท์, 2551) ปัจจัยเหล่านี้เป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการพิสูจน์ความคงตัวของตำรับได้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพนั้น มักจะใช้จุลชีพที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ที่ต้องการศึกษา ผิวหนังของคนเรามักจะมีเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นอาศัยอยู่หลายชนิด เช่น *S.aureus* คือ แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ไมโครเมตร เรียงตัวอยู่กันเป็นกลุ่ม แต่ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์ ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล โคโลนีสีครีมหรือสีเหลืองทอง เชื้อเจริญเติบโตง่าย เป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานมาก ทำให้เกิดโรคบริเวณผิวหนังได้ แต่จะตายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซเซียส และเป็นเชื้อประจำถิ่นกว่าร้อยละ 60 ของประชากร โดยพบที่โพรงจมูกส่วนหน้าถึงร้อยละ 20 (นิธิ ตั้งศิริทรัพย์, 2555)

ฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.aureus*

เชื้อ *S.aureus* อยู่ตามร่างกายของคนเป็นจำนวนมาก และมักเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังได้บ่อยที่สุด โดยก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง เช่น ฝี หนอง รูขุมขนอักเสบ สิว รวมถึงการติดเชื้อที่แผลหลังการผ่าตัด เชื้อนี้สามารถบุกรุกเข้าไปสู่เนื้อเยื่อชั้นใน และเมื่อเข้าสู่กระแสเลือดแล้ว จะแพร่กระจายไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ก่อให้เกิดอาการเป็นไข้ ความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกัน นอกจากนี้ เชื้อสามารถปรับตัวเป็นเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดด้วย (Derek, 2005)



ภาพที่ 7 ลักษณะเซลล์แบคทีเรีย *S.aureus*

(Jannica Haney Car, 2005, online)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้จะศึกษา เรื่อง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบย่านางเพื่อการบำรุงผิว โดยผู้วิจัยดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. สารเคมีและสีย้อม

Absolute Ethanol

Absolute Methanol

Distilled Water

DPPH (2,2-diphenyi-1-picryhydrazyl)

Folin Reagent

Sodium Carbonate ($Na_2 CO_3$)

Gallic Acid

DMSO

Ampicillin

Mueller Hinton Agar (MHA)

Carbopol 940

Carbopol Ultrez 10

Propylene Glycol

Tween 80 (10%)

DMDM Hydantoin

Triethanolamine

สี Resazurin

2. สมุนไพร

ใบย่านาง (*Tiliacara Triandra*)

3. จุลินทรีย์

เชื้อ *S.aureus* (DMST 8840) จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

4. เครื่องมืออุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance 4 Position, ยี่ห้อ Ohaus, รุ่น E02140)

ตู้อบลมร้อน (Oven, ยี่ห้อ Memmert)

เครื่องบดสมุนไพร (Blander)

เครื่องระเหยการสกัดระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

เครื่องยูวี วิสิเบิ้ล (UV-Visible Spectrophotometer)

ตู้เย็น (Refrigerator)

ตู้ปลอดเชื้อ FLEXLAB รุ่น RV1250

หม้อน้ำ (Water Bath)

ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 1,000 ไมโครลิตร

กระบอกตวง (Cylinder)

หลอดทดลอง (Test Tube)

จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

Sterile Forceps

แร่งเบอร์ 60

กระดาษกรองเบอร์ 1

บีกเกอร์ (Biger)ขนาด 50, 100,250, และ 1,000 มิลลิลิตร

ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

ขวดแก้วสีชา

กรวยแก้ว

แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากใบย่านาง

1.1 นำใบย่านางมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วอบด้วนอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง

1.2 นำใบย่านางที่อบแห้งดีแล้วมาบด แล้วร่อนด้วยแร่งเบอร์ 60

1.3 สกัดสมุนไพรด้วยวิธี Maceration ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล (95 %

Ethanol) และเมทานอล (Absolute Methanol) โดยชั่งผงสมุนไพรแห้ง ต่อตัวทำละลายอินทรีย์ ในอัตราส่วน 1 : 4 เติมตัวทำละลายแล้วเขย่านาน 15 นาที และเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน

1.4 กรองกากใบย่านางออกนำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหย สุญญากาศ แล้วบรรจุในขวดแก้วสีชาเก็บในตู้เย็นและนำมาคำนวณหาค่าร้อยละของสารสกัด

2. การศึกษาฤทธิ์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลและเอทานอลของใบย่านาง ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Method

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีการ Folin–Ciocalteu Reagent (Matthaus, 2002)

2.1 เตรียม Folin–Ciocalteu ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ละลายกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อเป็นสต๊อคสารละลาย (Stock Solution)

2.2 เตรียมโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; Na_2CO_3) ปริมาณ 7.5 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น100 มิลลิลิตร

2.3 เตรียมกรดแกลลิก (Gallic Acid) ปริมาณ 0.125 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 25 มิลลิลิตร

2.4 เตรียมสารสกัดย่านางด้วยเมทานอล 0.05 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตรและสารสกัดย่านางด้วยเอทานอล 0.05 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร

2.5 นำสารสกัดย่านางที่ละลายแล้ว 1 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin–Ciocalteu ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาณ 4 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง

2.6 หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดย่านางโดยการวัดปฏิกิริยาการเกิดสีจาก สารประกอบของ Folin–Ciocalteu วัดการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร (nm) โดยเครื่องยูวีสเปคโทรโฟโทมิเตอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดย่านางด้วยเมทานอลและสารสกัดย่านางด้วยเอทานอลจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอล และเอทานอลของใบย่านาง โดยวิธี DPPH assay 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazy

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Kriengsak *et al*, 2006)

3.1 เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 100 ไมโครไมล์ (μM) ในสารละลาย Absolute Ethanol

3.2 เตรียมสารสกัดย่านางช่วงความเข้มข้น 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) ด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล

3.3 นำสารละลาย DPPH และสารสกัดย่านางอย่างผสมให้เข้ากัน โดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 2000 µl เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี วิสิเบิ้ลสเปโตรโฟโครมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดย่านางด้วยเมทานอลและสารสกัดย่านางด้วยเอทานอล โดยวิธี Agar disc diffusion method

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S.aureus* (DMST 8840) จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มีกระบวนการ ด้วยวิธีการ Disc Diffusion Method (Akande JA HY, 1998) ดังนี้

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธีการ Disc Diffusion Method โดยนำสารสกัดย่านางด้วยเมทานอลปริมาณ 1 กรัม มาละลายใน DMSO (100 %) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และสารสกัดย่านางด้วยเอทานอลปริมาณ 1 กรัม มาละลายใน DMSO (100 %) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ละลายในสภาวะปราศจากเชื้อ

4.2 Swab เชื้อทดสอบบน Mueller-Hinton Agar ในลักษณะ 3 ทิศทาง ผึ่งให้แห้ง 3-5 นาที หยอดสารสกัดย่านางที่เตรียมไว้และ DMSO (Control) ลง Blank Disc จน Disc อิ่มตัว จากนั้นใช้ Sterile Forceps คีบ Disc ที่หยอดสารสกัด DMSO และ Ampicillin Disc มาวางบน Mueller-Hinton Agar ที่มีเชื้อทดสอบอยู่

4.3 นำจานทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (Zone of Inhibition) ที่เกิดขึ้น ทดลอง 3 ซ้ำ

4.4 การหาค่า Minimum Growth Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ด้วยวิธี Broth Microdilution Method

4.4.1 นำสารสกัดย่านางด้วยเมทานอลปริมาณ 1 กรัม ละลายใน Tween 80 (10 %) 1 มิลลิลิตร และสารสกัดย่านางด้วยเอทานอลปริมาณ 1 กรัม ละลายใน Tween 80 (10 %) 1 มิลลิลิตร ในสภาวะปราศจากเชื้อ

4.4.2 ดูด 50 µl ของ Mueller-Hinton Broth (MHB) ลงในหลุมที่ 2-10 ของทุกแถว ดูด 50 µl ของสารสกัด หรือ Ampicillin ที่เตรียมไว้ ลงในหลุมที่ 1 และ หลุมที่ 2

4.4.3 ทำการเจือจางจากหลุมที่ 2 จนถึง หลุมที่10 ด้วยการดูดทิ้ง 50 µl ทำอย่างเดียวกันของทุกสาร จนถึงหลุมที่ 10 ปริมาตรของทุกหลุมจะเท่ากัน

4.4.4 เติมเชื้อ *S.aureus* ที่เตรียมไว้ลงไปตั้งแต่ หลุมที่1-10

4.4.5 นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง

4.4.6 สังเกตความขุ่นในแต่ละหลุม (Well) หาค่า MIC โดยสังเกตจากหลุมที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด และมีลักษณะใส นำไป Streak ลงบน Mueller-Hinton Agar เพื่อหาค่า MBC

4.4.7 เตรียมสีรีซาซูริน (Resazurin) หยอดทุกหลุมแล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียล ประมาณ 2 ชั่วโมง สังเกตดูสีที่เปลี่ยนแปลงไป จากสีน้ำเงิน เป็นสีชมพู หมายถึง มีเชื้อเจริญ สีน้ำเงิน เป็นน้ำเงิน หมายถึงไม่มีเชื้อเจริญ

5. การพัฒนาตำรับเจลทาผิว

การพัฒนาตำรับเจลสารสกัดใบย่านางด้วยการนำผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ของสารสกัดใบย่านางที่สกัดด้วยเอทานอล ซึ่งปกติแล้วเป็นสารที่อนุญาตให้ใช้กับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ประอรผิวหนัง โดยใช้ความความเข้มข้น 0.47 (%w/w) ที่ครอบคลุมการต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาพัฒนาเป็นเจลสารสกัดย่า 2 ตำรับ โดยใช้สารก่อเจล Carbopol 940 ในสูตร F1 และ Carbopol Ultrez 10 ในสูตร F 2 แต่ละสูตรจะมีเจลเบสเป็นเจลเปรียบเทียบ เพื่อพิจารณาเปรียบเทียบความแตกต่าง ในการพัฒนาเครื่องสำอางสูตรตำรับเจลย่านางที่มีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพและศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับรูปแบบเจล โดยพิจารณา สี กลิ่น ความหนืดและทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* ของตำรับเครื่องสำอางสูตรรูปแบบเจล ด้วยการทดสอบในสภาวะเร่ง (Accelerated Storage Condition) 30 วัน เพื่อศึกษาความคงตัวทางกายภาพ ดังที่ได้แสดงผล (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบในตำรับเจลย่านางที่สกัดด้วยเอทานอล

ส่วนประกอบ	ตำรับเจล (%w/w)				หน้าที่ในตำรับ (Working of Formular)
	F1	F2	B1	B2	
สารสกัดใบย่านาง (EtOH)	0.47	0.47	-	-	Active ingredient
Carbopol 940	1	-	1	-	Gelling
Carbopol Ultrez 10	-	1	-	1	Gelling
Propylene Glycol (PG)	5	5	5	5	Humactant
Tween 80	0.5	0.5	0.5	0.5	Emulsifier
DMDM Hydantoin	0.5	0.5	0.5	0.5	Perservative
Triethanolamine (TEA)	0.78	0.78	0.78	0.78	Thickening
qs DI water	100	100	100	100	Solubilizer

5.1 วิธีเตรียมตำรับเจลตำรับ F1 ที่ใส่สารสกัดใบย่านาง

5.1.1 ค่อยๆ โปรย Carbopol 940 ลงในน้ำกลั่น (Deionized Water) ตั้งทิ้งไว้จนสารพองตัว

5.1.2 แบ่งน้ำมาละลายสารสกัดใบย่านาง เติม Tween 80 คนให้เข้ากัน

5.1.3 นำสารละลายสารใบย่านางใส่ลงในเจลที่พองตัวแล้ว

5.1.4 ค่อยๆ เติม Triethanolamine ลง เพื่อปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 5.5

5.1.5 เติม Propylene Glycol ลงไป แล้วคนให้เข้ากัน

5.1.6 เติม DMDM Hydantoin ลงไป แล้วคนให้เข้ากันจนได้เจลย่านาง ปรับปริมาตรให้ครบ 100 กรัม โดยเตรียมเจลเบสที่ไม่ใส่สารสกัดใบย่านางลงในตำรับด้วยวิธีการเดี่ยวกันเพื่อเป็นตัวควบคุม

5.2 วิธีเตรียมตำรับเจล F2 ที่ใส่สารสกัดใบย่านาง

5.2.1 ค่อยๆ โปรย Carbopol Ultrez 10 ลงในน้ำกลั่น ทิ้งไว้จนสารพองตัว

5.2.2 แบ่งน้ำมาละลายสารสกัดใบย่านาง เติม Tween 80 คนให้เข้ากัน

5.2.3 นำสารละลายสารใบย่านางใส่ลงในเจลที่พองตัวแล้ว

5.2.4 ค่อยๆ เติม Triethanolamine ลง เพื่อปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 5.5

5.2.5 เติม Propylene Glycol ลงไป แล้วคนให้เข้ากัน

5.2.6 เติม DMDM Hydantoin ลงไป แล้วคนให้เข้ากันจนได้เจลย่านาง ปรับปริมาตรให้ครบ 100 กรัม โดยเตรียมเจลเบสที่ไม่ใส่สารสกัดใบย่านางลงในตำรับด้วยวิธีการเดียวกันเพื่อเป็นตัวควบคุม

ก่อนทดสอบความคงตัวโดยสภาวะเร่งนำตำรับเจลสารสกัดใบย่านาง และเจลต้นแบบ ทั้ง 2 ตำรับ ศึกษาความคงตัวทางกายภาพ โดยพิจารณา สี กลิ่น ความหนืด ค่า pH และความคงตัวทางเคมีตำรับ โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับ

6. การศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของเจลสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล ด้วยวิธี Folin - Ciocalteu method

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกของเจลสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล ดัดแปลงจากวิธีของ Singleton และ Rossi (1965) มีขั้นตอนดังนี้

6.1 เตรียม 7.5% Sodium Carbonate โดยชั่ง Na_2CO_3 ปริมาณ 7.5 กรัม แล้วละลายในน้ำกลั่นใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

6.2 เตรียม10% Folin-Ciocallteu Reagent เตรียมใส่ Folin-Ciocalteu Phenol Reagent ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นเขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

6.3 เตรียม Gallic Acid โดยละลายสารมาตรฐานแกลลิกจำนวน 0, 0.002, 0.004, 0.006, 0.008 และ 0.010 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอล

6.4 นำเจลสารสกัดย่านางปริมาตร 6.6 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 993.4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex Mixture และสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 10% Folin-Ciocalteu Phenol Reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที เติม 7.5% Sodium Carbonate 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

6.5 นำเจลสารสกัดย่านางที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร (nm) นำค่าที่คำนวณได้หาปริมาณสารฟีนอลิกโดยเปรียบเทียบผลกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid) ความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อลิตร

7. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเจลสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยวิธี DPPH Assay 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazy

7.1 เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH ปริมาณ 0.0788 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรที่ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องอัลตราโซนิค

7.2 เตรียมสารสกัดย่านางช่วงความเข้มข้น 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล

7.3 นำสารละลาย DPPH และสารสกัดย่านางอย่างผสมให้เข้ากัน โดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 2000 µl เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี วิสิเบิ้ลสเปโตรโฟโครมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

8. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.aureus* ของเจลสารสกัดย่านางด้วยเอทานอล โดยวิธี Agar Disc Diffusion Method

8.1 การเตรียมอาหาร Tryptone Soy Agar โดยชั่ง Tryptone Soy Agar จำนวน 22.5 กรัม ต่อน้ำ 1 โดยเตรียมในปริมาณ เติมน้ำกลั่น ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อใส ดูดอาหารใส่หลอดๆ ละ 5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อผ่านหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยง

เชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปเอียงให้ผิวหน้าอาหารทำมุม 45 องศา

8.2 การเตรียมอาหาร ชั่ง Muller-Hinton Ager จำนวน 21 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร เติมน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อผ่านหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร/จาน

8.3 วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย นำเชื้อ *S.aureus* ที่เจริญบนอาหารวุ้น Tryptone Soy Agar (TSA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง มาเจือจางด้วยสารละลาย 0.85% NaCl ที่ปราศจากเชื้อ ให้มีความขุ่นเท่ากับ Mc Farland No. 0.5 (1 ปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^8 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร (Kirby-Bauer)

8.4 การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อเจลสารสกัดย่านาง ด้วยวิธี Ager Well Diffusion Method โดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *S.aureus* ลงบนอาหารทดสอบ Muller-Hinton Ager โดยใช้ไม้พันสาลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มในซัสเพนชัน (Suspension) ของเชื้อทดสอบ จากนั้นทำการ Swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจาย เกลี่ยให้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าแห้งใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่บริเวณกลางจานเพาะเชื้อ แล้วใช้ลวดเขี่ยเชื้อชิ้นวุ้นออก ใช้ปิเปตดูดสารสกัดย่านางที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิลิตร/ดิสก์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยใช้ Ampicillin 10 ไมโครกรัม/ดิสก์ เป็นตัวควบคุม และนำแผ่นดิสก์วางบนจานเพาะเชื้อ *S.aureus* ทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และทำการตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งของเจลสารสกัดย่านางทั้งสองตำรับ ทดสอบ 3 ซ้ำ

9. การทดสอบความคงตัวของตำรับเจลสารสกัดใบย่านางและเจลเบส

การศึกษาความคงตัวของตำรับเจลย่านางและเจลเบสในสภาวะเร่ง (Accelerated Storage Condition) (ชนิดา, 2558) มีรายละเอียดดังนี้

9.1 การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยการเก็บเจลย่านางและเจลเบสที่อุณหภูมิ 40°C นาน 30 วัน

9.2 ประเมินผลประสิทธิภาพและความคงตัวทางกายภาพของเจลย่านางและเจลเบส โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง การวัดความหนืดของตำรับเจลย่านางและเจลเบส

9.3 ทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* ของตำรับเจลย่านางและเจลเบส โดยการการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในสภาวะเร่งแล้ววิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตำรับเจลทั้งหมด

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ใช้เฉพาะใบย่านางจาก ตำบล จอมบึง อำเภอ จอมบึง จังหวัดราชบุรี โดยนำมาตากแห้งแล้วบดหยาบ หมักด้วยเมทานอลและเอทานอล เพื่อสกัดสารสำคัญที่มีอยู่ในใบย่านาง นำมาทำตำรับเจลย่านาง เพื่อบำรุงผิว

ผลการเตรียมสารสกัดใบย่านาง

เมื่อนำใบย่านางบดหยาบนำไปหมักด้วยวิธี Marceration โดยใช้เมทานอลและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ดังที่ได้แสดงผล (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการสกัดใบย่านางด้วยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล

สารสกัด	น้ำหนัก (กรัม) สารสกัดทั้งหมด	ร้อยละ(%yield w/w) สารสกัดหยาบ	ลักษณะทางกายภาพ
เมทานอล	48.09	19.85	สีเขียวเข้ม
เอทานอล	43.99	17.11	สีเขียวเข้ม

จากตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดจากใบย่าด้วยตัวทำละลายเมทานอลให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 19.85 ส่วนสารสกัดจากใบย่านางด้วยเอทานอลให้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 17.11 ตามลำดับ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay

ผลจากการนำสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH โดยการนำสารมาตรฐานวิตามินซีมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในระดับความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) ดังที่แสดงผล (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล

Sample	Concentation (mg/ml)	Absobance 1	Absobance 2	Absobance 3	Average	% Radical Scavenging (SD)
Ethanol	0.03	0.930	0.951	0.896	0.925	20.770 ± 0.028
	0.04	0.851	0.87	0.846	0.855	26.761 ± 0.013
	0.05	0.818	0.808	0.81	0.812	30.499 ± 0.005
	0.06	0.812	0.816	0.808	0.812	30.499 ± 0.004
	0.07	0.744	0.788	0.873	0.802	31.383 ± 0.066
	0.08	0.722	0.722	0.734	0.762	37.860 ± 0.007
	0.09	0.703	0.71	0.701	0.705	39.686 ± 0.005
Methanol	0.03	0.89	0.885	0.859	0.878	24.635 ± 0.017
	0.04	0.856	0.8	0.813	0.823	29.356 ± 0.029
	0.05	0.82	0.814	0.807	0.814	30.157 ± 0.007
	0.06	0.71	0.697	0.696	0.701	39.828 ± 0.008
	0.07	0.673	0.672	0.67	0.672	42.346 ± 0.002
	0.08	0.637	0.63	0.625	0.631	45.865 ± 0.006
	0.09	0.588	0.541	0.574	0.568	51.273 ± 0.024
Ascorbic Acid	0.001	0.736	0.725	0.723	0.724	37.689 ± 0.007
	0.015	0.696	0.692	0.681	0.686	40.970 ± 0.008
	0.002	0.642	0.626	0.63	0.628	45.848 ± 0.008
	0.025	0.543	0.518	0.535	0.526	54.465 ± 0.013
	0.003	0.487	0.47	0.474	0.474	59.600 ± 0.009
	0.035	0.773	0.775	0.766	0.770	33.980 ± 0.005
	0.004	0.864	0.862	0.861	0.861	26.191 ± 0.002

จากการนำสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลมาทำการทำสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity Assay (DPPH Assay) พบว่า ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.05-0.09 mg/ml สารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลให้ผลร้อยละการต้านอนุมูลอิสระคือ ความเข้มข้น 0.09 mg/ml โดยการให้ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 51.273±0.024 รองลงมาคือ สารสกัดย่านางด้วยเอทานอล ให้ผลร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 39.686 ± 0.005

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จากการนำสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลมาทดสอบเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธี Folin–Ciocalteu ของตัวอย่างสารสกัดใบย่านางทั้ง 2 ชนิด โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ได้ผลดังที่แสดงผล (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล

สารสกัดใบย่านาง	ปริมาณสารฟีนอลิก รวม (n=3)			ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเฉลี่ย (µg /1 mg crude extract) ± SD
	1	2	3	
ตัวทำละลายเมทานอล	1.321	1.330	1.670	1.440 ± 0.199
ตัวทำละลายเอทานอล	1.299	1.324	1.325	1.316 ± 0.015

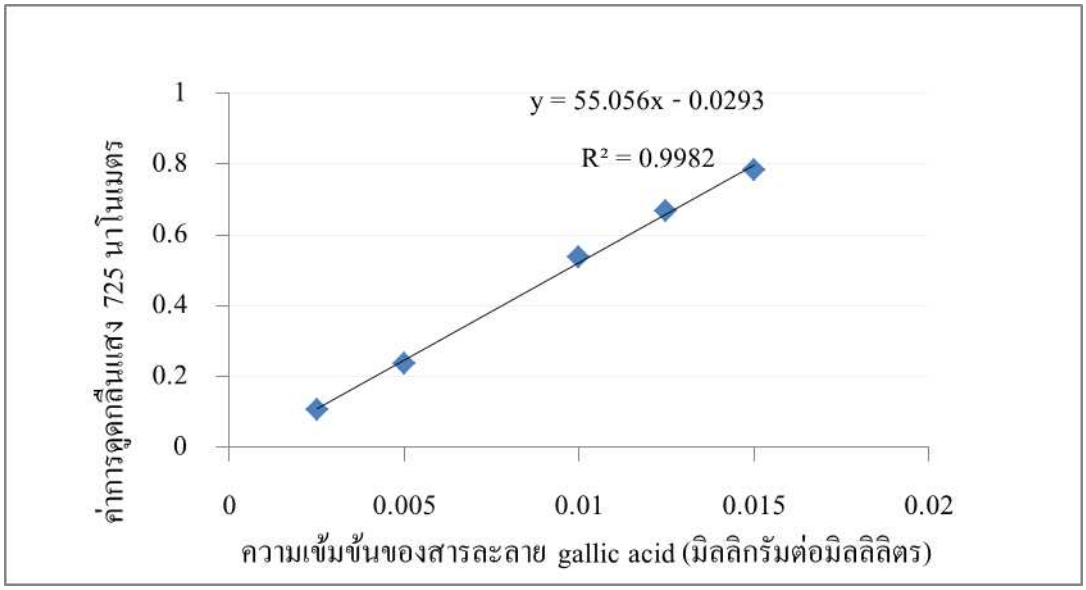
จากผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่า สารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิก 1.440±0.199 และ 1.316±0.015 (µg /1 mg Crude Extract) ตามลำดับ (n=3)

เมื่อนำสารสกัดจากใบย่านางด้วยเอทานอลช่วงความเข้มข้น 0.125-0.5 mg/ml โดยการทดสอบด้วยวิธี Complex ของ Folin-Ciocalteu นั้น เมื่อสารตัวอย่างทำปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยแสดงดังผล (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid)

Conc. (mg/ml) Standar	Concentration Absorbance (Gallic Acid)			Average
	Abs.1	Abs.2	Abs.3	
0.0025	0.106	0.105	0.111	0.107±0.003
0.005	0.241	0.236	0.237	0.238±0.002
0.01	0.536	0.535	0.537	0.536±0.001
0.0125	0.662	0.668	0.673	0.668±0.005
0.015	0.784	0.781	0.781	0.782±0.001

เมื่อนำข้อมูลจากตารางค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับช่วงความเข้มข้นต่างๆ จะได้กราฟเส้นตรงดังที่ได้แสดงผล (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก

จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสง และความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Correlation Coefficient : R^2) ดังที่แสดง มีค่า Correlation Coefficient : (R^2) เท่ากับ 0.9982 ดังกราฟมาตรฐานที่ได้แสดง

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบย่านางที่สกัดด้วยด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลโดยการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* ด้วยวิธี Antimicrobial Susceptibility Test (Diffusion Test) ทดสอบกับเชื้อที่มีความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 10^8 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร โดยนำเชื้อทดสอบหยดลงบน Disc เท่ากับ 20 มิลลิกรัม/ดิสก์ และตัวควบคุม (Ampicillin) 10 µg/Disc พบว่า สารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับ 14.5 มิลลิเมตร ตัวควบคุมสามารถยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับ 34.7 มิลลิเมตร สารสกัดใบย่านางด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับ 12.21 มิลลิเมตร และตัวควบคุม (Ampicillin) สามารถยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับ 36.6 มิลลิเมตร (n=3)

สรุปได้ว่าใบย่านางที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.aureus* ดีกว่าสารสกัดจากเอทานอล เช่นเดียวกับตัวควบคุม ดังที่แสดงผล (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดใบย่านางที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล

สารสกัดสารสกัดใบย่านาง		**ขนาดของ Inhibition zone (mm.)** (n=3)
ตัวทำละลายเมทานอล	สารสกัดใบย่านาง 20 mg/Disc	14.5
	Control (Ampicillin 10 µg/Disc)	34.7
ตัวทำละลายเอทานอล	สารสกัดใบย่านาง 20 mg/Disc	12.2
	Control (Ampicillin 10 µg/Disc)	36.6

ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (Minimal Bacteidal Concentration: MBC) ของสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.aureus* ตามวิธีมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLS) โดยใช้สารสกัดย่านาง ปริมาณ 1 กรัมละลายใน Tween 80 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของสารสกัดจะเท่ากับ 1000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และใช้ยา Ampicillin เป็นสารมาตรฐาน ผลพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* จากสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล มีค่าเท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากันทั้งสองสารสกัดและสารมาตรฐาน Ampicillin มีค่าเท่ากับ 0.195 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *S.aureus* จากสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล มีค่าเท่ากับ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากันทั้งสองสารสกัดและสารมาตรฐาน Ampicillin มีค่าเท่ากับ 0.781 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (n=3) ดังที่แสดง (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S.aureus*

สารสกัดใบย่านาง	**MIC (n=3)**	**MBC (n=3)**
ด้วยตัวทำละลายเมทานอล	62.5 mg/ml	500 mg/ml
ด้วยตัวทำละลายเอทานอล	62.5 mg/ml	500 mg/ml
Ampicillin	0.195 mg/ml	0.781 mg/ml

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* นั้น ผู้วิจัยพิจารณาจากความปลอดภัยของสารสกัด ที่ไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนังเป็นสำคัญและในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเลือกสารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งมีค่าการต้านอนุมูลอิสระและประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S.aureus* ใกล้เคียงกับสารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล เพื่อการทำผลิตภัณฑ์เจลย่านางทั้งสองตำรับ

ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล

จากการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล ตามสูตรตำรับดังตารางที่ 8 นั้น ได้ทำการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับ ก่อนและหลังการทำสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน ผลพบว่า ตำรับเจล F1 หลังการทำสภาวะเร่ง มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระลดลงจากเดิมเท่ากับ 61.06±1.480 เป็น 31.82±0.000 คิดเป็นร้อยละ 52.11 และตำรับเจล F2 หลังการทำสภาวะเร่ง มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจากเดิมเท่ากับ 63.25±0.040 เป็น 64.97±0.000 คิดเป็นร้อยละ 2.72 และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) ผลพบว่าก่อนการทำสภาวะเร่งตำรับเจล F1 และ F2 มีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) เท่ากับ 10.87±0.35 และ11.00±0.25 ตามลำดับ และหลังการทำสภาวะเร่งตำรับเจล F และ F2 มีค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) เท่ากับ 12.62±0.038 และ 15.49±0.004 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับเจล F1 และ F2 เพิ่มขึ้นจากเดิมเท่ากับร้อยละ 16.10 และ 40.82 ตามลำดับ ดังที่ได้แสดง (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล จากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับก่อนและหลังการทำสภาวะเร่ง

ตำรับเจลสารสกัดใบย่านาง	ร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) (n=3)		ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) (มิลลิกรัม GAE ต่อลิตร) (n=3)	
	ก่อนการทำสภาวะเร่ง	หลังการทำสภาวะเร่ง	ก่อนการทำสภาวะเร่ง	หลังการทำสภาวะเร่ง
F1	61.06±1.480	31.82±0.000	10.87±0.35	12.62±0.038
F2	63.25±0.040	64.97±0.000	11.00±0.25	15.49±0.004

ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ กรดเป็นเบส (pH), ความหนืด (cP), สีและกลิ่นตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลในสภาวะเร่ง

จากการพัฒนาตำรับเจลจากจากสารสกัดย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล ตามสูตรตำรับดังตารางที่ 9 นั้น และทำการศึกษาความคงตัวทางเคมีตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจล โดยพิจารณาจากความคงตัวทางกายภาพ ตำรับ F1 และ F2 อยู่ในช่วงความเป็นกรดเป็นเบส (pH) 4.98±0.007-5.20±0.03 ที่มีค่าปลอดภัยกับผิวหนังมนุษย์ และค่าความหนืดของตำรับ F1 และ F2 ก่อนการทำสภาวะเร่งมีค่าเท่ากับ 78.408±3.29 และ 59.610±2.03 (cP) ตามลำดับ และหลังการทำสภาวะเร่งมีค่าเท่ากับ132.05±15.85 และ 126.51±24.24 (cP) ตามลำดับ และทั้ง 2 ตำรับไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี และกลิ่น ดังที่แสดง (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ กรดเป็นเบส (pH) ความหนืด (cP) สีและกลิ่นตำรับเครื่องสำอางสูตรตำรับรูปแบบเจลในสภาวะเร่ง

เจลสารสกัดใบย่านาง	ก่อนการทำสภาวะเร่ง				หลังการทำสภาวะเร่ง			
	กรดเป็นเบส (pH)	ความหนืด (cP)	สี	กลิ่น	กรดเป็นเบส (pH)	ความหนืด (cP)	สี	กลิ่น
F1	4.98±0.007	78.408±3.29	เขียวเข้ม	ไม่มีกลิ่น	5.18±0.11	132.05±15.85	เขียวเข้ม	ไม่มีกลิ่น
F2	4.99±0.009	59.610±2.03	เขียวเข้ม	ไม่มีกลิ่น	5.20±0.03	126.51±24.24	เขียวเข้ม	ไม่มีกลิ่น

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง

ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารทดสอบ จากทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของสารทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Well Diffusion Method (Akande, 1998) โดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *S.aureus* ลงบนอาหารทดสอบ Muller-Hinton Agar โดยใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงใน Suspension ของเชื้อที่ต้องการทดสอบ บิดให้แห้งพอหมาดๆ กับข้างหลอดทดลอง จากนั้นทำการ Swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหาร ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่บริเวณกลางจานเพาะเชื้อ และใช้ลวดเขี่ยเชื้อเขี่ยชิ้นวุ้นออก

ใช้ปิเปตดูดสารทดสอบปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยอดลงในหลุมที่เจาะไว้ นำจานเพาะเชื้อ *S.aureus* ไปบ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อทำการบ่มจนครบระยะเวลาทำการตรวจผล โดยทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งของสารทดสอบ ผลพบว่าขนาดของ Inhibition Zone ของตำรับเจลสารสกัดใบย่านาง F1 และ F2 มีค่าเท่ากับ 26.67±0.577 และ 19.67±0.577 mm. ตามลำดับ ดังที่แสดง (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S.aureus* ของสูตรตำรับรูปแบบเจลสารสกัดจากใบย่านาง

ตำรับเจลสารสกัดใบย่านาง	**ขนาดของ Inhibition zone (mm.)** (n=3)
F1	26.67±0.577
F2	19.67±0.577

บทที่ 5

สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดย่านางด้วยวิธี DPPH assay พบว่า ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.05 - 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล มีค่าร้อยละการต้านอนุมูล เท่ากับ 51.273 ± 0.024 และ 39.686 ± 0.005 ตามลำดับ และที่เข้มข้น 10 มิลลิกรัม ต่อ 1 มิลลิกรัม ของสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.440 ± 0.199 และ 1.316 ± 0.015 (มิลลิกรัมGAE/1000มิลลิลิตร) ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล ที่ความเข้มข้น 20มิลลิกรัม/ดิสก์ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วยวิธี Antimicrobial Susceptibility test (diffusion test) พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับ14.5 และ12.21มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยใช้ 10 ไมโครกรัม/ดิสก์ Ampicillin เป็นตัวควบคุม ผลพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อมีขนาดโซนเท่ากับช่วง 34.7 - 36.6 มิลลิเมตร และผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (MBC) ของสารสกัดจากใบย่านางด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากันทั้งสองสารสกัด ส่วนสารมาตรฐาน Ampicillin มีค่าเท่ากับ 0.195 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบย่านางที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อมีค่าเท่ากับ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากันทั้งสองสารสกัด และสารมาตรฐาน Ampicillin มีค่าเท่ากับ 0.781 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากผลดังกล่าวข้างต้น เมื่อพิจารณาเรื่องความปลอดภัยโดยเทียบเคียงจากกรรมวิธีทางเภสัชกรรมไทยคือการผลิตยาดอง หรือยาหมักในการรักษาอาการอักเสบทางผิวหนัง จึงได้พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลสำหรับผิวหนังที่มีความปลอดภัยและมีค่ามาตรฐานตามที่กฎหมายกำหนด เป็นตำรับเจลจากสารสกัดใบย่านางด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยพิจารณาจากค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของตำรับ ก่อนและหลังการทำสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน พบว่าหลังการทำสภาวะเร่งตำรับเจล F2 มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นคิดเป็นร้อยละ 2.72 ซึ่งมีประสิทธิภาพคิดเป็นค่าร้อยละการอนุมูลอิสระเท่ากับ 31.82±0.000 และมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 10.87±0.35 และ

11.00±0.25 ตามลำดับ และหลังการทำสภาวะเร่งตำรับเจล F1 และ F2 มีค่าปริมาณฟินอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) เท่ากับ 15.49±0.004 และเมื่อพิจารณาจากปัจจัยทางกายภาพแล้วพบว่าตำรับ F2 มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้น 66.90 (cP) จึงอาจส่งผลให้ตำรับ F2 ซึ่งมี Carbapol Ultraz 10 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นชนิดของสารก่อเจลตัวกลางที่เหมาะสม ในการกระจายตัวสารสกัดใบย่านางที่มีความเหมาะสมกับสภาพผิวหนังมนุษย์และไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี และกลิ่น และที่เนื้อเจล 50 ไมโครลิตร ผลพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* มีขนาดโซนเท่ากับ 19.67±0.577 มิลลิเมตร

อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ประสิทธิภาพในการยับยั้ง (MIC) และฆ่าเชื้อ *S. aureus* (MBC) ของสารสกัดใบย่านางด้วยเมทานอลและเอทานอล เพื่อทำการพัฒนา ผลิตภัณฑ์เจลต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดใบย่านางสำหรับผิว โดยเทียบเคียงกับวิธีการใช้ใบย่านางตามกรรมวิธีการแพทย์แผนไทย ที่ใช้วิธีการดองด้วยเหล้า ในการรักษาอาการอักเสบของผิวหนัง ซึ่งเป็นวิธีการใช้ตัวทำละลายที่มีความปลอดภัย ทำให้ผลการทดลองครั้งนี้มีการพัฒนาฐานความรู้ของระบบการแพทย์แผนไทย สามารถใช้เป็นส่วนหนึ่งในการอ้างอิงข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ที่จะนำไปใช้ประโยชน์สืบไป เพราะการศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถพิสูจน์ได้ว่า ใบย่านางด้วยเอทานอลนั้น นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลที่มีความคงตัวหลังการศึกษา โดยอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง และสามารถยับยังเชื้อ *S.aureus* ที่เป็นสาเหตุของการอักเสบที่ผิวหนัง

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป มีดังนี้

1. กรรมวิธีในการสกัดสมุนไพรย่านางโดยใช้ตัวทำละลายอื่น
2. การใช้สารสกัดย่านางทำผลิตภัณฑ์บำรุงผิวรูปแบบใหม่ที่น่าสนใจ

บรรณานุกรม

กฤตติญารัตน์ สมวงศ์และชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา. (2553) . **ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นและฤทธิ์ต้านการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านบางชนิดเพื่อใช้สำหรับผมหงอกก่อนวัย .** การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ .คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กฤษฎารัตน์ ลีเขาสูง,ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์,วีรพล คงวิริยพันธุ์และบุญเกิด คงยิ่งยศ. (2551). ฤทธิ์ลดการอักเสบของสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดพื้นบ้านไทยและผลยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ของเซลล์แมคโครเฟจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPSและ IFN- วารสาร. **การแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**),6(2):71.

กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ. (2553). มหัสจรรย์ย่านางจากซูปหน่อไม้ถึงเครื่องดื่มสุขภาพ. **หมอชาวบ้าน**, (370)31 : 36-40.

กองประกอบโรคศิลปะ. (2541) . **ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม**กรุงเทพ . โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

กาญจน์พิมล ฤทธิเดชและนฤพร สุตัณฑวิบูลย์. (2546). **แนวทางการพัฒนาเภสัชภัณฑ์รูปแบบกึ่งแข็ง**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา .

คณะอนุกรรมการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ. (2555). **คู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำหรับโรงพยาบาลจากสมุนไพร ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พุทธศักราช 2555**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

จิตรา สิงห์ทอง,สุเวทย์ นิงสานนท์,Steve W.Cui . (2550) **การศึกษาการสกัด องค์ประกอบและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัด ใบย่านาง**. สาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

จอมใจ สัจจะอารีวัฒน์ . (2536). **การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาสเตียรอยด์ที่ใช้ในโรค ผิวหนัง**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จีรเดช มโนสร้อย,วรพงษ์ กิจดำรงธรรม,ปราโมทย์ เสถียรรัตน์,อรัญญา มโนสร้อย. (2553). ฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ของตำรับยารักษาโรคมะเร็งที่คัดเลือกจากฐานข้อมูลตำรับยาสมุนไพรไทย มโนสร้อย 2 ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งด้วยการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT 29 วารสาร .**การแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก,** 8(2) :20.

ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา,เอกชัย ดำเกลี้ยง,พยุงศักดิ์ สุรินต๊ะ,วสันต์ ดีล้ำ. (2552). การศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันต้านออกซิเดชั่น และฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดผักพื้นบ้านและสมุนไพรอีสาน.**วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน**, 5 (2) : 103-105.

ไชยวัฒน์ ไชยสุด,สุนีย์ จันทร์สกาว,ประสิทธิ์ สุวรรณเลิศ,เฉลิมพงษ์ แสนจุ้ม. (2550). **ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นและการอักเสบของผักพื้นบ้าน และสมุนไพรไทยบางชนิด .** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน. (2542). ค้นเมื่อวันที่ 13 กันยายน 2557. จาก http://rirs3.royin.go.th/new-search/word-search-all-x.asp.

พนารัตน์ เลาหบุตร. (2543). **ปริมาณเหล็ก วิตามินซี และเส้นใยอาหาร ในผักพื้นบ้านภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.** คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พนิดา วยัมหสุวรรณ และคณ. (2548). **แนวทางการผลิตยาจากสมุนไพรในรูปแบบยาขี้ผึ้งและเจล**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

มะลิ อาจริยะกุล) .2556). เอกสารการสอนวิชา **โครงสร้างและหน้าที่ของผิวหนัง.** ค้นเมื่อวันที่ 13 กันยายน 2557. จาก http://www.tu.ac.th/list/quesdata/Data/F22.ppt

รัชฎาพร อุ่นวิศิวิไลย์,จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี,จิตรา สิงห์. (2554). **ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัด ย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด .**สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

นภาพร แก้วดวงดี. (2556). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านาง. **วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,** (1)13,:159-171.

---------. (2556). ย่านางสมุนไพรกับภูมิปัญญาที่ควรรู้ วารสาร.**ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์** , (1)13: 1-15.

นัยนา สันติยานนท์. (2550). ความคงตัวของเภสัชภัณฑ์และการเก็บรักษา. **Thai Pharmaceutical and Health Science** Journal, 3(1) :185.

นิธิ ตั้งศิริทรัพย์. (2555). **การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อสิวและการติดเชื้อที่ผิวหนังที่พบได้บ่อย .**คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ.

สนุกกับการผลิตเจลสมุนไพร. (2557). ค้นเมื่อวันที่ 13 กันยายน 2557. จาก http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/knowledgeinfo.php?id=135

สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. (2557). ค้นเมื่อวันที่ 13 กันยายน 2557. จาก http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/article//34ย่านางอาหารที่เป็นยา-

สุภาวดี บุญทา,เกศินี จอมพะเยาว์. (2546). **การศึกษาความคงตัวของแมงจิเฟอร์นจากสารสกัดใบมะม่วงและสารบริสุทธิ์ในยาครีม .** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

สุนิศา ถิ่นวงษ์แย,รำไพ โกฏสืบ. (2558). **ผลของสารสกัดจากย่านาง ขี้เหล็ก และมะยมต่อการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยพิบูลสงคราม.

บังอร วงศ์รักษ์ และ ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. (2549). **ฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ปณต ตั้งสุจริต,วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์,ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์,วันชัย ไอยารัตน์. (2449). การตรวจสอบฤทธิ์ระงับปวดและฤทธิ์ต้านอักเสบของผักพื้นบ้านอีสาน วารสาร .**ศรีนครินทร์เวชสาร** , (21-4) :305.

ปริญญาวดี ศรีตนทิพย์ และคณะ. (2556). **การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์และฤทธิ์ยับยั้งแซนทีนออกซิเดสในผักย่านาง** .ค้นเมื่อวันที่ 13 กันยายน 2557. จาก http://mis.rmutl.ac.th/procresearch/ResearchProjectInfo.aspx?res_id=R000000021

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร. (2557). **เอกสารประกอบการเรียนรายวิชา54242ยาเตรียมกึ่งแข็งจาก 11 สมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสำหรับใช้เฉพาะที่.** หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชกรรมไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

ปานทิพย์ บุญส่ง,ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์,อรพิน เกิดชูชื่น.(2552). การวิเคราะห์สารประกอบ Polyphenolics จากสารให้สีจากใบ*Tiliacora triandra* (Diels). วารสาร **วิทยาศาสตร์เกษตร** , 40(3):14.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. (2542). **พจนานุกรมสมุนไพรไทย.** (พิมพ์ครั้งที่ 5). กรุงเทพฯ: อักษรพิทยา .

วชิราวดี มาลากุล. (2555). **ผลของสารสกัดย่านางต่อการเกิด protein glycosylation,lipid peroxidation Ca^{2+}-ATPase ของเซลล์เม็ดเลือดแดงจากคนปกติ ในสภาวะน้ำตาลสูง .** คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

อรวรรณ ติรภัทร. (2553). **การพัฒนาตำรับเจลที่มีส่วนผสมจากใบรางจืดเพื่อใช้ทางเครื่องสำอาง**. คณะวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อ้อมใจ แต้เจริญวิริยะกุล , เมที บัวสาย,อิทธิชัย รัตนาตรานุรักษ์,เพียงหทัย ศรียอด,สุภารัตน์ จันทร์เหลือง. (2557). **ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสของพืชสมุนไพร.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

Derek, F. J. B. ,David, I. E.., Peter, M.H. et al. (2005). “Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”. **Journal of Antimicrobail Chemotherapy** 56: 1000-1018.

Dmitri S. Ptchelintsev . (2012). USE OF TILIACORA TRIANDRA IN COSMETICS AND COMPOSITIONS THEREOF. **Avon Products, Inc**. New Jersey. USA.

Kriengsak Thaipong.(2006). **Comparison of ABTS, DPPH, FRAP,and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts.** Journal of Food Composition and Analysis. (19) 669-675

Matthaus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **J Agric Food Chem,** 50:m3444-3452.

Naibaho,N.M., Laohankunjit,N., and Kerdchoehuen,O. (2012). Physico-chemical Properties of Plant Extracts from Yanang (*Tiliacora triandra*) Leaves วารสาร .**วิทยาศาสตร์การเกษตร** ,4(32):535.

Naibaho,N.M., Laohankunjit,N., and Kerdchoehuen,O. (2012). Volatile Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil from Yanang (Tiliacora triandra) Leaves. วารสาร **วิทยาศาสตร์การเกษตร** ,4(32):529.

Sanchez-Moreno, C., Jimenez-Escria, A. and Saura-Calixto. J. (.(2000“Study of low-density ipoprotein Oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols” **Nutrition Research** .953-941 :20

Thaweephol Dechatiwongse. (1987). **วารสาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**, 29(1):33.

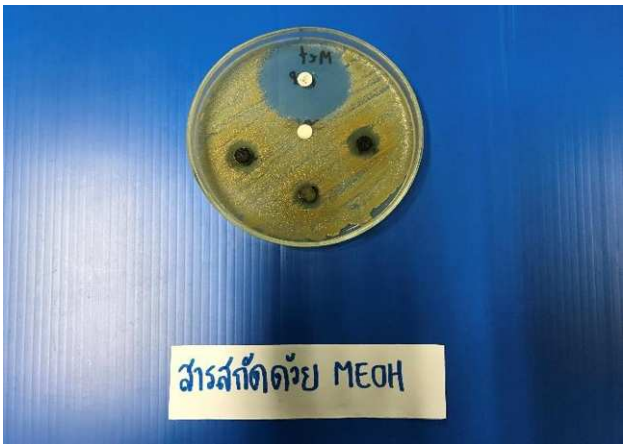
Wiriyachitra ,P. & Phuriyakorn, B. (1981). Alkaloids of *Tiliacora trandra*. **Australian Journal of Chemistry**, 34 (-) 2001-2004.

Zhang, G. W. et al. (2006). “Two new bioactive sesquiterpenes from the soft coral Sinularia sp”. **Journal of Natural Products** 20: 659-664.

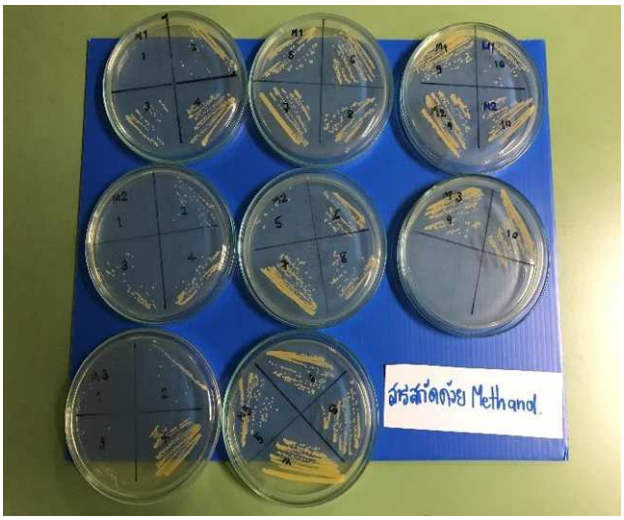
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดใบย่านาง และเจลสารสกัดใบย่านางด้วยเอทานอลด้วยวิธี Disc Diffusion และวิธี Broth Microdilution

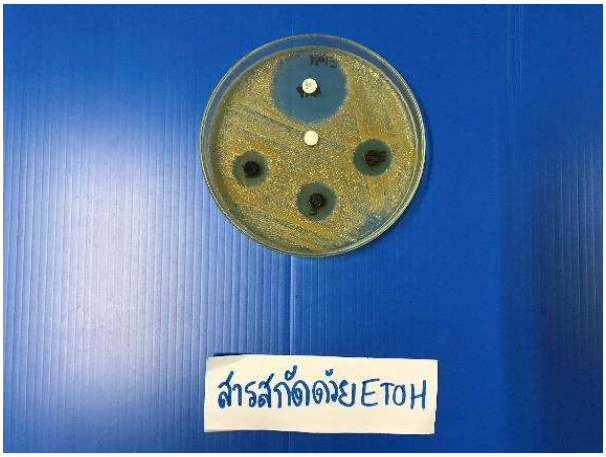
การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดใบย่านาง ด้วยวิธี Disc Diffusion และวิธี Broth Microdilution



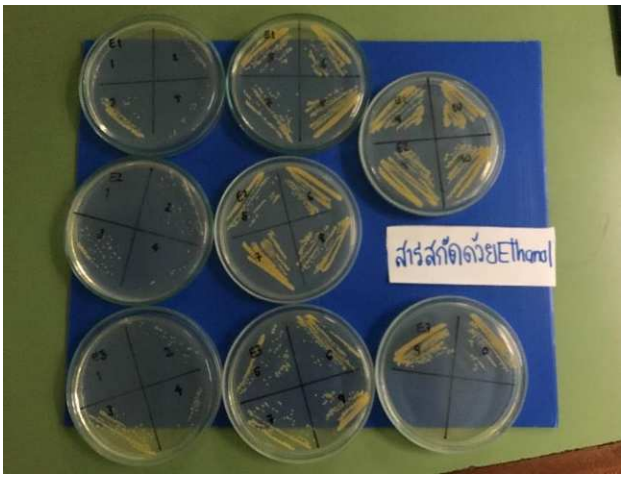
Disc diffusion method *Staphylococcus aureus* สารสกัดเมทานอล



Disc diffusion method *Staphylococcus aureus* สารสกัดเมทานอล

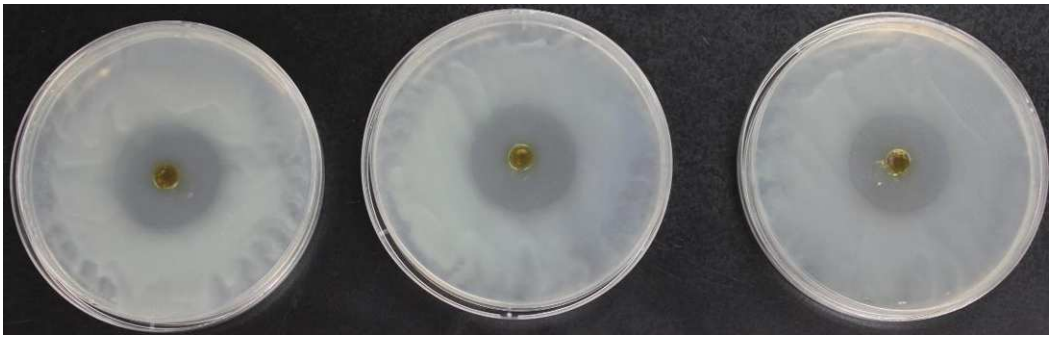


Disc diffusion method *Staphylococcus aureus* สารสกัดเอทานอล

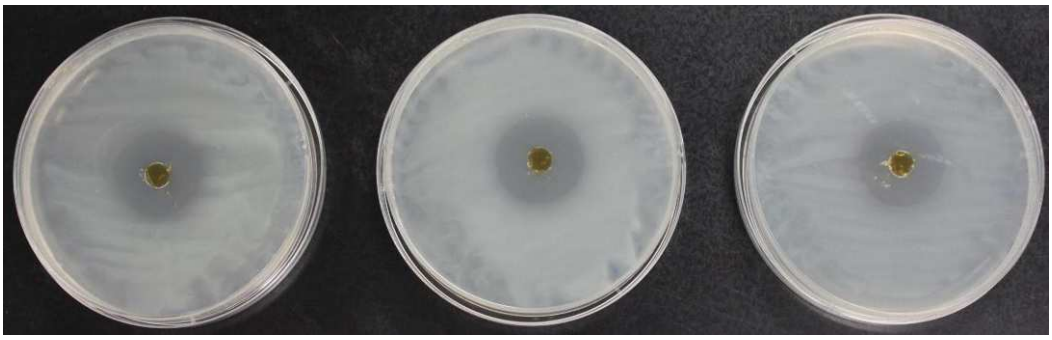


Disc diffusion method *Staphylococcus aureus* สารสกัดเอทานอล

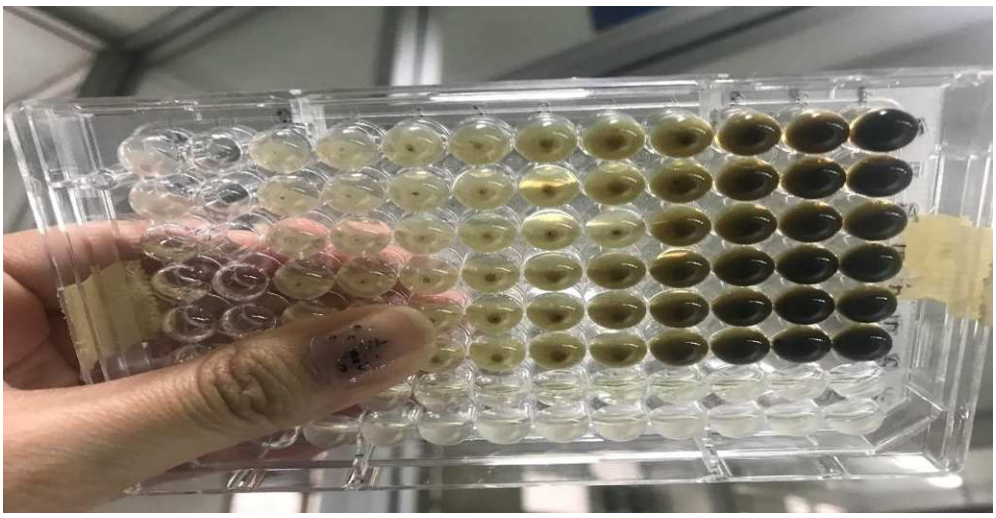
การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของเจลสารสกัดใบย่านาง ด้วยเอทานอล ด้วยวิธี Disc Diffusion และวิธี Broth Microdilution



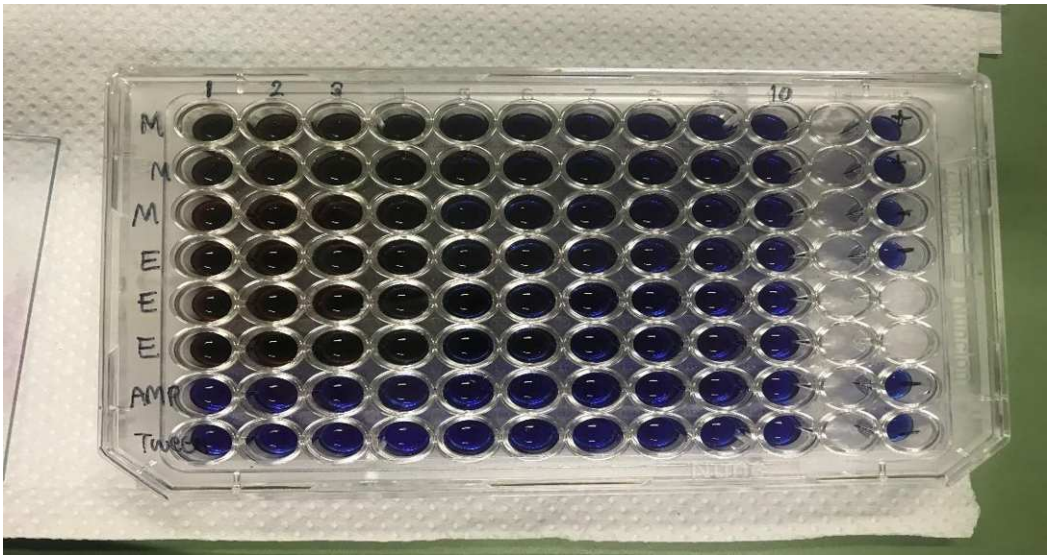
ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเจลสารสกัดย่านาง(F1) ด้วยเอทานอล
ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

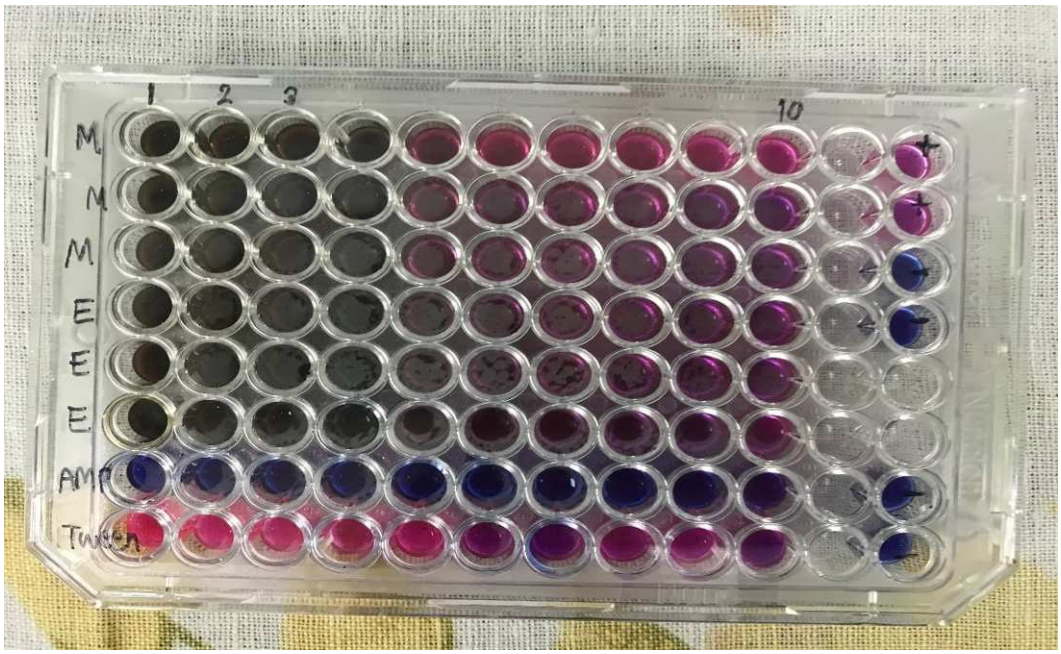


ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเจลสารสกัดย่านาง(F2) ด้วยเอทานอล
ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*



วิธีการทดสอบ Broth dilution test สารสกัดย่านาง





วิธีการทดสอบ Broth dilution test เตรียมสี Resazurin สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลง

จากสีน้ำเงิน – ชมพู = มีเชื้อ สีน้ำเงิน – น้ำเงิน = ไม่มีเชื้อ

ภาคผนวก ข

กระบวนการทำผลิตภัณฑ์เจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส

การวิเคราะห์ทางสถิติค่าความเป็นกรด – เบส (pH)

ค่าความหนืด (cP)

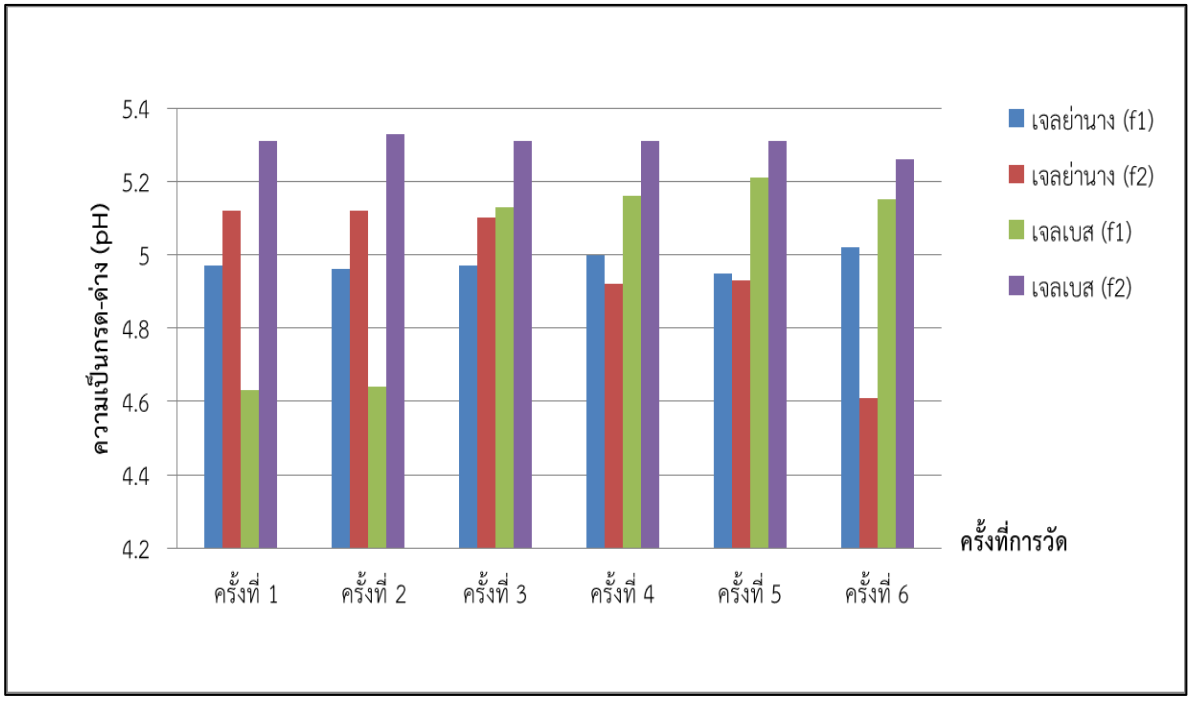
ของตำหรับเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบย่านางและเจลเบส

เจลสารสกัดจากใบย่านาง F1 ใช้สารก่อเจล Calbopol 940 และ F2 ใช้สารก่อเจล Carbopol UlHrez 10

ตารางที่ 1 แสดงผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเจลมีสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส

ตำรับ		pH					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6
เจล	(f1)	4.97±0.005	4.96±0.008	4.97±0.009	5.00±0.005	4.95±0.008	5.02±0.008
ย่านาง	(f2)	5.12±0.012	5.12±0.08	5.10±0.017	4.92±0.005	4.93±0.005	4.61±0.008
เจลเบส	(f1)	4.63±0.008	4.64±0.012	5.13±0.005	5.16±0.012	5.21±0.012	5.15±0.005
	(f2)	5.31±0.005	5.33±0.005	5.31±0.009	5.31±0.005	5.31±0.008	5.26±0.008

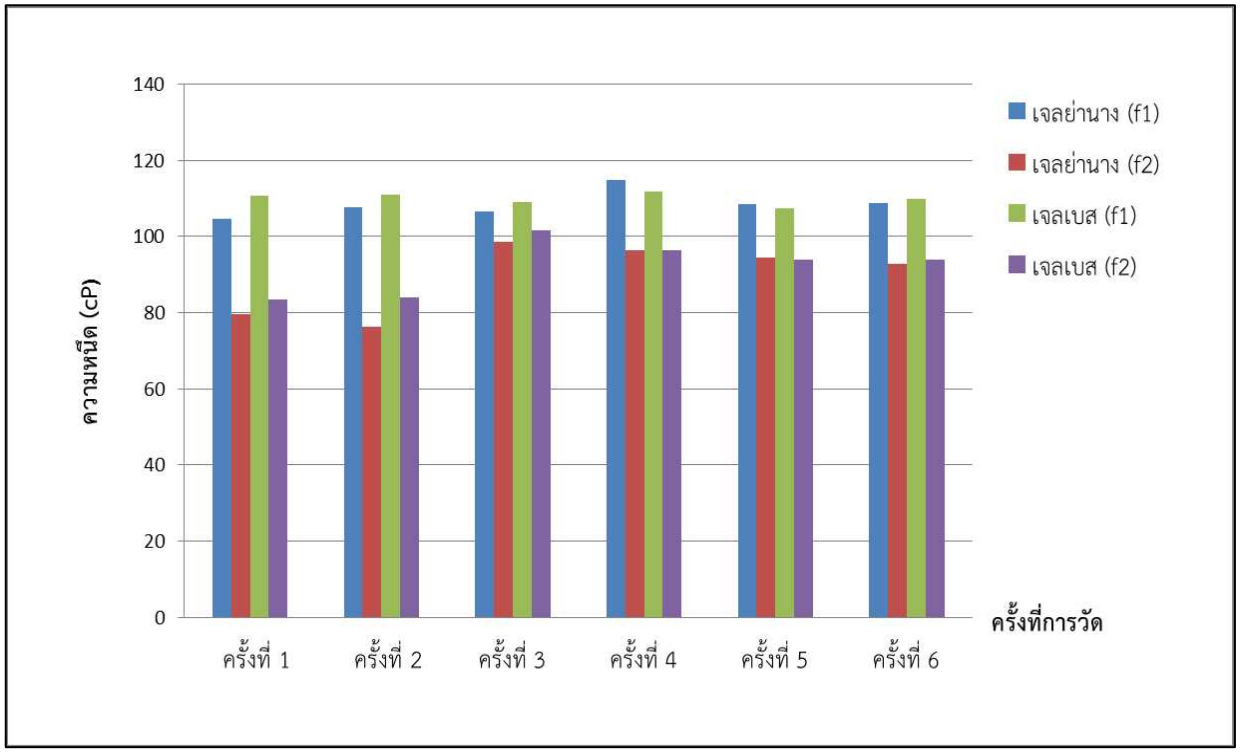
กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส



ตารางที่ 2 แสดงผลการทดสอบความหนืดของเจลสารสกัดจากใบย่านาง และเจลเบส

ตำรับ		ความหนืด					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6
เจล	(f1)	104.54±1.79	107.63±0.81	106.66±4.07	114.87±4.67	108.59±1.23	108.71±1.87
ย่านาง	(f2)	79.48±1.09	76.35±3.58	98.60±1.20	96.29±0.90	94.38±0.11	92.68±1.51
เจล	(f1)	110.58±3.18	110.81±1.55	108.94±2.26	111.87±2.03	107.30±2.28	109.80±0.92
เบส	(f2)	83.56±6.07	84.01±0.48	101.63±3.26	96.30±1.61	93.82±2.99	93.79±2.09

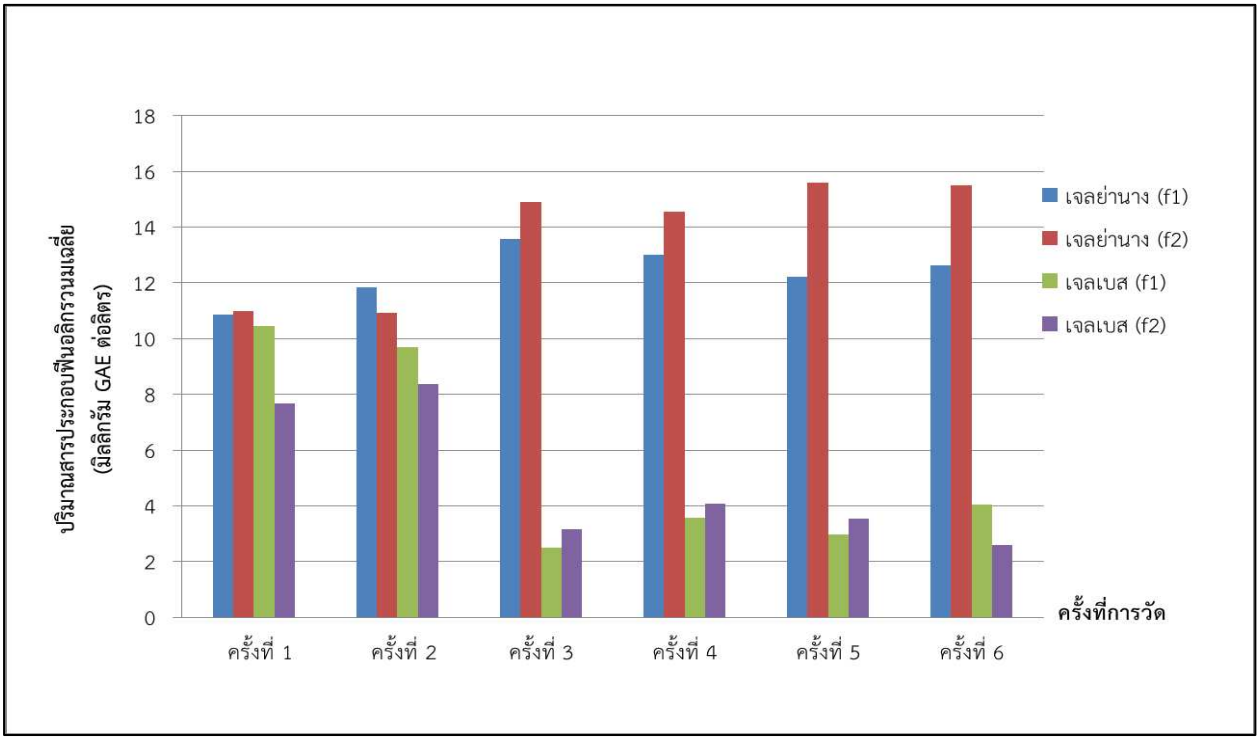
กราฟแสดงค่าความหนืดเจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส



ตารางที่ 3 สารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเจลสารสกัดจากใบย่านาง และเจลเบส

ตำรับ		ปริมาณฟีนอลิก (Phenolic) (มิลลิกรัม GAE ต่อลิตร)					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6
เจล	(f1)	10.87±0.35	11.84±0.32	13.56±0.007	12.99±0.007	12.21±0.013	12.62±0.038
ย่านาง	(f2)	11.00±0.25	10.92±0.38	14.90±0.004	14.54±0.025	15.58±0.004	15.49±0.004
เจล	(f1)	10.46±2.58	9.68±0.80	2.50±0.008	3.57±0.004	2.96±0.010	4.03±0.004
เบส	(f2)	7.67±0.20	8.36±0.02	3.15±0.004	4.09±0.01	3.55±0.01	2.59±0.004

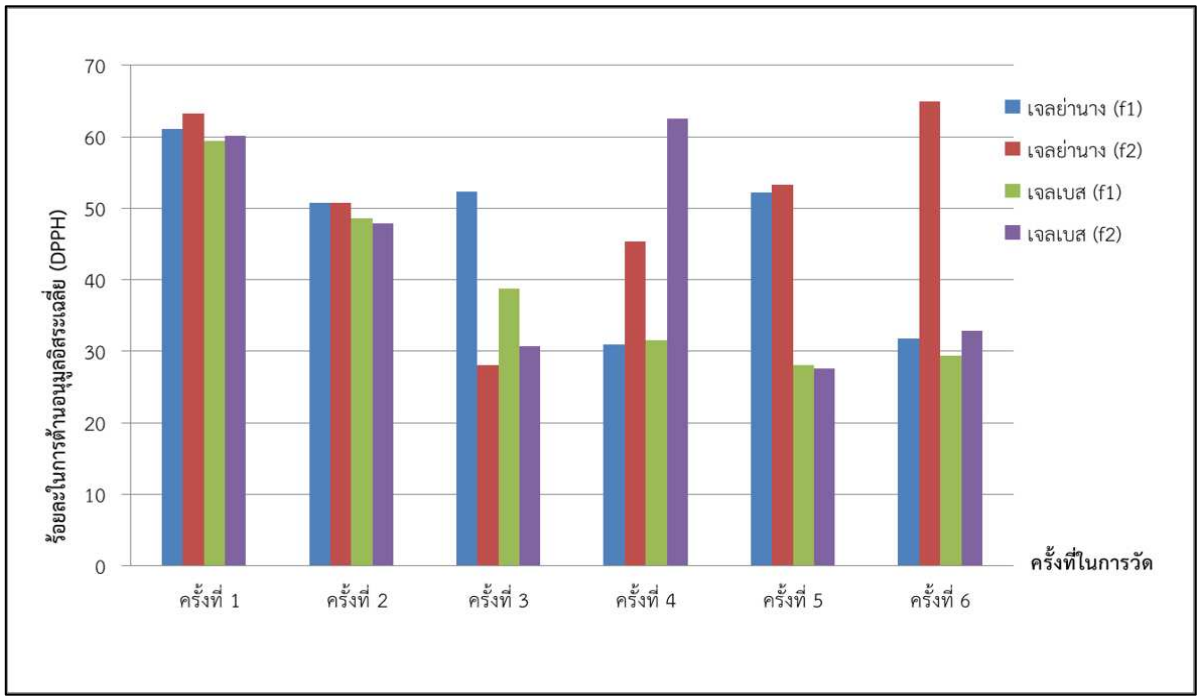
กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเจลสารสกัดจากใบย่านาง และเจลเบส



ตารางที่ 4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส

ตำรับ		ร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (DPPH)					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6
เจลย่านาง	(f1)	61.06±1.48	50.74±0.63	52.33±0.015	30.94±0.015	52.24±0.000	31.82±0.000
	(f2)	63.25±0.04	50.73±0.17	28.11±0.000	45.35±0.000	53.30±0.000	64.97±0.000
เจลเบส	(f1)	59.37±0.68	48.60±2.14	38.72±0.000	31.56±0.000	28.11±0.000	29.44±0.000
	(f2)	60.09±0.24	47.90±0.35	30.76±0.000	62.58±0.000	27.58±0.000	32.88±0.000

กราฟแสดงค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของเจลสารสกัดจากใบย่านาง และเจลเบส



เจลสารสกัดจากใบย่านาง F1 และ F2 และเจลเบสในการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH

การวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดเจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส

เจลสารสกัดจากใบย่านางและเจลเบส 4 ชุด หลังกระบวนการการทดสอบในสภาวะเร่ง

ภาคผนวก ค
หนังสือตอบรับลงบทความ

Ref. No. 0564.14/ 0041

Bansomdejchaopraya Rajabhat University
1061 Isarapap 15 Hirunrujee
Thonburi Bangkok 10600

25 May 2017

Subject Notification of Results of BSRU Conference 2017 Full Paper

Attention Pitpimol Kandarak Atchara Kaewnoi Arun Chanchaichaoniwat and Petnumpung Rodpo

We are pleased to inform you that your full paper entitled, "**Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Potential from Yanang Leaves Extracts**" was accepted for a poster presentation at the 1st National and International Conference 2017 on Education for Sustainable Locality Development organized by Bansomdejchaopraya Rajabhat University in Bangkok, Thailand on the 29th of July, 2017.

To help with the arrangement, please complete the registration form and send it to the registration team as soon as possible. Once you register, your name will be posted on the BSRU Conference 2017 website (http://research2017.bsru.ac.th/). Please check the date, time, and venue of your presentation which is to be posted on the same website about two weeks before the conference.

Please feel free to contact us regarding any questions you may have. All of us at BSRU Conference 2017 are doing our best to make this year event fruitful and memorable, and we look forward to welcoming you.

Cordially yours,

Areewan .

(Assistant Professor Dr.Areewan Iamsa-ard)
Dean
Graduate School of BSRU

Graduate School
Tel.+662-473-7000 Ext.1810, 1813

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวพิชญ์พิมล กานดารักษ์

Miss Phichpimol Kandarak

ที่อยู่ 87/219 หมู่บ้าน 89 บางบอนวิลล์ ถนนกาญจนาภิเษก

เขตบางบอน กรุงเทพฯ 10150

โทรศัพท์ 0840254622

E-mail pimrakdao@gmail.com

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2544	ปริญญาตรีศิลปศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสารนิเทศศาสตร์ทั่วไป มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช จังหวัดกรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2545	ประกาศนียบัตรวิชาชีครู (ป.วค.) มหาจุฬาลงกรณ์ราชวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2548	ประกาศนียบัณฑิตทางภาษาอังกฤษเพื่ออาชีพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2555	ปริญญาโท พุทธศาสนศึกษา มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร