

การประยุกต์ทางเวชสำอางของน้ำมันหอมระเหย ว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน

Cosmeceutical Applications of Essential Oils of *Amomum biflorum* Jack from Whole Plant and Rhizome

อรรถพล อุทัยเรือง, รุจิลักษณ์ รัตตะรมย์ และคัทลีญา เมฆจรัสกุล*

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

Adthapon Uthairung, Ruchilak Rattarom and Catheleeya Mekjaruskul*

Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Khamriang, Kantarawichai, Maha Sarakham, 44150

Received: April 30, 2020; Accepted: May 26, 2020

บทคัดย่อ

ว่านสาวหลงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Amomum biflorum* Jack. เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ทุกส่วนของว่านสาวหลงมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ ปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงมาใช้ประโยชน์แต่ยังขาดข้อมูลที่สนับสนุนฤทธิ์ทางชีวภาพ และการเลือกส่วนที่เหมาะสมของพืชเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีดีพีเอส การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครม และฤทธิ์ต้าน *Cutibacterium acnes* ด้วยวิธี agar diffusion method และ broth microdilution method ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดินและส่วนทั้งต้นพบสาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene เป็นองค์ประกอบหลัก น้ำมันหอมระเหยทั้งสองส่วนมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสไม่ต่างกัน โดยมีค่า IC_{50} 117.94 ± 19.08 และ 147.03 ± 10.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. acnes* ได้ดีเท่ากัน โดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งและฆ่า *C. acnes* 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่น้ำมันหอมระเหยทั้งสองส่วนมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าสารมาตรฐาน α -โทโคเฟอรอลและกรดแอสคอร์บิก ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดินมีศักยภาพสำหรับการพัฒนาเป็นเวชสำอาง เพื่อเพิ่มความกระชับใสให้แกผิว และมีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อสิว

คำสำคัญ : ว่านสาวหลง; น้ำมันหอมระเหย; องค์ประกอบทางเคมี; ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน; ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส; ฤทธิ์ต้าน *Cutibacterium acnes*

Abstract

Wansalong or *Amomum biflorum* Jack belongs to family of Zingiberaceae. Every parts of plant have a unique aroma. Nowadays, its essential oils have been utilized. However, there are a few studies regarding its pharmacological activities. There are also no reports to support which part of plant is suitable for product development. The aim of this study was to investigate the biological activities and chemical constitutions of *A. biflorum* Jack essential oils from whole plant and rhizomes. Essential oils were prepared by water distillation technique. The chemical constitutions were identified by using gas chromatography-mass spectrometry. Antioxidant activities were determined by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and ferric ion reducing antioxidant power assay. Dopachrome method was used for determination of anti-tyrosinase activity. Anti-*Cutibacterium acnes* activity was studied by using agar diffusion method and broth microdilution methods. The results showed that 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene was found as a major constituent in the essential oils of both whole plant and rhizomes. The essential oils from two parts exhibited anti-tyrosinase activities with IC₅₀ values of 117.94±19.08 and 147.03±10.28 µg/mL, respectively, with no significant difference between two parts. They showed minimum inhibitory and minimal bactericidal concentrations at 75 µg/mL against *C.acnes*. Antioxidant effects of the essential oils showed lower activities than that of α-tocopherol and ascorbic acid. Therefore, *A. biflorum* essential oils from whole plant and rhizomes have a potential to develop as the cosmeceutical products for skin whitening and anti-acnes applications.

Keywords: *Amomum biflorum*; essential oil; chemical constituent; antioxidant; antityrosinase; anti-*Cutibacterium acnes*

1. คำนำ

ว่านสาวหลงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Amomum biflorum* Jack. เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae อยู่ในตระกูล Amomum ตระกูลเดียวกับกระวานและเร่ว ทุกส่วนของว่านสาวหลงมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ ตามภูมิปัญญาพื้นบ้านนำส่วนเหง้าของว่านสาวหลงมาต้มน้ำสำหรับดื่มเพื่อขับลมในทางเดินอาหาร นำมาต้มน้ำสำหรับอาบเพื่อบำรุงผิวพรรณ รักษาโรคผิวหนัง และนำส่วนดอกสดมาสูดดมแก้อาการวิงเวียนศีรษะ (Polsena, 2007) มีความเชื่อว่าว่านสาวหลงเป็นว่านเมตตามหานิยม หากปลูกในบ้านเรือนจะเป็นสิริมงคลแก่สถานที่ หากนำส่วนเหง้าถือติดตัวไปจะทำให้คนที่พบเจอ

หลงรักใคร่ ทุกส่วนของว่านสาวหลงทั้งส่วนใบ และส่วนเหง้าเป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม จึงเป็นพืชที่นำมาสกัดในรูปแบบน้ำมันหอมระเหยใช้ในการนวด รูทิจสปา และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มากขึ้น แต่ยังคงขาดข้อมูลการศึกษาวิจัยเพื่อสนับสนุนการนำว่านสาวหลงมาใช้ประโยชน์ ว่านสาวหลงส่วนเหง้าเป็นส่วนของพืชที่ถูกนำมาใช้ตามการใช้ของโบราณและภูมิปัญญาพื้นบ้าน (Polsena, 2007) แต่ที่พบในปัจจุบันนั้นการนำว่านสาวหลงมาใช้ประโยชน์ในด้านสุขภาพและเวชสำอาง ได้แก่ สบู่ โลชั่น ผลิตภัณฑ์ในรูทิจสปา เป็นต้น ใช้ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากส่วนทั้งต้น และในร้านขายเครื่องยาสมุนไพรในประเทศไทยจะจำหน่ายว่านสาวหลงทั้ง

ตัน ซึ่งรวมทั้งส่วนเหนือดินและใต้ดินในรูปแบบที่บดเป็นผงแห้ง การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของว่านสาวหลงพบรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยพบว่าสารสกัดส่วนเอทิลอะซิเตตจากเหง้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดเฮกเซนจากเหง้า และสารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และสารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ยับยั้ง nitric oxide (Charoensuk, 2013) ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Singtothong *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของว่านสาวหลงยังมีค่อนข้างน้อย และยังขาดข้อมูลที่สนับสนุนการเลือกส่วนที่เหมาะสมของพืชเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับการพัฒนาเป็นเวชสำอาง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุต่อการเกิดสิวของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลง โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้น ซึ่งเป็นส่วนที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในรูปแบบผง โดยนำทั้งต้นมาบดเป็นผงและส่วนใต้ดินของว่านสาวหลง ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ตามการใช้ของโบราณและภูมิปัญญาพื้นบ้าน และเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากทั้งสองส่วน เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้ว่านสาวหลงสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สมุนไพรและสารเคมีที่ใช้

ว่านสาวหลงแบบต้นสดอายุ 2 ปี ชื้อจากเกษตรกรในจังหวัดฉะเชิงเทรา ระบุชนิดโดยผู้เชี่ยวชาญทางพฤกษศาสตร์ของศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

จังหวัดฉะเชิงเทรา สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ dimethyl sulfoxide (DMSO) (Carlo Erba reagent, France), 2,2- diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH), α -tocopherol, ascorbic acid, kojic acid, tyrosinase from mushroom lyophilized powder, 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) (Sigma-Aldrich®, Germany), FeCl_3 , 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Merck, Germany), FeSO_4 (Analar Normapur®, UK), tetracycline (Oxoid, UK), Brain heart infusion, Brain heart infusion broth (HiMedia®, India)

2.2 การเตรียมน้ำมันหอมระเหย

หั่นสมุนไพรเป็นชิ้นเล็กๆ โดยแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนใต้ดิน ได้แก่ ส่วนไหล และราก ส่วนทั้งต้น ได้แก่ ส่วนลำต้นเทียม ใบ ไหล และราก (รูปที่ 1) นำไปอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพร จากนั้นนำมาสกัดโดยการกลั่นด้วยน้ำตามวิธีของ Thai herbal pharmacopoeia (Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, 2016) โดยใช้ผงสมุนไพร 100 กรัมต่อน้ำปราศจากไอออน 600 มิลลิลิตร ให้ความร้อนในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิระหว่าง 130-150 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง น้ำมันหอมระเหยจะลอยอยู่เหนือน้ำ จากนั้นเก็บส่วนน้ำมันหอมระเหยคำนวณหาปริมาณน้ำมันที่ได้ (% yield)

2.3 การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง ดัดแปลงจาก Dai และคณะ (2016)

ใช้เครื่อง gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) (GC: Bruker 450GC; MS: Bruker 320MS, USA) คอลัมน์ชนิด Rtx-5MS capillary column (Restek, USA, 30 m, 0.25 mm, fused silica 0.25 μm) อุณหภูมิที่ฉีดสารตัวอย่าง 250



Figure 1 *A. biflorum* (A: whole plant and B: rhizome)

°C ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพาที่อัตราการไหล 1.0 mL/min ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องแบบลำดับ ส่วนเริ่มจาก 60 °C เป็นเวลา 6 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 °C ด้วยอัตรา 3 °C/min เป็นเวลา 58 นาที จากนั้นนำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ mass spectra index ของ mass spectral libraries (NIST Libraries, 2008)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจาก Clarke และคณะ (2013) และ Manook และคณะ (2015)

เตรียมน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง ความเข้มข้น 0.5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางด้วย 10 % DMSO ในเมทานอล เตรียมสารมาตรฐาน (α -tocopherol และ ascorbic acid) ความเข้มข้น 0.5-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางด้วยเมทานอล ปิเปตน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง หรือสารมาตรฐาน แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันกับสารละลาย DPPH (0.1 mM ในเมทานอล) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใน 96-well plate ตั้งทิ้งไว้ที่มีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20

นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis micro-plate reader (Spectrostar Nano, Germany) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทดสอบ 3 ซ้ำ หาค่า % radical scavenging และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า IC_{50}

$$\% \text{ radical scavenging} = \left\{ \left[\frac{OD_{\text{control}} - (OD_{\text{sample/standard}} - OD_{\text{blank sample/standard}})}{OD_{\text{control}}} \right] \times 100 \right\}$$

เมื่อ OD_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย 10 % DMSO ในเมทานอล; $OD_{\text{sample/standard}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันหอมระเหยหรือสารมาตรฐาน; $OD_{\text{blank sample/standard}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันหอมระเหยหรือสารมาตรฐานที่ไม่เติมสาร DPPH

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจาก Boonla และคณะ (2014)

เตรียมน้ำสารละลายมาตรฐาน $FeSO_4$ ความเข้มข้น 10-800 ไมโครโมลลาร์ โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย เตรียมน้ำมัน

หอมระเหยว่านสาวหลงความเข้มข้น 50-800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางด้วย 10 % DMSO ใน 95 % ethanol เตรียมสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 6.25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ α -tocopherol ความเข้มข้น 50-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางด้วย absolute ethanol การทดสอบทำโดย ปิเปต FRAP reagent ปริมาตร 240 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงหรือสารมาตรฐานหรือ FeSO_4 ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ใน 96 well plate ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงของสารผสมที่ได้ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้ เครื่อง UV-Vis microplate reader (Spectrostar Nano, Germany) โดยทดสอบ 3 ซ้ำ สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย FeSO_4 ใช้สมการเส้นตรงในการคำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน หรือ FRAP value ในหน่วย mM Fe^{2+} equivalent/กรัมของสาร โดยแทนค่า y ในสมการด้วยค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงหรือสารมาตรฐาน

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีการ dopachrome method ดัดแปลงจาก Srisook และคณะ (2010)

เตรียมน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงความเข้มข้น 10-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารมาตรฐาน kojic acid มีความเข้มข้น 0.5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำ

ละลาย ปิเปตน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงหรือสารมาตรฐานปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับ 0.1 M phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เอนไซม์ ไทโรซิเนส (31 unit/mL ใน 0.1 M phosphate buffer pH 6.8) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใน 96 well plate ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2.5 mM L-DOPA ใน 0.1 M phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis microplate reader (Spectrostar Nano, Germany) โดยทดสอบ 3 ซ้ำ คำนวณหา % tyrosinase inhibition และนำค่าที่ได้มาคำนวณหา IC_{50}

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

เมื่อ A, B, C, D คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่ม A, B, C, และ D ดังแสดงในตารางที่ 1

2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง

2.7.1 การทดสอบด้วยวิธี agar diffusion method ดัดแปลงจาก Khunawattanukul และคณะ (2017)

นำโคโลนีของแบคทีเรีย *C. acnes* (DMST 14916) ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเชื้อชนิดเหลว brain heart infusion (BHI) agar บ่มในตู้

Table 1 Compositions of samples in anti-tyrosinase assay

Samples	10 % DMSO in glycerin (μL)	0.1 M Phosphate buffer, pH 6.8 (μL)	Tyrosinase enzyme (μL)	Essential oil/ kojic acid (μL)
A	50	100	50	-
B	50	150	-	-
C	-	100	50	50
D	-	150	-	50

เพาะเชื้อแบบควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะปราศจากออกซิเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เจือจาง *C. acnes* ให้ได้ความขุ่นเท่ากับ McFarland Standard No. 0.5 นำไป spread บนจานอาหารเพาะเชื้อ BHI ให้ทั่วทั้ง 3 ระบาย ดูน้ำมันหอมระเหยที่เจือจางด้วย 10 % DMSO ใน glycerin ความเข้มข้น 1.5 mg/disc ลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm จากนั้นวางกระดาษกรองบนจานอาหารเพาะเชื้อ ป่มในตู้เพาะเชื้อแบบควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะปราศจากออกซิเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) 3 ระบาย หน่วยเป็นมิลลิเมตร แล้วหาค่าเฉลี่ย โดยทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tetracycline ที่ความเข้มข้น 15 µg/disc

2.7.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MBC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) โดยวิธี broth micro-dilution method ดัดแปลงจาก Wongkattiya และคณะ (2016) และ Khunawattanakul และคณะ (2017)

เตรียมแบคทีเรีย *C. acnes* ให้ได้ความขุ่นเท่ากับ McFarland Standard No. 0.5 เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ 10 % DMSO ใน glycerin เป็นตัวทำละลาย นำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ two-fold serial dilution โดยมีความเข้มข้นสุดท้าย 150, 75, 37.5, 18.25 และ 9.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงไปในทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยชุดควบคุมที่ให้ผลบวกประกอบด้วยอาหารเพาะเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับแบคทีเรียที่เตรียมไว้

ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ชุดควบคุมที่ให้ผลลบจะประกอบด้วยอาหารเพาะเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้สารมาตรฐาน tetracycline เป็นตัวเปรียบเทียบ นำไปป่มในตู้เพาะเชื้อแบบควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะปราศจากออกซิเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของแบคทีเรียหรือไม่มีความขุ่นบันทึกความเข้มข้นของสารเป็นค่า MIC นำหลอดทดลองจากการหาค่า MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดทดลองไป spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ป่มในตู้เพาะเชื้อแบบควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 °C ในสภาวะปราศจากออกซิเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของน้ำมันว่านสาวหลงที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) อ่านผลจากการไม่พบการเจริญของแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tetracycline ที่ความเข้มข้น 0.78 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.8 สถิติที่ใช้

แสดงข้อมูลที่ได้ในรูป mean ± SD ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลด้วยสถิติ Shapiro-Wilk ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวของข้อมูลแบบปกติใช้ one-way ANOVA และใช้สถิติ Tukey สำหรับ post hoc analysis ค่าระดับนัยสำคัญที่ทดสอบ (p-value) เท่ากับ 0.05

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยและฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับการพัฒนาเป็นเวชสำอาง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเกิดสิว โดยศึกษาเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้น และส่วนใต้ดิน ที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ ผลการทดลองพบว่าผลผลิตน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจาก

ส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดินคิดเป็นร้อยละ 0.64 และ 0.43 ตามลำดับ โดยกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ไม่ต่างจากกลิ่นของต้นสดของว่านสาวหลง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงด้วยเทคนิค GC-MS พบองค์ประกอบทางเคมีของส่วนทั้งต้น 44 ชนิด และส่วนใต้ดินจำนวน 37 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยสารที่พบเป็นสัดส่วนสูงที่สุดทั้งส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน คือ 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene รองลงมาส่วนทั้งต้น คือ camphor และส่วนใต้ดิน คือ 1,3-distearin โดย camphor พบมากเป็นอันดับ 3 ในส่วนใต้ดิน มีสารที่พบเฉพาะส่วนทั้งต้น คือ farnesyl acetone และสารที่พบเฉพาะน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดิน ได้แก่ m-cymene, γ -terpinene, p-acesaldehyde, α -terpineol acetate, caryophyllene, (+)-epi-bicyclosesauiphellandrene, α -cedrene epoxide และ 1,3-distearin การที่น้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดินพบจำนวนสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีมากกว่าส่วนทั้งต้น อาจเนื่องมาจากส่วนทั้งต้นมีส่วนของพืชที่เป็นส่วนเหนือดินรวมกับส่วนใต้ดิน ทำให้ปริมาณสารสำคัญบางชนิดที่พบในส่วนใต้ดินต่อน้ำหนักพืชที่ใช้กลั่นน้ำมันหอมระเหยน้อยกว่าส่วนใต้ดินเพียงอย่างเดียว สารสำคัญจากส่วนทั้งต้นจึงอาจอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าความไวของการตรวจจับของเครื่องมือ งานวิจัยของ Subhadhirasakul และ Moosigapong (2014) ที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของว่านสาวหลงส่วนเหนือดิน (ใบและกาบใบ) และส่วนใต้ดิน (เหง้า) ด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS พบจำนวนสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดินและส่วนเหนือดิน 10 และ 11 ชนิด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ 7 และ 5 ชนิด ตามลำดับ โดยสารที่พบสัดส่วนสูงที่สุดทั้งส่วนใต้ดินและส่วนเหนือดิน คือ camphor และการศึกษา

ของ Singtothong และคณะ (2013) พบองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงส่วนทั้งต้น 55 ชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ 11 ชนิด โดยสารที่พบสัดส่วนสูงที่สุด คือ camphor จะเห็นได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากรายงานการศึกษาแต่ละงาน มีองค์ประกอบทางเคมีที่ทั้งเหมือนและต่างกัน ซึ่งเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างพืชที่มีความแตกต่างทั้งสถานที่ปลูก ช่วงเวลาเก็บเกี่ยว ปริมาณน้ำและปุ๋ยที่ใช้ การเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการสกัด เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความแตกต่างกัน ทั้งสภาวะการทดลอง การตั้งค่าอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษา Mass Spectral Libraries ที่เลือกใช้ แม้ว่าสารเคมีที่มีสัดส่วนสูงที่สุดของน้ำมันหอมระเหยในการศึกษาค้างนี้ จะต่างจากงานวิจัยก่อนหน้า แต่ก็พบว่ามีการที่เป็้องค์ประกอบหลักเหมือนกัน คือ camphor ซึ่งมีรายงานการวิจัยว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มี camphor เป็นองค์ประกอบหลัก มีฤทธิ์ต้านจุลชีพหลายชนิด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และมีสมบัติเพิ่มการซึมผ่านของสารเข้าสู่ผิวหนังอีกด้วย (Chen *et al.*, 2013) การพบสาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene (รูปที่ 2) ในสัดส่วนสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoensuk และคณะ (2013) ที่สามารถแยกสารดังกล่าวจากสารสกัดส่วนใบที่สกัดด้วยเมทานอลโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบ anti-tyrosinase activity-guided isolation และสอดคล้องกับการศึกษาของ Dung และคณะ (1992) ที่พบสาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ลำต้น และไหล พบปริมาณ 91.2, 94.7 และ 90 % ตามลำดับ โดยสอดคล้องกับงานวิจัยครั้งนี้ที่พบสารดังกล่าว 86.42-92.63 % นอกจากนี้ในน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดินพบสาร 1,3-distearin หรือ glyceryl 1,3-distearate มีสัดส่วนสูงเป็นอันดับสอง รองจาก

Table 2 Chemical constituents in *A. biflorum* essential oils from whole plant and rhizomes using GC-MS

No.	Retention time (min)	Chemical components	Percentage of the total area	
			Rhizome	Whole plant
1	6.893	α -pinene	0.16	0.19
2	7.49	camphene	0.34	0.38
3	8.693	β -pinene	0.35	0.37
4	9.394	β -Myrcene	0.03	0.03
5	10.933	m-Cymene	0.05	ND
6	11.126	limonene	0.32	0.59
7	11.228	eucalyptol	0.66	0.43
8	12.599	γ -terpinene	0.02	ND
9	13.985	fenchone	0.13	0.02
10	14.716	β -linalool	0.04	0.02
11	15.329	fenchol	0.15	0.03
12	16.745	camphor	1.75	1.39
13	17.406	isoborneol	0.12	0.04
14	17.863	endo-boeneol	0.11	0.14
15	18.401	4-terpineol	0.15	0.08
16	19.095	α -terineol	0.15	0.07
17	20.421	fenchyl acetate	0.15	0.16
18	22.085	p-acesaldehyde	0.08	ND
19	23.5	bornyl acetate	0.41	0.13
20	24.533	p-acetonylanisole	0.04	0.04
21	25.175	1-butene,2-(O-anisyl)	0.34	0.39
22	25.897	benzene,1-methoxy-4-(1-methyl-2-propenyl)	0.08	0.79
23	28.621	1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene	86.42	92.63
24	26.324	α -terpineol acetate	0.08	ND
25	29.396	caryophyllene	0.07	ND
26	29.527	naphthalene,1,2-dihydro-6-methoxy-	0.09	0.1
27	31.034	alloaromadendrene	0.21	0.07
28	32.014	β -chamigrene	0.53	0.13
29	32.072	β -eudesmene	0.3	0.26
30	32.351	5- β ,10- α -eudesma-4(14),11-diene	0.31	0.08

Table 2 (continue)

No.	Retention time (min)	Chemical components	Percentage of the total area	
			Rhizome	Whole plant
31	32.431	α -selinene	0.13	0.09
32	32.51	γ -cadine	0.18	0.09
33	32.818	β -elemene	0.07	0.04
34	33.088	(+)-Epi-bicyclosesauiphellandrene	0.06	ND
35	33.308	(-)- α -Panasinsen	0.09	0.02
36	33.557	calamenene	0.08	0.02
37	35.697	(-)-spathulenol	0.05	0.12
38	35.852	caryophyllene oxide	0.23	0.06
39	36.407	2-allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene	0.06	0.03
40	38.293	isoaromadendrene epoxide	0.3	0.08
41	38.746	globulol	0.99	0.59
42	38.999	β -tumerone	0.24	0.07
43	41.7	α -cedrene epoxide	0.14	ND
44	52.719	1,3-distearin	2.77	ND
45	52.719	farnesyl acetone	ND	0.09

ND = not detect

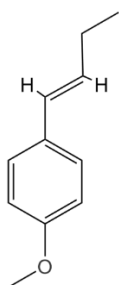


Figure 2 Chemical structure of 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene

1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene ขณะที่ไม่พบ 1,3-distearin ในน้ำมันหอมระเหยส่วนทั้งต้น ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมสารดังกล่าวยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ปริมาณและฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง จะ

สามารถนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรว่านสาวหลงที่มีจำหน่ายในร้านขายเครื่องยาสมุนไพร

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดินมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ ($IC_{50} > 1$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (ตารางที่ 3) เมื่อพิจารณาพร้อมกับการศึกษาก่อนหน้าของ Srisook และคณะ (2010) ที่พบว่าเหง้าว่านสาวหลงที่หมักด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ มีค่า IC_{50} จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH 1.33 ± 0.06 , 0.47 ± 0.01 และ 0.79 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมีค่า

17.17±0.78, 27.17±0.29 และ 12.69±0.29 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมส่วนสกัด ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าว่านสาวหลงทั้งในรูปแบบน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ต่ำ ดังนั้น น้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจึงอาจไม่เหมาะจะนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดินและน้ำมันหอมระเหยส่วนทั้งต้นมีฤทธิ์ไม่ต่างกัน ($p > 0.05$) มีค่า IC_{50} 117.94±19.08 และ 147.03±10.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่า kojic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ใช้สารสกัด

เหง้าว่านสาวหลงด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ผลการทดลอง มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 240.00±0.05 ถึง 1,890.00±0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Srisook *et al.*, 2010) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ อาจเนื่องมาจากในน้ำมันหอมระเหยในการศึกษาครั้งนี้ มีสาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene ในปริมาณสูง และมีงานวิจัยที่สนับสนุนว่าสารดังกล่าวเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า IC_{50} 3.70±0.64 mM (Charoensuk *et al.*, 2013) ดังนั้น การเลือกใช้ว่านสาวหลงในรูปแบบน้ำมันหอมระเหยสำหรับการพัฒนาเวชสำอางเพื่อทำให้ผิวกระจ่างใสจึงมีความเหมาะสม

Table 3 Antioxidant activities using DPPH and FRAP assay and anti-tyrosinase activity of *A. biflorum* essential oils from whole plant and rhizomes

Samples	DPPH assay (IC_{50})	FRAP value (mM Fe^{2+} equivalents/g of sample)	Anti-tyrosinase (IC_{50} , μ g/mL)
Whole plant	7.96±1.63 mg/ml*	0.59 ±0.10*	147.03±10.28*
Rhizomes	17.71±0.87 mg/ml*. [#]	0.48 ±0.09*	117.94±19.08*
Ascorbic acid	2.40±0.07 μ g/mL	33.54 ±3.43	-
α -Tocopherol	4.34±0.07 μ g/mL	10.93 ±1.67	-
Kojic acid	-	-	11.36±0.22

* $p < 0.05$ when compared to positive controls; [#] $p < 0.05$ when compared to whole plant

Table 4 Inhibition zone, minimum inhibitory (MIC), and minimum bactericidal concentrations (MBC) of *A. biflorum* essential oils against *C. acnes*

Samples	Anti- <i>C. acnes</i> of <i>A. biflorum</i> essential oils		
	Inhibition zone (mm)	MIC (μ g/mL)	MBC (μ g/mL)
Whole plant	9.18±0.17	75	75
Rhizomes	9.07±0.15	75	75
Tetracycline	55.33±1.53	0.78	0.78
Culture media	-	+	+
10 % DMSO in glycerin	-	+	+

- = no inhibition zone was observed; + = viability was observed

Table 5 Anti-*C. acnes* of *A. biflorum* essential oils from whole plant and rhizomes

Concentration of the essential oils (µg/mL)	Broth dilution technique		Spread Plate	
	Whole plant	Rhizome	Whole plant	Rhizome
Tetracycline	-	-	-	-
Culture media	+++	+++	+++	+++
10 % DMSO in glycerin	+++	+++	+++	+++
150	-	-	-	-
75	-	-	-	-
37.5	++	++	NA	NA
18.25	+++	+++	NA	NA
9.125	+++	+++	NA	NA

+ = พบเชื่อน้อย; ++ = พบเชื่อปานกลาง; +++ = พบเชื่อมาก, - = ไม่พบเชื้อ; NA = not application

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *C. acnes* หรือชื่อเดิมคือ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดสิว ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงแสดงผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. acnes* และมีฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ได้ดี ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ด้วยวิธี agar diffusion method พบว่าน้ำมันหอมระเหยส่วนทั้งต้นสามารถยับยั้ง *C. acnes* ได้ไม่ต่างจากน้ำมันหอมระเหยส่วนใต้ดิน ($p > 0.05$) โดยวัดค่า inhibition zone ที่ความเข้มข้น 1.5 mg/disc ได้ 9.18 ± 0.17 และ 9.07 ± 0.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และมีฤทธิ์น้อยกว่ายามาตรฐาน tetracycline โดยค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองส่วนมีค่า antimicrobial disc diffusion zone อยู่ในระดับ resistant เมื่อเปรียบเทียบกับ zone diameter interpretive standards ของยา tetracycline ≤ 14 mm (Fouad, 2011) ซึ่งการที่ค่า inhibition zone ของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองส่วนมีค่าที่ค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องจากความสามารถในการแพร่ของสารละลายน้ำมันหอมระเหยบนอาหารเพาะเชื้อชนิดแข็งไม่ดี ทำให้การยับยั้งเชื้อเกิดขึ้นได้น้อย การศึกษาที่ผ่านมาของฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ด้วยวิธี

disc diffusion method ในพืชวงศ์เดียวกัน เช่น *Curcuma longa*, *Alpinia galangal* (L.) และ *Zingiber officinale* (Luangnarumitchai *et al.*, 2007) พบว่ามีค่า inhibition zone น้อยกว่า 14 mm

การทดสอบฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ด้วยวิธี broth microdilution assay พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่น้ำมันหอมระเหยจากส่วนใต้ดินและส่วนทั้งต้นสามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) *C. acnes* ได้ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4 และ 5) จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่เคยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้าน *C. acnes* ของว่านสาวหลง แต่มีการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยของพืชอื่น ๆ ในวงศ์ Zingiberaceae ในการยับยั้ง *C. acnes* เช่น น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่า เหง้าไพล เหง้าขิง เหง้าขมิ้นชัน (Luangnarumitchai *et al.*, 2007) น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ามหาหงส์ (Wongkattiya *et al.*, 2016) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ Zingiberaceae ออกฤทธิ์ยับยั้ง *C. acnes* ได้ดี ซึ่งปัจจุบันพบว่าการใช้ยาต้านแบคทีเรียชนิดทาเพียงอย่างเดียวในการรักษาสิว ซึ่งจะก่อให้เกิดการดื้อยาได้ (Dumont *et al.*, 2010; Luk *et al.*, 2013;

Schafer *et al.*, 2013) การศึกษาฤทธิ์ต้าน *C. acnes* จากน้ำมันหอมระเหยจากพืชเพื่อพัฒนาเป็นเวชสำอางในการรักษาสิวที่เกิดจาก *C. acnes* จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาสิวแบบยาทาเฉพาะที่ได้

4. สรุป

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน พบว่าทั้งสองส่วนมีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในสัดส่วนสูงที่สุดเช่นเดียวกัน คือ สาร 1-[(E)-but-1-enyl]-4-methoxybenzene การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงพบว่ามีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไลพอกซิเนส และฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. acnes* ที่เป็นสาเหตุการเกิดสิวได้ดี โดยน้ำมันหอมระเหยจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดินแสดงฤทธิ์ทั้งสองไม่ต่างกัน ดังนั้นการนำมาใช้ประโยชน์ทางเวชสำอางจึงสามารถใช้ได้ทั้งส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน แต่หากพิจารณาในแง่ของร้อยละปริมาณผลผลิตที่กลั่นน้ำมันหอมระเหยได้ ส่วนทั้งต้นจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้มากกว่าส่วนใต้ดิน ซึ่งมีผลต่อการลดต้นทุนการผลิตเมื่อนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม จากความโดดเด่นในเรื่องของการมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลง และประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซิเนส และต้านแบคทีเรีย *C. acnes* ที่เป็นสาเหตุการเกิดสิว น้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงนี้จึงเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นเวชสำอางสำหรับใช้ภายนอกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะการนำไปใช้สำหรับเพิ่มความกระจ่างใสให้กับผิว และต้านสิว

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

- Boonla, P., Phadungkit, M., Mahaweerawat, U. and Somdee, T., 2014, Antioxidant and antimutagenic activities of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf extracts, *IJPS* 10(3): 283-294. (in Thai)
- Charoensuk, Y., 2013, Isolation and Biological Activity of *Amomum biflorum* Jack leaves, Master Thesis, Burapha University, Chonburi. (in Thai)
- Chen, W., Vermaak, I. and Viljoen, A., 2013, Camphor-a fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon: A review, *Molecules* 18: 5434-5454.
- Clarke, G., Ting, K.N., Wiert, C. and Fry, J., 2013, High correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the *Malaysian rainforest*, *Antioxidants* (Basel) 2(1): 1-10.
- Dai, D.N., Huong, L.T., Thang, T.D. and Ogunwande, I.A., 2016, Chemical composition of essential oils of *Amomum villosum* Lour., *Am. J. Essent. Oil. Nat. Prod.* 4: 8-11.
- Dumont-Wallon, G., Moyse, D., Blouin, E. and Dreno, B., 2010, Bacterial resistance in French acne patient, *Int. Dermato.* 49: 283-288.

- Dung, N.X., Phuong, D.L. and Leclercq, P.A., 1992, Trans-p-(1-butenyl)anisole: The main component in the leaf, stem and root oils of *Amomum schmidtti* Gagnep. from Vietnam, J. Essent. Oil Res. 4: 239-242.
- Fouad, Z., 2011, Antimicrobial Disk Diffusion Zone Interpretation Guide, Available Source: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13801.70240>.
- Khunawattanakul, W., Caichompoo, W., Mekjaruskul, C., Charoenmit, A., Lekdee, C. and Srichan, N., 2017, Anti-propionibacterium acnes from Thai herbal medicines, J. Sci. Technol. MSU 36(5): 608-613. (in Thai)
- Luangnarumitchai, S., Lamlerthton, S. and Tiyafoonchai, W., 2007, Antimicrobial activity of essential oils against five strains of *Propionibacterium acnes*, Mahidol Univ. J. Pharm. Sci. 34(1-4): 60-64.
- Luk, N.M., Hui, M., Lee, H.C., Fu, L.H., Liu, Z.H., Lam, L.Y., Eastel, M., Chan, Y.K., Tang, L.S., Cheng, T.S., Siu, F.Y., Ng, S.C., Lai, Y.K. and Ho, K.M., 2013, Antibiotic resistant *Propionibacterium acnes* among acnes patients in a reginal skin centre in Hong Kong, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 27: 31-36.
- Manook, M., and Limcharoen, P., 2015, Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-Hom Thepphachit, Adv. Sci. 15(1): 106-117. (in Thai)
- Polsena, P., 2007, Khoa Hin Son Botanic Gardens (Complete version), Jetanaromphan Printing, Bangkok. (in Thai)
- Schafer, F., Fich, F., Lam, M., Garate, C., Wozniak, A. and Garcia, P., 2013, Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with acne, Int. J. Dermatol. 52: 418-425.
- Singthong, C., Gagnon, M.J. and Legault, J., 2013, Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Amomum biflorum*, Nat. Prod. Commun. 8: 265-267.
- Srisook, K., Salee, P., Charoensuk, Y. and Srisook, E., 2010, *In vitro* anti-oxidant and anti-tyrosinase activities of the rhizomal extracts from *Amomum biflorum* Jack, Thai J. Bot. 2(Special Issue): 143-150. (in Thai)
- Subhadhirasakul, S. and Moosigapong K., 2014, Relaxation effect on volunteers of essential oil from *Amomum biflorum* Jack, Thaksin. J. 17(2): 17-24. (in Thai)
- Wongkattiya, N., Hanprasert, T., Sanguanserm sri, P., Kawaree, R., Fraser, I.H. and Sanguanserm sri, D., 2016, Effect of essential oil from *Hedychium coronarium* to control acne vulgaris, Naresuan Univ. J. Sci. Tech. 24(3): 25-31. (in Thai)
- Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, 2016, Thai Herbal Pharmacopoeia, The Agricultural Co-operative Federation of Thailand, Ltd., Bangkok. (in Thai)