การพัฒนาสูตรเจลล้างหน้าป้องกันสิวโดยใช้สารสกัดสมอไทย

Development of Facial Cleansing Anti-Acne Gel Formulation Using *Terminalia chebula* Extract

พนิดา แสนประกอบ[1*] และเกศศิรินทร์ แสงมณี[2]

Panida Saenprakob[1*] and Katsirin Saengmanee[2]

บทคัดย่อ

จากรายงานของสถาบันโรคผิวหนัง พบว่าสิวเป็นโรคที่ติดอันดับ 1 ใน 3 ของปี พ.ศ. 2552-2555 ของโรคที่ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาที่สถาบันโรคผิวหนังของประเทศไทย ซึ่งเกิดจากแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* จากสารสกัดใบอ่อนของสมอไทย ทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ด้วยวิธี agar disc diffusion technique รวมทั้งทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ผลจากการศึกษาพบว่าใบอ่อนของสมอไทยมีผลผลิตร้อยละเท่ากับ 7.99±0.69 พบสารในกลุ่มฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์เป็นองค์ประกอบ มีค่าสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 261.54±1.32 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิดต่อกรัมสารสกัด มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน IC_{50} เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิก 0.004 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสมอไทยออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยมีโซนใส (clear zone) เท่ากับ 21.57±0.37 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามผลที่ได้ยังมีค่าน้อยกว่ายาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน (44.89±2.30 มิลลิเมตร) ซึ่งผลจากการวิจัยครั้งนี้ทำให้เกิดองค์ความรู้ที่ช่วยส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากสมอไทยและสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าเพื่อลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวได้

คำสำคัญ: สมอไทย เจลล้างหน้า สมุนไพร สิว เครื่องสำอาง

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

[2] สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

* Corresponding author e-mail: panida.saen@gmail.com

Received: 26 January 2020, Revised: 2 September 2020, Accepted: 15 September 2020

Abstract

The Institute of Dermatology of Thailand reported that acne was one of the top three diseases of patients treated during 2009-2012 in that institute. *Propionibacterium acnes* has been recognized as one of the main causative agents in pathogenesis of acne. Therefore, the objectives of this research were to determine the antibacterial activities of *Terminalia chebula* extract against *P. acnes*, to find the inhibition zone by using agar disc diffusion technique, to screen the preliminary phytochemicals, to determine polyphenol contents, and to find antioxidant activity of the extract. The results showed that the percentage of yield was 7.99±6.69. Phenols, flavonoids, and alkaloids were found as chemical components. Total phenolic content was 261.54±1.32 mg GAE/g extract. It could inhibit of oxidation with IC_{50} at 0.04 mg/ml of the extract when compared with standard ascorbic 0.004 mg/ml. *T. chebula* extract indicated the inhibition zones of 21.57±0.37 mm of clear zone. However, this antibacterial activities was still lower than that of clindamycin (44.89±2.30 mm). The results of this research can help promote the utilization of *T. chebula* extract and can be developed as a facial cleansing gel to reduce the growth of bacteria that cause acne.

Keywords: *Terminalia chebula*, Facial cleansing gel, Herbal, Acne, Cosmetic

บทนำ

สิว คือการอักเสบของรูขุมขนและต่อมไขมัน (pilosebaceous unit) โดยมากมักเป็นบริเวณหน้า คอ และลำตัว ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมันขนาดใหญ่อยู่หนาแน่น ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดสิว เช่น ยาบางชนิด เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยสาเหตุของสิวเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลัก ได้แก่ (1) บทบาทของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาศัยอยู่ที่ผิวหนังและภายในท่อขุมขน (2) การเกิดปฏิกิริยาการอักเสบเป็นผลของ mediator ต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Propionibacterium acnes* (3) มีความผิดปกติในการสร้างเคราตินภายในท่อขุมขน ต่อมไขมัน และ (4) ต่อมไขมันสร้าง sebum เพิ่มขึ้นซึ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ *Propionibacterium* หรือ *Corynebacterium* เป็น anaerobic pleomorphic diphtheroid พบได้ทั่วไปตามผิวหนัง ผม ขน ช่องปาก ในคอมีโดนชนิดปิดมี *P. acnes* มากกว่าในคอมีโดนชนิดเปิดในขณะที่คอมีโดนชนิดเปิด มี *Pityrosporum* และ cocci มากกว่าในคอมิโดนชนิดปิด เนื่องจากเชื้อพวก aerobes รวมตัวกันอยู่ในบริเวณปากขุมขนและส่วนใหญ่เป็น

พวก cocci ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ลึกลงไปในท่อขุมขนเป็นพวก diphtheroids รวมทั้งเชื้อที่ทำให้เกิดฝีหนอง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก พบอยู่ทั่วไปตามร่างกาย เช่น บริเวณผิวหนัง กรดไขมันจากต่อมเหงื่อและต่อมไขมันจากผิวหนัง สามารถเกาะติดกับเนื้อเยื่อ บริเวณจมูกและหลังโพรงจมูกโดยไม่ถูกขับไปกับเมือกหรือน้ำมูกบริเวณใบหน้าหรือผิวหนังเป็นที่อยู่อาศัยของแบคทีเรีย *S. epidermis* ซึ่งถ้าสิวเกิดการติดเชื้อเพิ่ม จะทำให้เกิดสิว อักเสบรุนแรงขึ้นและมีหนอง

ปัจจุบันการรักษาสิวที่มีความรุนแรงเล็กน้อย คือ การใช้ยาทาในกลุ่ม benzoyl peroxide หรือ retinoic acid หรือยาทาปฏิชีวนะ ส่วนการรักษาสิวที่มีความรุนแรงปานกลางคือ การใช้ยาทาดังกล่าวร่วมกับยาปฏิชีวนะในรูปแบบยารับประทาน อย่างไรก็ตามพบว่าการรักษาสิวตามแนวทางการรักษามาตรฐานในปัจจุบันมีปัญหาเรื่องการดื้อยาปฏิชีวนะและผลข้างเคียงด้านระคายเคืองผิวหนัง เมื่อใช้ยาทาในกลุ่ม benzoyl peroxide หรือ retinoic acid เป็นระยะเวลานาน จึงนำมาสู่แนวคิดในการนำสมุนไพรมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาสิว ประเทศไทยนับเป็นแหล่งวัตถุดิบทางธรรมชาติที่มีคุณภาพ เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรของไทยมีมากมายหลายชนิด และยังเป็นแหล่งรวมของสารพฤกษเคมีที่สำคัญ เช่น ฟีนอลิก (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) คาเทชิน (catechins) และแทนนิน (tannins) นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามินชนิดต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี วิตามินซี และเบต้าแคโรทีน นอกจากสารพฤกษเคมีและการออกฤทธิ์ดังกล่าวแล้ว สมุนไพรไทยยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa Proteus morgaii S. aureus Bacillus subtilis Escherichia coli Salmonella* และ *Shigella* โดยเฉพาะ *P. acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสิว ซึ่งสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อที่ทำให้เกิดสิว ได้แก่ ไพล ตะไคร้ มะกรูด กะเพรา (Lertsatitthanakorn *et al.*, 2006)

สมอไทย (*Terminalia chebula*) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae ผลสมอไทยมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย เช่น ยาระบายอ่อน ๆ ยาธาตุ ยาบำรุงและแก้ชักกระตุก เป็นต้น ทั้งนี้มีรายงานว่าในผลสมอไทยมีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง เช่น gallic acid ellagic acid chebulic acid และ corilagin เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายประการ ยกตัวอย่างเช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน ในประเทศอินเดียสารสกัดจากสมอไทยใช้ในการรักษาโรคหลายชนิด เช่น โรคระบบทางเดินอาหาร อาการอาหารไม่ย่อย โรคระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเบาหวาน โรคผิวหนัง โรคพยาธิ โรคหัวใจ อาการไข้เป็นระยะ อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องผูก แผลในทางเดินอาหาร อาเจียน อาการเจ็บปวดในลาไส้ และริดสีดวงทวารหนัก นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส และแบคทีเรียบางชนิด บำรุงหัวใจ ต้านอนุมูลอิสระและชะลอความชรา

นอกจากนี้ยังช่วยควบคุมระดับไขมันในเส้นเลือด และช่วยการทำงานของตับในการกำจัดไขมันออกจากร่างกาย รวมทั้งกระตุ้นการเผาผลาญของร่างกายได้อีกด้วย (อาศรมศรีมงคล, 2014) นอกจากนี้ Sato *et al*. (1997) รายงานว่าผลสุกของสมอไทยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่มเมธิซิลิน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Aneja and Joshi (2009) รายงานถึงฤทธิ์ของสารสกัดส่วนน้ำของผลสมอไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutants* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในช่องปากและเป็นสาเหตุของอาการฟันผุว่า ethanedioic acid และ ellagic acid ที่สกัดได้จาก butanol fraction มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfingens* และ *E. coli* นอกจากนี้การศึกษาของ Dutta *et al*. (1998) และ Barazani *et al*. (2003) พบว่าสารสกัดน้ำของสมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราในกลุ่ม Dermatophyte และยีสต์ ได้แก่ *Epidermophyton Floccossum Microsporum gypseum Trichophyton rubrum* และ *Candida albicans*

จากข้อมูลเบื้องต้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำใบอ่อนของสมอไทยซึ่งเป็นส่วนที่นิยมรับประทานเป็นผักเครื่องเคียง มาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว ศึกษากลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน รวมไปถึงการพัฒนาสูตรเจลล้างหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมอไทยเพื่อลดโอกาสการเกิดสิวบนใบหน้า เพื่อลดการใช้สารสังเคราะห์ในการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์และยังเป็นการต่อยอดสมุนไพรพื้นบ้านของไทยได้อีกด้วย ตลอดจนเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างพืช

นำพืชสดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด จากนั้นผึ่งหรือตากลมให้แห้ง แล้วนำไปอบในตู้อบเป่าลมร้อน แล้วนำไปปั่นให้ละเอียด หลังจากนั้นนำไปทำการสกัด โดยนำผงพืชมาแช่ในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (เขย่าทุก ๆ 30 นาที) แล้วนำสารละลายมากรองเพื่อสารสกัดไว้ แล้วนำกากมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วนำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator

2. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ด้วยวิธี Agar disc diffusion technique

การหาบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทำการปิเปต 50 ไมโครลิตรของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้ววางกระดาษกรองบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ เพาะเลี้ยง *P. acnes* บน tryptic soy agar (TSA) บ่มในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การบ่มเลี้ยงแบคทีเรียจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibitionzone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

3. การทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

สารสำคัญในพืชมีจำนวนมากสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ สารปฐมภูมิ (primary metabolite) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) โดยสารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงทั่วไปและพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึมที่จำเป็นของเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) ไขมัน (lipids) โปรตีน (protien) เอนไซม์ (enzymes) น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil) ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ในพืช เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดและแต่ละฤดู ดังนั้นจึงทำการทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น เนื่องจากสารเหล่านี้จะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน เช่น แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน สารในกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ต้านออกซิเดชัน ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น (รัตนา, 2547)

3.1 การทดสอบซาโปนิน (saponins) เป็นการทดสอบการเกิดฟอง (foam test) โดยการชั่งน้ำหนักของสารสกัดลงในหลอดทดลอง 5 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลอง 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มเป็นเวลา 5 นาที หลังครบ 5 นาที ทำการเขย่าหลอดทดลองเป็นเวลา 1 นาที สังเกตฟองที่เกิดขึ้น ถ้าในหลอดทดลองมีฟองเกิดขึ้นและฟองนั้นคงทนนานกว่า 30 นาที แสดงว่าสารสกัดนั้นมีซาโปนินเป็นองค์ประกอบ

3.2 การทดสอบสารฟีนอล (phenolic) โดยชั่งสารสกัด 5 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง เติมเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารสกัดเขย่าให้เข้ากัน สังเกตการเปลี่ยนสีของปฏิกิริยา ถ้าสารละลายผสมปรากฏสีเขียว สีน้ำเงินหรือสีดำ แสดงว่ามีสารฟีนอลเป็นองค์ประกอบ

3.3 การทดสอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ด้วยวิธี cyanidin test โดยชั่งสารสกัดหยาบ 5 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลองเติม Mg 0.5 กรัม จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเดียวกัน เขย่าให้เข้ากัน สังเกตสีของสารละลาย ถ้าสารละลายสีแดงหรือสีม่วงแดงแสดงว่ามีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ

3.4 การทดสอบแอลคาลอยด์ โดยชั่งสารสกัดหยาบ 5 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เจือจาง 3 มิลลิลิตร จากนั้นหยด Dragendroff's reagent 1-2 หยด

เขย่าให้เข้ากัน สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น ถ้าสารละลายเกิดตะกอนสีส้มแสดงว่ามีแอลคาลอยด์เป็นองค์ประกอบ

4. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี folin-ciocalteau reagent

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเจือจางสารสกัดที่เหมาะสมทำปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดปริมาตร 125 ไมโครลิตร หรือเติมสารมาตรฐานปริมาตร 125 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสาร folin-ciocalteau ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก 1,250 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 755 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับความเข้มข้นไปพล็อตกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และรายงานผลสารสกัดในรูปแบบมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract) (Leite and Dourado, 2013; Lingkard and Singlaton, 1977)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH scavenging

เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลต่อการทำลายระบบต่าง ๆ ในร่างกายให้เสียสมดุลและส่งผลเสียต่อเซลล์ รวมทั้งเป็นสาเหตุของความชรา ความเหี่ยวย่นของผิวหนัง และโรคต่าง ๆ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จะทำหน้าที่ดักจับอนุมูลอิสระไว้ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันต่าง ๆ ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ จึงถือเป็นการป้องกันเซลล์ผิวหนังจากการถูกทำลาย ดังนั้นการทดสอบด้วยวิธี DPPH จึงเป็นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในเซลล์ผิวได้ โดยการเตรียมสารละลาย DPPH 0.15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซีเข้มข้นและเจือจาง 2-20 หนึ่งส่วนในล้านส่วน เตรียมสารละลายสารสกัด 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเพื่อทดสอบด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสม (ประมาณ 5 ความเข้มข้น) ทำปฏิกิริยาโดยการดูดสารละลาย DPPH รวมกับสารทดสอบ (สารมาตรฐานวิตามินซี สารควบคุม สารสกัด) นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Sithisarn *et al*., 2015) พล็อตกราฟมาตรฐานวิตามินซีและพล็อตกราฟสารสกัดเพื่อหาค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อกรัมพืชแห้ง) โดยคำนวณ % inhibition จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{acontrol} - \text{asample}) / \text{acontrol}]*100$$

กำหนดให้ acontrol = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของเอทานอล

asample = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารสกัดหรือสารมาตรฐาน

6. การพัฒนาสูตรเจลล้างหน้าเพื่อลดการเกิดสิว

การเตรียมเจลล้างหน้าจากสารสกัดสมอไทย ส่วนผสมของตำรับที่ใช้ในการเตรียมแยกส่วนผสมเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนที่หนึ่ง (ก) ได้แก่ hydroxyl ethyl cellulose และน้ำ ส่วนที่สอง (ข) ได้แก่ cocamido propyl betain propylene glycol ammonium lauryl sulfate และ glydant ส่วนที่สาม (ค) ได้แก่ triethanolamine และส่วนที่สี่ (ง) ได้แก่ สารสกัดสมอไทย ในการผสมแยกแต่ละส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยผสม hydroxyl ethyl cellulose กับน้ำและนำไปให้ความร้อนแล้วคนให้ขึ้นเนื้อเจลเติม cocamido propyl betain propylene glycol ammonium lauryl sulfate และ glydant ลงในเนื้อเจล และคนให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ละลายสารสกัดในน้ำบริสุทธิ์และเติมลงในสารผสม คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติม triethanolamine และคนให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุใส่บรรจุภัณฑ์

การศึกษาในครั้งนี้ปริมาณสารสกัดสมอไทยที่เติมลงไปในตำรับจะเป็นปริมาณที่ได้จากค่า clear zone โดยศึกษาปริมาณ hydroxyl ethyl cellulose ในช่วงร้อยละ 0.1-3.0 โดยน้ำหนักโดยคงปริมาณของ cocamido propyl betain และ ammonium lauryl sulfate ที่ 3.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 และปรับปริมาณของน้ำให้ครบ 100.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เพื่อเลือกความข้นหนืดของเจลให้เหมาะสม เมื่อได้ปริมาณของ hydroxyl ethyl cellulose ที่เหมาะสมแล้วจะทำการศึกษาปริมาณ cocamido propyl betain และ ammonium lauryl sulfate ในช่วง 2.0-5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นเก็บตัวอย่างในขวดแก้วใสมีฝาปิดแล้วนำไปทดสอบคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น และ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

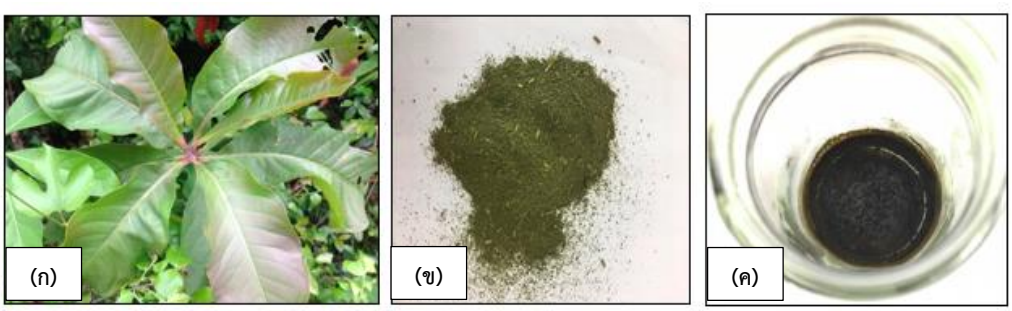
การทดสอบฤทธิ์การเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเจลแต้มสิว ทดสอบโดยใช้ทั้งเจลแต้มสิวที่มีสารสกัดและไม่มีสารสกัดไปทดสอบ โดยทำการเตรียมสต็อค ชั่งเจลแต้มสิว 1 กรัม ละลายในหลอดทดลองที่มีน้ำ 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางโดยปิเปตสารจากหลอดของสต็อคมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 1 ที่มีน้ำอยู่ 9 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายจากหลอดที่ 1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 2 ที่มีน้ำอยู่ 9 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร และทำการปิเปตสารละลายจากหลอดที่ 2 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่ 3 ที่มีน้ำอยู่ 9 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.0001 กรัมต่อมิลลิลิตร ทำทั้งสองตัวอย่าง แล้วทำการเตรียมเพลตที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ 6 เพลต ใส่ในตู้อบยูวีจากนั้นนำหลอดทดลองทั้ง 6 หลอดที่เตรียมไว้ โดยดูดสารละลายหลอดที่ 1 2 และ 3 ของทั้งสองตัวอย่าง อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเพลตที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อโดยเขี่ยจนกว่าจะเกิดการหนืดขึ้นบนเพลต ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ (percentage) ของข้อมูลค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

ผลการวิจัย

ใบอ่อนแบบสดของสมอไทย (ภาพที่ 1(ก)) ถูกนำมาอบให้แห้งและปั่นละเอียด (ภาพที่ 1(ข)) และสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยวิธีแช่ในตัวทำละลาย (maceration) ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง และทำให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งเหนียว สีดำ ดังภาพที่ 1(ค) และมีกลิ่นสมอไทยที่ชัดเจน คำนวณผลผลิตได้เท่ากับ 7.99±0.69 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก



ภาพที่ 1 ใบสดของสมอไทย (ก) ผงแห้งสมอไทยปั่นละเอียด (ข) สารสกัดสมอไทย (ค)

เมื่อนำสารสกัดสมอไทยมาทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* DMST 14916 (inhibition zone) ด้วยวิธี agar disc diffusion technique พบว่าที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสมอไทยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้โดยมีบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เท่ากับ 21.57±0.37 มิลลิเมตร และเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานยาปฏิชีวนะคลินดามัยซินที่ความเข้มข้นเท่ากัน สารสกัดสมอไทยยังออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้น้อยกว่า เนื่องจากยาปฏิชีวนะคลินดามัยซินที่มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 44.89±2.30 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1 และเมื่อนำสารสกัดที่ความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ได้ผสมลงในผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิวพบว่าผลิตภัณฑ์มีความสามารถยับยั้งเชื้อได้จริงโดยมีค่า inhibition zone กับ 9.24±0.52 มิลลิเมตร

ตารางที่ 1 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดสมอไทย

สารทดสอบ/ การทดสอบ	การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) (มิลลิเมตร)	การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (IC_{50}) (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)
สารสกัดสมอไทย	21.57±0.37	0.04±2.04	261.54±1.32
ผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิว	9.24±0.52	NA	NA
คลินดามัยซิน	44.89±2.30	NA	NA
กรดแอสคอร์บิก	NA	0.004±0.64	NA

หมายเหตุ: - Inhibition zone หมายถึง บริเวณโซนใสที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 สารทดสอบความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

- IC_{50} หมายถึง ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ที่ 50 เปอร์เซ็นต์
- สารประกอบฟีนอลิกรวม หมายถึง มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดสารทดสอบ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- NA คือ ไม่มีการทดสอบสารในวิธีทดสอบนั้น ๆ เนื่องจากในแต่ละวิธีทดสอบใช้สารมาตรฐานคนละชนิด

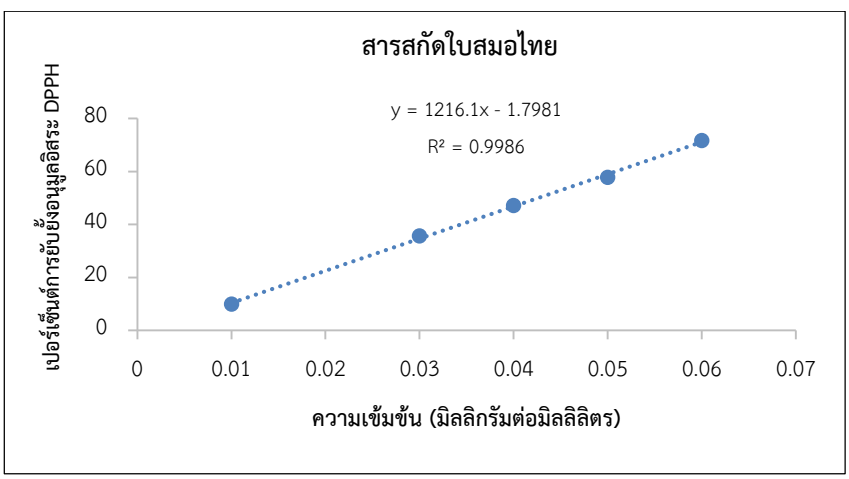
การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 4 ชนิด ได้แก่ ซาโปนิน ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ พบสารพฤกษเคมี 3 ชนิด คือ ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ เมื่อเทียบกับสารควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0054x - 0.074$; $R^2 = 0.99529$) รายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด พบว่าสารสกัดสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงถึง 261.54±1.32 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (ตารางที่ 1) ซึ่งจากตัวเลขปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สูงของสารสกัดสมอไทยอาจเป็นผลทำให้สารสกัดนี้สามารถออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวได้ ซึ่งเคยมีรายงานพบว่าในผลสมอไทยมีสารประกอบฟีโนลิกปริมาณสูง เช่น gallic acid ellagic acid chebulic acid และ corilagin เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาหลายประการ เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดสมอไทย

สารทดสอบ	ซาโปนิน	ฟีนอล	ฟลาโวนอยด์	แอลคาลอยด์
สารสกัดสมอไทย	0	+	+	+
สารควบคุม	0	0	0	0

หมายเหตุ: - 0 หมายถึง ไม่พบกลุ่มสารพฤกษเคมี

- \+ หมายถึง พบกลุ่มสารพฤกษเคมี
- สารควบคุม ได้แก่ น้ำบริสุทธิ์



ภาพที่ 2 ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดสมอไทย

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay รายงานเป็น ค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 พบว่า สารสกัดสมอไทย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04±2.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการเส้นตรง y = 1216.1x-1.7981 และ R^2 = 0.99863 (ภาพที่ 2) ในขณะที่สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.004±0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้มากกว่าสารสกัดสมอไทยถึง 10 เท่า

จากผลการการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. acnes* การหา inhibition zone ด้วยวิธี Agar diffusion สารสกัดหยาบของใบสมอไทยสามารถออกฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. acnes* ได้ ดังนั้นจึงนำสารสกัดสมอไทยความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาพัฒนาในสูตรเจลล้างหน้า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความคงตัวเมื่อทดสอบที่สภาวะร้อน (45 องศาเซลเซียส)

สลับเย็น (4 องศาเซลเซียส) จำนวน 7 รอบ โดยผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นเนื้อเจล หนืด ไม่ไหล มีสีเหลืองอ่อนของสารสกัดสมอไทย ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.6 แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าจากสารสกัดสมอไทย

รอบ (heating cooling)	การเกิดฟอง	ความหนืด	สี	ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)	การเกิดตะกอน
1	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
2	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
3	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
4	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
5	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
6	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-
7	+	++	เหลืองอ่อน	5.6	-

หมายเหตุ: - แต่ละรอบทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สลับกับ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

- + = น้อย ++ = มาก และ - = ไม่พบ

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและเป็นสาเหตุของการเกิดสิว ด้วยวิธี agar diffusion สารสกัดสมอไทยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ โดยวัดค่าบริเวณยับยั้งได้ 21.57±0.37 มิลลิเมตร ในขณะที่ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซินที่เคมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 44.89±2.30 มิลลิเมตร ซึ่งคิดเป็น 4 เท่าของสารสกัดสมอไทย เมื่อนำสารสกัด (2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ผสมลงในผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้าพบว่าผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งการเกิดเจริญเติบโตของเชื้อได้โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.24±0.52 มิลลิเมตร เช่นเดียวกับงานวิจัยของวัชรินทร์ และคณะ (2559) ที่ทำการทดสอบสารสกัดสมอไทยกับการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกับ *P. acnes* ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 20.00±0.00 มิลลิเมตร ทั้งนี้สารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่ให้ผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยสารหลัก คือ เพปทิโดกลัยแคน (peptidoglycan) ในขณะที่โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนกว่า โดยประกอบด้วยสารหลักคือเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ประมาณร้อยละ 80 และเพปทิโดกลัยแคนประมาณร้อยละ 20 จึงทำให้ความสามารถในการออกฤทธิ์แตกต่างกัน

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดสมอไทย พบสาร 3 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ ซึ่งผลดังกล่าวช่วยยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมอไทยที่สามารถออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ เนื่องจากฟีนอลและฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดี จากการวิจัยจะเห็นได้ว่าสารสกัดสมอไทยมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่จึงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันค่อนข้างสูงถึงแม้จะออกฤทธิ์ได้น้อยกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของมนสิชา และเยาวนารถ (2555) ได้สารสกัดจากส่วนเถาชะเอมไทย พบว่าสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายร้อยละ 80 เมทานอล และร้อยละ 80 เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมเท่ากับ 10.54±0.03 และ 10.18±0.02 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิคต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และยังสอดคล้องกับผลการวิจัยของ พิชยา และวรินทร (2545) ที่ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ DPPH ของผลพิลังกาสา พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผลพิลังกาสา พบสารบริสุทธิ์ 3 ชนิด และพบว่ามี embelin เป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ DPPH พบว่าสารสกัดผลพิลังกาสามีฤทธิ์สูงมาก และสอดคล้องกับณพัฐอร และวิชุดา (2558) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันและต้านเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรพื้นบ้านของไทยจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ผักคราดหัวแหวน ผักบุ้งทะเล สมอไทย สมอพิเภก และส้มป่อย พบว่าสารสกัดจากสมอพิเภกและสมอไทยมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารฟาโวนอยด์สูงที่สุด โดยมีปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 216.65±10.55 196.90±6.49 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 38.27±3.21 33.90±2.37 มิลลิกรัมสมมูลของเคทเทคินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และสารสกัดจากสมอพิเภกสมอไทยมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของ DPPH (IC_{50} เท่ากับ $0.29x10^{-2}$±0.0007 และ $0.281x10^{-1}$±0.0032 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และ ABTS (IC_{50} เท่ากับ 0.822±0.104 และ 1.058x±0.057 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ได้ดี

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองเบื้องต้น สารสกัดสมอไทยประกอบด้วยฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสามารถลดการอักเสบ การเหี่ยวย่นของผิวพรรณได้ อีกทั้งยังบำรุงผิวให้แลดูสุขภาพดีได้ นอกจากนี้สารสกัดสมอไทยยังมีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวของสารสกัดจากใบสมอไทย จึงสามารถนำสารสกัดสมอไทยไปพัฒนาในสูตรเจลล้างหน้าเพื่อคุณสมบัติลดการเกิดสิวใบบนหน้า ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเนื้อเจล หนืด ไม่ไหล มีสีเหลืองอ่อนของสารสกัดสมอไทย

ข้อเสนอแนะ

เพื่อการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปใช้ในเชิงพาณิชย์ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ควรทดสอบการระคายเคืองและทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร หากมีการผลิตเชิงการค้าควรควบคุมสภาวะที่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ต่ำที่สุดเพื่อประโยชน์ต่อผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอขอบคุณสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย และขอขอบคุณเจ้าของเอกสารและงานวิจัยทุกท่าน ที่ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าและนำมาอ้างอิงในการทำวิจัยจนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ณพัฐอร บัวฉุน และวิชุดา มั่นจิตร. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะเอมไทย. *วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์*, 10(2), 78-95.

พิชยา ประเสริฐแสง และวรินทร ชวศิริ. (2545). *องค์ประกอบทางเคมีของผลพิลังกาสา (Ardisia colorata* Roxb.*) และฤทธิ์ทางชีวภาพ*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และเยาวนารถ งามนนท์. (2555). *ฤทธิ์ยับยังเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนเถาชะเอมไทย*. เชียงราย: มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ พัชรี กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2559). ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. *วารสาร มฉก.วิชาการ*, 19(38), 35-48.

อาศรมศรีมงคล. (2014). *ตรีผลาปรับสมดุลย์ภาพในหน้าร้อน.* สืบค้นเมื่อ 31 สิงหาคม 2563, จาก: http://arsomsrimongkol.com/%E0%B8%95%E0%B8%A3%E0%B8%B5%E0%B8%9C%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B1%E0%B8%9A%E0%B8%AA%E0%B8%A1%E0%B8%94%E0%B8%B8%E0%B8%A5%E0%B8%A2%E0%B9%8C%E0%B8%A0%E0%B8%B2%E0%B8%9E%E0%B9%83%E0%B8%99/.

Aneja, K.R. and Joshi, R. (2009). Evaluation of antimicrobial properties of fruit extracts of *Terminalia chebula* against dental caries pathogens. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2(3), 105-111.

Barazani, V.O., Sathiyomoorthy, P., Shalev, R., Vardy, D. and Golan, G.A. (2003). Screening of South-Indian medicinal plants for anti-fungal activity. *Phytotherapy Research*, 17(9), 1123-1125.

Dutta, B.K., Rahman, I. and Das, T.K. (1998). Antifungal activity of Indian plant extracts. *Mycoses*, 41(11-12), 535-536.

Leite, L. and Dourado, L. (2013). Laboratory activities, science education and problem-solving skills. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 106, 1677-1686.

Lertsatitthanakorn, P., Taweechaisupapong, S., Aromdee, C. and Khunkitti, W. (2006). In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. *International Journal of Aromatherapy*, 16(1), 43-49.

Lingkard, K. and Singlaton, V.L. (1977). Total phenal analysis automation and comparison with manual method. *American Society for Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

Sato, Y., Oketani, H., Singyouchi, K., Ohtsubo, T., Kihara, M. and Shibata, H. (1997). Extraction and purification of effective antimicrobial constituents of *Terminalia chebula* Retz. Against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 20(4), 401-404.

Sithisarn, P., Rojsanga, P., Sithisarn, P. and Kongkiatpaiboon, S. (2015). Antioxidant activity and antibacterial effects on clinical isolated streptococcus suis and staphylococcus intermedius of extracts from several parts of cladogynos orientalis and their phytochemical screenings. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, doi: https://doi.org/10.1155/2015/908242.