การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหน่อกะลาและการห่อหุ้มสารสกัดด้วยระบบนำส่งนีโอโซมเพื่อเตรียมใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

Evaluation of the biological activity of Alpinia nigra (Gaertn.) Burtt extract and its encapsulation using a niosome delivery system for the preparation of cosmetic products

พนิดา แสนประกอบ[1], เกศศิริรินทร์ แสงมณี[2], และ นพวรรณ์ พรศิริ[3]

Panida Saenprakob[1], Katsirin Sangmane[2], and Nopphawan Pornsiri[3]

คณะวิทยาศาสตร.และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University, Thailand

Corresponding Author, Email: panida@pnru.ac.th[1]

Received: 2025-10-21; **Revised:** 2025-10-30; **Accepted:** 2025-10-31

บทคัดย่อ

หน่อกะลามีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ Alpinia nigra (Gaertn.) Burtt เป็นพืชพื้นเมืองของชาวเกาะเกร็ด จังหวัดนนทบุรี เจริญเติบโตในพื้นที่มีน้ำอุดมสมบูรณ์และเป็นพืชตระกูลเดียวกับขิงและข่า การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์การทางชีวภาพของสารสกัดหน่อกะลาและนำสารสกัดหน่อกะลามาพัฒนาในรูปแบบนีโอโซมเพื่อนำไปตั้งตำรับสูตรเซรั่มสำหรับผิวที่เป็นสิวง่าย โดยทำการสกัดหน่อกะลาด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus (S. aureus) และ Propionibacterium acnes (P. acnes) ด้วยวิธีการแพร่ (disc diffusion) พบว่าในวิธี Disc diffusion สารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย S. aureus ได้ แต่ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย P. acne ส่วนวิธี Broth dilution พบว่าสารสกัดหน่อกะลาในความเข้มข้นระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดหน่อกะลามีค่า MIC ของเชื้อ S. aureus เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC ของเชื้อ P. acne เท่ากับ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สรุปได้ว่าเมื่อมีการใช้สารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีฤทธิ์การยับยั้งที่เท่าเดิม มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.1±0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี folin ciocalteu reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐาน พบว่าสารสกัดหน่อที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 89.777 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 85.25±0.002 มิลลิกรัมสมมูลของเควอเซตินต่อกรัมของสารสกัด และเมื่อทดสอบการนำส่งนีโอโซมเพื่อศึกษาการห่อหุ้มการจัดเรียงตัวเป็นชั้น โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุต่างกัน ได้แก่ span 40, span 60 และ span 80 พบว่าสารลดแรงตึงผิว span 60 มีการห่อหุ้มและจัดตัวเรียงเป็นชั้นดีที่สุด สรุปได้ว่าสารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ และ span 60 มีคุณสมบัติการห่อหุ้มการจัดเรียงตัวเป็นชั้นได้ดีที่สุด ทำให้สารสกัดหน่อกะลามีคุณสมบัติเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบเซรั่ม ซึ่งถือเป็นองค์ความรู้ที่ได้มาพัฒนาต่อยอดให้มีมูลค่าเพิ่มให้แก่หน่อกะลาซึ่งเป็นพืชท้องถิ่น

คำสำคัญ: หน่อกะลา, นีโอโซม, เครื่องสำอาง

Abstract

Alpinia nigra (Gaertn.) Burtt is a native plant of Koh kret, Nonthaburi. It growns in areas with plentiful water and this plant is in the family as ginger and galangal. The purpose of the research was to evaluate the antibacterial activity of Alpinia nigra (Gaertn.) Burtt extract and developed in niosome delivery system to be used as a serum formula for acne skin. The extraction was performed using hexane, The antibacterial activity test were conducted using Staphylococcus aureus (S. aureus) and Propionibacterium acnes (P. acnes). The disc diffusion method was found effects of antibacterial with a clear zone diameter in range of 0.5 to 1.2 centimeters. The broth dilution method was able to inhibit of P. acnes and S. aureus with MIC values of 6.25 mg/ml and 3.13 mg/ml. Antioxidant activity with an IC_{50} value of 0.1±0.15 mg/ml. Total phenolic compound content at a concentration of 100 mg/ml. The total amount of phenolic compounds was 89.777 mg. equivalent of gallic acid per gram of extract. The flavonoid content of Alpia nigra (Gaertn.) Burtt extract at a concentration of 100 mg/ml was analyzed. It was found that the total flavonoid content was 85.25±0.002 milligrams quercetin equivalent per gram of extract. The extract was Encapsulated by using different surfactants including span 40, span 60 and span 80. The results showed that span 60 has ability to encapsulate an active ingredients more than span 40 and span 80. Therefore, niosome form Alpinia nigra (Gaertn.) Burtt extract was developed into a facial serum for acne skin. After applying the serum on the skin, it did not feel sticky and suitable for all skin type and has a pH balance for facial skin.

Keywords: Alpinia nigra, niosome, cosmetic

บทนำ

การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติและการส่งสารออกฤทธิ์เข้าสู่ผิวหนังโดยการพัฒนาตัวนำพา (vector) หรือระบบนำส่ง (delivery system) ที่สามารถขนส่งและปกป้องสารออกฤทธิ์ให้ไปถึงเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพและเฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตัวนำพายาที่ได้รับความสนใจและมีการพัฒนาอย่างมาก คือ Particulate drug carrier ซึ่งประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก ทำหน้าที่ห่อหุ้มตัวยาสำคัญไว้ภายในถุง (vesicles) ขนาดเล็ก ซึ่ง vesicle เหล่านี้เป็นลักษณะของโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เซลล์โดยเป็นผนังสองชั้น (Bilayer membrane) ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัว (Self assembly) ของโมเลกุลที่มีคุณสมบัติมีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน หรือที่เรียกว่า amphiphilic molecules ที่จัดเรียงตัวโดยนำส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากันเกิดเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีความหนาเท่ากับของโมเลกุล 2 ชั้น โดยผนังดังกล่าวห่อหุ้มสารละลายตัวยาไว้ภายใน และจะปลดปล่อยตัวยาผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ออกมาภายนอก ซึ่งถูกเรียกชื่อต่างๆ กันไป เช่น ไลโปโซม (liposome) เป็น vesicles ที่สร้างจากฟอสโฟลิปิด(phospholipids) นีโอโซม (niosome) เป็น vesicles ที่สร้างจากสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ

โดยนีโอโซมใช้เป็นตัวพาสารที่กักเก็บอยู่พาเข้าชั้นผิวหนังได้ลึกกว่าสารที่ไม่ได้กักเก็บภายในนีโอโซม ซึ่งช่วยเพิ่มความคงตัวให้แก่สารที่ถูกกักเก็บรวมทั้งมีคุณสมบัติหลายประการที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็น

ตัวนำส่งยา ได้แก่ สามารถเข้ากับร่างกายได้ (biocompatible) สลายตัวตามธรรมชาติได้ (biodegradable) ไม่เป็นพิษ (non toxic) และสามารถกักเก็บสารได้จำนวนมากเมื่อเทียบกับปริมาตรของ vesicles ที่มีขนาดเล็กมาก [1]

หน่อกะลา (Alpinia nigra Burrt) เป็นพืชประจำถิ่นของเกาะเกร็ด จังหวัดนนทบุรี และมีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งด้านสุขภาพและความงาม โดยหน่อกะลาหรือข่าน้ำเป็นสมุนไพรอีกหนึ่งชนิดที่จัดเป็นพืชพื้นเมืองของไทยในตระกูลเดียวกับข่า ขิง แต่ต่างชนิดกันลักษณะเด่นของหน่อกลาจะเป็นพืชสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบ แต่จะมีกลิ่นอ่อนกว่าข่า รสซ่าเล็กน้อย พบมากในพื้นที่ตำบลเกาะเกร็ด จังหวัดนนทบุรี หน่อกะลามีสารสำคัญได้แก่ limonene ซึ่งจะมีสรรพคุณช่วยขับลม แก้ร้อนใน แก้เม็ดผื่นคันตามผิวหนัง ใช้ฆ่าเชื้อและพอกแผล เสริมความแข็งแรงให้กระดูก และใช้ในสตรีที่ประจำเดือนมาไม่ปกติ เป็นต้น หน่อกะลาเป็นพืชพื้นบ้านที่นิยมนำมาบริโภคโดยการลอกเปลือกนอกออกเหลือเพียงหน่ออ่อนใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับสุขภาพและความงามได้ เนื่องจากในลำต้นพบสารสำคัญและมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบทางเคมี เช่น transcaryophyllene และ beta-selinene สาระสำคัญสองชนิดนี้มีคุณสมบัติในการเป็นสารช่วยผ่อนคลายความตึงเครียดของผิว ช่วยบำรุงผิวช่วยให้ผิวผ่อนคลายรวมถึงช่วยลดและบรรเทาอาการปวดเมื่อยของกล้ามเนื้อได้ จึงนิยมนำหน่อกะลามาสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับการบำรุงผิวพรรณ ช่วยให้ผิวแข็งแรง เช่น ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมหลักในการทำน้ำมันนวด ยาหม่อง น้ำมันเหลือง หรือน้ำมันหอมระเหยตามสปาเพื่อให้เกิดความรู้สึกผ่อนคลายความตึงเครียด บรรเทาอาการเมื่อยล้า ลดการปวดตามบริเวณต่างๆ และนอกจากนี้ยังสามารถใช้ปรุงกลิ่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สูดดมได้เนื่องจากไม่ก่อให้แก้เกิดการแพ้และการระคายเคือง [2]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของนีโอโซมสารสกัดหน่อกะลา เนื่องจากสารสกัดหน่อกะลา เป็นวัตถุดิบจากธรรมชาติที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวพรรณ อีกทั้งยังเพิ่มมูลค่าของพืชหน่อกะลา โดยพัฒนาสารสกัดในรูปของอนุภาคขนาดเล็กนีโอโซม ซึ่งเป็นการนำความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีสมัยใหม่ คือนาโนเทคโนโลยี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดและเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์เซรั่มให้มากขึ้น

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหน่อกะลา
2. เพื่อศึกษาการเตรียมสารสกัดหน่อกะลาในรูปแบบนีโอโซม
3. เพื่อศึกษาการตั้งตำรับสูตรต้นแบบเซรั่มที่มีส่วนผสมของนีโอโซมสารสกัดหน่อกะลา

สมมติฐานการวิจัย

สารสกัดหน่อกะลาที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหากถูกนำมาห่อหุ้มด้วยนวัตกรรมนีโอโซมจะช่วยทำให้การออกฤทธิ์ของสารมีอายุการใช้งานที่ยาวนานขึ้น

การทบทวนวรรณกรรม

การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติและการส่งสารออกฤทธิ์เข้าสู่ผิวหนังโดยการพัฒนาตัวนำพา (vector) หรือระบบนำส่ง(delivery system) ที่สามารถขนส่งและปกป้องสารออกฤทธิ์ให้ไปถึงเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพและเฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตัวนำพายาที่

ได้รับความสนใจและมีการพัฒนาอย่างมาก คือ Particulate drug carrier ซึ่งประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก ทำหน้าที่ห่อหุ้มตัวยาสำคัญไว้ภายในถุง (vesicles) ขนาดเล็ก ซึ่ง vesicle เหล่านี้เป็นลักษณะของโครงสร้างของผนังเซลล์โดยเป็นผนังสองชั้น (Bilayer membrane) ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัว (Self-assembly) ของโมเลกุลที่มีคุณสมบัติมีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน หรือที่เรียกว่า amphiphilic molecules ที่จัดเรียงตัวโดยนำส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากันเกิดเป็นผนังที่มีความหนาเท่ากับของโมเลกุล 2 ชั้น โดยผนังดังกล่าวห่อหุ้มสารละลายตัวยาไว้ภายใน และจะปลดปล่อยตัวยาผ่านmembranesออกมาภายนอก ซึ่งถูกเรียกชื่อต่างๆ กันไปเช่น ไลโปโซม (liposome) เป็น vesicles ที่สร้างจากฟอสโฟลิปิด (phospholipids) นีโอโซม (niosome) เป็น vesicles ที่สร้างจากสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุโดยนีโอโซมใช้เป็นตัวพาสารที่กักเก็บอยู่พาเข้าชั้นผิวหนังได้ลึกกว่าสารที่ไม่ได้กักเก็บในนีโอโซมช่วยเพิ่มความคงตัวให้แก่สารที่ถูกกักเก็บรวมทั้งมีคุณสมบัติหลายประการที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวนำพายา ได้แก่ สามารถเข้ากับร่างกายได้(biocompatible) สลายตัวตามธรรมชาติได้ (biodegradable) ไม่เป็นพิษ (non-toxic) และสามารถกักเก็บสารได้จำนวนมากเมื่อเทียบกับปริมาตรของ vesicles ที่มีขนาดเล็กมาก (Malhotra et al., 1994) นีโอโซม คือ ระบบนำส่งในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางมีส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุก่อตัวเป็นถุงสองชั้นแบบปิดและห่อหุ้มสารส่วนที่ละลายน้ำไว้ภายในโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นถุงทรงกลมขนาดเล็กคล้ายกระเปาะอนุภาคที่มีเยื่อหุ้มสองชั้น โครงสร้างเหล่านี้สามารถห่อหุ้มสารออกฤทธิ์ที่มีการละลายได้อย่างหลากหลาย และทำหน้าที่เป็นตัวปล่อยสารออกฤทธิ์ และสามารถควบคุมประสิทธิภาพต่างๆได้ เช่น ขนาดของนีโอโซม ควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ และสามารถป้องกันสารออกฤทธิ์จากสภาพแวดล้อมอื่นๆให้มีความคงตัวที่ดีขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการซึมผ่านของสารออกฤทธิ์ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการเตรียมนีโอโซม สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและไม่ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน และมีความเป็นพิษต่ำ [3]

หน่อกะลา (*Alpinia nigra* Burrt) พืชวงศ์ Zingiberaceae ชื่ออื่น เช่น ข่าน้ำ เร่ว เร่วน้อย เป็นต้น เป็นพืชตระกูลเดียวกับข่า มีลักษณะเหมือนต้นข่าทั้งใบและลำต้น แต่จะมีขนาดเล็กกว่า พบมากที่เกาะเกร็ด จังหวัดนนทบุรี หน่อกะลามีสรรพคุณเป็นสมุนไพร ช่วยขับลม แก้ร้อนใน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังได้หลายชนิด นอกจากนั้นยังมีสรรพคุณทางยา โดยจะช่วยแก้อาการท้องอืด จุกเสียด แน่นเฟ้อ และช่วยขับลมในร่างกายได้อีกด้วย สารสำคัญที่พบในลำต้นอ่อนมีน้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่เป็น trans-caryophyllene และ beta-selinene บริเวณเหง้าพบน้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบของ 1,8-cineole และ limonene รากพบสาร 1-Acetoxycha- vicol acetate สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของหน่อกะลา มีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันระบบประสาท เป็นต้น นอกจากนี้ สารสกัดจากหน่อกะลามีสารออกฤทธิ์ที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์การต้านการอักเสบ และฤทธิ์ในการยับยั้งไทโรซิเนส ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ในการต้านริ้วรอยที่ก่อให้เกิดการแก่ก่อนวัยอันควร รวมไปถึงปัญหาสิวและรอยดำ รอยแดงอื่นๆและยังช่วยในการบำรุงผิวอีกด้วย

ดังนั้นหามีการนำสารสกัดหน่อกะลามาห่อหุ้มด้วยเทคโนโลยีระบบนำส่งนีโอโซม จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดหน่อกะลาและเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบหน่อกะลาได้มากขึ้นอีก

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างสารสกัดหน่อกะลา

นำหน่ออ่อนของหน่อกะลาสด (ภาพที่ 1) จากตำบลเกาะเกร็ด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี มาล้างให้สะอาด ปลอกเปลือกออกให้เหลือเฉพาะส่วนที่เป็นสีขาวปริมาณ 1,000 กรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงไป

ภาชนะ และเติมตัวทำละลายเฮกเซนปริมาตร 1,200 มิลลิลิตร ใช้พลาสติกห่ออาหารมาปิดปาก เพื่อป้องกันไม่ให้เฮกเซนระเหยออก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงให้พ้นจากแสง จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเอากากออก นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายเฮกเซนออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator เพื่อให้เหลือเพียงสารสกัดหน่อกะลา (ภาพที่ 1) และทำการเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดสีชาและแช่เย็นไว้แล้วจึงนำไปศึกษาต่อไป

ก ข

ภาพที่ 1 หน่อกะลาสด (ก) สารสกัดหน่อกะลา (ข)

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดหน่อกะลา ด้วยวิธีการแพร่ (Disc diffusion method) โดยการวางเปเปอร์ดิส (paper disc) ที่มีสารสกัดหน่อกะลา โดยใช้ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 50, 100, 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้สารควบคุมเชิงบวกเป็นยาปฏิชีวนะ (chloramphenicol) ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารควบคุมเชิงลบเป็นน้ำกลั่น ทำการทดสอบโดยการวาง paper disc ที่มีสารสกัด สารควบคุมเชิงบวก และสารควบคุมเชิงลบ วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการกระจายเชื้อ S. *aureus* และ P. *acne* ไว้ในปริมาณที่เหมาะสม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่ต้องการทดสอบบน paper disc จะแพร่ผ่าน paper disc ไปสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการแพร่นี้จะนำสารพฤกษเคมีไปสู่บริเวณอาหารเลี้ยงเชื้อรอบแผ่น paper disc ความสามารถในการละลายของสารสกัดที่ทดสอบและขนาดโมเลกุลของสารสกัดที่ทดสอบจะมีผลต่อการแทรกซึมของสารทดสอบรอบแผ่น paper disc เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเจริญรอบแผ่น paper disc จะเรียกว่า zone of inhibition หรือ clear zone

ก ข ค

ภาพที่ 2 การกระจายเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ก)
การวาง paper disc บนอาหารที่มีการกระจายเชื้อ (ข) การบ่มเชื้อ (ค)

การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดหน่อกะลา ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method) โดยนำสำลีพันปลายไม้ (swab) ปลอดเชื้อป้ายผิวหนังบริเวณที่มีสิวจากนั้นจุ่มลงไปในขวดที่มีอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางสารสกัดหน่อกะลาในอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ

(2-fold serial dilution) โดยใช้สารควบคุมเชิงบวกเป็นยาปฏิชีวนะ (chloramphenicol) ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารควบคุมเชิงลบเป็นอาหารเหลว จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการปิเปตสารสกัดหน่อกะลาที่เจือจางปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน microtiter plate 96-well จากนั้นเติมเชื้อที่เลี้ยงจนมีปริมาณ 10^5 – 10^6 CFU/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และทำการอ่านค่า MIC โดยการวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ซึ่งผลการทดสอบรายงานค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหน่อกะลา ทำการเตรียม stock สารละลาย DPPH• ชั่ง DPPH 0.0006 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วยเอทานอล และ ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล จะได้ stock สารละลาย DPPH• ความเข้มข้น 0.015 มิลลิโมลาร์ จากนั้นเตรียมสารละลายสารสกัดหน่อกะลา โดยการชั่งสารสกัดน้ำหนัก 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดหน่อกะลาที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.15, 0.1, 0.025, 0.02, 0.015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการปิเปตต์สารสกัดหน่อกะลาหรือ control ที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน 96 well-plate ปิเปตต์ working DPPH• ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน 96 well-plate เช่นเดียวกันจากนั้นปิดฝา wel-plate และเก็บให้พ้นแสง ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และนำไปคำนวณ % Inhibition จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) \div \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100$$

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยการเตรียมสารมาตรฐาน gallic acid ความเข้มขัน 0.2 มิลลิโมลาร์ จากนั้นชั่งสาร gallic acid จำนวน 0.01 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรและเติมตัวทำละลายด้วยเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 20-200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมสารสกัดหน่อกะลาโดยการชั่งสารสกัดน้ำหนัก 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดหน่อกะลาที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตน้ำหนัก 7 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล จะได้โซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้น 7% น้ำหนักต่อปริมาตร เตรียมน้ำลงในหลอดทดลองปริมาณ 500 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตต์สารมาตรฐาน หรือ สารสกัด หรือ control ลงไป และใส่ Folin-Clocalteu reagen 125 ไมโครลิตรและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติม 7% Sodium Carbonate 1250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าแล้วทิ้งไว้ 90 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader บันทึกค่าการดูดกลืนแสงและนำไปพล็อตกราฟ

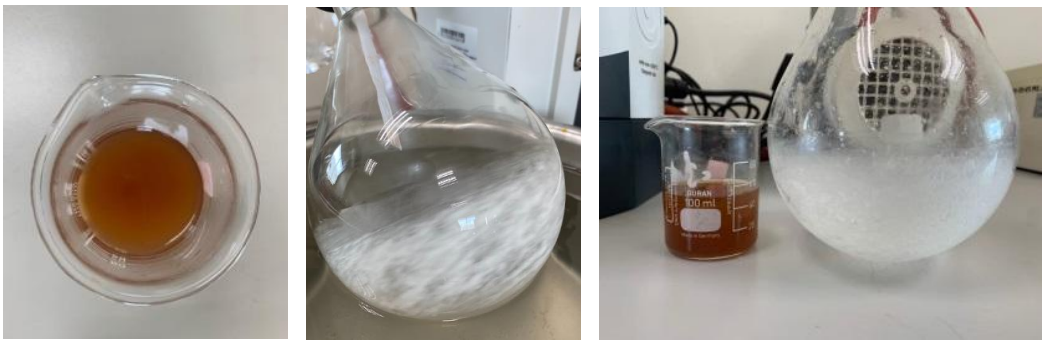
วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานเควอเซตินโดยการชั่งเควอเซตินน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยเมทานอล และปรับปริมาตรจนครบ 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (stock solution) และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเตรียมสารละลายโซเดียมไนเตรต 2% โดยการชั่งให้มีน้ำหนัก 1 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ 10% โดยการชั่งให้มีน้ำหนัก 5 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เตรียมสารละลาโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ โดยการชั่งให้มีน้ำหนัก 4 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

เตรียม stock solution ของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งสารสกัดให้มีน้ำหนัก 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และเจือจางให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารสกัดที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร และนำสารละลายโซเดียมไนเตรตที่เตรียมไว้ปิเปตต์ลงในหลอดทดลองปริมาตร 15 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้น เติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง และปิเปตต์สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหน่อกะลากับสารมาตรฐานเควอเซทิน ซึ่งในการทดลองใช้เควอเซตินเป็น biomark ดังนั้นสารประกอบฟลาโวนอยด์จึงมีหน่วยเป็นมิลลิกรัม quercetin equivalent หรือ QE/มิลลิกรัม และคำนวณการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดังสมการ

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(\frac{1-Treatment}{control}\right) \times 100$$

การเตรียมตำรับนีโอโซม

การเตรียมตำรับนีโอโซมโดยทำให้เกิดฟิล์มและเขย่าด้วยมือ (Hand-shaking method) โดยชั่งสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ ได้แก่ span 40, span 60 และ span 80 และคอเลสเตอรอล ในอัตราส่วนคอเลสเตอรอล : สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ ที่อัตราส่วน 1:1 นำส่วนผสมมาละลายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เมทานอล :คลอโรฟอร์ม ในอัตรส่วน 1:1 ในขวดก้นกลมขนาด 1,000 มิลลิลิตร หลังจากที่คอเลสตอรอลละลายเป็นเนื้อเดียวกันนำมาระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเร็วในการหมุน 50 รอบต่อนาที จนกระทั่งเกิดเป็นฟิล์มแห้งแล้ว เติมสารสกัดหน่อกะลาที่ละลายในน้ำโดยมีความเข้มข้น เท่ากับ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นทำการเขย่าด้วยมือ ระหว่างที่มีการเขย่าจะเกิดการฟอร์มตัวเป็นอนุภาคนีโอโซมที่มีการจัดเรียงตัวหลายชั้น และนำไปทำการลดขนาดของนีโอโซมด้วยการใช้วิธี sonication ด้วยเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 5 นาที



ก ข ค

ภาพที่ 3 สารสกัดหน่อกะลาที่ละลายในน้ำ (ก) การระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ (ข) การเกิดฟิล์มแห้ง (ค)

การเตรียมตำรับสูตรเซรั่มทาหน้า

นำสารสกัดหน่อกะลาที่ห่อหุ้มด้วยระบบนำส่งนีโอโซมมาตั้งตำรับเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่ม โดยศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัด พบว่าเมื่อใส่สารสกัดปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเหมาะสมในการใช้ในสูตรเซรั่มทาหน้า โดยผสม Phase B โดยใช้น้ำที่อุณหภูมิ 85 ^{O}C และนำ Carbomer ใส่ลงไป ผสมให้เข้ากัน นำ

Phase C ผสมกับ Phase D โดยใช้อุณหภูมิ 85 ^{O}C จากนั้นเติม Phase B ผสม Phase A โดยใช้อุณหภูมิ 85 ^{O}C และเติมลงไปใน Phase B+C+D ที่ผสมไว้แล้ว ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปทำให้เย็นลงโดยให้อุณหภูมิต่ำกว่า 60 ^{O}C และผสม Phase E ผสมให้เข้ากัน โดยให้อุณหภูมิต่ำกว่า 45 ^{O}C และเติม Phase F ผสมให้เข้ากัน และทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 1 จากนั้นทดสอบโดยวิธี Heat Cool Cycle ที่อุณหภูมิ 5 ถึง 50 องศาเซลเซียส และการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยทำการทดสอบเป็นเวลา 1 อาทิตย์ และทำการบันทึก ค่า pH ความหนืด ตลอดการทดลอง และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 1 ส่วนผสม ร้อยละ และน้ำหนักที่ใช้ในการตั้งตำรับเซรั่ม

PHASE	INCI NAME	USE LEVEL (%)	FUNCTION
A	Stearate-20	0.2	Emulsifier
	Cetearyl Glucoside	0.025	Emulsifier
	Cetearyl Alcohol	0.025	Emollient
	Glyceryl Monostearate	0.5	Moisturizer
	Dimethicone	1	Emollient
	Squalane	1	Moisturizer
	Tocopheryl Acetate	0.1	Antioxidant
	Hydroxyethyl Acrylate	0.25	Thickener
	Sodium Acryloydimethyl Taurate Copolymer	0.25	Thickener
B	Carbomer	0.1	Thickener
	Aqua	50	Solvent
C	Xanthan Gum	0.1	Thickener
	Hydroxyethyl Cellulose	0.1	Thickener
	Glycereth -26	2	Moisturizer
D	Aqua	31.65	Solvent
	Cyclodextrin	0.1	Stabilizer
	Betaine	2	Moisturizer
	Trehalose	2	Moisturizer
	Disodium EDTA	0.05	Chelating agent
	Allantoin	0.05	Soothing & Anti irritant
E	Triethanolamine	0.1	pH adjuster
F	Sodium Hyaluronate	2	Moisturizer
	สารสกัดหน่อกะลา	1	Active ingredient
	Macamin NC	1	Preservative

PHASE	INCI NAME	USE LEVEL (%)	FUNCTION
	Panthenol	0.5	Sunburn Healer
	Phenoxyethanol	0.8	Preservative
	Fragrance	0.1	Fragrance
	1,3-Butylene Glycol	3	Humectant

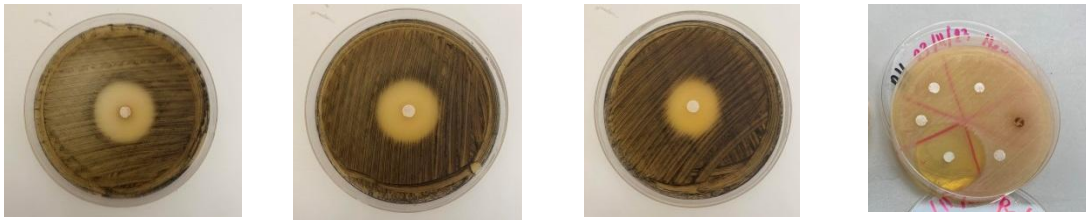
ผลการวิจัย

นำหน่ออ่อนของหน่อกะลาจากตำบลเกาะเกร็ด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี มาล้างให้สะอาด ปลอกเปลือกออกให้เหลือเฉพาะส่วนที่เป็นสีขาวปริมาณ 1,000 กรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงไปภาชนะ และเติมตัวทำละลายเฮกเซนปริมาตร 1,200 มิลลิลิตร ใช้พลาสติกห่ออาหารมาปิดปาก เพื่อป้องกันไม่ให้เฮกเซนระเหยออก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงให้พ้นจากแสง จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเอากากออก นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายเฮกเซนออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator เพื่อให้เหลือเพียงสารสกัดหน่อกะลา บันทึกน้ำหนักและคำนวณผลผลิตร้อยละได้ดังตาราง 2

ตารางที่ 2 น้ำหนักและผลผลิตร้อยละของสารสกัดหน่อกะลา

หน่อกะลา	น้ำหนัก (กรัม)		ผลผลิตร้อยละ
	หน่อกะลาสด	สารสกัด	
	1,000	15.62	1.56

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหน่อกะลาโดยวิธี disc diffusion จากการทดสอบเมื่อนำแผ่น paper disc ที่มีสารสกัดหน่อกะลาที่สกัดด้วย Hexane ที่ความเข้มข้น 200 , 100 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน (Chloramphenicol) 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นสารควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำเป็นสารควบคุมเชิงลบ มาทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ S. *aureus* และ P. *acne* พบว่าสารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย S. *aureus* โดยพบว่ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางหรือเคลียร์โซน เท่ากับ 2.5, 2.5, 2.75 เซนติเมตรตามลำดับ แต่ไม่พบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย P. *acne* ดังแสดงในภาพที่ 4 และ ตารางที่ 3



ก ข ค ง

ภาพที่ 4 การเกิดเคลียร์โซนของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ก) การเกิดเคลียร์โซนของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข) การเกิดเคลียร์โซนของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ค) เคลียร์โซนของสารสกัดหน่อกะลาต่อเชื้อแบคทีเรีย P. *acne* (ง)

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหน่อกะลา โดยวิธี disc diffusion

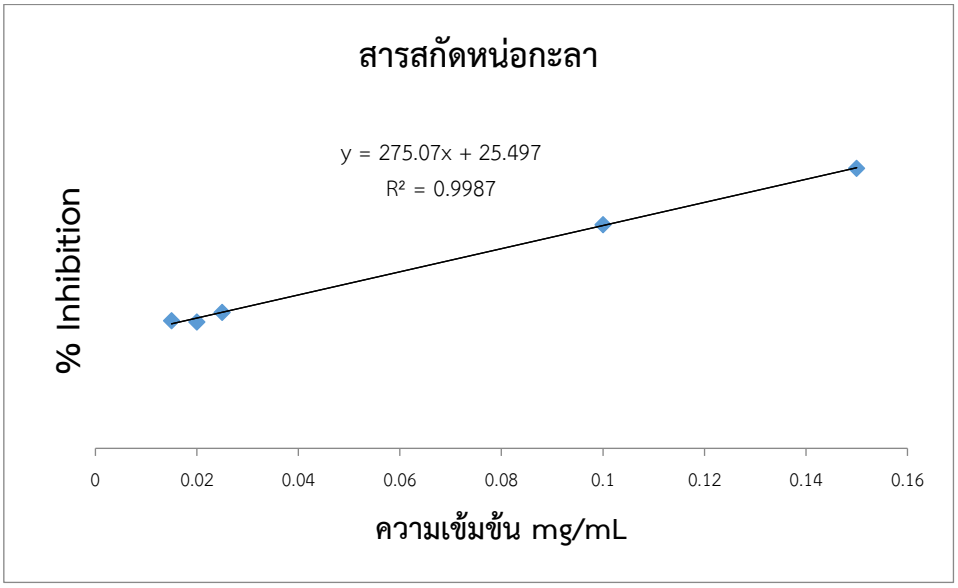
แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (เซนติเมตร)				
	200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	ยาปฏิชีวนะ (สารควบคุมเชิงบวก)	น้ำกลั่น (สารควบคุมเชิงลบ)
S. *aureus*	2.5	2.5	2.75	3.5	0
P. *acne*	0	0	0	3.5	0

ผลการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี broth dilution และประเมินความเข้มข้นของสารสกัดในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นลดลงทุกๆ 2 เท่า (2-fold serial dilution) เทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน (chloramphenicol) และอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อซึ่งสารสกัดหน่อกะลา ด้วยตัวทำละลาย Hexane ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดหน่อกะลามีค่า MIC ของเชื้อ S. *aureus* เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC ของเชื้อ P. *acne* เท่ากับ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี Broth dilution

แบคทีเรีย	ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย (MIC)		
	สารสกัดหน่อกะลา (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Antibiotics (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	อาหารเหลว
S. *aureus*	6.25	2.5	Not detected
P. *acne*	3.13	2.5	Not detected

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH ในสารสกัดหน่อกะลาด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร พบเปอร์เซ็นการต้านอนุมูลอิสระที่ได้ พบว่าสารสกัดหน่อกะลาสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.1±0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหน่อกะลา

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหน่อกะลาโดยใช้วิธี folin ciocalteu reagent ในสารสกัดหน่อกะลาด้วยตัวทำละลายเฮกเซน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

765 นาโนเมตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่คำนวณได้แสดงในตารางที่ 5 โดยใช้สารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหน่อกะลา

สารทดสอบ	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม±SD (mg GAE/g crude extract)
สารสกัดหน่อกะลา	0.221 0.221 0.208	89.777±0.007

จากตารางผลการทดลอง เมื่อนำสารสกัดหน่อกะลามาศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี folin ciocalteu reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐาน พบว่าสารสกัดหน่อที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 89.777 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งสารสกัดให้มีน้ำหนัก 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานเควอเซตินที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (stock solution) และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 85.25±0.002 มิลลิกรัมสมมูลของเควอเซตินต่อกรัมของสารสกัด ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์หารปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหน่อกะลา

สารทดสอบ	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์±SD (QE/mL extract)
สารสกัดหน่อกะลา	0.048 0.049 0.051	85.25±0.002

ผลการทดสอบระบบนำส่งนีโอโซม ประเมินโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อศึกษาการห่อหุ้มการจัดเรียงตัวเป็นชั้น โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุต่างกัน ได้แก่ span 40, span 60 และ span 80 พบว่าสารลดแรงตึงผิว Span 60 มีการห่อหุ้มและจัดตัวเรียงเป็นชั้นดีกว่าสารลดแรงตึงผิวอื่นๆ เนื่องจากมีลักษณะชั้นการห่อหุ้มที่ชัดเจนกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่น ดังแสดงในภาพที่ 6

ก ข ค

ภาพที่ 6 ลักษณะของนีโอโซมหน่อกะลาที่กำลังขยาย 100 เท่าของ span 40 (ก) กำลังขยาย 100 เท่าของ span 60 (ข) กำลังขยาย 100 เท่าของ span 80 (ค)

ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มทาหน้าโดยมีการพัฒนาระบบนำส่งนีโอโซมมาผสมกับเจลคาร์โบพอล เป็นองค์ประกอบ ลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์เนื้อใส ไม่มีสี บางเบา ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว ไม่เหนียวเหนอะหนะ ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และซึมสู่ผิวได้ดี มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.00 ถึง 5.5 เนื้อผลิตภัณฑ์ไม่มีการแยกชั้น ความหนืดเท่ากับ 427.8 ถึง 485.4 cP โดยใช้เครื่องความหนืดรุ่น Brookfield Ametek DV2T ดังแสดงในภาพที่ 7 และตารางที่ 7

ภาพที่ 7 เนื้อผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 7 ตารางทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่ม

รอบ (Heating-Cooling)	ความหนืด (cP)	สี	การแยกชั้น	ค่า pH
1	485.4	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	4.01
2	484.2	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	4.51
3	429.0	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	5.50
4	483.0	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	5.18
5	472.8	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	4.25
6	429.0	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	4.98
7	483.6	ใส ไม่มีสี	ไม่เกิดการแยกชั้น	5.25

หมายเหตุ แต่ละรอบทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง สลับกับ 5 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง

อภิปรายผล

จากการศึกษาการประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหน่อกะลา ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Hexane โดยทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย S. *aureus* และ P. *acne* โดยประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 2 วิธี ได้แก่ 1) Disc diffusion และ 2) Broth dilution พบว่าในวิธี Disc diffusion สารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย S. *aureus* ได้ แต่ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย P. *acne* ส่วนวิธี Broth dilution พบว่าสารสกัดหน่อกะลาในความเข้มข้นระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดหน่อกะลามีค่า MIC ของเชื้อ S. *aureus* เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC ของเชื้อ P. *acne* เท่ากับ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สรุปได้ว่าเมื่อมีการใช้สารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีฤทธิ์การยับยั้งที่เท่าเดิม มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.1±0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี folin ciocalteu reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตรฐาน พบว่าสารสกัดหน่อที่

มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 89.777 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหน่อกะลาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 85.25±0.002 มิลลิกรัมสมมูลของเควอเซตินต่อกรัมของสารสกัด และเมื่อทดสอบการนำส่งนีโอโซมเพื่อศึกษาการห่อหุ้มการจัดเรียงตัวเป็นชั้น โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุต่างกัน ได้แก่ span 40, span 60 และ span 80 พบว่าสารลดแรงตึงผิว span 60 มีการห่อหุ้มและจัดตัวเรียงเป็นชั้นดีที่สุด สรุปได้ว่าสารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ และ span 60 มีคุณสมบัติการห่อหุ้มการจัดเรียงตัวเป็นชั้นได้ดีที่สุด ทำให้สารสกัดหน่อกะลามีคุณสมบัติเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบเซรั่ม ซึ่งถือเป็นองค์ความรู้ที่ได้มาพัฒนาต่อยอดให้มีมูลค่าเพิ่มให้แก่หน่อกะลาซึ่งเป็นพืชท้องถิ่น

สรุป

สรุปในภาพรวมของบทความ สารสกัดหน่อกะลามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย S. *aureus* ได้ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ มีสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบเมื่อนำมาทำการห่อหุ้มด้วยระบบนำส่งนีโอโซม พบว่าสารลดแรงตึงผิว span 60 มีการห่อหุ้มและจัดตัวเรียงเป็นชั้นดีที่สุด ทำให้สารสกัดหน่อกะลามีคุณสมบัติเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบเซรั่ม ซึ่งถือเป็นองค์ความรู้ที่ได้มาพัฒนาต่อยอดให้มีมูลค่าเพิ่มให้แก่หน่อกะลาซึ่งเป็นพืชท้องถิ่น

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

หากในอนาคตมีการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพานิชย์ควรมีการทดลองกับอาสาสมัคร เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของระบบนำส่งนีโอโซมและควรมีการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด

เอกสารอ้างอิง

Ahmed, A., Sharmen, F., Mannan, A., & Rahman, M. (2015). Phytochemical, analgesic, antibacterial and cytotoxic effects of *Alpinia nigra* (Gaertn.) Burrt leaf extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine, 5*, 248–252.

Charoenphun, N., Phanmool, J., & Leasen, S. (2018). Development of gluten-free *Alpinia nigra* Burtt cookies. *Thai Science and Technology Journal (TSTJ), 28*(2020).

Daupor, H., Chelong, I., & Adair, A. (2017). Determination of flavonoids from propolis stingless bee. *[Unpublished manuscript]*, 5–9.

Ghosh, S., Gonzalez, G., & Rangan, L. (2013). *Alpinia nigra* seeds: A potential source of free radical scavenging and antibacterial agent. *Industrial Crops and Products, 49*, 348–356.

Gupta, M., Senthikulmar, S., Chiranjivi, A., Banik, K., Girisa, S., Kunnamakkara, A., Dubey, V., & Rangan, L. (2021). Antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activities of 3,5-dihydroxy-4,7-dimethoxyflavone isolated from the leaves of *Alpinia nigra*. *Phytomedicine Plus, 1*(3), 1–9.

Kazi, K., Mandal, A., Biswas, N., Guha, A., Chatterjee, S., Behera, M., & Kuotsu, K. (2010). Niosome: A future of targeted drug delivery systems. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, 1*(4), 374–380.

Lin, Y., Hsiao, C., Alshetaili, A., Aljuffali, I., Chen, E., & Fang, J. (2023). Lipid-based nanoformulation optimization for achieving cutaneous targeting: Niosomes as the potential candidates to fulfill this aim. *European Journal of Pharmaceutical Sciences, 186*(2023), 106458.

Malhotra, M., & Jain, N. K. (1994). Niosomes as drug carriers. *Indian Drugs, 31*(3), 81–86.

Nooheet, W. (n.d.). *Inhibition of pathogenic bacteria contaminating exposed surfaces by extracts of Zingiberaceae family* (pp. 1–94). [Unpublished study].

Pengkumsri, N., Kantamul, C., Towattanakil, P., Wongsarat, W., Jaiman, W., Muangchan, N., & Chanluang, S. (2011). Antioxidant effects of *Alpinia conchigera* rhizome extract. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal, 6*(3), 195–200.

Phansawan, B. (2013). Free radicals, antioxidants, and antioxidant-activity determination. *Thai Science and Technology Journal, 21*(3), 275–286.

Sahoo, S., Ghosh, G., Das, D., & Nayak, S. (2013). Phytochemical investigation and *in vitro* antioxidant activity of an indigenous medicinal plant *Alpinia nigra* B.L. Burtt. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3*(11), 871–876.

Srimongkon, P., Phechphakdee, J., Sripanidkulchai, B., & Mekjaruskul, C. (2016). Development of niosome as a drug delivery system of *Kaempferia parviflora* extract. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences, 11*(Supplement), 70–79.

Thanaketpaisarn, O. (2012). Niosome delivery systems in pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutical Sciences (IJPS), 8*(2), 12–26.

Theptong, P., Boontaworn, B., & Saewan, N. (2022). Total phenolics, antioxidant, anti-tyrosinase, anti-collagenase and cell proliferation activities of *Chrysophyllum cainito* green fruit extract. *PKRU SciTech Journal, 6*(1), 1–10.